

麻杏薏甘湯이 생쥐의 뇌와 위장관에서 비만관련 인자에 미치는 영향

김태현 · 이창현*

우석대학교 한의과대학 해부학교실

Effects of Mahangeuigam-Tang on Obesity-related Factors in Brain and Gastrointestinal Tract of Mice

Tae Heon Kim, Chang Hyun Lee*

Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Woosuk University

To determine the effects of Mahaengeuigam-tang(MHEGT) on obesity, the obesity-related factors (gastrin, CGRP, ghrelin, glucagon-like peptide-1, insulin, orexin, leptin, serotonin, NPY) were investigated in the stomach, pancreas, brain of mice by immunohistochemical methods for 4 weeks after Mahaengeuigam-tang(MHEGT) administration. The change of body weight decreased in MHEGT administered group than that of control group. The immunohistochemical density of the gastrin and CGRP positive cells on pylorus of stomach increased in MHEGT administered group than that of control group. The number of ghrelin immunoreactive cells on stomach decreased in MHEGT administered groups than that of control group. The immunohistochemical density of GLP-1 in the pancreas decreased in MHEGT administered group than that of control group. The immunohistochemical density of insulin positive cells in the pancreas decreased in MHEGT administered group than that of control group. The immunohistochemical density of orexin and NPY positive neurons in the diencephalon was slightly stronger in MHEGT administered group than that of control group. The immunohistochemical density of serotonin and leptin positive neurons was stronger in MHEGT administered group than that of control group. These results demonstrate that Mahaengeuigam-tang(MHEGT) increased the immunohistochemical density of factors related to appetite inhibitors, and decreased the immunohistochemical density of factors related to stimulator of food intake in stomach, pancreas and brain.

Key words : Mahaengeuigam-tang(MHEGT), obesity, enteroendocrine cells, neuropeptide

서 론

肥滿(obesity)은 세계적으로 급속하게 증가하고 있어 중요한 건강문제로 대두되고 있다. 세계보건기구 (WHO)는 2015년에 세계 성인인구 약 23억명이 과체중이 될 것이며, 비만인은 7억명 이상에 달할 것이라고 예상하였다¹⁾. 최근에 우리나라도 생활여건의 향상에 따른 식습관의 서구화와 운동부족으로 비만환자가 증가하고 있다. 비만은 당뇨병, 심혈관장애, 폐쇄성 수면 무호흡증(obstructive sleep apnea), 뇌졸중(stroke), 암 뿐만 아니라²⁻⁴⁾ 파킨슨질환⁵⁾, 알츠하이머질환⁶⁾과 같은 신경퇴행성질환의 발병을

을 증가시키는 위험인자로도 알려져 있다.

일반적으로 적정 체중의 평가는 체질량지수(body mass index, BMI)를 사용하고, 지방의 분포를 평가하기 위하여 허리둘레의 측정을 권고하는데, 국내에서 비만은 체질량지수(몸무게를 키의 제곱으로 나눈 값)를 기준으로 20-24를 정상체중, 25-30을 경도비만, 30>을 비만으로 정의하고 있다⁷⁾. 체중은 뇌, 위장관, 췌장 등과 같은 기관들의 복잡한 생리학적 기전에 의하여 에너지 섭취와 소비를 조절하는데, 그 중 뇌와 위장관에서 분비되는 펩티드호르몬(peptide hormone)이 중요한 역할을 하고 있다⁸⁾.

비만은 개인의 습관, 즉 과도한 칼로리 섭취, 운동부족, 도시화된 생활습관이 주요 원인이므로 잘못된 생활습관의 교정 즉, 식이요법과 운동요법으로 체중감량이 효과적이지 않으므로 약물 치료 등을 병행하고 있다⁹⁾. 그러나 현재까지 안정성이 확보된 약

* 교신저자 : 이창현, 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한의과대학

· E-mail : chlee@woosuk.ac.kr, · Tel : 063-290-1559

· 접수 : 2012/02/15 · 수정 : 2012/04/05 · 채택 : 2012/04/09

제가 매우 드물고 효과 또한 기대보다 적기 때문에 향후 보다 최적화된 비만치료제의 개발에 대한 요구가 높은 실정이다.

비만의 치료는 식이요법, 운동요법, 행동요법 등의 생활습관 교정법, 약물요법, 수술요법이 사용되고 있으나 여러 가지 약물의 부작용 등을 동반하고 있다¹⁰⁾. 한의학에서는 비만의 치료방법으로 약물치료, 鍼灸치료, 耳鍼療法 등 복합요법을 통하여 효과적으로 비만을 치료하고 있다¹¹⁾.

한의학에서는 비만을 <素問 · 通評虛實論>¹²⁾에서는 ‘肥貴人 卽膏粱之疾也’라고 언급한 이래로 肥, 肥胖, 肥人, 肉人, 肥貴人, 肥膚盛 이라고 표현하였으며¹³⁾, 비만의 原因은 주로 氣虛, 多濕, 多痰 등으로 구분되고¹⁴⁻¹⁶⁾ 治法으로는 補氣健脾, 利濕化痰 등이 있다¹⁷⁾.

한의학적 연구는 창출¹⁸⁾, 마황과 천오¹⁹⁾를 사용한 약침요법, 복부비만과 관련된 진침요법²⁰⁾, 목향²¹⁾을 이용한 단일 약물요법, 방기황기탕과 방기복령탕²²⁾, 태음조위탕과 태음조위배마황탕²³⁾의 처방을 사용하여 고지방 사료를 투여하여 유발한 비만 백서를 이용하여거나, 유전적인 비만쥐를 이용하여 체중과 혈청내 지질 성분을 관찰하여 비만에 효과가 있음을 보고하였으나, 風濕으로 인한 질환에 사용되는 麻杏薏甘湯¹⁶⁾을 이용하여 정상 생쥐에서 식욕억제 및 축진에 관한 비만 관련 인자들에 대한 연구 보고는 없었다.

이에 본 연구는 마행의감탕의 식욕억제 및 축진에 관한 비만 관련 인자들의 변화를 면역조직화학 염색법을 사용하여 형태학적으로 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물

실험동물은 다물사이언스(대전)로부터 분양받은 체중 25g 내외의 수컷 7주령 C57BL/6N 정상생쥐를 동물사육실에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 각 군에 8마리씩 배정하였고, 실험의 정확성을 위하여 모두 출생날짜가 유사한 것을 이용하였다.

2) 약제

본 실험에 사용된 마행의감탕의 처방은 金匱要略¹⁶⁾에서 발췌하였고, 약제 구성성분의 용량은 古方類聚²⁴⁾에 따라 Table 1과 같이 정하였다. 본 약제는 신우약업사(전주)에서 구입하여 실험에 이용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

본 실험에 사용된 마행의감탕은 3침 분량인 144g을 각각 등근 플라스크에 넣고 증류수 2리터를 넣은 후 약 4시간 전탕하여 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator(NE2001형, EYELA, Japan)로 감압 농축하여 360ml의 추출물을 회수하였다.

2) 검액의 투여

각각의 추출된 검액은 생쥐에 1회 0.15 ml/25 g body

weight를 하루 2회씩 4주간 위관을 이용하여 경구투여하였다.

3) 체중의 변화 측정

마행의감탕을 4주간 경구투여한 후 일주 간격으로 체중을 측정하여 실험개시전의 체중과의 증감을 측정하여 체중의 변화를 비교 관찰하였다.

Table 1. The composition of Mahangeuigam-Tang prescription

Mahangeuigam-Tang		
Name of Herbs	Pharmacognostic Name	Weight (g)
마황	Ephedrae Herba	12
행인	Armeniaca Amarum Semen	6
의이인	Cocicis Semen	24
감초	Glycyrrhizae Radix	6
Total		48

4) 위, 췌장, 뇌조직의 절편 제작

마행의감탕을 4주간 경구투여한 후 희생시킨 후 생리식염수 수로 방혈하였다. 방혈 후 즉시 Bouin's solution으로 관류고정한 후 위, 췌장, 뇌를 적출하였다. 절취한 위와 췌장의 표본은 통상적인 방법에 따라 수세, 탈수, 파라핀 포매하여 7 μm의 두께의 파라핀 절편을 만들어 젤라틴을 입힌 슬라이드에 부착시킨 다음 면역조직화학 염색을 시행하였다. 뇌조직은 동결절편 제작을 위하여 고정된 뇌조직을 다시 30% sucrose용액에 24시간 담가 놓은 후 30 μm의 두께로 동결절편기(Jung CM2000, Leica, Germany)를 이용하여 절단한 후 free floating method를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였다.

5) 위, 췌장, 뇌조직의 면역조직화학 염색

제작된 파라핀 절편과 동결절편은 100% 메탄올에 0.3% 과산화수소를 넣은 용액에서 내재적인 peroxidase를 제거하였다. 그 후 비특이적인 면역염색반응을 제거하기 위하여 30분간 정상 혈청(normal serum, 1:50)으로 처리하였다. 항체는 위와 췌장에 변화가 있을 것으로 예상되는 여러 가지 호르몬인 gastrin, CGRP, ghrelin, glucagon-like peptide-1(GLP-1), insulin을 일차 항체로 이용하였고, 뇌조직에 변화가 있을 것으로 예상되는 여러 가지 호르몬과 신경전달물질인 orexin, leptin, serotonin, neuropeptide Y를 일차항체로 이용하였다. 일차항체의 희석배율은 구입한 회사에 따라 차이가 있으므로 각각의 항체에 대한 positive control test를 실시하여 Table 2와 같은 희석배율을 정한 후 4℃의 습윤상자(moisture chamber)에서 24시간 염색하였다. 2차항체는 1차항체의 반응이 끝난 후 5분간 3회 0.1 M PB로 수세과정을 거친 후에 Hsu 등²⁵⁾의 방법에 따라 biotinylated anti-IgG (Vector Laboratories, Inc.)를 1:200으로 희석한 후 실온의 moisture chamber에서 30분 반응시켰다. 다시 5분간 3회 0.1 M PB 수세과정을 거친 후 peroxidase가 표지된 ABC 용액에서 30분간 반응시켰다. 그 후 다시 0.1 M PBS로 15분간 2회 수세하고 나서 30 mg의 3-3' diaminobenzidine를 150 ml의 0.1 M PBS에 녹인 용액에서 5분간 반응시킨 후 과산화수소를 0.005% 되게 첨가하여 갈색의 발색반응을 약 10분간 시행하였다. 반응이 끝난 조직들은 통상적인 방법에 따라 탈수와 투명화를 거친 후 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

6) 관찰 방법

관찰방법은 위점막이 세로로 절단된 부위를 선택하여 점막 근육관을 따라 200배율로 관찰하였으며, 접안렌즈의 사진촬영용 직사각형의 개수/0.7 mm²내에 보이는 위점막의 조직을 한 시야로 하여 각각 10시야씩 관찰하였다.

7) 통계처리

모든 자료는 mean±SD로 표시하였으며, 군 간의 차이 유무를 one way ANOVA로 분석한 뒤 p<0.05에서 유의한 차가 있는 경우 Duncan's multiple t-test를 이용하여 검정하였다.

Table 2. The summary of dilution concentration of brain, gastrointestinal and pancreatic peptides involved in the appetite regulation

Antibodies	Dilution	Effects	Company
Stomach and Pancreas			
Rabbit anti-gastrin	1:500	gastric acid secretion; mediator of gastric mucosal growth	A568, DAKO, USA.
Rabbit anti-CGRP	1:8,000	stomach homeostasis	C8198, Sigma-Aldrich, USA.
Mouse anti-ghrelin	1:4,000	stimulate food intake	ab57222, abcam, Cambridge, UK.
Mouse anti-GLP-1	1:4,000	stimulation of insulin release; inhibit food intake	ab26278, abcam, Cambridge, UK
Mouse anti-insulin	1:200,000	decrease blood glucose levels	I2018, Sigma-Aldrich, USA.
Brain			
Rabbit anti-pan orexin	1:1,000	stimulate appetite	ab6214, abcam, Cambridge, UK.
Rabbit anti-Ob	1:100	inhibit food intake	Y-20, Santa Cruz Biotec, USA.
Rabbit anti-serotonin	1:10,000	inhibit food intake	S5545, Sigma-Aldrich, USA.
Rabbit anti-NPY	1:3,000	stimulate food intake	ab30914, abcam, Cambridge, UK.

CGRP, calcitonin gene related peptide; GLP-1, glucagon like peptide-1; Ob, leptin, products of obese gene; NPY, neuropeptide Y.

결 과

1. 체중의 변화

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 1주일 간격으로 체중의 변화를 관찰한 바 대조군에서는 1주째부터 증가하기 시작하여 4주째에 4.65 ± 0.64 g 증가하였다. 그러나 마행의감탕 투여군에서는 1주째부터 증가하기 시작하여 4주째에 1.21±0.55 g 증가하여 대조군에 비하여 유의있는 체중 감소 효과를 나타내었다(Fig. 1).

2. 위와 췌장에서의 면역반응 관찰

1) Gastrin 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 위산분비와 위장 관도의 점막분화와 성장에 관여하는 gastrin에 대한 면역염색 반응을 위의 유문에서 관찰하였다(Fig. 2a, b). 유문에서 gastrin 양성세포의 수는 대조군에서 34.1±7.6개였으나 마행의감탕 투여군에서는 45.3±6.2개로 대조군에 비하여 유의있게 증가하였다(Fig. 4). 면역염색의 반응 정도도 대조군에 비하여 마행의감탕을 투여

한 군에서 매우 강하게 염색되었다(Table 3).

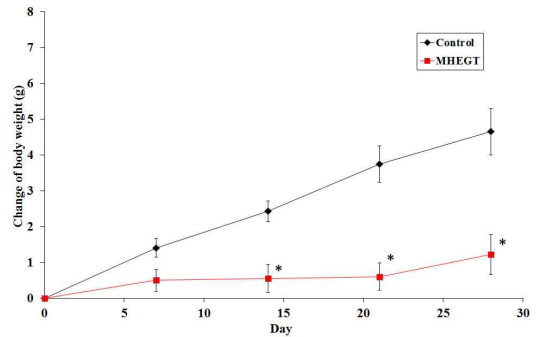


Fig. 1. Change of body weight after oral administration of saline(control group) and MHEGT in mice for 4 weeks. MHEGT, Mahangeuigam-Tang.

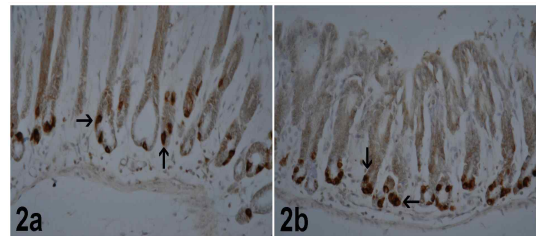


Fig. 2. Photomicrograph showing gastrin immunoreactive cells in pyloric region of stomach after oral administration of saline(control group, 2a) and MHEGT(2b) in mice for 4 weeks. MHEGT; Mahangeuigam-Tang, Arrows: immunoreactive cells, x300.

2) CGRP 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 위산분비의 증가에 의한 위궤양 보호효과, 위의 항상성 유지 및 췌장의 β 세포의 기능을 조절하는 CGRP에 대한 면역염색반응을 위의 유문에서 관찰하였다. 유문에서 CGRP에 대한 양성 세포수는 대조군에서 13.6±1.1개였으며(Fig. 3a), 마행의감탕 투여군에서는 49.6±2.7개로(Fig. 3b) 대조군에 비하여 마행의감탕을 투여한 군에서 유의 있게 증가하였고, 면역염색의 반응 정도도 대조군에 비하여 마행의감탕을 투여한 군에서 매우 강하게 염색되었다(Fig. 4).

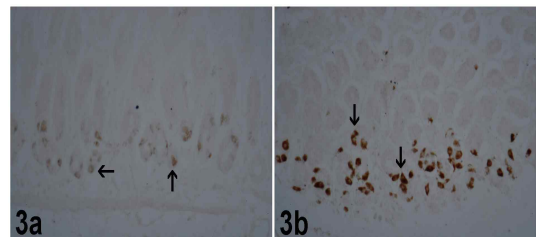


Fig. 3. Photomicrograph showing CGRP immunoreactive cells in pyloric region of stomach after oral administration of saline(control group, 3a) and MHEGT(3b) in mice for 4 weeks. Arrows: immunoreactive cells, x300.

3) Ghrelin 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 음식섭취를 촉진하는 ghrelin에 대한 면역염색의 반응을 위의 분문, 체부 및 유문

에서 관찰하였다(Fig. 5). 본문에서의 숫적 변화는 대조군에서 131.4±6.9개였으나 마행의감탕 투여군에서는 29.4±4.7개로 대조군에 비하여 유의있게 감소하였다. 체부에서의 숫적 변화는 대조군에서 21.0±1.0개였으나 마행의감탕 투여군에서는 14.0±1.2개로 대조군에 비하여 마행의감탕을 투여한 군에서 유의있게 감소하였다. 유문에서의 숫적 변화는 대조군에서 71.0±12.4개였으나 마행의감탕 투여군에서는 10.5±3.4개로 대조군에 비하여 유의있게 감소하였다.

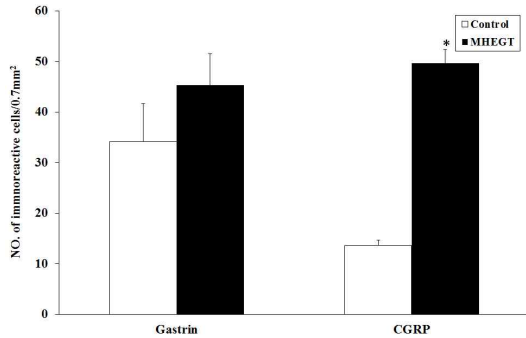


Fig. 4. Numerical changes of gastrin- and CGRP-immunoreactive cells in pylorus of stomach after administration of Mahangeuigam-Tang in mice. Values are means±SD for a minimum of 5 separate animals per data point. Data with different letters are significantly different with ANOVA followed by Duncan's multiple(p<0.05). MHEGT: Mahangeuigam-Tang, Optical areas are x200.

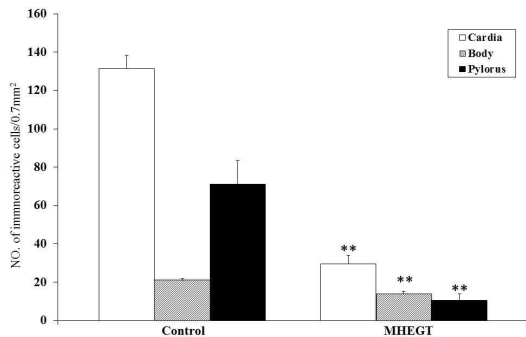


Fig. 5. Numerical changes of ghrelin-immunoreactive cells in cardia, body and pylorus of stomach after administration of Mahangeuigam-Tang in mice. Control: control group, MHEGT: Mahangeuigam-Tang group.

4) Glucagon like peptide(GLP)-1 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 음식섭취에 반응하여 음식섭취를 강력하게 억제하고, 말초에서 인슐린의 방출을 자극하는 GLP-1에 대한 면역염색 반응을 위의 분문, 체부, 유문 및 췌장에서 관찰하였다. GLP-1은 대조군에서는 위의 분문, 체부 및 유문에서는 매우 강한 염색반응을 나타내었으나 마행의감탕 투여군의 위의 분문, 체부 및 유문에서는 면역염색 반응을 관찰할 수 없었다(Fig. 6a, b, Table 3).

췌장의 췌도내 GLP-1에 대한 면역염색 반응은 대조군에서 매우 강하게 다수의 세포가 관찰되었으나 마행의감탕을 투여한 실험군에서는 췌도 주변에 소수의 세포만이 관찰되었다(Fig. 7a, b).

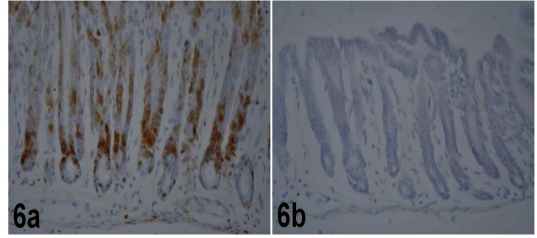


Fig. 6. Photomicrograph showing GLP-1 immunoreactive cells in pyloric region of stomach after oral administration of saline(control group, 6a) and MHEGT(6b) in mice for 4 weeks. x300.

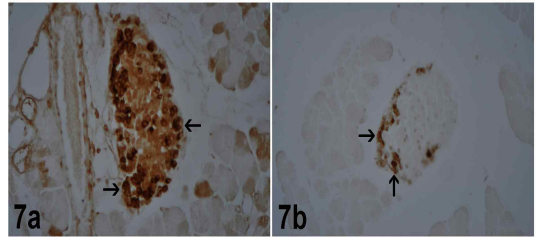


Fig. 7. Photomicrograph showing GLP-1 immunoreactive cells in islets of pancreas after oral administration of saline(control group, 7a) and MHEGT(7b) in mice for 4 weeks. Arrows: immunoreactive cells, x300.

5) Insulin 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 혈당을 낮추어주는 인슐린 호르몬에 대한 면역염색의 반응을 췌도에서 관찰하였다(Table 3). 면역염색 반응의 강도는 대조군에서 중등도로 염색되었으나(Fig. 8a) 마행의감탕을 투여한 실험군에서는 미약한 반응을 관찰하였다(Fig. 8b).

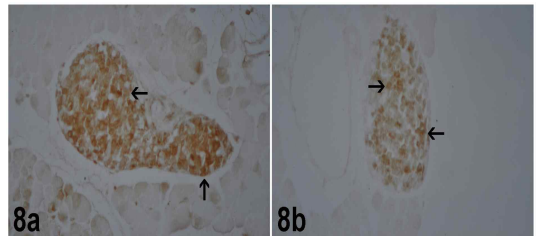


Fig. 8. Photomicrograph showing insulin immunoreactive cells in islets of pancreas after oral administration of saline(control group, 8a) and MHEGT(8b) in mice for 4 weeks. Arrows: immunoreactive cells, x300.

Table 3. Immunohistochemical expression of obesity related factors in stomach and pancreas after administration of Mahangeuigam-Tang in mice

Groups	Sites	Gastrin	GLP-1	Insulin
Control	Cardia	-	++	-
	Body	-	+	-
	Pylorus	++	++	-
	Pancreas	-	+++	++
MHEGT	Cardia	-	-	-
	Body	-	-	-
	Pylorus	+++	-	-
	Pancreas	-	+	+

MHEGT: Mahangeuigam-Tang

3. 뇌에서의 관찰 소견

1) Orexin 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 식욕유발 신경펩타이드인 orexin에 대한 면역염색반응을 간뇌에서 관찰하였다(Fig. 9, Table 4). 면역 염색된 부위는 가쪽시상하부핵(lateral hypothalamic nucleus, LH)에 주로 염색되었고, 면역염색의 강도는 대조군에 비하여(Fig. 9a) 마행의감탕 투여군에서 약간 강하게 관찰되었다(Fig. 9b).

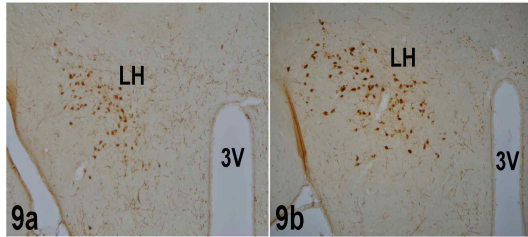


Fig. 9. Photomicrograph showing orexin immunoreactive cells in lateral hypothalamic region (LH) after oral administration of saline(control group, 9a) and MHEGT(9b) in mice for 4 weeks. 3V: 3rd ventricle, LH: lateral hypothalamic nucleus, x75.

2) Leptin 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 중요한 에너지 균형조절인자로서 음식섭취를 억제하는 leptin에 대한 면역염색 반응을 간뇌에서 관찰하였다(Fig. 10, Table 4). 면역 염색된 부위는 뇌실결핵에서 관찰되었고, 면역염색 반응의 강도는 대조군에 비하여(Fig. 10a) 마행의감탕을 투여한 군에서 매우 강하게 관찰되었다(Fig. 10b).

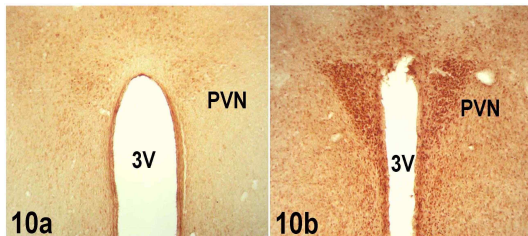


Fig. 10. Photomicrograph showing leptin immunoreactive cells in paraventricular hypothalamic region (PVN) after oral administration of saline(control group, 10a) and MHEGT(10b) in mice for 4 weeks. 3V: 3rd ventricle, PVN: paraventricular hypothalamic nucleus, x75.

3) Serotonin 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 음식섭취를 억제하는 serotonin에 대한 면역염색반응을 중뇌에서 관찰하였다(Fig. 11, Table 4). 중뇌의 등쪽솔기핵(dorsal raphe nucleus, DR)에서 serotonin에 대한 면역반응은 대조군에서는 미약하였으나(Fig. 11a) 마행의감탕 투여군에서는 중등도로 염색되었다(Fig. 11b).

4) Neuropeptide Y(NPY) 면역반응 세포

마행의감탕을 생쥐에 4주간 경구투여한 후 식욕유발 신경펩타이드인 NPY에 대한 면역염색반응을 간뇌에서 관찰하였다(Fig. 12, Table 4). 면역 염색된 부위는 등쪽안쪽시상하부핵(DM)

과 활꼴핵에 주로 염색되었고, 염색의 강도는 대조군에 비하여(Fig. 12a) 마행의감탕 투여군에서 약간 강하게 관찰되었다(Fig. 12b).

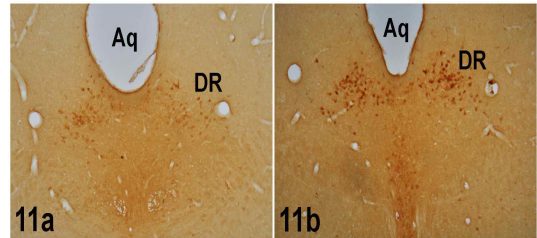


Fig. 11. Photomicrograph showing serotonin immunoreactive cells in dorsal raphe region(DR) after oral administration of saline(control group, 11a) and MHEGT(11b) in mice for 4 weeks. Aq: aqueduct, DR: dorsal raphe nucleus, x75.

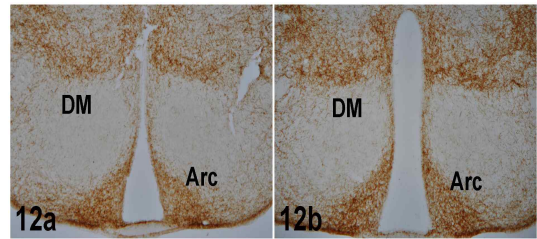


Fig. 12. Photomicrograph showing serotonin immunoreactive cells in arcuate (Arc) and dorsomedial hypothalamic regions(DM) after oral administration of saline(control group, 12a) and MHEGT(12b) in mice for 4 weeks. DM: dorsomedial hypothalamic nucleus, Arc: arcuate nucleus, x75.

Table 4. Immunohistochemical expression of obesity related factors in brain after administration of Mahangeuigam-Tang in mice

Groups	Sites	Orexin	Leptin	Serotonin	NPY
Control	DR	-	-	+	-
	DM	-	-	-	++
	LH	++	-	-	-
	PVN	-	-	-	-
	Arcuate	-	-	-	++
MHEGT	DR	-	-	++	-
	DM	-	-	-	+++
	LH	+++	-	-	-
	PVN	-	++	-	-
	Arcuate	-	-	-	+++

MHEGT; Mahangeuigam-Tang, DR: dorsal raphe nucleus, DM: dorsomedial hypothalamic nucleus, LH: lateral hypothalamic nucleus, PVN: paraventricular hypothalamic nucleus, Arc: arcuate nucleus.

고찰

비만증은 높은 유병율, 심각하고 다양한 여러 질병들과의 연관성, 경제적인 측면때문에 대부분의 산업화 된 국가에서 중요한 의학적인 문제가 되고 있는 만성적 질환이다. 비만은 체내의 지방조직이 과다하게 증가된 상태에서 인체의 여러 부분에 축적되는데, 특히 피하나 장간막에 많이 축적되므로 일종의 병리적인 현상으로 인식되고 있다²⁶⁾. 비만은 심리적으로나 사회적으로 개인의 사회활동을 위축시킬 뿐만아니라 불안, 우울증 등 심리적 장애를 나타내기도 하고 당뇨병, 심혈관질환, 뇌졸중 등과 같은

성인병의 위험인자로 알려져 있다²⁶⁾.

최근에는 체중 조절 기전에 대한 이해의 폭이 커짐에 따라 비만치료제 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 비만은 잘못된 섭식과 서구화된 생활습관으로 인한 신체활동의 감소가 근본적인 유발 원인이라는 것을 고려할 때 생활 습관 개선이 기본적인 예방과 치료에 필수적이며, 이와 더불어 안전하고 효과적인 약물요법이 병행되어야 할 것이다.

본 연구에 사용된 麻杏薏甘湯은 金匱要略¹⁶⁾에 一身盡疼, 發熱 日晡所劇者 名風濕 此病傷于汗出當風, 或久傷飲冷所致也 可與麻黃杏仁薏苡甘草湯 이라 수록되었으며, 효능은 發汗解表, 祛風利濕이며, 主治는 外感風濕, 惡寒發熱, 身體重痛, 舌苔白膩, 脈濡²⁷⁾, 一身盡疼. 發熱, 日晡所劇者로서²⁸⁾ 風濕으로 인한 여러 질환에 사용되어 왔다.

근래에는 마행의감탕의 약재 구성 중 마황, 의이인, 감초는 비만치료에 사용되는 빈도가 매우 높으므로²⁹⁾, 본 연구에서는 風濕으로 인한 질환의 치료에 사용된 마행의감탕의 처방을 정상 생쥐에 4주간 경구투여한 후 위, 췌장, 뇌에서 비만관련 인자들의 변화를 면역조직화학 염색법에 의하여 관찰하고자 하였다.

麻杏薏甘湯의 구성 약재 중 麻黃은 麻黃科에 속한 다년생 초본으로 辛 微苦 溫無毒하며 發汗解表 宣肺平喘 利水退腫의 효능을 지니는 發散風寒藥이다³⁰⁾. 마황과 비만과의 관계에 대한 연구는 강 등³¹⁾은 마황이 고지혈증에 유의한 효과가 있다고 하였고, 조³²⁾ 등은 마황의 에탄올 추출물이 cholesterol esterase에 강한 저해활성을 보여 식이 중 콜레스테롤의 흡수를 저해한다고 보고하였고, Buemann 등³³⁾도 마황의 ephedrine이 식욕을 감퇴시킨다고 보고하였다. 薏苡仁은 울무의 種仁으로서 甘淡涼無毒하고 健脾滲濕 除痺止瀉 清熱排膿의 효능이 있으며 痰熱을 다스리는 利水滲濕藥이다³⁴⁾. 薏苡仁은 利水滲濕藥으로서 인슐린성 물질을 함유하고 있다고 보고(인슐린성물질)하였다³⁵⁾.

음식을 섭취한 후 내장의 영양소들은 음식섭취를 줄이기 위하여 뇌의 식욕중추에 신호를 보내서 음식섭취를 억제하는데, 최근의 연구에 의하면 ghrelin은 식욕을 촉진하고, glucagon like peptide-1, peptide YY, pancreatic polypeptide는 식욕을 억제한다³⁶⁾. Glucagon-like peptide 1, glucose-dependent insulinotropic polypeptide(GIP), cholecystokinin, gastrin과 같은 위장관 호르몬은 영양소의 섭취, 소화작용, 인슐린 분비, 포만감, 췌도내 β-cell의 용적에 반응하여 분비된다³⁷⁾.

Gastrin은 십이지장과 유문의 점막에 있는 G세포에서 분비되어 음식섭취시 위의 장크롬친화성세포로부터 히스타민을 방출하여 위산분비를 자극하는 주요 매개자로서 위장관도에서 세포의 성장과 분화를 촉진한다³⁸⁾. Gastrin은 구조적으로 cholecystokinin과 같은 호르몬으로서 췌장과 위에서 세포성장을 촉진하며, 특히 췌도내 내분비세포의 분비기능과 발달을 촉진시킨다고 하였다³⁹⁾. 본 실험의 gastrin에 대한 면역염색 반응 세포의 숫적변화는 마행의감탕을 투여한 군의 유문에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였고, 면역염색 반응도 대조군에 비하여 강하게 관찰되어 마행의감탕은 위장관도와 췌도의 기능을 활성화할 것으로 사료되었다.

CGRP는 상부 위장관도에서 감감신경섬유의 표지자로서 위산분비 증가에 의한 위 보호효과, 국소적인 혈관확장 시 위의 항상성 유지, 췌장의 β 세포의 기능을 조절한다⁴⁰⁾. Zelissen 등⁴¹⁾은 고지방 식사시 혈장내 CGRP level이 증가하므로 고지방 음식을 많이 섭취하는 비만환자와 CGRP 분비의 증가와의 관련성을 보고 하였다. 본 실험의 위의 유문에서는 마행의감탕 투여군이 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였고, 면역염색의 반응도 대조군에 비하여 매우 강하게 관찰되어, 마행의감탕은 위산분비의 증가에 의한 위 보호효과, 위의 항상성 유지, 췌장의 β 세포의 기능을 조절할 것으로 사료되었다.

Ghrelin은 위(stomach)에서 합성되는 순환호르몬으로서⁴²⁾, 성장호르몬분비 수용체와 결합하는 내인성 신호분자로서 활활핵, 다른 시상하부핵 및 뇌줄기에서 발현된다^{43,44)}. 사람과 흰쥐에 ghrelin을 주입하면 강력하게 음식섭취를 촉진시키며^{45,46)}, 만성적으로 ghrelin을 투여하면 음식섭취량의 증가에 의하여 체중을 증가시키는데, 이러한 체중의 증가는 증가된 음식 섭취량 이외에도 에너지소비의 감소에 의하여 야기된다고 하였다⁴⁷⁾. 본 실험에서 음식섭취를 촉진하는 ghrelin에 대한 면역염색 반응을 나타낸 세포의 숫적변화는 위의 유문, 분문 및 체부에서 마행의감탕 투여군이 대조군에 비하여 유의성있게 감소하여 본 실험의 마행의감탕은 음식섭취를 감소시켜 체중을 감소시킬 것으로 사료되었다. Glucagon like peptide(GLP)-1은 내장과 뇌에서 생산되며⁴⁸⁾, 음식섭취에 반응하여 소화관으로부터 순환계에 방출되며, 말초에서는 인슐린 방출을 자극한다⁴⁹⁾. GLP-1의 수용체는 뇌줄기, 활활핵, 뇌실결핵이며 음식섭취를 강력하게 억제하며⁵⁰⁾, 사람에서 GLP-1은 위배출시간을 감소시켜 음식섭취에 영향을 미친다⁵¹⁾. 본 실험에서 GLP-1에 대한 위에서의 면역염색 반응은 대조군에 비하여 마행의감탕 투여군에서는 관찰할 수 없었으며, 췌장의 췌도내에서는 대조군에서는 매우 강하게 다수의 세포가 관찰되었으나 마행의감탕 투여 군에서는 췌도 주변에 소수의 세포만이 관찰됨으로써 마행의감탕이 음식섭취를 억제하여 GLP-1의 분비를 억제 할 것으로 사료되었다.

중추신경계내 시상하부, 미주신경등쪽핵 및 활활핵은 식욕을 통합 조절하는 중추로서, 이들 신경세포에는 내장호르몬에 대한 수용체가 있어 순환하고 있는 여러 가지 인자들에 직접 반응한다⁵²⁾. 또한 식욕을 억제하는 proopiomelanocortin에 발현하는 신경세포와 식욕을 촉진하는 NPY에 발현하는 신경세포들이 위치하고 있으며, 음식섭취의 조절과 관련된 중요한 뇌실결핵과 다른 핵들에 투사하거나, 가쪽시상하부핵, 뇌줄기, 편도핵 등으로부터 여러 가지 정보를 받고있다^{53,54)}.

여러 가지 실험적 연구에 의하면 섭식행동에 영향을 주는 부위는 시상하부의 배쪽안쪽시상하부핵, 등쪽안쪽시상하부핵, 뇌실결핵, 가쪽시상하부핵이라고 하였다⁵⁵⁾.

시상하부의 신경핵들은 음식섭취와 에너지 소비를 조절하는 중추신경계내 중요한 신경로를 조절하기위하여 지방축적과 칼로리 섭취와 같은 말초신호들을 통합조절하는데, 이러한 신경로 중 시상하부의 신경세포에서 식욕과 관련된 neuropeptide Y(NPY), agouti-related protein(AgRP), orexin 및 leptin 등을 방출하여 식

욕을 조절한다⁵⁶⁾.

식욕관련 인자 중 orexin은 가쪽시상하부핵에 있는 신경세포에서 분비되는 식욕유발 신경펩타이드로서⁵⁷⁾ 음식을 찾는 행동에 대한 흥분을 조절한다⁵⁸⁾. Orexin을 분비하는 신경세포는 serotonin을 분비하는 신경세포 종말에 의하여 치밀하게 둘러싸여있고, serotonin에 반응하여 과분극을 야기한다⁵⁹⁾. 본 실험에서 orexin에 대한 면역염색 반응은 마행의감탕 투여군의 가쪽시상하부핵에서 대조군에 비하여 면역염색 강도는 강하게 관찰되었다.

렙틴(leptin)은 비만유전자(ob gene)의 산물로 지방세포에서 분비되며, 중요한 에너지 균형조절인자로서 체지방에 비례하여 증가한다⁶⁰⁾. 렙틴은 혈액-뇌장벽(blood-brain barrier)을 지나 시상하부의 활꼴핵에서 식욕을 억제하거나 식욕억제 관련 neuropeptide를 자극하여 음식섭취를 억제한다^{61,62)}. 본 실험의 렙틴에 대한 면역염색반응은 마행의감탕 투여군의 뇌실결핵에서 대조군에 비하여 강하게 염색되어 마행의감탕은 식욕을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

Serotonin(5-HT)은 내장신경계와 중추신경계에서 합성되는 생체아민으로서 중추신경계내 신경축을 통하여 방출하여 신경전달물질을 조절하는 기능을 한다. 뇌에서 serotonin의 분비가 증가하면 에너지소비를 증가시켜 음식섭취와 체중증가를 억제하고, 지나치게 감소하면 음식섭취를 촉진시켜 체중증가를 초래한다⁶³⁾. 본 실험의 serotonin에 대한 면역염색 반응은 마행의감탕 투여군의 중뇌 등쪽솔기핵에서는 대조군에 비하여 강하게 관찰되어 마행의감탕은 에너지소비를 증가시켜 음식섭취와 체중증가를 억제할 것으로 사료되었다.

NPY는 뇌줄기와 활꼴핵에서 생산되어 섭식자극과 관련된 뇌실결핵과 주위 영역에 방출한다^{64,65)}. 활꼴핵은 식욕유발 peptide인 NPY와 식욕억제 peptide인 αMSH를 분비하는 신경세포가 매우 풍부하며⁶⁶⁾, 혈액-뇌장벽(blood-brain barrier)이 없기 때문에 순환 중인 부신흔르몬, 성호르몬, 그 외의 뇌척수액에 전달된 leptin, insulin, peptide와 같은 말초 신호분자들과 직접 교통한다⁶⁷⁾. 본 실험의 NPY에 대한 면역염색 반응은 마행의감탕 투여군의 등쪽안쪽시상하부핵과 활꼴핵에서 대조군에 비하여 약간 강하게 관찰되었다.

이상의 실험결과로 마행의감탕은 위장관에서 위장관의 기능 활성화와 관련된 gastrin과 CGRP의 면역염색 반응의 증가와 음식섭취를 촉진하는 ghrelin의 분비를 억제하였고, 음식섭취 억제에 의한 GLP-1과 insulin의 분비를 억제하였다. 또한 뇌에서도 음식섭취를 억제하는 serotonin과 leptin의 분비를 촉진시켜 식욕을 억제할 것으로 사료되어 마행의감탕은 식욕억제 기능에 의한 비만치료 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 추후에 처방을 구성하는 개별 약제에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료되었다.

결 론

마행의감탕을 정상 생쥐에 4주간 투여한 후 위, 췌장, 뇌에서 비만관련 인자들의 변화를 면역조직화학 염색법에 의하여 관

찰한 결과는 다음과 같다. 마행의감탕은 대조군에 비하여 유의성 있는 체중 감소 효과를 나타내었고, 위장관도에서 위산분비와 위장관도의 기능을 활성화시키는 gastrin과 CGRP에 대한 면역염색 된 세포의 수를 증가시켰다. 마행의감탕은 위장관도에서 음식섭취를 촉진시키는 ghrelin에 대한 면역염색 된 세포의 수를 감소시켰다. 마행의감탕은 위장관도에서 음식섭취의 억제와 인슐린 방출을 자극하는 glucagon like peptide(GLP)-1에 대한 면역염색 반응을 관찰할 수 없었으며, 면역염색된 세포의 수도 감소시켰다. 마행의감탕은 췌장에서 혈당을 낮추어주는 인슐린 호르몬에 대한 면역염색 반응을 약하게 하였다. 뇌에서 마행의감탕은 가쪽시상하부핵에서 식욕유발 peptide인 orexin에 대한 면역염색 반응은 약간 강하였고, 등쪽안쪽시상하부핵과 활꼴핵에서 NPY에 대한 면역염색 반응도 약간 강하였다. 마행의감탕은 중뇌의 등쪽솔기핵에서 음식섭취를 억제하는 serotonin에 대한 면역염색 반응과 시상하부의 뇌실결핵에서 음식섭취를 억제하는 leptin에 대한 면역염색 반응은 강하였다. 이상의 실험결과로 마행의감탕은 위, 췌장 그리고 뇌의 섭식중추에서 음식섭취 억제와 관련된 인자들의 활성을 촉진하고, 식욕촉진 관련 인자들의 활성을 억제하여 비만을 억제할 것으로 사료되었다.

감사의 글

이 논문은 2012학년도 우석대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. WHO, Obesity, 2008.
2. Field, A.E., Coakley, E.H., Must, A., Spadano, J.L., Laird, N., Dietz, W.H., Rimm, E., Colditz, G.A. Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. Arch Intern Med 161: 1581-1586, 2001.
3. Must, A., Spadano, J., Coakley, E.H., Field, A.E., Colditz, G., Dietz, W.H. The disease burden associated with overweight and obesity. JAMA 282: 1523-1529, 1999.
4. Polesel, J., Zucchetto, A., Montella, M., Dal Maso, L., Crispo, A., La Vecchia, C., Serraino, D., Franceschi, S., Talamini, R. The impact of obesity and diabetes mellitus on the risk of hepatocellular carcinoma. Ann Oncol 20: 353-357, 2009.
5. Hu, G., Jousilahti, P., Nissinen, A., Antikainen, R., Kivipelto, M., Tuomilehto, J. Body mass index and the risk of Parkinson disease. Neurology 67: 1955-1959, 2006.
6. Whitmer, R.A., Gunderson, E.P., Quesenberry, C.P. Jr., Zhou, J., Yaffe, K. Body mass index in midlife and risk of Alzheimer disease and vascular dementia. Curr Alzheimer Res 4: 103-109, 2007.

7. 대한비만학회, 임상비만학. 서울: 고려의학. pp 19, 20, 191-200, 221-226, 303-311, 417-425, 2001.
8. Druce, M., Bloom, S.R. The regulation of appetite. Arch Dis Child 91: 183-187, 2006.
9. Yanovski, S.Z., Yanovski, J.A. Obesity. N Engl J Med 346: 591-602, 2002.
10. 김철희. 비만의 약물치료. 임상당뇨병 9: 173-177, 2008.
11. 이재성, 이성현. 한방치료의 체지방 및 복부비만 감소효과. 대한한방비만학회지 1: 33-42, 2001.
12. 홍원식. 교합편찬. 정교황제내경. 서울, 동양의학연구원 출판부, p 61, 1974.
13. 趙金譯 주편. 중의증상감별진단학. 북경, 인민위생출판사, p 43, 1987.
14. 虞天民. 醫學正傳, 서울, 정보사, p 75, 1986.
15. 李梴. 편주 醫學入門, 서울, 대성문화사, 외집 1권, p 323, 권2, p 108, 1974.
16. 張仲景. 金匱要略方論, 서울, 정보사 p 21, 35, 70, 1985.
17. 中醫研究員 주편. 中醫症狀鑑別診斷學, 북경, 인민위생출판사, p 43, 1987.
18. 유은주, 서병관, 남상수, 강성길. 고지방식으로 유도된 비만 생쥐에서 창출약침의 항비만효과. 대한침구학회지 27: 31-42, 2010.
19. 김진혁, 신민섭, 최석우, 송범용, 육태한. 마황천호약침이 비만에 미치는 영향. 대한침구학회지 26: 77-83, 2009.
20. 정지윤, 김종인, 이상훈, 강성길. 전침이 복부비만 성인의 비만관련 지표에 미치는 영향 - 무작위배정 단일 맹검 예비연구. 대한침구학회지 27: 43-57, 2010.
21. 윤태숙, 성윤영, 장자영, 양원경, 지윤의, 김호경. 목향 추출물의 항비만 활성 효과. 한국약용작물학회지 18: 151-156, 2010.
22. 기성식, 이영종. 방기황기탕 및 방기복령탕이 고지혈증 흰쥐에 미치는 영향. 대한본초학회지 20: 149-157, 2005.
23. 양동혁, 김재현, 정종길, 정현우, 최찬현. 태음조위탕과 태음조위매황탕이 비만 흰쥐에 미치는 영향. 대한본초학회지 25: 103-109, 2010.
24. 노의준, 강한은. 古方類聚, 서울, 도서출판 고방, p 306, 833, 2009.
25. Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. J Histochem Cytochem 29: 577-580, 1981.
26. 대한비만학회. 임상비만학, 서울, 고려의학, pp 184-189, 1995.
27. 彭懷仁. 中華醫方精選辭典, 上海, 上海科學技術文獻出版社出版局, p 600, 1998.
28. 謝鳴. 中醫方劑現代研究, 北京, 學苑出版社, pp 44, 1440-1442, 1997.
29. 황미자, 신현대, 송미연. 2000년 이후 비만치료에 사용되는 처방 및 본초에 대한 문헌연구-마황을 중심으로. 대한한방비만학회지 7: 39-54, 2007.
30. 전국한의과대학본초학교수공편. 본초학, 서울, 영림사, pp 306-308, 1998.
31. 강자돈. 마황, 마황합녹차 약침이 고지혈증 유발백서에 미치는 영향. 동신대학교 석사학위논문. 2003.
32. 조은정, 류병호, 송병권, 이태호, 서관길, 류성호, 김희숙. 마황으로부터 추출 cholesterol esterase 저해물질 분리 및 규명. 한국식품영양과학회지 28: 816-821, 1999.
33. Buemann, B., Marckmann, P., Christensen, N.J., Astrup, A. The effect of ephedrine plus caffeine on plasma lipids and lipoproteins during a 4.2MJ/day diet. International J Obesity 18: 329-332, 1994.
34. 전국한의과대학본초학교수공편. 본초학, 서울, 영림사, pp 121-123, 1991.
35. 김종욱, 최용휴, 주영승, 박신민, 이미영, 김호경, 김홍준, 고병섭. 의이인이 3T3-L1 adipocyte에서 인슐린성 작용과 인슐린 민감성에 미치는 영향. 대한한의학회지 23: 83-91, 2002.
36. Näslund, E., Hellström, Per M. Appetite signaling: From gut peptides and enteric nerves to brain. Physiology & Behavior 92: 256-262, 2007.
37. Lavine, J.A., Attie, A.D. Gastrointestinal hormones and the regulation of β -cell mass. Ann N Y Acad Sci 1212: 41-58, 2010.
38. Dockray, G., Dimaline, R., Varro, A. Gastrin: old hormone, new functions. Pflugers Arch 449: 344-355, 2005.
39. Rehfeld, J.F. Incretin physiology beyond glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide: cholecystokinin and gastrin peptides. Acta Physiol (Oxf). 201: 405-411, 2011.
40. Evangelista, S. Role of calcitonin gene-related Peptide in gastric mucosal defence and healing. Curr Pharm Des 15: 3571-3576, 2009.
41. Zelissen, P.M., Koppeschaar, H.P., Lips, C.J., Hackeng, W.H. Calcitonin gene-related peptide in human obesity. Peptides 12: 861-863, 1991.
42. Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature 402: 656-660, 1999.
43. Guan, X.M. Yu, H., Palyha, O.C., McKee, K.K., Feighner, S.D., Sirinathsinghji, D.J., Smith, R.G., Van der Ploeg, L.H., Howard, A.D. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. Brain Res Mol Brain Res 48: 23-29, 1997.
44. Katayama, M., Nogami, H., Nishiyama, J., Kawase, T., Kawamura, K. Developmentally and regionally regulated expression of growth hormone secretagogue receptor mRNA in rat brain and pituitary gland. Neuroendocrinology 72: 333-340, 2000.

45. Wren, A.M., Small, C.J., Abbott, C.R., Dhillon, W.S., Seal, L.J., Cohen, M.A., Batterham, R.L., Taheri, S., Stanley, S.A., Ghatei, M.A., Bloom, S.R. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5992, 2001.
46. Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y., Kojima, M., Matsuo, H., Kangawa, K., Matsukura, S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409: 194-198, 2001.
47. Hewson, A.K., Tung, L.Y., Connell, D.W., Tookman, L., Dickson, S.L. The rat arcuate nucleus integrates peripheral signals provided by leptin, insulin, and a ghrelin mimetic. *Diabetes* 51: 3412-3419, 2002.
48. Holst, J.J. Enteroglucagon. *Annu Rev Physiol* 59: 257-271, 1997.
49. Kreymann, B., Williams, G., Ghatei, M.A., Bloom, S.R. Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet* 2: 1300-1304, 1987.
50. Turton, M.D., O'Shea, D., Gunn, I., Beak, S.A., Edwards, C.M., Meeran, K., Choi, S.J., Taylor, G.M., Heath, M.M., Lambert, P.D., Wilding, J.P., Smith, D.M., Ghatei, M.A., Herbert, J., Bloom, S.R. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 379: 69-72, 1996.
51. Naslund, E., Gutniak, M., Skogar, S., Rössner, S., Hellström, P.M. Glucagon-like peptide 1 increases the period of postprandial satiety and slows gastric emptying in obese men. *Am J Clin Nutr* 68: 525-530, 1998.
52. Schwartz, M.W., Woods, S.C., Porte, D. Jr., Seeley, R.J., Baskin, D.G. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404: 661-671, 2000.
53. Kalra, S.P., Dube, M.G., Pu, S., Xu, B., Horvath, T.L., Kalra, P.S. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 20: 68-100, 1999.
54. Cone, R.D., Cowley, M.A., Butler, A.A., Fan, W., Marks, D.L., Low, M.J. The arcuate nucleus as a conduit for diverse signals relevant to energy homeostasis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25(Suppl. 5):S63-S67, 2001.
55. Luiten, P.G., ter Horst, G.J., Steffens, A.B. The hypothalamus, intrinsic connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and metabolism. *Prog Neurobiol* 28: 1-54, 1987.
56. Simpson, K.A., Niamh, M., Martin, N.M., Bloom, S.R. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arq Bras Endocrinol Metab* 53: 120-128, 2009.
57. Nambu, T., Sakurai, T., Mizukami, K., Hosoya, Y., Yanagisawa, M., Goto, K. Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res* 827: 243-260, 1999.
58. Saper, C.B. Staying awake for dinner: hypothalamic integration of sleep, feeding, and circadian rhythms. *Prog Brain Res* 153: 243-252, 2006.
59. Muraki, Y., Yamanaka, A., Tsujino, N., Kilduff, T.S., Goto, K., Sakurai, T. Serotonergic regulation of the orexin/hypocretin neurons through the 5-HT1A receptor. *J Neurosci* 24:7159-7166, 2004.
60. Thomas, T., Burguera, B., Melton L.J. 3rd, Atkinson, E.J., O'Fallon, W.M., Riggs, B.L., Khosla, S. Relationship of serum leptin levels with body composition and sex steroid and insulin levels in men and women. *Metabolism* 49: 1278-1284, 2000.
61. Cowley, M.A. Smart, J.L., Rubinstein, M., Cerdán, M.G., Diano, S., Horvath, T.L., Cone, R.D., Low, M.J. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 411: 480-484, 2001.
62. Wang, L., Martínez, V., Barrachina, M.D., Taché, Y. Fos expression in the brain induced by peripheral injection of CCK or leptin plus CCK in fasted lean mice. *Brain Res* 791: 157-166, 1998.
63. Hamao, M., Matsuda, H., Nakamura, S., Nakashima, S., Semura, S., Maekubo, S., Wakasugi, S., Yoshikawa, M. Anti-obesity effects of the methanolic extract and chakasaponins from the flower buds of *Camellia sinensis* in mice. *Bioorg Med Chem* 19: 6033-6041, 2011.
64. Bai, F.L., Yamano, M., Shiotani, Y., Emson, P.C., Smith, A.D., Powell, J.F., Tohyama, M. An arcuate-paraventricular and -dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y-containing system which lacks noradrenaline in the rat. *Brain Res* 331: 172-175, 1985.
65. Stanley, B.G., Leibowitz, S.F. Neuropeptide Y injected in the paraventricular hypothalamus: a powerful stimulant of feeding behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 3940-3943, 1985.
66. Chronwall, B.M. Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides* 6 [Suppl 2]:1-11, 1985.
67. Smith, A.I., Funder, J.W. Proopiomelanocortin processing in the pituitary, central nervous system, and peripheral tissues. *Endocr Rev* 9: 159-179, 1988.