

Ob/Ob 마우스에서 輕身降脂丸18의 비만조절

윤기현, 이희영, 정양삼, 서부일¹, 박규열¹, 윤미정², 신순식*

동의대학교 한의학과 방제학교실 & 한의학연구소,
1 : 대구한의대학교 한의학과 본초학교실, 2 : 목원대학교 바이오건강학부

Modulation of obesity by Gyeongshingangjeehwan18 in ob/ob mice

Ki-Hyeon Yoon, Hee-Young Lee, Yang-Sam Jung, Bu-Il Seo¹, Gyu-Ryeol Park,
Mi-Chung Yoon², Soon-Shik Shin *

Dept. of Formula Science, College of Oriental Medicine and Research Institute of Oriental Medicine, Dongeui University,
1 : Department of Oriental Herbology, Daegu Haany University
2 : Dept. of Life Sciences, Mokwon University, Korea.

ABSTRACT

Objectives : This study was undertaken to verify the effects of Gyeongshingangjeehwan18 (GGEx18) on obesity using ob/ob male mice.

Methods : Eight-week old mice (wild-type C57BL/6J and ob/ob) were used for all experiments. Wild-type C57BL/6J mice were used as lean control and obese ob/ob mice were randomly divided into 5 groups: obese control, GGEx15, GGEx16, GGEx17, and GGEx18. After mice were treated with several kinds of GGEx for 11 weeks, body weight gain, feeding efficiency ratio, plasma lipid and glucose metabolism.

Results : 1. Compared with obese controls, GGEx-treated mice had lower body weight gain and feeding efficiency ratio, the magnitudes of which were prominent in GGEx16 and GGEx18.

2. Consistent with their effects on body weight gain, GGEx16 and GGEx18 not only decreased plasma triglycerides levels, but also increased HDL-cholesterol concentration.

3. CT analysis revealed that visceral fat areas were decreased in all treatment groups compared with obese control mice. The decrease in visceral fat area was prominent in GGEx16 and GGEx18, although they were not statistically significant.

4. The size of adipocytes were significantly decreased by GGEx18, whereas the adipocyte number per unit area was significantly increased, suggesting that GGEx18 decreased the number of large adipocytes. Hepatic lipid accumulation was decreased by GGEx16 and GGEx18, and the inhibitory effect was most effective in GGEx18.

5. Plasma GOT and GPT concentrations were significantly lower following GGEx16 and GGEx18 treatment compared with obese controls. Organ weights were not changed by GGEx treatment, indicating GGEx do not show any toxic effects.

Conclusions : These results suggest that GGEx may regulate obesity. Of the 4 compositions, GGEx18 seems to be most effective in improving obesity and lipid disorders.

Key Words : Ob/Ob mouse, Gyeongshingangjeehwan18 (GGEx18), obesity

서론

비만은 에너지대사의 불균형으로 에너지 섭취가 에너지 소
비보다 클 때 일어난다. 비만은 미용 상의 문제를 야기 시킬 뿐

아니라 당뇨병¹ 고혈압² 심혈관 질환³ 뇌졸중⁴ 일부 암 등을
유발함으로써 인간의 건강을 위협하고 있다¹). 이런 의미에서
비만의 문제를 한의학적으로 해결할 수 있는 방안을 모색하는
일은 대단히 중요하다고 생각한다.

*교신저자 : 신순식, 동의대학교, 방제학교실.
· Tel : 051-850-7414, · E-mail : ssshin@deu.ac.kr.
· 접수 : 2010년 8월 5일 · 수정 : 2010년 8월 31일 · 채택 : 2010년 9월 13일

麻黃은 마황과의 다년생 灌木식물인 草麻黃 重麻黃과 木賊麻黃의 草質莖을 말려 약용하는 것으로 발한작용 解熱소염작용 鎮靜진통작용 殺菌억제작용 항바이러스작용 飢餓완화작용 進해거담작용 항 알레르기작용 이노작용 등을 하여 상하호흡기감염 기관지천식기침 기관지평활근경련 부종 등을 치료하는데 주로 이용하였다²⁻³⁾. 최근 들어 마황은 비만개선효과가 있다⁴⁻⁹⁾는 것이 알려지면서 그 이용이 활발해졌다. 마황에는 교감신경흥분제인 에페드린 알칼로이드 (ephedrine alkaloid)가 함유되어 있어 가슴 두근거림, 불면 등의 부작용이 나타나¹⁰⁾ 단기적이든 장기적이든 이를 단독으로 사용하는 데는 한의사의 전문적인 관리가 요구된다.

昆布는 다시마과 (海帶科)의 多年生 대형 갈조식물인 다시마 (海帶)와 翅藻科 식물인 감태 (昆布)의 葉狀體를 말려 약용하는 것으로 혈압강하작용 혈중지질대사 개선작용 항 응고작용 항암작용 혈당강하작용 등을 하여 고혈압 고지혈증 암 당뇨병 등을 주로 치료하여왔다¹¹⁻¹²⁾. 최근 들어 곤포의 주성분인 alginic acid에는 비만과 고지혈증의 개선효과가 있는 것으로 보고되었다¹³⁻¹⁶⁾.

大黃은 마디풀과 (蓼科)의 多年生 草本인 掌葉大黃 唐古特大黃과 藥用大黃의 뿌리줄기를 말려 약용하는 것으로 瀉下작용 滲瀉작용 健胃작용 腸蠕동촉진작용 담즙분비작용 위장점막 보호 작용 解熱과 소염작용 병원 미생물 억제작용 혈압강하와 지질개선작용 면역조절작용 지혈 등의 작용을 하여 급성감염성 고열변비 유행성출혈열 급성췌장염 급성담낭염 급성 출혈 괴사성 장염 만성 신부전 변비 피부병 만성 위염과 소화성 궤양 고지혈증 바이러스성 간염 임신고혈압증 등을 주로 치료하여왔다¹¹⁻¹²⁾.

麻黃은 비만개선효과가 우수한 것으로 알려져 있으나 가슴 두근거림, 불면 등의 부작용이 있어 단독으로 사용하는 데 여러 가지 어려움이 뒤따른다. 곤포는 고지혈증을 개선하는 작용이 있는 것으로 알려져 있으나 그 작용이 완만하다. 대황은 비만에 따른 변비를 개선하는 효과가 있으나 그 작용이 강하다. 따라서 비만개선효과가 우수한 마황에다가 고지혈증 개선 효과가 있는 곤포를 혼합하고 비만으로 변비를 개선하는 대황을 배합한 GGEEx18은 마황의 부작용을 줄이면서도 비만개선 효과를 유지하거나 그 효과를 더 높일 수 있을 것으로 판단되어 이를 실험적으로 검증하고자 하였다.

본 연구에서는 8주령의 수컷 ob/ob 마우스 비만모델을 이용하여 麻黃 + 大黃 (GGEEx15), 麻黃 + 昆布 (GGEEx16), 大黃 + 昆布 (GGEEx17)와 麻黃 + 昆布 + 大黃(GGEEx18)의 투여가 체중증가량, 식이효율, 혈중 비만조절관련 지표와 독성 지표에는 어떤 영향을 주는지, 부검 후 간조직과 지방조직의 조직학적인 차이가 어떻게 나타나는지에 대해서 조사, 분석을 하였다.

실험재료 및 연구방법

1. 실험재료

1) 실험동물

공시동물로서는 중앙실험동물 (Seoul, South Korea)에서 공급한 8주령의 C57BL/6J mouse (lean control) 수컷 5마리, ob/ob mouse 수컷 25마리를 사용하였다. 각 군 당 5마리를 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시하

고, 이를 실험에 사용하였다.

사육환경은 온도 21±2 °C, 습도 55±5 %, 환기 횟수 15~17 회/hour, 조도 150~300 lux, 그리고 조명은 12시간 명암 (점등: 06:00, 소등: 18:00)으로 조정하여 실험 기간 동안 일정한 상태로 유지하였다. 고품사료 (Harlan, USA)와 물은 자유 급이와 급수를 시켰다.

2) 실험약물

실험물질은 麻黃 + 大黃 (GGEEx15), 麻黃 + 昆布 (GGEEx16), 大黃 + 昆布 (GGEEx17)와 麻黃 + 昆布 + 大黃 (GGEEx18)을 사용하였고, 대조물질은 autoclaved water (멸균수)를 사용하였다. 麻黃, 昆布와 大黃은 화림제약 (Busan, South Korea)에서 구입하고, 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선한 뒤 분말하여 사용하였다. GGEEx15, GGEEx16, GGEEx17과 GGEEx18은 Table 1에 제시한 배합비율에 맞추어 혼합한 뒤 각 500g을 만들어 증류수 5000cc를 붓고 95°C에서 22시간 동안 추출한 뒤에 이를 여과한 후 Ilshin Programmable Freeze Dryer (Ilshin Lab Co., Ltd., South Korea)를 이용하여 선반온도 40°C (컨덴서 -70°C), 진공 5mTorr에서 48시간 동안 동결 건조하였다. GGEEx15의 수율은 20.72%, GGEEx16의 수율은 18.28%, GGEEx17의 수율은 33.44%, GGEEx18의 수율은 27.74%을 각각 얻었다 (Table 1).

Table 3. The composition of GGEEx

GGEEx	한약명	Ingredient	Ratio(%)	Yield(%)
GGEEx15	麻黃	<i>Ephedra sinica</i> Stapf.	40	20.72
	大黃	<i>Rheum palmatum</i> L.	60	
GGEEx16	麻黃	<i>Ephedra sinica</i> Stapf.	40	18.28
	昆布	<i>Laminaria japonica</i> Aresch	60	
GGEEx17	大黃	<i>Rheum palmatum</i> L.	40	33.44
	昆布	<i>Laminaria japonica</i> Aresch	60	
GGEEx18	麻黃	<i>Ephedra sinica</i> Stapf.	40	27.74
	昆布	<i>Laminaria japonica</i> Aresch	40	
	大黃	<i>Rheum palmatum</i> L.	20	

3) 실험군 및 투여방법

군당 5마리 수컷을 공시하였으며, GGEEx15, GGEEx16, GGEEx17과 GGEEx18은 각각 1217mg/kg의 용량으로 11주간 사료에 혼합하여 투여하였다 (Table 2).

Table 4. Experimental groups

Group	Number	Sex	Dose (mg/kg BW)	
Lean control	5	male	0	
Ob/ob obese mice	control	5	male	0
	GGEEx15	5	male	1217mg/kg
	GGEEx16	5	male	1217mg/kg
	GGEEx17	5	male	1217mg/kg
	GGEEx18	5	male	1217mg/kg

2. 연구방법

1) 체중증가량 측정

투여약물 (GGEEx15, GGEEx16, GGEEx17, GGEEx18)이 체중증가량에는 어떤 변화를 주는지 알아보기 위하여 매주 2회 체중을 재고, 이를 근거로 하여 체중증가량을 계산하였다.

2) 식이효율 측정

투여약물 (GGEx15, GGEx16, GGEx17, GGEx18)이 식욕과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 체중과 사료섭취량의 변화를 매주 2회 관찰하였고, 이를 근거로 하여 식이효율을 측정하였다.

3) 직장체온 측정

투여약물 (GGEx15, GGEx16, GGEx17, GGEx18)이 체내의 열 생산으로 인한 에너지소모와 관련이 있는지를 알아보기 위하여 직장체온을 매주 1회 측정하였다.

4) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 12시간 절식 후 diethyl ether로 마취한 다음 개복하여 복대정맥에서 혈액 1ml을 채취하였으며, 고속원심분리기 (Micro 12, Hanil, South Korea)를 이용하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 분리된 혈장은 냉동고 (-20°C)에 보관하고 혈액생화학분석기 (Selectra 2, Vitalab, Netherlands)를 사용하여 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-cholesterol), low density lipoprotein cholesterol (LDL-cholesterol), free fatty acid (FFA), glucose, insulin, leptin 등의 혈중 농도를 각각 측정하였다.

5) 전산화단층촬영 (CT)을 이용한 지방면적 측정

20주 된 실험대상 마우스 모두를 전산화단층촬영 (computerized tomography, CT)을 시행하였다. 선정된 C57BL/6J와 ob/ob 마우스를 전신 마취 한 다음 촬영 시 같은 자세를 유지시키기 위해 저자들이 직접 제작한 안전 고정 장치에 대상 마우스를 복위(ventral position)로 고정하였다. 촬영은 전산화단층촬영장치 (CT MAX II, General Electric Medical System, USA)를 이용하였다. 2mm 두께, 3mm 간격과 pitch 1.5, 120kVp, 150mAs의 조건으로 scan 하였다. 촬영후 휴 방사선과에서 설치운영중인 pacs system (PiViewSTAR, INFINITT, Korea)을 이용하여 마우스의 복부영상을 display하고, 복벽의 피하지방과 복강 내의 내장지방을 관심 영역 (Free line ROI)으로 지정한 후, ROI의 View property를 선택하여 얻은 Information의 값 (길이, 면적, hounsfield 값)을 이용하여 얻고자 하는 위치의 지방조직의 면적을 산출하였다.

6) 동물부검

채혈한 뒤에 부검하여 복부지방조직, 간장, 췌장, 비장, 심장과 신장의 무게를 측정하고, 이들의 크기와 색깔을 육안적으로 관찰하였다.

7) 조직의 형태학 분석

마우스에서 분리한 조직은 10% phosphate-buffered formalin에서 하루 이상 고정하였으며 12시간 이상 흐르는 물에서 formalin을 세척한 후 60% ethanol에서 1시간, 70% ethanol에서 1시간, 80% ethanol에서 1시간, 90% ethanol에서 1시간, 95% ethanol에서 1시간, 100% ethanol에서 1

시간 씩 단계적으로 탈수시켰다. Xylen에 1시간씩 3번의 투명과정을 후 paraffin에 1시간 씩 2번 침투과정을 실시하였다. 포매과정 (embedding)을 거쳐 약 3 μm의 두께로 박절 (paraffin-section)하여 slide 위에 조직을 얹고 건조시킨 후 hematoxylin-eosin 염색을 하였다. Slide의 물기를 없애고 mounting medium (Sigma, USA)을 떨어뜨린 후 조직과 cover glass 주위에 공기가 생기지 않도록 주의하면서 cover glass를 덮어 영구보존 할 수 있도록 하였다. 조직의 사진촬영과 지방세포의 수 및 크기분석은 image analysis system (Image pro-plus, USA)을 이용하였다.

8) 통계분석

모든 값은 mean ± standard deviation (SD)으로 표시하며, OriginLab Version 7.5 (OriginLab Corporation, MA, USA)의 ANOVA one way, SigmaPlot 2001 (SPSS, USA)의 unpaired, students t-test를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

실험결과

1. 체중 증가량

GGEx15, GGEx16, GGEx17과 GGEx18 처리가 비만대조군인 obese control에 비하여 5일째부터 통계적으로 유의하게 체중증가량이 감소하였다. 그 정도는 GGEx16과 GGEx18이 GGEx15와 GGEx17에 비하여 더 현저하였다. GGEx15는 5일째부터 체중증가량이 현저히 감소하다가 (p<0.001) 10일째부터 15일째까지 둔화되고 (p<0.01) 그 이후에는 체중감량을 지속적으로 유지하고 있다. GGEx17은 5일째부터 15일째 (p<0.001)까지 체중감량이 늘어나다가 그 이후 29일째 (p<0.01)까지 둔화되고 다시 71일째 (p<0.001)까지 늘어나다가 마지막까지 둔화되었다 (p<0.01). GGEx16과 GGEx18은 77일 내내 계속해서 통계적으로 유의하게 현저한 체중감량을 나타내었다 (p<0.001) (Fig. 1).

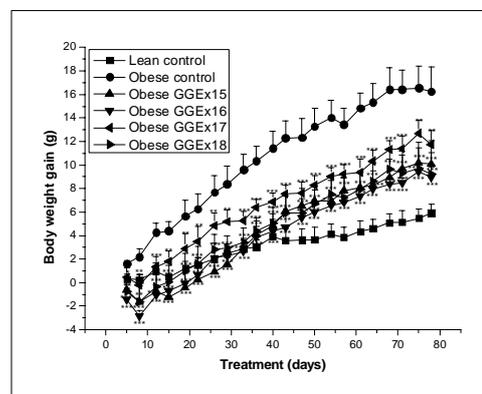


Fig. 1. Changes in body weight gain of ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. * p<0.05, ** p<0.01, *** <0.001 significantly different from obese control group.

2. 식이효율

식이효율은 아래의 공식에 대입시켜 최종 체중증가량을 총

사료섭취량으로 나누어 산출¹⁷⁻¹⁸⁾하고 통계 분석하였다.

식이효율 (feeding efficiency ratio: FER%) = 체중증가량 (g)/사료섭취량 (g) × 100

식이효율의 공식에서 의미하는 바와 같이 사료를 섭취하는 양이 많음에도 불구하고 체중의 증가가 적다는 것은 비만조절 효과가 있는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 식이효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 사용할 수 있고, 식이효율의 수치가 적을수록 비만조절효과가 있다고 할 수 있다.

식이효율은 비만대조군인 obese control에 비하여 약물처리군 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 그 효과는 GGE_x16 (p<0.01)과 GGE_x18 (p<0.001)에서 더 큰 것으로 나타났다 (Fig. 2).

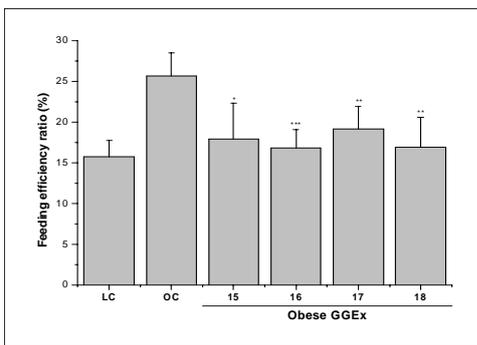


Fig. 2. Reduction of total feeding efficiency ratio in ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. * p<0.05, ** p<0.01, *** <0.001 significantly different from obese control group. LC, lean control; OC, obese control.

3. 직장체온

약물처리군 모두는 직장체온이 비만대조군인 obese control에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3).

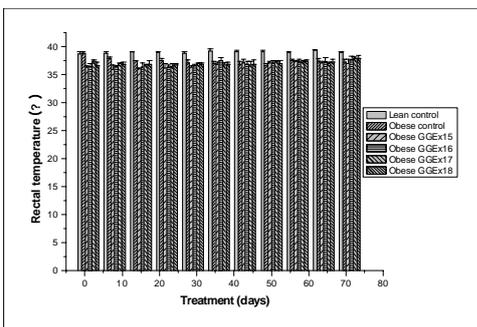


Fig. 3. Changes of rectal temperature (°C) in ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD.

4. 혈액생화학분석

1) 혈중 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 GOT의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x15와 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, GGE_x16과 GGE_x17은 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 4).

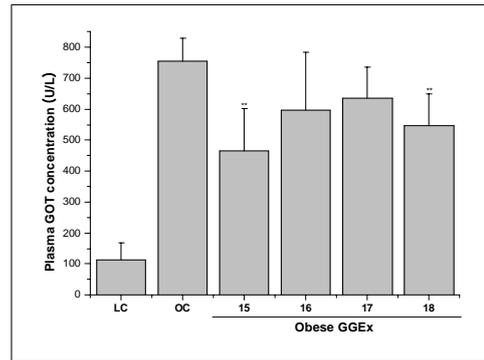


Fig. 4. Fasting plasma GOT levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. ** p<0.01 significantly different from obese control group. LC, lean control; OC, obese control.

2) 혈중 glutamic pyruvic transaminase (GPT) 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 GPT의 양을 측정한 결과, 그 값이 약물처리군 모두에서 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 그 정도는 GGE_x18 (p<0.001)이 더 현저하였다 (Fig. 5).

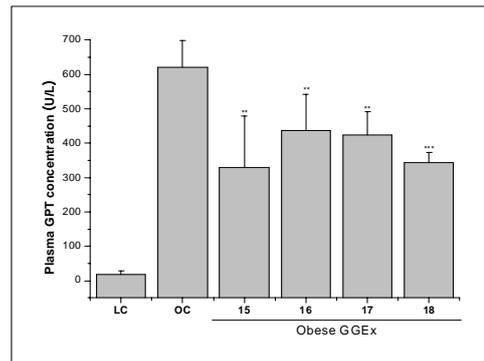


Fig. 5. Fasting plasma GPT levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. ** p<0.01, *** p<0.001 significantly different from obese control group. LC, lean control; OC, obese control.

3) 혈중 triglyceride 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 triglyceride의 양을 측정한 결과, 그 값이 모든 약물처리군에서 비만대조군에 비하여 낮게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 6).

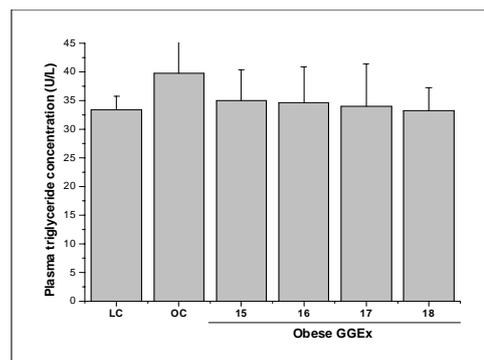


Fig. 6. Fasting plasma triglyceride levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. LC, lean control; OC, obese control.

4) 혈중 total cholesterol 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 total cholesterol의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x15와 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타난 반면에, GGE_x16와 GGE_x17은 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 7).

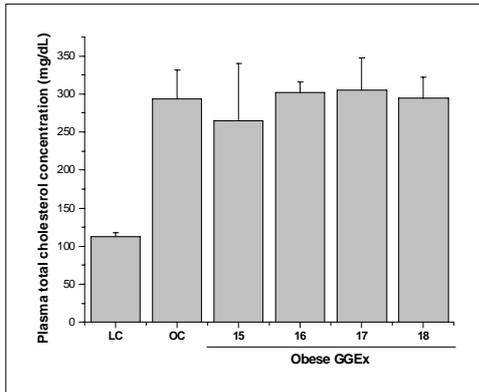


Fig. 7. Fasting plasma total cholesterol levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean \pm SD. LC, lean control; OC, obese control.

5) 혈중 HDL-cholesterol 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 HDL-cholesterol의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x15는 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타난 반면에, 나머지 GGE_x16, GGE_x17과 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 8).

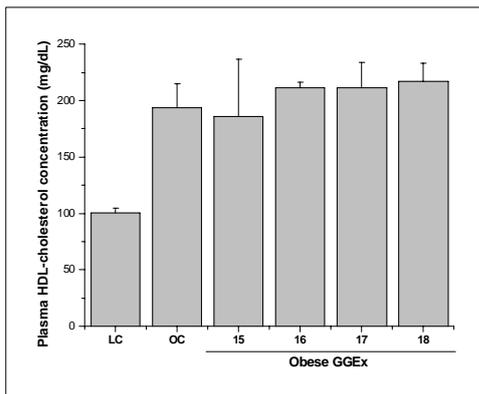


Fig. 8. Fasting plasma HDL-cholesterol levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean \pm SD. LC, lean control; OC, obese control.

6) 혈중 LDL-cholesterol 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 LDL-cholesterol의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x15, GGE_x16과 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타난 반면에, 나머지 GGE_x17은 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 9).

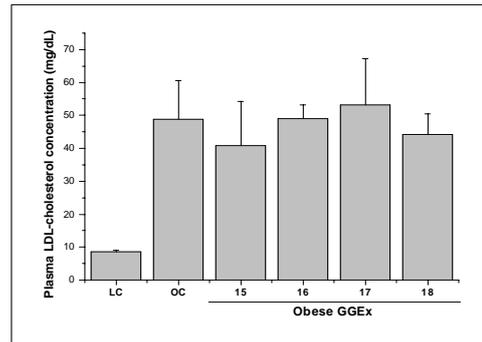


Fig. 9. Fasting plasma LDL-cholesterol levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean \pm SD. LC, lean control; OC, obese control.

7) 혈중 free fatty acid 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 free fatty acid의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x16, GGE_x17과 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타난 반면에, 나머지 GGE_x15는 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 10).

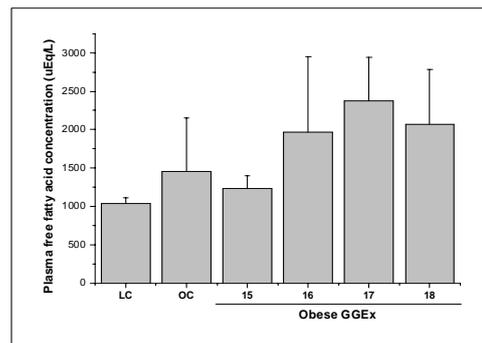


Fig. 10. Fasting plasma free fatty acid levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean \pm SD. LC, lean control; OC, obese control.

8) 혈중 glucose 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 glucose의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x16만이 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으며, 나머지 GGE_x15, GGE_x17과 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 11).

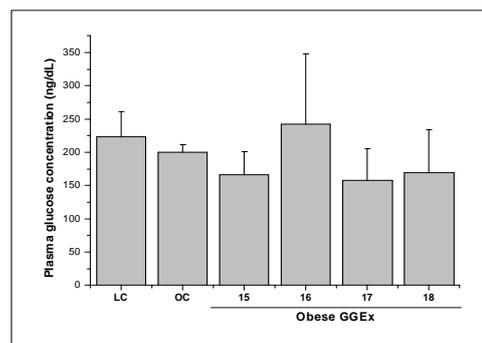


Fig. 11. Fasting plasma glucose levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean \pm SD. LC, lean control; OC, obese control.

9) 혈중 insulin 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 insulin의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x17과 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타난 반면에, GGE_x15와 GGE_x16은 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 12).

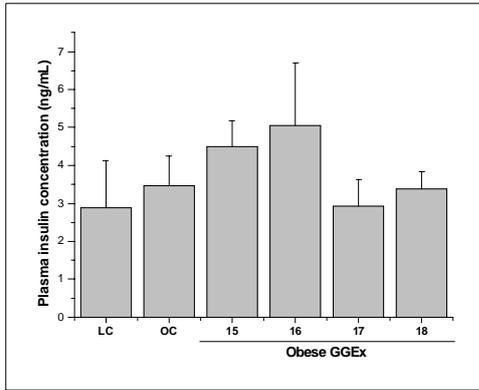


Fig. 12. Fasting plasma insulin levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. LC, lean control; OC, obese control.

10) 혈중 leptin 농도

실험시작 11주 후 혈장 내 leptin의 양을 측정한 결과, 그 값이 GGE_x17만이 비만대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으며, 나머지 GGE_x15, GGE_x16과 GGE_x18은 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 13).

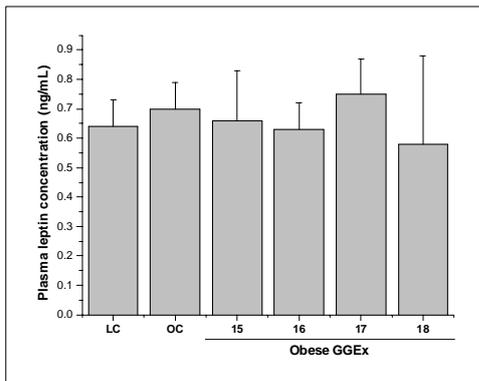


Fig. 13. Fasting plasma leptin levels in ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. LC, lean control; OC, obese control.

5. 전산화단층촬영을 이용하여 측정한 복부지방면적

마우스의 복부에 전산화단층촬영 (computerized tomography, CT)을 한 뒤에 피하지방 (subcutaneous fat), 내장지방 (visceral fat)과 전체지방 (total fat)의 면적을 측정한 결과, 비만대조군에 비하여 약물처리군 모두 피하지방의 면적이 증가한 것으로 나타났다. 모든 약물처리군에서 내장지방의 면적은 비만대조군에 비하여 감소한 것으로 나타났으며, 그 정도는 GGE_x16과 GGE_x18에서 현저하였으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 전체지방의 면적은 비만대조군

에 비하여 GGE_x16과 GGE_x18은 감소하는 것으로 나타난 반면에, GGE_x15와 GGE_x17은 증가하는 것으로 나타났으며, 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Fig. 14).

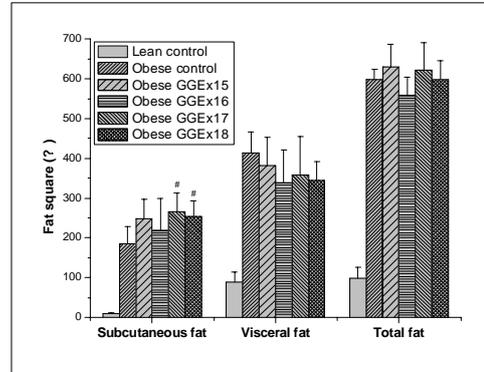


Fig. 14. Changes in CT on abdomen of ob/ob mice. All values are expressed as the mean ± SD. # p<0.05 significantly different from obese control group.

6. GGE_x에 의한 지방조직 및 간조직의 histology와 morphology 변화

1) GGE_x에 의한 지방조직의 histology와 morphology 변화

GGE_x가 유전적 비만동물모델인 ob/ob 마우스 지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 지방조직을 hematoxylin-eosin 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis system으로 관찰하였다. Wild-type 마우스(lean control, LC)와 비교하여 ob/ob 마우스 (obese control, OC)에서 지방세포의 크기가 크게 증가되었다 (LC, 2,844 ± 129 μm²; OC, 5,585 ± 837 μm²) 그러나 obese control 마우스에 GGE_x를 처리하면 지방세포의 크기가 감소하였다. 지방세포의 크기는 GGE_x18에 의하여 통계적으로 유의하게 감소되었으며 (p<0.05), obese control 마우스와 비교하여 12%의 감소율을 나타냈다 (OC, 5585 ± 837 μm²; GGE_x18, 4,911 ± 423 μm²) (Figs. 15 and 16). 반면, obese control과 비교하여 GGE_x18 처리군에서 단위 면적당 지방세포의 수를 증가시켰으며 (p<0.05), 증가정도는 13%였다 (OC, 70 ± 9 개; GGE_x12, 78 ± 10 개; GGE_x14, 77 ± 10 개; GGE_x16, 79 ± 7 개) (Figs. 15 and 17).

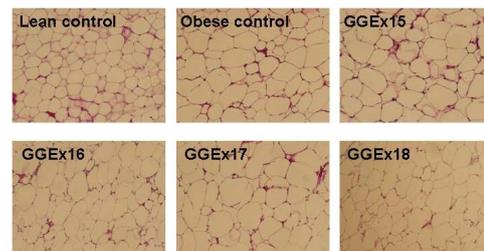


Fig. 15. Light microscopy of epididymal white adipose tissues stained with hematoxylin and eosin (original magnification X 100) in genetically obese ob/ob mice. Wild-type C57BL/6J and ob/ob received a chow diet or the same chow diet supplemented with GGE_x for 11 weeks.

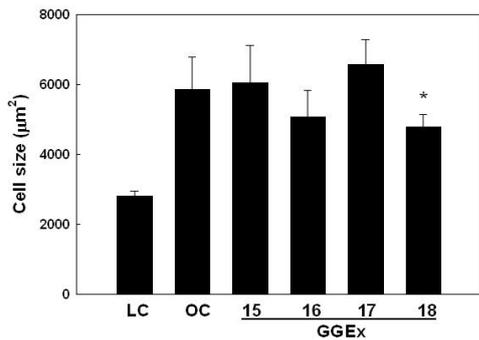


Fig. 16. Size of adipocytes in white adipose tissue of genetically obese ob/ob mice. Wild-type C57BL/6J and ob/ob mice received a chow diet or the same chow diet supplemented with GGEEx for 11 weeks. All values are expressed as the mean ± SD of four independent experiments. * p<0.05 significantly different from obese control group. LC, lean control; OC, obese control.

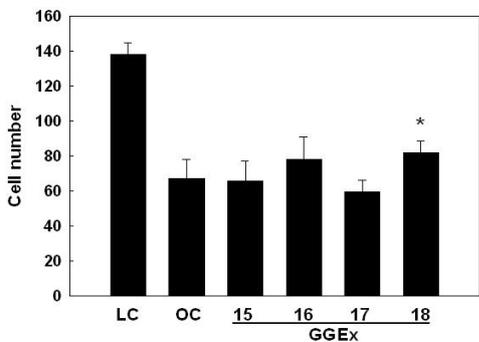


Fig. 17. Number of adipocytes in white adipose tissue of genetically obese ob/ob mice. Wild-type C57BL/6J and ob/ob mice received a chow diet or the same chow diet supplemented with GGEEx for 11 weeks. Number of adipocytes in a fixed area (1,000,000 µm²) were quantified by an image analysis system. All values are expressed as the mean ± SD of four independent experiments. * p<0.05 significantly different from obese control group. LC, lean control; OC, obese control.

2) GGEEx에 의한 간조직의 지방축적 변화

유전적으로 비만형질을 나타내는 ob/ob 마우스는 wild-type 마우스와 비교하여 상당량의 지방이 축적된 지방간을 보여주었으나 이러한 ob/ob 마우스에 GGEEx를 처리하면 간의 지방축적이 감소되었다. 지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게 간의 지방축적은 GGEEx16 (p<0.05) 과 GGEEx18 (p<0.01)에 의하여 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 특히 GGEEx18에 의하여 더욱 효과적으로 억제되었다 (Figs. 18 and 19).

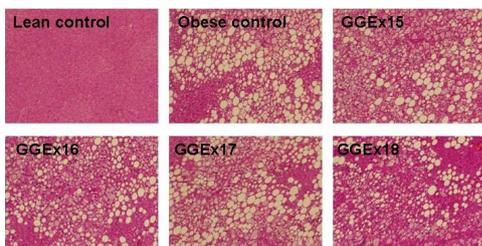


Fig. 18. Inhibition of hepatic lipid accumulation by GGEEx in genetically obese ob/ob mice. Wild-type C57BL/6J and ob/ob mice received a chow diet or the same chow diet supplemented with GGEEx for 11 weeks. Representative hematoxylin- and eosin-stained sections of livers are shown (original magnification X 100).

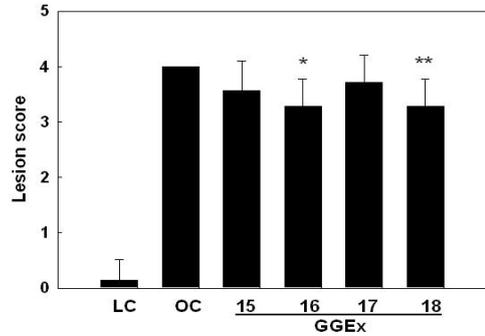


Fig. 19. Histological analysis of hepatic lipid accumulation in genetically obese ob/ob mice. Wild-type C57BL/6J and ob/ob mice received a chow diet or the same chow diet supplemented with GGEEx for 11 weeks. Pathological scores of hepatic accumulation are as follows: 0, no lesion; 1, mild; 2, moderate; 3, severe; 4, very severe. All values are expressed as the mean ± SD of four independent experiments. * p<0.05, ** p<0.01 significantly different from obese control group. LC, lean control; OC, obese control.

고찰

수컷 ob/ob 마우스 비만모델을 이용하여 마황 + 대황 (GGEEx15), 마황 + 곤포 (GGEEx16), 대황 + 곤포 (GGEEx17)와 마황 + 곤포 + 대황 (GGEEx18)의 투여가 체중 증가량과 식이효율에 어떤 영향을 미치는 지에 대해서 알아보았다.

체중증가량의 경우, GGEEx15, GGEEx16, GGEEx17과 GGEEx18 처리가 비만대조군인 obese control에 비하여 5일째부터 통계적으로 유의하게 체중증가량이 감소하였으며, GGEEx16과 GGEEx18은 77일 내내 계속해서 통계적으로 유의하게 현저한 체중감량을 나타내었다 (p<0.001)

식이효율은 비만대조군인 obese control에 비하여 약물처리군 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, GGEEx16과 GGEEx18 처리가 다른 군에 비하여 식이효율도 낮고, 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 체중증가량이 감소하는 것으로 보아 GGEEx16과 GGEEx18은 식이조절을 통하여 체중감량효과를 나타내는 것으로 생각된다.

GGEEx15, GGEEx16, GGEEx17과 GGEEx18의 처리가 열발생으로 인한 에너지소모에 관여하는지를 알기 위하여 마우스의 직장체온을 측정된 결과, 약물처리군 모두는 비만대조군인 obese control에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 GGEEx18의 체중감량효과가 체온증가의 열발생으로 인한 에너지소모와 크게 관련이 없음을 알 수 있다.

GGEEx15, GGEEx16, GGEEx17과 GGEEx18의 처리가 혈중 간장독성지표인 GOT의 경우 GGEEx15와 GGEEx18은 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, GGEEx16과 GGEEx17은 비만대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. GPT의 경우 약

물처리군 모두에서 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다. ($p < 0.001$) 간장의 경우 비만대조군에 비하여 GGE_x15, GGE_x16, GGE_x17과 GGE_x18은 적게 나가는 것으로 나타났으며, GGE_x18에서는 유의한 차이가 나타났다. 심장의 경우 GGE_x18에서만 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 무게가 적게 나가는 반면, 나머지 약물 처리군에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 비장, 신장과 췌장의 경우 약물처리군 모두 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 따라서 GGE_x16과 GGE_x18은 간장독성으로부터는 안전한 것으로 판단된다. 다만 고지방식이 마우스 비만모델을 이용한 실험에서 마황은 심각한 간독성을 유발한다¹⁹⁾는 보고도 있어 마황 단독으로 사용할 때는 더 세밀한 추가 안전성 검증이 요구된다.

GGE_x15는 비만대조군에 비하여 혈중 triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, free fatty acid, glucose와 leptin의 농도값은 낮았으며, insulin의 농도값만이 높게 나타났으나 모든 지표들에서 통계적인 유의성은 없었다. GGE_x16은 비만대조군에 비하여 혈중 triglyceride와 leptin의 농도값은 낮았고, HDL-cholesterol, free fatty acid, glucose와 insulin의 농도값은 높았으며, total cholesterol과 LDL-cholesterol의 농도값은 비슷하게 나타났으며, 모든 지표들에서 통계적인 유의성은 없었다. GGE_x17은 비만대조군에 비하여 혈중 triglyceride, glucose와 insulin의 농도값은 낮았으며, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, free fatty acid와 leptin의 농도값은 높게 나타났으나 모든 지표들에서 통계적인 유의성은 없었다. GGE_x18은 비만대조군에 비하여 혈중 triglyceride, LDL-cholesterol, glucose와 leptin의 농도값은 낮았으며, HDL-cholesterol과 free fatty acid의 농도값은 높게 나타났으며, total cholesterol, insulin의 농도값은 비슷하게 나타났으나 모든 지표들에서 통계적인 유의성은 없었다.

따라서 GGE_x16과 GGE_x18은 체중감량효과와 일치하게 triglyceride와 leptin의 농도값은 낮게 나타났고, HDL-cholesterol의 농도값은 높게 나타났음을 보여주고 있으며 그 농도값의 정도가 다른 약물처리보다 더 차이가 있음을 보여주고 있어 GGE_x16과 GGE_x18 처리의 실질적인 체중증가 억제효과가 혈중 체중감량지표에 전반적으로 영향을 준다는 것을 입증해 주고 있음을 시사한다.

비만대조군에 비하여 약물처리군 모두 피하지방의 면적이 증가한 것으로 나타났다. 모든 약물처리군에서 내장지방의 면적은 비만대조군에 비하여 감소한 것으로 나타났으며, 그 정도는 GGE_x16과 GGE_x18에서 현저하였으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 전체지방의 면적은 비만대조군에 비하여 GGE_x16과 GGE_x18은 감소하는 것으로 나타난 반면에, GGE_x15와 GGE_x17은 증가하는 것으로 나타났으며, 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 따라서 체중감량효과가 CT 촬영상에도 그대로 반영되고 있고, 특히 GGE_x16과 GGE_x18은 복부지방 개선에 강점이 있음을 시사한다.

GGE_x가 지방세포의 조직학적, 형태학적 변화를 조사한 결과, 지방세포의 크기는 GGE_x18에 의하여 통계적으로 유의하게 감소되었으며 ($p < 0.05$), 비만대조군과 비교하여 12%의 감소를 나타냈다. 반면, 비만대조군과 비교하여 GGE_x18 처

리에서 단위면적당 지방세포의 수를 증가시켰으며 ($p < 0.05$), 증가 정도는 13%였다. 지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게, 간의 지방축적은 GGE_x16 ($p < 0.05$)과 GGE_x18 ($p < 0.01$)에 의하여 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 특히 GGE_x18에 의하여 더욱 효과적으로 억제되었다. 이와 같은 결과로 보아 GGE_x18은 크기가 큰 지방세포의 수는 감소시키고 작은 지방세포의 수를 증가시킴으로써 지방무게 및 몸무게를 조절하는 것은 물론이고 지방간을 개선하는 데에도 일조를 할 것으로 생각된다.

결론

수컷 ob/ob 마우스 비만모델을 이용하여 GGE_x15 (麻黃 + 大黃), GGE_x16 (麻黃 + 昆布), GGE_x17 (大黃 + 昆布)와 GGE_x18 (麻黃 + 昆布 + 大黃)의 투여에 의한 체중증가량, 식이효율, 혈중 비만관련 지표의 변화, 복부 CT촬영의 지방면적을 측정하고, 그리고 지방조직 및 간조직의 조직학과 형태학 변화를 관찰하며 다음의 결론을 얻었다.

1. 체중증가량은 약물처리군 모두에서 비만대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였고, 식이효율은 비만대조군에 비하여 약물처리군 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 그 효과는 GGE_x16과 GGE_x18에서 더 큰 것으로 나타났다.
2. GGE_x16과 GGE_x18은 체중감량효과와 일치하게 triglyceride와 leptin의 농도값은 낮게 나타났고, HDL-cholesterol의 농도값은 높게 나타났으며, 그 농도값의 정도가 다른 약물처리보다 더 큰 차이를 보였다.
3. 복부 CT 촬영의 모든 약물처리에서 내장지방의 면적은 비만대조군에 비하여 감소한 것으로 나타났으며, 그 정도는 GGE_x16과 GGE_x18에서 현저하였으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다.
4. 장기무게는 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 간독성으로부터 안전한 것으로 생각된다.

Acknowledgement

This research was supported by Korea Science and Engineering Foundation (grant No. R01-2008-000-20040-0).

참고문헌

1. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000 Apr 6;404(6778):635-43.
2. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會編. 『中華本草』(2冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社, 1999:349-354.

3. 沈映君 主編. 『中藥藥理學』. 第1版 第1次印刷. 北京:人民衛生出版社, 2000:111-115.
4. 임경아·박용구조·조여원. 고지방식이를 섭취한 흰쥐에서 마황의 메탄올 추출물이 체지방조직 세포에 미치는 영향. 大韓韓醫學會誌 2001;22(3):74-80.
5. 신동준, 김달래, 김선형. 태음조위탕과 마황이 비만백서의 leptin에 미치는 영향. 사상의학회지 2001;13(1):79-87.
6. van der Hoof CS, Stricker BH. Ephedrine and ephedra in weight loss products and other preparations. Ned Tijdschr Geneesk. 2002 Jul 13;146(28):1335-1336. Dutch.
7. Shekelle PG, Hardy ML, Morton SC, Maglione M, Mojica WA, Suttrop MJ, Rhodes SL, Jungvig L, Gagné J. Efficacy and safety of ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance;a meta-analysis. JAMA. 2003 Mar 26;289(12):1537-1545. Epub 2003 Mar 10.
8. Greenway FL, De Jonge L, Blanchard D, Frisard M, Smith SR. Effect of a dietary herbal supplement containing caffeine and ephedra on weight, metabolic rate, and body composition. Obes Res. 2004 Jul;12(7):1152-1157.
9. 이영준·이명중. 마황이 비만쥐의 혈중지질 및 골격근 내의 지방산 대사에 미치는 영향. 韓方再活醫學科學會誌 2005;15(3):99-111.
10. Food and Drug Administration(FDA), Department of Health and Human Services(HHS). 『Final Rule Declaring Dietary Supplements Containing Ephedrine Alkaloids Adulterated Because They Present an Unreasonable Risk』. 2004:4-17.
11. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(1冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社, 1999:453-459.
12. 王浴生·鄧文龍·薛春生 主編. 『中藥藥理與應用』. 第2版 第3次印刷. 北京:人民衛生出版社, 2000:684-688.
13. Keithley J, Swanson B. Glucomannan and obesity; a critical review. Altern Ther Health Med. 2005 Nov-Dec;11(6):30-34.
14. Cairella M, Marchini G. Evaluation of the action of glucomannan on metabolic parameters and on the sensation of satiation in overweight and obese patients. Clin Ter. 1995 Apr;146(4):269-274.
15. Vita PM, Restelli A, Caspani P, Klinger R. Chronic use of glucomannan in the dietary treatment of severe obesity. Minerva Med. 1992 Mar;83(3):135-139.
16. Walsh DE, Yaghoubian V, Behforooz A. Effect of glucomannan on obese patients: a clinical study. Int J Obes. 1984;8(4):289-293.
17. 오창호. 『비만억제자인 α -MSH 유사체의 합성 및 약효분석』(신약개발연구개발사업 최종보고서). 서울:보건복지부, 2003:21.
18. Garrido-Polonio C, Garcia-Linares MC, Garcia-Arias MT, Lopez-Varela S, Garcia-Fernandez MC, Terpstra AH, Sanchez-Muniz FJ.. Thermally oxidised sunflower-seed oil increases liver and serum peroxidation and modifies lipoprotein composition in rats. Br J Nutr. 2004 Aug;92(2):257-265.
19. 元瓚煜. 고지방식 수컷 마우스 비만모델을 이용한 麻黃과 魔芋의 비만조절효과. 동의대학교대학원. 한의학석사학위논문. 2008:9-28.