

五加皮 抽出液이 免疫, 抗癌 및 肥滿에 미치는 실험적 효과

정현우* · 노영호 · 이금수 · 김천중 · 전병관¹

동신대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 동신대학교 환경공학과

Experimental Effects of *Acanthopanax Cortex* Extract on the Immunity, Anti-Cancer and Obesity in Mice

Hyun Woo Jeong*, Young Ho Rho, Geum Su Lee, Cheon Joong Kim, Byung Gwan Jeon¹

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongshin University,

1: Department of Environmental Engineering, Dongshin University

This experimental Study was designed to investigate the effects of *Acanthopanax Cortex* Extract(ACE) on the immunity, anti-cancer and obesity in mice. The results were as follows; ACE was significantly increased in the proliferation of thymocytes and splenocytes, and NO production from peritoneal macrophages in normal mice. ACE was significantly increased in the proliferation of thymocytes and splenocytes, and NO production from peritoneal macrophages in L1210 cells transplanted mice. ACE was significantly decreased in the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice. ACE was significantly inhibited body weight and tumor weight in S-180 cells transplanted mice. ACE was significantly increased in the mean survival days in S-180 cells transplanted mice. ACE was significantly decreased in the body weight in rats fed high fat diet. ACE was significantly decreased in the serum total cholesterol level, free fatty acid level, total lipid level, phospholipid level in rats fed high fat diet. According to above results, the authors suggest that ACE is able to be used for the herb of physiological-action.

Key words : *Acanthopanax Cortex* Extract, immunity, anti-cancer, obesity

서 론

최근 복잡한 현대생활과 식생활의 변화로 인하여 당뇨병, 고혈압, 관상동맥경화증, 고지혈증, 비만, 종양 등이 발생되기 때문에^{1,2)} 현대인들이 많은 관심을 기울이고 있다.

五加皮³⁾는 두릅나무과에 속한 낙엽관목인 오갈피의 근피를 건조한 것으로 祛風濕, 强筋骨하기 때문에 각종의 관절염을 치료하고, 溫腎化濕하기 때문에 濕으로 인한 水腫을 다스리며, 補肝腎하기 때문에 肝腎虧損으로 인한 筋骨無力 및 萎弱을 다스린다. 성분으로는 정유 (4-methylsailcyl aldehyde), tannin, palmitin酸, linolen酸, vitamin A·B가 함유되어 있고, sesamin, savinin, syringaresinol monoglucoside, diglucoside 등의 lignan류도 함유되어 있으며, daucosterol, 감심배당체, saponin 등이 함유되어 있다.

다양한 성분의 함유와 효능을 갖고 있는 오갈피를 이용한

연구로는 당뇨유발 억제 및 신장보호 활성화에 미치는 효과⁴⁾, 류마 토이드 관절염에 미치는 효과⁵⁾ 등이 있으며, 생리활성 물질을 검증하려는 노력도 진행⁶⁾되고 있으나 항암, 면역, 비만 등 인체의 생리활성에 미치는 전반적인 연구에 대한 보고는 아직까지 접할 수 없었다.

이에 저자들은 오갈피를 직접 재배하여 건강 음용수로써의 개발 가능성을 확인하고자 면역세포 활성화에 미치는 영향, 암세포 주 및 암종이 유발된 병태모델에 미치는 항암 효과 그리고 비만이 유도된 마우스에 미치는 효과 등 생체 활성화에 미치는 효과를 관찰하기로 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 세포주

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병세포주인 L1210 세포주와 복강암세포주인 sarcoma-180(S-180) 세포주를

* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동 252, 동신대학교 한의과대학

· E-mail : hwdolsan@dsu.ac.kr, · Tel : 061-330-3524

· 접수 : 2005/01/17 · 수정 : 2005/02/15 · 채택 : 2005/03/21

사용하였다.

2) 면역 및 항암 연구

면역 연구에 사용된 마우스로는 (주) 다물 사이언스에서 구입한 balb/c계 8 주령된 수컷을, 항암 연구에 사용된 마우스로는 (주) 다물 사이언스에서 구입한 balb/c계 8 주령된 수컷과 화인 실험 동물 센터에서 구입한 ICR계 20±1 g 수컷을 이용하였다. 사육 조건은 온도 20±3 ℃, 습도 55±5%, light/dark 12 hr하에서 1 주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료와 물을 자유로이 섭취케하였다.

3) 비만 연구

체중 27.5±0.5 g내외의 ICR계 雄性 마우스를 1주일이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 이용하였다. 실험기간 동안 물과 일반배합사료 그리고 고지방식이사료(Dyets, USA)를 자유스럽게 공급하였다.

4) 시료

실험에 사용된 五加皮³⁾ (Acanthopanax Cortex, Acanthopanax sessiliflorus SEEM)는 전남 나주시에서 재배되는 것을 사용하였다. 오가피 추출액 (Acanthopanax Cortex Extract, ACE)은 五加皮 60 g을 증류수 4,000 ml와 함께 넣어 120 분간 가열한 다음 여과지로 여과한 뒤 2,000 ml를 얻었다.

2. 방법

1) 세포 배양조건

암세포주 (L1210 세포주, S-180 세포주)와 면역 세포 (홍선 세포, 비장 세포)의 배지로는 Roswell Park Memorial Institute (Sigma R4130, RPMI) 1640 배지를 사용하였고, 배지에는 10% Fetal Bovine Serum (Gibco LOT. NO. 1006842, FBS)와 penicillin-streptomycin(100 units/ml, 100 µg/µl)을 첨가하였다. 암세포주의 계대 배양은 1:10~1:20 비율로 3 일 간격으로 하였고, 세포 증식에 미치는 시료의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대 배양 2 일째의 세포를 사용하였다.

2) 정상 동물의 면역세포 활성화 연구

(1) 실험군

Balb/c 마우스 7 마리를 1 군으로 하여 Control과 Sample로 분류하였다. Control은 7 일 동안 DDW를 자유스럽게 투여하였고, Sample은 오가피 추출액 (Acanthopanax Cortex Extract, ACE) 0.1 ml/mouse를 DDW에 희석하여 7 일 동안 투여하였다.

(2) 홍선 및 비장 세포의 분리

2)-(1)과 같이 실시한 후 마우스의 홍선 및 비장 세포를 Wysocki⁷⁾ 및 Mizel 등⁸⁾의 방법에 의하여 분리하였다. Balb/c 마우스를 경추 탈골하여 도살시킨 후 적출한 홍선 및 비장을 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS)-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하였다. Stainless mesh로 여과한 후 2 회 세척한 다음 10 ml 주사기로 조심스럽게 세포 부유액을 취하여 1,500 rpm에서 10 분간 원심 분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3 회 반복 세척한 후 홍선 및 비장 세포를 분리하였다.

(3) 홍선 및 비장 세포의 증식율 측정

2)-(2)와 같이 분리된 홍선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10⁶ cells/ml 농도로 접종하였다. 홍선 세포에는 Concanavalin A, Sigma C5275, Con-A) 5µg/ml를, 비장 세포에는 Lipopolysaccharide(Sigma L2637, LPS) 5µg/ml를 첨가한 후 37 ℃의 CO₂ 배양기에서 48 시간 배양하였다. 배양 종료 4 시간 전에 5 mg/ml 농도로 DPBS-A에 희석된 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (Sigma M2128, MTT) 용액 20 µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 배양 종료시 0.01 N HCl에 용해시킨 10% Sodium Dodecyl Sulfate (Sigma L5750, SDS) 100 µl를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18 시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570 nm 하에서 측정하였다. 홍선 및 비장 세포의 증식율은 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

(4) 복강 대식 세포 분리 및 nitric oxide(NO) 생성능 측정

2)-(1)과 같이 실시하면서 경추 탈골시키기 3 일전에 3% Brewer Thioglycollate Medium (Difco 0236-17-7, TG) 2.0 ml를 복강 주사하였다. 이 후 도살된 마우스의 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4 ℃에서 1,500 rpm으로 5 분 원심 분리하고 RPMI 1640 배지로 2 회 세척한 후 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO₂ 배양기에서 4 시간 동안 배양시켰다. 부착되지 않은 세포를 제거한 다음 부착한 대식 세포만을 cell scraper로 분리하여 24 well plate에 각 well당 1×10⁶ cells/ml로 분주한 후 LPS 1 µg/ml와 Interferon-γ (Sigma I6507, IFN-γ) 25 units/ml를 첨가하였다. 37 ℃ CO₂ 배양기에서 24 시간 배양한 후 생성된 NO의 양을 Griess법⁹⁾으로 측정하였다. 세포 부유액 100 µl와 Griess reagent (1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthyl- ethylene-diamine 2 HCl + 2.5% H₃PO₄) 100 µl를 혼합하여 96 well plate에 넣고 microplate-reader로 570 nm 하에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO 양을 측정하였다.

3) L1210 세포를 이식한 병태모델의 항암 및 면역 연구

(1) 실험군

L1210 세포주를 1)과 같이 계대배양하여 2×10⁶ cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0ml를 주사한 후 balb/c 마우스 7 마리를 1 군으로 하여 Control과 Sample로 분류하였다. Control은 7 일 동안 DDW를 자유스럽게 투여하였고, Sample은 ACE 0.1 ml/mouse를 DDW에 희석하여 7 일 동안 투여하였다.

(2) 암세포 증식율 측정

3)-(1)과 같이 실시한 후 실시한 후 마우스를 경추 탈골시켜 도살하였다. 도살 후 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 잘 혼합시킨 다음 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4 ℃에서 1,500 rpm으로 5 분간 원심 분리하고 RPMI 1640 배지로 2 회 세척한 후 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO₂ 배양기에서 배양시켰다. 4 시간 후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4 ℃에서 1,500 rpm으로 5 분간 원심 분리하였다. 침전된 세포 분획을 모아 1×10⁶ cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 µl를 분주하고 배지 100 µl를

채워 37 °C의 CO₂ 배양기에서 48 시간 배양하였다. 이식된 암세포의 증식율은 2)-(3)과 동일한 MTT법으로 측정하였다.

(3) 흉선 및 비장 세포 분리 및 증식율 측정

3)-(1)과 같이 실시한 후 상기 방법과 같이 흉선 및 비장 세포를 분리한 다음 MTT법으로 증식율을 측정하였다.

(4) 복강 대식 세포 분리 및 NO 생성능 측정

3)-(1)과 같이 실시하면서 경추 탈골시키기 3 일전에 3 % TG 2.0 ml를 복강 주사하였고, 이 후 상기 방법과 같이 복강 대식 세포를 분리한 다음 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양을 NaNO₂의 검량선에 의해 NO 양을 측정하였다.

4) S-180 세포를 이식한 병태모델의 함양 연구

(1) 실험군

S-180 세포주를 1)과 같이 계대배양하여 2×10⁶ cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 0.2ml를 주사함으로써 암종을 유발시킨 후 ICR 마우스 8 마리를 1 군으로 하여 Control과 Sample로 분류하였다. Control은 15 일 이상 DDW를 자유스럽게 투여하였고, Sample은 ACE 0.1 ml/mouse를 DDW에 희석하여 15 일 이상 자유스럽게 투여하였다.

(2) 체중 측정

4-(1)과 같이 실시한 후 15일 후에 체중을 측정하였다. 그 후 복강암의 무게를 제외한 무게를 체중으로 환산하였다.

(3) 고형암 무게 측정

4-(1)과 같이 실시한 후 15일 후에 경추 탈골시켜 도살한 마우스의 복강에 있는 고형암을 적출한 다음 전자저울을 이용하여 측정하였다.

(4) 복강암 유발 마우스의 생존율 연장효과 측정

4)-(1)과 같은 방법으로 유발시킨 다음 복강암이 유발되지 않은 경우는 생존기간 연장측정의 척도인 Median survival time 계산에서 제외시켰다. Median survival time은 R.I. Geran¹⁰⁾ 등이 기술한 방법에 의하여 실시하였다.

$$Median\ survival\ time = \frac{X + Y}{2}$$

X ; 생존수가 전체동물수의 1/2 이 되는 최초의 시간(일)
Y ; 생존수가 전체동물수의 1/2 에서 1 일 뺀 최초의 시간(일)
단, 전체동물의 수가 홀수인 경우는 Median survival time은 X/2가 된다.

5) 비만 연구

(1) 비만유도 및 실험군분류

동물들 각 군에 8 마리씩 배정하여, 일반사료와 DDW를 자유스럽게 7 주 동안 투여한 Normal, 고지방식이사료와 DDW를 자유스럽게 7 주 동안 투여한 Control, 고지방식이사료와 ACE 0.1 ml/mouse를 DDW에 희석하여 7 주 동안 자유스럽게 투여한 Sample A, 고지방식이사료와 ACE 0.2 ml/mouse를 DDW에 희석하여 7 주 동안 자유스럽게 투여한 Sample B로 나누어 7 주 동안 진행하였다. 고지방식이사료의 조성분과 열량은 다음과 같다 (Table 1).

(2) 체중측정

각 군의 동물을 실험개시 4 주후와 실험종료 직전에 balance

를 이용하여 측정하였다.

Table 1. Contents and Calories of High Fat Diet

PROXIMATE PROFILE		CALORIC PROFILE	
PROTEIN	17.7%	PROTEIN	0.732 kcal/GM
FAT	40.0%	FAT	3.600 kcal/GM
FIBER	5.0%	CARBOHYDRATE	1.210 kcal/GM
ASH	4.0%		
MOISTURE	3.3%		
CARBOHYDRATE	31.4%	TOTAL	5.542 kcal/GM

(3) 채혈 및 혈청분리

각 군의 동물을 상기의 방법대로 7 주간 사육한 후, 처치하기 12 시간 전에 절식시켰다. 혈청검사를 위하여 심장에서 채혈을 실시한 다음 상온에서 30 분간 방치한 후 3,000 rpm에서 30 분간 원심분리하여 혈청을 얻었다.

(4) 혈청 지질함량 측정

① Total cholesterol 함량 측정

혈청중 total-cholesterol 함량은 Enzymetric method 원리¹¹⁻¹⁵⁾에 total cholesterol (Randox, U.K.) 전용시약을 이용하여 ADVIA 1650 (JEOL, Japan)으로 측정하였다.

② High density lipoprotein (HDL)-cholesterol 함량 측정

혈청중 HDL-cholesterol 함량은 Enzymetric method 원리¹⁶⁻¹⁷⁾에 HDL cholesterol (Randox, U.K.) 전용시약을 이용하여 ADVIA 1650 (JEOL, Japan)으로 측정하였다.

③ Low density lipoprotein (LDL)-cholesterol 함량 측정

혈청중 LDL-cholesterol 함량은 Enzymetric method 원리^{14,18-19)}에 LDL cholesterol (Randox, U.K.) 전용시약을 이용하여 ADVIA 1650 (JEOL, Japan)으로 측정하였다.

④ Triglyceride 함량 측정

혈청중 triglyceride 함량은 Enzymetric method 원리^{14,18-19)}에 triglyceride (Randox, U.K.) 전용시약을 이용하여 ADVIA 1650 (JEOL, Japan)으로 측정하였다.

⑤ Free fatty acid 함량 측정

혈청중 free fatty acid 함량은 colorimetry method 원리²⁰⁾에 NEFA (ShinYang, Korea) 시약을 이용하여 COBAS MIRA PLUS (Roche, Switz)로 측정하였다.

⑥ Total lipid 함량 측정

혈청중 total-lipid 함량은 Enzymetric method 원리²¹⁾에 total lipid (ShinYang, Korea) 전용시약을 이용하여 ADVIA 1650 (JEOL, Japan)으로 측정하였다.

⑦ Phospholipid 함량 측정

혈청중 phospholipid 함량은 colorimetry method 원리²⁰⁾에 phospholipid (Shinyang, Korea) 전용시약을 이용하여 ADVIA 1650 (JEOL, Japan)으로 측정하였다.

3. 통계처리²²⁾

통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test에 의하였으며, p-value값이 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

실험성적

1. 정상 마우스의 면역 세포 증식에 미치는 영향

오가피 추출물이 정상 마우스의 면역 세포 증식에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 흉선 세포, 비장 세포 및 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양을 측정하였다(Fig. 1). 흉선 세포의 증식율을 관찰한 결과 Control의 증식율을 100.00±0.01%라 하였을 때, Sample의 증식율은 113.12±0.00%로 Control에 비해 유의성 (P<0.001) 있게 증가되었다. 비장 세포의 증식율을 관찰한 결과 Control의 증식율을 100.00±0.01%라 하였을 때, Sample의 증식율은 113.03±0.00%로 Control에 비해 유의성 (P<0.001) 있게 증가되었다. 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양을 관찰한 결과 Control의 NO 양을 100.00±0.04%라 하였을 때, Sample의 NO 양은 145.25±0.01%로 Control보다 유의성 (P<0.001) 있게 증가되었다.

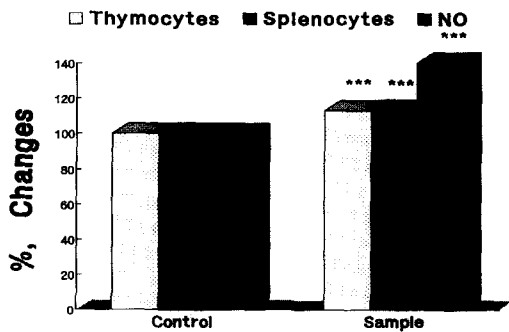


Fig. 1. Effects of ACE on the proliferation of thymocytes and splenocytes, NO production from peaneal macrophages in normal mice. ACE : Acanthopanax Cortex Extract, Control : Group administered DDW 0.1 ml/mouse to mice during 7 days, Sample : Group administered ACE 0.1 ml/mouse to mice during 7 days. The data are shown as Mean±SE for 7 samples. * : Statistical significant compared with Control group (** : P<0.01, *** : P<0.001)

2. L1210 세포 이식 마우스의 암세포 및 면역 세포 증식에 미치는 영향

오가피 추출물이 L1210 세포를 이식한 마우스의 항암 및 면역 기능 증식에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 이식된 암세포의 증식율과 병태 모델의 흉선 세포, 비장 세포 증식율 그리고 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양을 측정하였다(Fig. 2). L1210 세포의 증식율을 관찰한 결과 Control의 증식율을 100.00±0.01%라 하였을 때, Sample의 증식율은 76.90±0.01%로 Control에 비해 유의성 (P<0.001) 있게 L1210 세포의 증식을 억제하였다. 흉선 세포의 증식율을 관찰한 결과 Control의 증식율을 100.00±0.03%라 하였을 때, Sample의 증식율은 114.32±0.02%로 Control에 비해 유의성 (P<0.05) 있게 증가되었고, 비장 세포의 증식율을 관찰한 결과 Control의 증식율을 100.00±0.01%라 하였을 때, Sample의 증식율은 111.71±0.01%로 Control에 비해 유의성 (P<0.01) 있게 증가되었다. 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양을 관찰한 결과 Control의 NO 양을 100.00±0.01%라 하였을 때, Sample의 NO 양은 110.18±0.01%로 Control보다 유의성 (P<0.001) 있게 증가되었다.

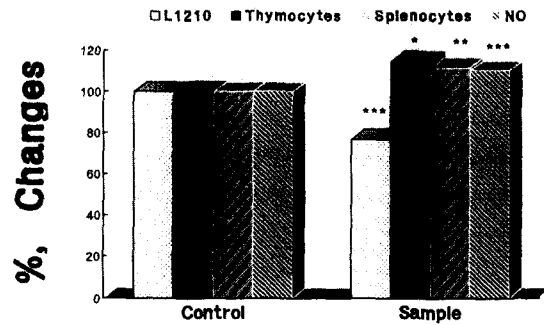


Fig. 2. Effects of ACE on the proliferation of L1210 cells, thymocytes and splenocytes, NO production from peaneal macrophages in L1210 cells transplanted mice. L1210 cells (2×10^6 cells/mouse) transplanted to mice. ACE : Acanthopanax Cortex Extract, Control : Group administered DDW 0.1 ml/mouse to mice during 7 days, Sample : Group administered ACE 0.1 ml/mouse to mice during 7 days. The data are shown as Mean±SE for 7 samples. * : Statistical significant compared with Control group* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

3. S-180 세포 이식 마우스의 체중 및 고형암의 무게, 평균 생존 기간 연장에 미치는 영향

오가피 추출물이 S-180 세포를 이식한 마우스의 항암 효과에 대하여 알아보기 위하여 병태 모델의 체중과 고형암의 무게, 그리고 평균 생존 기간을 측정하였다(Fig. 3). Control의 체중 53.53±1.23 g을 100.00±0.02%라 하였을 때, Sample의 체중은 41.48±0.02%로 Control보다 유의성 (P<0.05) 있게 감소되었고, Control의 고형암 무게 2.13±0.29 g을 100.00±0.09%라 하였을 때, Sample의 고형암 무게는 41.18±0.13%로 Control보다 유의성 (P<0.01) 있게 감소되었다. Control의 평균 생존 기간 18.00±0.50 일을 100.00±0.03%라 하였을 때, Sample의 평균 생존 기간은 119.44±0.06%로 Control보다 유의성 (P<0.05) 있게 연장되었다.

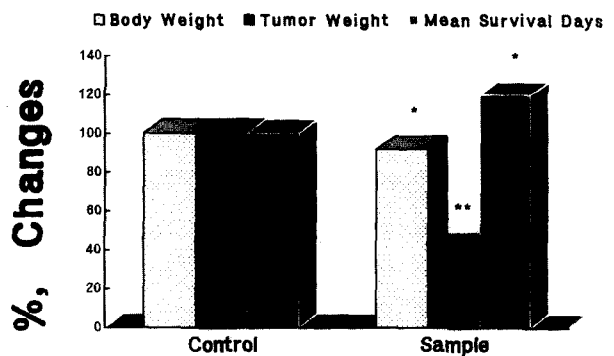


Fig. 3. Effects of ACE on the body weight, tumor weight and mean survival days of mice in S-180 cells transplanted mice. S-180 cells (2×10^6 cells/mouse) transplanted to mice. ACE : Acanthopanax Cortex Extract, Control : Group administered DDW 0.1 ml/mouse to mice more than 15 days, Sample : Group administered ACE 0.1 ml/mouse to mice more than 15 days. The data are shown as Mean±SE for 8 samples. * : Statistical significant compared with Control group* : P<0.05, ** : P<0.01)

4. 비만 마우스의 체중 변화에 미치는 영향

오가피 추출물이 비만에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 비만이 유도된 마우스의 체중을 실험개시 4 주 후와 실험 종료시 측정하였다(Fig. 4). 실험개시 4 주 후 대조군의 평균 체중

43.24±0.66 g을 100.00±0.02%로 환산하였을 때, 대조군의 평균 체중은 정상군의 평균 체중 88.32±0.02%보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 체중은 93.70±0.01%로 대조군보다 유의성(P<0.01) 있게 감소되었고, 실험군 B의 평균 체중도 93.24±0.02%로 대조군보다 유의성(P<0.05) 있게 감소되었다. 실험종료시 대조군의 평균 체중 49.03±1.14 g을 100.00±0.02%로 환산하였을 때, 대조군의 평균 체중은 정상군의 평균 체중 85.77±0.01%보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 체중은 99.03±0.02%로 대조군과 유사하였으나 실험군 B의 평균 체중은 92.61±0.02%로 대조군보다 유의성(P<0.05) 있게 감소되었다.

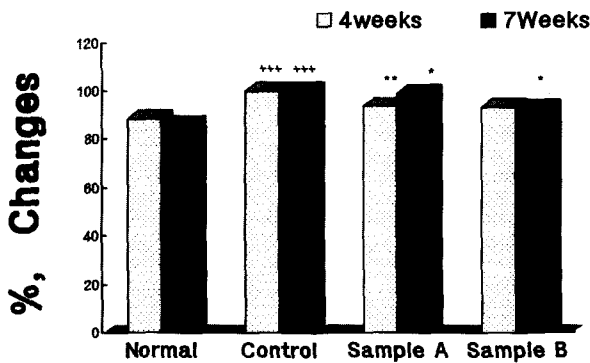


Fig. 4. Effects of ACE on the change of body weight in mice fed high fat diet. ACE : Acanthopanax Cortex Extract, Normal : Group fed normal diet and administered DDW to mice during 4 or 7 weeks, Control : Group fed high fat diet and administered DDW to mice during 4 or 7 weeks, Sample A : Group fed high diet and administered ACE 0.1 ml/mouse to mice during 4 or 7 weeks, Sample B : Group fed high diet and administered ACE 0.2 ml/mouse to mice during 4 or 7 weeks. The data are shown as Mean±SE for 8 samples. + : Statistical significant compared with Normal group(+ + + : P<0.001). * : Statistical significant compared with Control group(* : P<0.05, ** : P<0.01)

5. 비만 마우스의 혈청 중 total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 함량에 미치는 영향

오가피 추출물이 비만에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 비만이 유도된 마우스의 혈청중 total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 함량을 측정하였다(Fig. 5). 혈청중 total cholesterol 함량을 측정된 결과, 대조군의 평균 total cholesterol 함량 195.33±8.14 mg/dl를 100.00±0.04%라 하였을 때, 대조군의 평균 total cholesterol 함량은 정상군의 평균 total cholesterol 함량 64.68±0.03%보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 total cholesterol 함량은 93.86±0.02%로 대조군보다 감소되었고, 실험군 B의 평균 total cholesterol 함량도 86.86±0.03%로 대조군에 비해 유의성(P<0.05) 있게 감소되었다. 혈청중 HDL-cholesterol 함량을 측정된 결과, 대조군의 평균 HDL-cholesterol 함량 133.83±6.97 mg/dl를 100.00±0.05%라 하였을 때, 대조군의 평균 HDL-cholesterol 함량은 정상군의 평균 HDL-cholesterol 함량 64.13±0.02%보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 HDL-cholesterol 함량은 97.76±0.01%로, 실험군 B의 평균 HDL-cholesterol 함량도 88.29±0.03%로 대조군에 비해 감소되었다. 혈청중 LDL-cholesterol 함량을 측정된 결과, 대조군의 평균 LDL-cholesterol 함량 16.67±0.61 mg/dl를 100.00±0.04%라 하였

을 때, 대조군의 평균 LDL-cholesterol 함량은 정상군의 평균 LDL-cholesterol 함량 44.00±0.06%보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 LDL-cholesterol 함량은 97.00±0.06%로, 실험군 B의 평균 LDL-cholesterol 함량도 84.00±0.09%로 대조군에 비해 감소되었다.

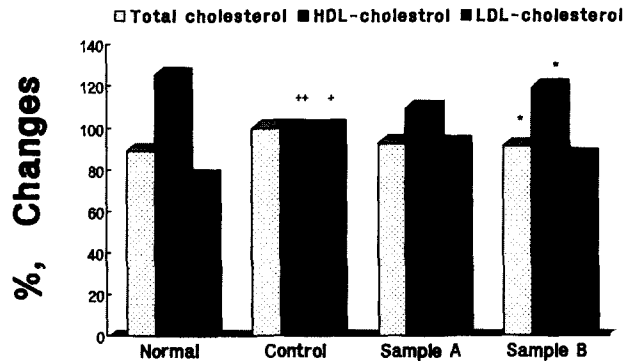


Fig. 5. Effects of ACE on the serum total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol level in mice fed high fat diet. ACE : Acanthopanax Cortex Extract, Normal : Group fed normal diet and administered DDW to mice during 7 weeks, Control : Group fed high fat diet and administered DDW to mice during 7 weeks, Sample A : Group fed high diet and administered ACE 0.1 ml/mouse to mice during 7 weeks, Sample B : Group fed high diet and administered ACE 0.2 ml/mouse to mice during 7 weeks. The data are shown as Mean±SE for 8 samples. + : Statistical significant compared with Normal group(+ + + : P<0.001). * : Statistical significant compared with Control group(* : P<0.05)

6. 비만 마우스의 혈청 중 triglyceride와 free fatty acid 함량에 미치는 영향

오가피 추출물이 비만에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 비만이 유도된 마우스의 혈청중 triglyceride 및 free fatty acid 함량을 측정하였다(Fig. 6). 혈청중 triglyceride 함량을 측정된 결과, 대조군의 평균 triglyceride 함량 168.50±7.27 mg/dl를 100.00±0.04%라 하였을 때, 대조군의 평균 triglyceride 함량은 정상군의 평균 triglyceride 함량 89.42±0.05%보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 triglyceride 함량도 96.83±0.05%로, 실험군 B의 평균 triglyceride 함량도 93.08±0.05%로 대조군에 비해 감소되었다. 혈청중 free fatty acid 함량을 측정된 결과, 대조군의 평균 free fatty acid 함량 1034.33±5.03 uEq/L를 100.00±0.01%라 하였을 때, 대조군의 평균 free fatty acid 함량은 정상군의 평균 free fatty acid 함량 94.94±0.02%보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 free fatty acid 함량은 98.73±0.01%로 대조군보다 감소되었고, 실험군 B의 평균 free fatty acid 함량도 96.13±0.01%로 대조군에 비해 유의성(P<0.01) 있게 감소되었다.

7. 비만 마우스의 혈청 중 total lipid와 phospholipid 함량에 미치는 영향

오가피 추출물이 비만에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 비만이 유도된 마우스의 혈청중 total lipid 및 phospholipid 함량을 측정하였다(Fig. 7). 혈청중 total lipid 함량을 측정된 결과, 대조군의 평균 total lipid 함량 609.50±10.87 mg/dl를 100.00±0.02%라 하였을 때, 대조군의 평균 total lipid 함량은 정상군의 평균

total lipid 함량 $87.78 \pm 0.02\%$ 보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 total lipid 함량은 $97.54 \pm 0.02\%$ 로 대조군보다 감소되었고, 실험군 B의 평균 total lipid 함량도 $93.33 \pm 0.02\%$ 로 대조군에 비해 유의성($P < 0.05$) 있게 감소되었다. 혈청중 phospholipid 함량을 측정한 결과, 대조군의 평균 phospholipid 함량 323.00 ± 16.70 mg/dl를 $100.00 \pm 0.05\%$ 라 하였을 때, 대조군의 평균 phospholipid 함량은 정상군의 평균 phospholipid 함량 $74.92 \pm 0.02\%$ 보다 증가되었다. 그러나 실험군 A의 평균 phospholipid 함량은 $98.40 \pm 0.03\%$ 로 대조군과 유사하게 나타났고, 실험군 B의 평균 phospholipid 함량은 $87.15 \pm 0.02\%$ 로 대조군에 비해 유의성($P < 0.05$) 있게 감소되었다.

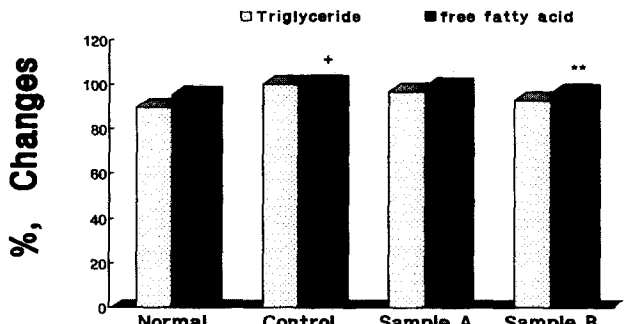


Fig. 6. Effects of ACE on the serum triglyceride and free fatty acid level in mice fed high fat diet. Other legends are the same as Fig. 5. + : Statistical significant compared with Normal group(+; $P < 0.05$). * : Statistical significant compared with Control group(**; $P < 0.01$)

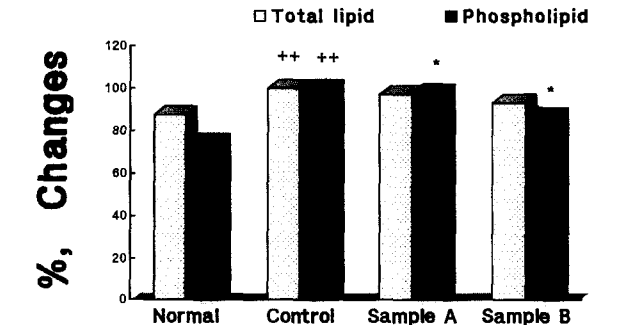


Fig. 7. Effects of ACE on the serum total lipid and phospholipid level in mice fed high fat diet. Other legends are the same as Fig. 5. ++ : Statistical significant compared with Normal group(++; $P < 0.01$). * : Statistical significant compared with Control group(*; $P < 0.05$)

고찰

五加皮³⁾는 두릅나무과에 속한 낙엽관목인 오갈피의 근피를 건조한 것으로 여름과 가을에 채취하여 晝乾한 것을 말한다. 성분으로는 정유 (4-methylsailcyl aldehyde), tannin, palmitin酸, linolen酸, vitamin A·B가 함유되어 있고, sesamin, savinin, syringaresinol monoglucoside, diglucoside 등의 lignan류도 함유되어 있으며, daucosterol, 감삼배당체, saponin 등이 함유되어 있다. 효능으로는 祛風濕, 強筋骨하기 때문에 각종의 관절염을 치료하고, 溫腎化濕하기 때문에 濕으로 인한 水腫을 다스리며, 補肝腎하기 때문에 肝腎虧損으로 인한 筋骨無力 및 萎弱을 다스린다.

다양한 성분의 함유와 효능을 갖고 있는 오가피를 이용한 연구로는 당뇨유발 억제 및 신장보호 활성화에 미치는 효과⁴⁾, 류마티오이드 관절염에 미치는 효과⁵⁾ 등이 있으며, 생리활성 물질을 검증하려는 노력도 진행⁶⁾되고 있으나 항암, 면역, 비만 등 인체의 생리활성에 미치는 전반적인 연구에 대한 보고는 아직까지 접할 수 없었다.

이에 저자들은 오가피를 직접 재배하여 건강 음용수로서의 개발 가능성을 확인하고자 면역세포 활성화에 미치는 영향, 암세포 주 및 암종이 유발된 병태모델에 미치는 항암 효과 그리고 비만이 유도된 마우스에 미치는 효과 등 생체 활성화에 미치는 효과를 관찰하기로 하였다.

면역은 인체내에 침입한 異物質이나 새로이 발생된 變異細胞를 非自己로 인식하여 처리하는 능력을 발휘함으로써 개체의 항상성을 유지하려는 현상으로 식세포나 보체가 관여하는 선천적 면역과 T세포와 B세포가 관여하는 후천적 면역으로 나누어진다. 또한 면역반응에 따라 체액성 면역(humoral immunity)과 세포매개성 면역(cell-mediated immunity)으로 분류되는데, 체액성 면역은 B세포가 주로 담당하는 것으로 혈액 및 기타의 체액속에서 방출된 항체로 생체에 감염을 일으킨 세균이나 세균독소, virus 등과 직접 결합하여 용균 또는 독소, virus의 중화, 식균현상을 나타냄으로써 생체를 감염으로부터 방어하는 기능을 담당하고, 세포 매개성 면역은 T세포가 주로 담당하는 것으로 알려지 반응, 접촉피부염, 동종이식거부 등을 나타내는 면역의 종류이며, 화학전달물질(lymphokine)들을 분비함으로써 종양세포나 virus 감염세포에 대해 직접 손상을 준다²³⁻²⁴⁾.

NO는 L-arginine에 NO-synthase(NOS)가 작용하여 생성되는 것으로 NOS는 constitutive NOS (cNOS)와 활성화된 대식세포 등에서 발견되는 inducible NOS(iNOS)가 있다²⁵⁾. iNOS는 대식세포 및 호중구 등과 같이 탐식작용 등에 관여하는 신체의 여러 종류의 세포에서 분비되는 것인데, 그 중 macrophages가 생산하는 NO는 interleukin 1 β ·IFN- γ ·Tumor Necrosis Factor(TNF)- α 등과 같은 cytokine 및 세균의 세포벽에 존재하는 LPS 등에 의해 유도되어 형성된다²⁶⁾. 복강 대식세포에 의해 생산되는 NO가 항암 작용이 있다고 최초로 보고된 이래²⁷⁾ 많은 연구자들²⁸⁻²⁹⁾은 활성화된 대식세포가 정상 세포보다는 암세포를 선택적으로 파괴할 수 있기 때문에 macrophages-mediated tumor cytotoxicity로 중요한 의미가 있다고 하였다.

오가피 추출액(ACE)가 면역세포 및 복강 대식세포에서 생산되는 NO 양을 측정할 결과, ACE는 흥선 세포와 비장 세포의 증식을 유의성 있게 증가시켜 면역 기능을 활성화시키는 것으로 생각되고, 항암 작용에 관여하는 NO의 양도 Control에 비해 유의성 있게 증가시킨 것으로 보아 오가피는 항암 작용도 있는 것으로 판단된다.

오가피의 항암 작용을 확인하고자 L1210 암세포를 이식시킨 후 병태 모델의 L1210 암세포의 증식을 억제 효과를 관찰한 결과 ACE는 암세포의 증식을 유의성 있게 억제시켜 오가피가 항암 작용이 있음을 나타내었다. 병태 모델의 면역세포 활성화에 미치는 효과를 관찰한 결과 흥선 세포 및 비장 세포의 증식을

유의성 있게 증가시켰고, NO의 양도 Control에 비해 유의성 있게 증가되었다. 또한 S-180 암 세포를 이식한 병태 모델의 체중과 고형암의 무게를 측정된 결과 Control에 비해 체중과 고형암의 무게를 유의성 있게 감소시켰고, 평균 생존 기간도 유의성 있게 연장되었다. 이와 같은 결과들을 볼 때 ACE는 면역 세포의 활성화와 대식 세포에서 생산되는 NO가 촉진됨으로써 항암 작용이 있는 것으로 생각된다.

비만은 체내의 지방조직량이 과잉으로 증가된 상태의 대사 장애로 에너지 섭취량이 소비량보다 많은 에너지 불균형의 결과로 초래된다³⁰⁾. 대체적으로 비만은 표준체중의 20% 이상을 초과한 상태이거나 체내지방이 남자는 체중의 25% 이상, 여자는 체중의 30% 이상인 경우가 이에 해당된다¹⁾.

비만은 단순성 비만과 증후성 비만으로 구별할 수 있는데, 그 중 단순성 비만은 전체 비만의 90%를 차지하고 있는 것으로 과식을 포함한 잘못된 식이나 운동부족 등으로 발생된다³⁰⁾. 또한 비만은 그 자체로도 여러 가지 문제점들을 초래할 뿐만아니라 당뇨병, 고혈압, 관상동맥경화증, 고지혈증, 지방간, 통풍, 관절질환, 월경이상 등의 합병증을 야기시키기도 하기 때문에¹⁾ 현대인들은 이에 대한 많은 관심을 기울이고 있다.

고지방식이로 유도된 비만 마우스에 오가피 추출액을 투여함으로써 비만에 미치는 효과를 실험적으로 규명하고자 4 주째의 체중을 측정된 결과, Sample A와 Sample B 모두에서 Control보다 유의성 있게 감소되었고, 실험 종료시에는 Sample B가 Control에 비해 체중을 유의성 있게 감소시켰다. 이는 ACE가 비만에 효과에 있음을 보여주는 결과라 생각되었다. 그리하여 혈청 내 지질 함량을 측정하기 위하여 혈청 중 total cholesterol 함량, 혈청 중 HDL-cholesterol 함량, 혈청 중 LDL-cholesterol 함량, 혈청 중 triglyceride 함량, 혈청 중 free fatty acid 함량, 혈청 중 total lipid 함량, 혈청 중 phospholipid 함량들을 관찰하였다.

비만지수가 높으면 혈청 중 total cholesterol 함량이 증가하는 것으로 밝혀져 있으므로 혈청 중 total cholesterol 함량의 측정은 비만증에서 유의한 의미를 지니고 있다³¹⁻³²⁾. ACE를 투여한 비만 마우스의 혈청 중 total cholesterol 함량을 측정된 결과, Sample B에서 Control보다 유의성 있게 감소되어 ACE 투여로 감소된 체중이 혈청 중 total cholesterol 감소와 유관하다고 생각된다.

혈청 중 HDL-cholesterol 함량은 세포내에 축적된 cholesterol의 제거작용에 관여하며, 비만지수가 높으면 혈청 중 HDL-cholesterol 함량이 감소되는 것으로 밝혀져 있어 혈청 중 HDL-cholesterol 함량의 변화는 비만증 유무를 판단할 수 있는 중요한 근거가 되기 때문에 혈청 중 HDL-cholesterol 함량을 측정된 결과, 오히려 Sample이 Control보다 감소되었다. 이와 같은 결과는 체중이 감소된 Sample과의 결과가 다른 것으로 이에 대한 연구는 더욱 더 진행되어야 할 것으로 생각된다. 또한 비만도가 높으면 LDL-cholesterol 함량 농도가 높아지기 때문에 고지방 식이를 하게 되면 LDL-cholesterol 함량 농도는 현저하게 증가³¹⁻³²⁾되기 때문에 혈청 중 LDL-cholesterol 함량을 측정된 결과, Sample의 혈청 중 LDL-cholesterol 함량은 Control보다 감소되어 ACE가 체내에 축적된 cholesterol 함량을 유의성 있게 제거시

키는 것으로 생각된다.

Triglyceride가 전신의 각종 지방조직의 주성분으로서 생체의 에너지 저장에 관여하고 있고, 이 수치는 지질 대사 이상의 해명에 매우 중요한 역할을 하고 있어²⁰⁾ 혈청 중 triglyceride 함량을 측정된 결과, Sample의 함량이 Control보다 감소되었고, 혈청 중 free fatty acid 함량을 측정된 결과 Sample B가 Control에 비해 유의성 있게 감소되었다. 혈청 중 free fatty acid 함량은 다른 각 지질중에 함유되는 총지방산의 4~5(%)에 지나지 않으나 주로 알부민(albumin)과 결합하여 존재하며, 말초조직의 중요한 에너지원이 되는 것으로³³⁻³⁵⁾, 비만, 당뇨병, 간질환 등에서 높은 수치를 형성하기 때문에 비만도가 높으면 높을수록 혈청 중 유리지방산의 농도가 증가된다³⁶⁾. 이와 같은 실험 결과를 보면 ACE가 혈청 중에 있는 유리 지방산을 분해시키고 있음을 나타내주는 결과라 생각된다.

혈청 중 total lipid 함량은 체중이 감소될 때 감소하고³⁷⁾, phospholipid는 생체내에서 세포막의 구성, 지방의 유화, 흡수, 혈액응고, choline 대사 등의 여러 가지 기능에 관여하는 것으로서 각종의 지질 대사 이상에 의해 증감된다³⁸⁾. 그리하여 혈청 중 total lipid 함량과 phospholipid 함량을 측정된 결과 Sample B가 Control보다 유의성 있게 감소되었다. 이는 ACE가 체중을 감소시키는 효과가 있음을 보여준다 생각된다.

이상의 연구 결과 오가피 추출액은 면역 기능의 향진, 항암 작용이 있을 뿐만 아니라 비만에도 유의한 효과를 보여주었다. 본 연구자들은 오가피가 생리 활성을 유의하게 촉진시키고, 항암 효과도 있어 오가피의 활용도를 높이기 위한 다양한 연구를 진행하고자 한다.

결 론

오가피 추출액이 생리 활성에 미치는 효과를 실험적으로 밝히고자 면역 세포 증식 효과, 항암 효과 및 비만 효과 등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

오가피 추출액은 정상 동물의 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 유의성 있게 증가시켰고, 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양도 유의성 있게 증가시켰다. 오가피 추출액은 L1210 세포를 이식한 병태 모델의 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 유의성 있게 촉진시켰고, 복강내 L1210 세포의 증식을 유의성 있게 억제시켰으며, 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양을 유의성 있게 증가시켰다. S-180 세포를 이식한 병태 모델에서는 체중과 고형암 무게를 유의성 있게 감소시켰고, 평균 생존 기간도 유의성 있게 연장시켰다. 오가피 추출액은 비만 마우스의 체중을 유의성 있게 감소시켰고, 혈청 지질 대사에서도 혈청 중 total cholesterol, free fatty acid, total lipid, phospholipid 함량들을 유의성 있게 억제시켰다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지정 동신대학교 산업융가속기 이

용 생물연구센터 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

1. 杜鎬京 : 東醫腎系學, pp. 1075-1080, 1082-1083, 東洋醫學研究院, 서울, 1991.
2. 나영설, 윤상협, 민병일. 最近 腦卒中에 대한 力學的 考察. 慶熙醫學 7. 280-286, 1991.
3. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編 : 本草學, pp. 283-284, 永林社, 서울, 1999.
4. 정종운, 이윤호, 강성길. 가시오가피 약침이 당뇨유발 억제 및 신장보호 활성에 미치는 영향, 대한침구학회지 20(3): 1-14, 2003.
5. 김호철, 이상인, 안덕균. Human Monocyte의 IL-8 생산억제에 미치는 류마티오이드관절염 치료제로서의 오가피의 효과, 대한본초학회지 10(1):49-59, 1995.
6. 이인중, 김길웅. 약용식물(읍나무, 오가피)로부터 생리활성 물질 검정, 한국잡초학회지 7(3):289-299, 1987.
7. Wysocki, L.J. and Sato, V.L. "Planning" for lymphocytes ; A method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci., 75(6):2844-2848, 1978.
8. Mizel, S.B., Rosenstreich, D.L. Regulation of lymphocyte-activating factor(LAF) production and secretion in P388D1 cells ; identification of high molecular weight precursors of LAF. J. Immunol. Methods, 122(6):2173-2179, 1979.
9. Rockett, K. A., Awburn, M. M., Cowden, W. B. and Clark, I. A. Killing of Plasmodium falciparum in vitro by nitric oxide derivatives. Infect. Immun., 59(9) : 3280-3283, 1991.
10. Geran, R.I., Greenberg, N.H., Macdinald, M.M., Schumacher, A.M. and Abbott, B.J. Protocol for screening chemical Agents and Natural products against Animal Tumors and ather Biological system(Third Edition), Cancer chemotherapy Reports 48:59, 1972.
11. Richmond, W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from Nocardia sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum, Clin Chem 19:1350-1356, 1973.
12. Roseschiau, P., Bernt, E. and Gruber, W.J. Enzymatic determination of total cholesterol in serum, Clin Chem Bichem 12(5):225, 1974.
13. Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.S.G., Richmond, W. and Fu, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol, Clin Chem 20 : 470, 1974.
14. Trinder, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxyger acceptor, Ann Clin Bichem 6:24-27, 1969.
15. National Cholesterol Education Program : Report of expert panel on detection, evaluation, and treatment expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. National Heart, Lung and Blood Institute, NIH, Bethesda, MD 20892, Arch Int Med 148: 36-69, 1998.
16. Sugiuchi, H. et at. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glyclodextrin, Clin Chem 41(5):717-723, 1995.
17. Harris, N., Galpchian, V. and Rifia, N. Three routine methods for measuring high-density lipoprotein cholesterol compared with the reference method, Clin Chem 42: 738-743, 1996.
18. Tietz, N.W. Clinical Guide to Laboratory tests(3rd Edition), pp. 334-337, 610-611, WB Saunders Company, Philadelphia, PA., 1995.
19. Fossati, P. and Prencipe, L. Serum triglycerides determined calorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide, Clin Chem 28(10):2077, 1982.
20. 金井泉 · 金井正光 : 臨床検査法提要(改訂 第3版), p. 103, 467, pp. 337-345, 420-428, 449-452, 564-567, 1384-1386, 1993.
21. Frings, C.S., Dunn, R.T. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction, Am. J. Clin. Path. 53(1):89-91, 1970
22. Snedecor G.H., Cocharn W.G. Statiistical Methods, 6th ed. Amos. Iowastate Univ., 1967.
23. 김상호외 4인. 일반병리학, pp.51-54, 348-349, 고문사, 서울, 1995.
24. 하대유의 25인. 免疫學, pp. 1-32, 고문사, 서울, 1994.
25. Nathan, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. FASEB J., 6(12):3051-3064, 1992.
26. Higuchi, M.M., Higashi, N., Taki, H., and Osawa, T. Cytolytic mechanisms of activated macrophages ; Tumor necrosis factor and L-arginine-depenent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanism of activated macrophages, J. Immunol. Methods, 144(4): 1425-1431, 1990.
27. Hibbs, J.B., Taintor, R.R. and Vavrin, Z. Macrophage cytotoxicity role for L-arginine deaminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. Science, 235:473, 1987.
28. Nakabo, Y., Harakawa, N., Yamamoto, K., Okuma, M., Uni, K. and Sasada, M. Mechanism of leukemic cell lysis by activated human macrophages ; leukemic cells can be lysed without direct contact. Int. J. Hematol, 60(1):51-57, 1994.
29. Grisham, M.B., Ware, K., Gilleand, H.E.Jr., Gilleland, L.B., Abell, C.L. and Yamada, T. Neutrophil-mediated nitrosamine formation ; role of nitric oxide in rats. Gastroenterology, 103(4):1260-1266, 1992.
30. 전국한의과대학재활의학과교실편저. 동의재활의학과학, pp. 570-576, 서원당, 서울, 1995.
31. 채영희. 종합건강진단 수진자의 비만지수에 따른 검사소견에

- 관한 고찰, 인제대학교 보건대학원, 1993.
32. 국승래, 박영수, 고완규, 김상만, 이득주, 강희철. 정상군과 비만군에서 허리-둔부 둘레비에 따른 체지방, 고지혈증, 혈압, 혈당과의 관계, 가정의학회지 18(3):317-327, 1997.
 33. 김은경, 최정희, 김미경 : 초등학교 아동의 혈청 지질상태 및 지방 섭취에 관한 연구, 한국영양학회지 31(2):166-178, 1998.
 34. 박혜순 : 서울지역 일부 비만아에서의 혈중 지질 및 식이섭취 양상, 대한비만학회지 3(1):47-54, 1994.
 35. 허영란 : 지방 섭취 증가가 일부 젊은 여성의 혈장 지단백 조성에 미치는 영향, 한국영양학회지 28(8):697-705, 1995.
 36. 조여원, 홍주영, 이해원, 이승립. 체중조절을 위한 영양교육 프로그램의 교육효과에 관한 기초연구, 대한비만학회지 4(1):23-32, 1995.
 37. Ross, E.A., Thomas, A.W., Susan, J.B., Renee, A.V. and Ruth, S.W. Relation of weight loss to change in serum lipids and lipoproteins in obese women, Am J. Chin. Nutr. 62:350-357, 1995.
 38. 江幼李 : 肥滿의中醫治療, 北京中醫學院報 2:27, 1985.