

GGE_x16, GGE_x18과 減肥通聖膠囊의 항비만유전자 활성 비교

오재호^{1#}, 안예지², 이혜림², 임혜숙¹, 이형희¹, 윤미정¹, 신순식^{2*}

1 : 목원대학교 바이오건강학부 2: 동의대학교 한의과대학 방제학교실 및 한방당뇨비만연구소

Comparison among GGE_x16, GGE_x18 and gambitongseong-capsule for anti-obesity gene activity

Jaeho Oh^{1#}, Ye Ji Ahn², Hye Rim Lee², Hyesook Lim¹, Hyunghee Lee¹, Michung Yoon¹, Soon Shik Shin^{2*}

1 : Dept. of Formula Science and Research Institute of Korean Medicine for Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University

2 : Dept. of Life Sciences, Mokwon University

ABSTRACT

Objectives : Gambigyeongsinhwan 16 (GGE_x16), gambigyeongsinhwan 18 (GGE_x18) and gambitongseong capsule are shown to be involved in the regulation of obesity. Therefore, the aim of this study was to compare the reporter activity of anti-obesity genes such as peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) and PPAR δ by GGE_x16, GGE_x18 and gambitongseong capsule.

Methods : After NMu2Li liver cells, C2C12 skeletal muscle cells and 3T3-L1 preadipocytes were treated with GGE_x16 (1 μ g/ml), GGE_x18 (1 μ g/ml) and different concentrations of gambitongseong capsule, the transactivation of PPAR α and PPAR δ was measured by a luciferase reporter gene assay.

Results : PPAR α reporter gene activity in NMu2Li liver cells and 3T3-L1 preadipocytes was significantly increased by GGE_x16, GGE_x18 and gambitongseong capsule compared with control, whereas PPAR α reporter gene activity in C2C12 skeletal muscle cells was significantly increased by GGE_x18 only compared with control. Similarly, PPAR δ reporter gene activity in 3T3-L1 preadipocytes was also significantly increased by GGE_x18 compared with control. PPAR δ reporter gene activity in C2C12 skeletal muscle cells was significantly increased by GGE_x16 and GGE_x18 compared with control although PPAR δ reporter gene activity in NMu2Li liver cells was not changed by these three formulas.

Conclusions : These results suggest that all three formulas have the ability to stimulate PPAR α and PPAR δ transactivation in animal cell lines with high metabolic rates. In particular, this effects were most prominent in GGE_x18-treated cells. In addition, it is likely that GGE_x18 may be used as an effective anti-obesity composition.

Key words : GGE_x18, gambitongseong-capsule, PPAR α , PPAR δ , obesity

서론

경신강지환16 (GGE_x16)은 麻黃과 昆布로, 경신강지환 18 (GGE_x18)은 麻黃, 昆布와 大黃으로 구성되어 있는 방제이다. 윤기현 등¹⁾의 Ob/Ob 마우스에서 輕身降脂丸18의 비만조절, 이희영 등²⁾의 輕身降脂丸18의 분자생물학적인

비만조절 기전에 관한 연구, 정양삼 등^{3,4)}의 신체부위별 측정변인에 따른 경신강지환16의 비만개선 효과 평가와 생체 전기임피던스 측정법에 의한 경신강지환16의 비만개선 효과 평가에서 GGE_x16과 GGE_x18은 비만조절효과가 있는 것으로 입증되었다.

減肥通聖膠囊 (gambitongseong-capsule, CN1839978A)⁵⁾

* 교신저자 : 신순식, 부산광역시 부산진구 양정2동 산45-1 동의대학교 한의과대학 방제학교실 및 한방당뇨비만연구소

· Tel : 051-850-7414 · Fax : 051-853-4036 · E-mail : ssshin@deu.ac.kr

제1저자 : 오재호, 대전광역시 서구 도안동 800 목원대학교 바이오건강학부

· Tel : 042-829-7581 · Fax : 042-829-7580 · E-mail : kelberoth30@naver.com

· 접수 : 2013년 2월 16일 · 수정 : 2013년 3월 7일 · 채택 : 2013년 3월 22일

은 劉河間의 『黃帝素問宣明論方』卷3에 수재된 防風通聖散⁶⁾에서 防風, 連翹, 甘草와 生薑을 빼고, 枳殼, 苦蔘과 昆布를 넣었으며, 芒硝는 玄明粉으로 바꾸어 넣은 방제이다. 減肥通聖膠囊은 防風通聖散을 기반으로 加減한 방제임을 알 수 있다. 최은미 등⁷⁾의 비만환자에 대한 방풍통성산의 치료효과, 김병우 등⁸⁾의 방풍통성산가미방이 비만유발 백서에 미치는 영향, 황상준 등⁹⁾의 방풍통성산이 고지방사료 식이로 유발된 비만 생쥐에서 비만 유전자 및 관련인자에 미치는 영향, 차민경 등¹⁰⁾의 3T3-L1 cell에서 방풍통성산의 지방세포 분화 억제 효과 연구, 안홍식 등¹¹⁾의 방풍통성산가미방이 비만유발 백서와 지방세포 분화에 미치는 영향에서 방풍통성산은 비만 조절효과가 있는 것으로 입증되어 감비통성교낭도 비만조절효과가 있음을 알 수 있다.

본 연구에서는 GGE_x16, GGE_x18과 CN1839978A 사이에 비만억제효과의 정도를 비교하기 위하여 NMu2Li liver cell, C2C12 skeletal muscle cell 및 3T3-L1 preadipocyte의 동물세포주에서 peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α)와 PPAR δ 의 reporter gene의 발현을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) GGE_x16과 GGE_x18

麻黃, 昆布와 大黃은 화림제약 (Busan, South Korea)에서 구입하고, 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선한 뒤 분말하여 사용하였다. GGE_x16과 GGE_x18은 Table 1에 제시한 배합비율에 맞추어 혼합한 뒤 각 500g을 만들어 증류수 5000cc를 붓고 95℃에서 22시간 동안 추출한 뒤에 이를 여과한 후 Ilshin Programmable Freeze Dryer (Ilshin Lab Co., Ltd., South Korea)를 이용하여 선반온도 40℃ (콘덴서 -70℃), 진공 5mTorr에서 48시간 동안 동결건조하였다 (Table 1).

Table 1. The composition of GGE_x

GGE _x	韓藥名	Ingredient	Ratio (%)
GGE _x 16	麻黃	<i>Ephedra sinica Stapf.</i>	40
	昆布	<i>Laminaria japonica Aresch</i>	60
	Total amounts		100
GGE _x 18	麻黃	<i>Ephedra sinica Stapf.</i>	40
	昆布	<i>Laminaria japonica Aresch</i>	40
	大黃	<i>Rheum palmatum L.</i>	20
Total amounts		100	

2) 減肥通聖膠囊

減肥通聖膠囊의 조성약물은 화림제약 (Busan, South Korea)에서 구입하고, 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선한 뒤 분말하였다. Table 2에 제시한 배합비율에 맞추어 혼합한 뒤 500g을 만들어 증류수 5000cc를 붓고 95℃에서 22시간 동안 추출한 뒤에 이를 여과한 후 Ilshin Programmable Freeze Dryer (Ilshin Lab Co., Ltd., South Korea)를 이용하여 선반온도 40℃ (콘덴서 -70℃), 진공 5mTorr에서 48시간 동안 동결건조하였다 (Table 2).

Table 2. The composition of gambitongseong-capsule (CN1839978A)

韓藥名	Ingredient	Ratio(%)
酒製大黃	<i>Rheum palmatum L. prepared in wine</i>	2.5
麻黃	<i>Ephedra sinica Stapf.</i>	2.5
枳殼	<i>Citrus Aurantium L.</i>	5.5
當歸	<i>Radix Angelicae Sinensis</i>	5.5
白朮	<i>Rhizoma Atractylodis Macrocephalae</i>	5.5
荊芥	<i>Herba Schizonopetae</i>	5.5
白芍藥	<i>Radix Paeoniae Alba</i>	5.5
黃芩	<i>Radix Scutellariae</i>	5.5
玄明粉	<i>Natrii Sulfas Exsiccatus</i>	1.2
梔子	<i>Fructus Gardeniae</i>	7.1
桔梗	<i>Radix Platycodi</i>	5.5
石膏	<i>Gypsum Pibrosum</i>	7.1
苦蔘	<i>Radix Sophorae Flavescentis</i>	13.8
川芎	<i>Ligusticum Wallichii Franch.</i>	5.5
昆布	<i>Laminaria japonica Aresch</i>	13.8
滑石	<i>Talcum</i>	5.5
薄荷	<i>Mentha haplocalyx Briq.</i>	2.5
Total amounts		100

2. 방법

1) NMu2Li 간세포주의 배양과 transient transfection

간세포주인 NMu2Li 세포를 10% FBS, penicillin G (100 U/ml), streptomycin sulfate (100 µg/ml), amphotericin B(0.25 µg/ml)와 2-mercaptoethanol (50 µM) 을 함유한 DMEM 배지에서 배양하였으며, 37℃, 5% CO₂ humidified incubator에서 유지시킨 후 transfection하기 24시간 전에 6 well tissue culture plate에 well 당 4 × 10⁴개의 세포수로 seeding 하였다.

Seeding 24시간 후 transfection을 하기위해 expression plasmid pSG5-mPPAR α , pSG5-mPPAR δ , PPRE3-TK-luciferase repoter plasmid 및 pBSK를 준비하였다. Well당 200 ng의 plasmid가 사용 되었고 lipofectamine reagent (Invitrogen)를 사용하여 transfection 하였다. 반응 5시간 후 배지 1ml을 첨가하고 조성약물을 처리하였다. 약물을 처리한 지 24시간 후 배지를 제거하고 배양한 세포에서 luciferase 활성과 β -galactosidase 활성을 측정하였다 (Fig. 1).

2) C2C12 골격근세포주의 배양과 transient transfection

골격근세포주인 C2C12 세포를 10% FBS, penicillin G (100 U/ml), streptomycin sulfate (100 µg/ml), amphotericin B (0.25 µg/ml), 그리고 2-mercaptoethanol (50 µM)이 포함되어 있는 DMEM 배지에서 배양하였으며, 37℃ 온도와 5% CO₂가 공급되는 습윤한 조건을 유지시킨 후, 6-well tissue culture plate에 well 당 4 X 10⁵개의 세포수로 seeding 하였다.

Seeding 24시간 후 transfection을 하기위해 expression plasmid pSG5-mPPAR α , pSG5-mPPAR δ , PPRE3-TK-luciferase repoter plasmid 및 pBSK를 준비하였다. Well 당 200 ng의 plasmid가 사용 되었고 lipofectamine reagent (Invitrogen)를 사용하여 transfection 하였다. 반응 16시간 후 배지 1ml을 첨가하고 조성약물을 처리하였다. 약물을 처리한 지 24시간 후 배지를 제거하고 배양한 세포에서 luciferase 활성과 β -galactosidase 활성을 측정하였다 (Fig. 2).

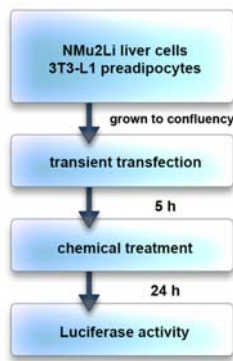


Fig. 1. Schematic illustration of the transient transfection assay in NMu2Li and 3T3-L1 cells.

3) 3T3-L1 지방전구세포주의 배양과 transient transfection

지방전구세포주 3T3-L1 preadipocyte를 10% fetal bovine serum (FBS, Invitrogen, Grand Island, NY, USA), penicillin G (100 U/ml), streptomycin sulfate (100 µg/ml), amphotericin B (0.25 µg/ml)와 2-mercaptoethanol (50 µM)을 함유한 DMEM 배지에서 배양하였으며, 37°C, 5% CO₂ humidified incubator에서 유지시킨 후 6-well tissue culture plate (2×10⁴ cells/well)에 seeding 하였다.

Seeding 24시간 후 transfection을 하기위해 expression plasmid pSG5-mPPAR_α, pSG5-mPPAR_δ, PPRE3-TK-luciferase reporter plasmid 및 pBSK를 준비하였다. Well 당 200 ng의 plasmid가 사용 되었고 lipofectamine reagent (Invitrogen)를 사용하여 transfection 하였다. 반응 5시간 후 배지 1ml을 첨가하고 조성약물을 처리하였다. 약물을 처리한 지 24시간 후 배지를 제거하고 배양한 세포에서 luciferase 활성과 β-galactosidase 활성을 측정하였다 (Fig. 1).

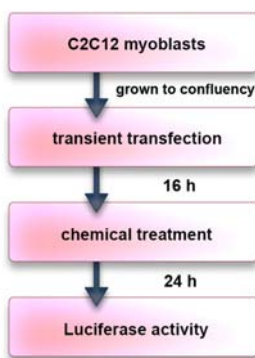


Fig. 2. Schematic illustration of the transient transfection assay in C2C12 cells.

3. 통계분석

모든 값은 mean ± standard deviation (SD)으로 표시하며, SigmaPlot 2001 (SPSS Inc, Chicago, IL)의 unpaired, student's t-test를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

결 과

1. NMu2Li liver cell에서의 PPAR_α 와 PPAR_δ reporter gene 발현

PPAR_α의 경우 vehicle 대조군과 비교하여 GGE_x16, GGE_x18 그리고 0.01 ug/ml CN1839978A 처리로 luciferase activity가 통계적으로 유의하게 증가되었다 (p<0.05, Fig. 3). PPAR_δ의 경우 vehicle 대조군에 비하여 GGE_x와 CN1839978A 처리는 luciferase activity에 변화를 주지 않았다 (Fig. 4).

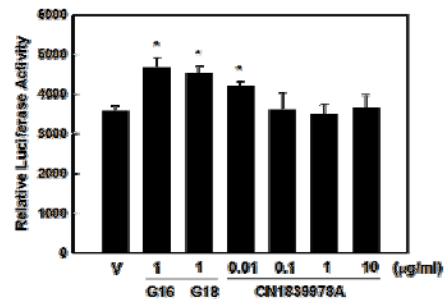


Fig. 3. Regulation of PPAR_α reporter gene expression by GGE_x or CN1839978A in NMu2Li liver cells. Cells were transiently transfected with expression plasmids for PPAR_α, a luciferase reporter gene construct containing 3 copies of the PPRE from the rat acyl-CoA oxidase gene and β-galactosidase gene. Cells were treated with GGE_x or CN1839978A at the initial time of culture. Following incubation for 24 h, cells were harvested, lysed and were subsequently assayed for luciferase and β-galactosidase activities. All values are expressed as the mean ± SD of relative luciferase units/β-galactosidase activity. Experiments were performed at least three times. * p<0.05 Significantly different from vehicle. G16, GGE_x16; G18, GGE_x18; V, vehicle.

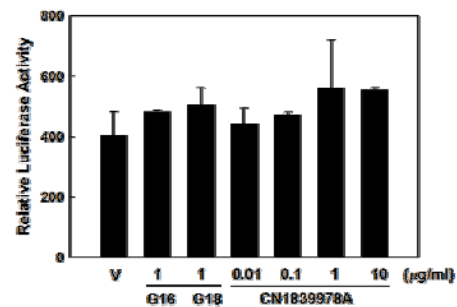


Fig. 4. Regulation of PPAR_δ reporter gene expression by GGE_x or CN1839978A in NMu2Li liver cells. Cells were transiently transfected with expression plasmids for PPAR_δ, a luciferase reporter gene construct containing 3 copies of the PPRE from the rat acyl-CoA oxidase gene and β-galactosidase gene. Cells were treated with GGE_x or CN1839978A at the initial time of culture. Following incubation for 24 h, cells were harvested, lysed and were subsequently assayed for luciferase and β-galactosidase activities. All values are expressed as the mean ± SD of relative luciferase units/β-galactosidase activity. Experiments were performed at least three times. G16, GGE_x16; G18, GGE_x18; V, vehicle.

2. C2C12 skeletal muscle cell에서의 PPAR_α 와 PPAR_δ reporter gene 발현

PPAR_α의 경우 vehicle 대조군과 비교하여 GGE_x18 처

리로 luciferase activity가 통계적으로 유의하게 증가되었다 ($p < 0.05$, Fig. 5). PPAR δ 의 경우 vehicle 대조군에 비하여 GGEx16, GGEx18 처리에 의해 luciferase activity가 통계적으로 유의하게 증가되었다 (Fig. 6).

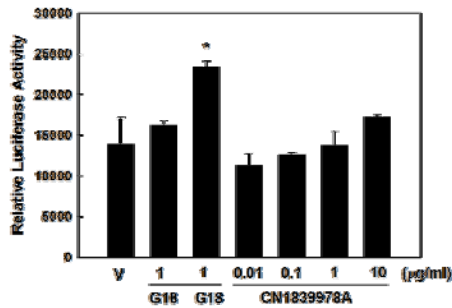


Fig. 5. Regulation of PPAR α reporter gene expression by GGEx or CN1839978A in C2C12 cells, a skeletal muscle myogenic progenital cell line. Cells were transiently transfected with expression plasmids for PPAR α , a luciferase reporter gene construct containing 3 copies of the PPPE from the rat acyl-CoA oxidase gene and β -galactosidase gene. Cells were treated with GGEx or CN1839978A at the initial time of culture. Following incubation for 24 h, cells were harvested, lysed and were subsequently assayed for luciferase and β -galactosidase activities. All values are expressed as the mean \pm SD of relative luciferase units/ β -galactosidase activity. Experiments were performed at least three times. * $p < 0.05$ Significantly different from vehicle. G16, GGEx16; G18, GGEx18; V, vehicle.

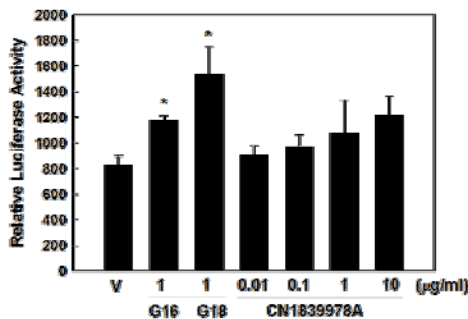


Fig. 6. Regulation of PPAR δ reporter gene expression by GGEx or CN1839978A in C2C12 cells, a skeletal muscle myogenic progenital cell line. Cells were transiently transfected with expression plasmids for PPAR δ , a luciferase reporter gene construct containing 3 copies of the PPPE from the rat acyl-CoA oxidase gene and β -galactosidase gene. Cells were treated with GGEx or CN1839978A at the initial time of culture. Following incubation for 24 h, cells were harvested, lysed and were subsequently assayed for luciferase and β -galactosidase activities. All values are expressed as the mean \pm SD of relative luciferase units/ β -galactosidase activity. Experiments were performed at least three times. * $p < 0.05$ Significantly different from vehicle. G16, GGEx16; G18, GGEx18; V, vehicle.

3. 3T3-L1 preadipocyte에서의 PPAR α 와 PPAR δ reporter gene 발현

PPAR α 의 경우 vehicle 대조군과 비교하여 GGEx16, GGEx18, 모든 농도의 CN1839978A 처리로 luciferase activity가 통계적으로 유의하게 증가 되었다 ($p < 0.05$,

Fig. 7). PPAR δ 의 경우 vehicle 대조군에 비하여 GGEx18 처리에 의해 luciferase activity가 통계적으로 유의하게 증가되었다 ($p < 0.01$, Fig. 8).

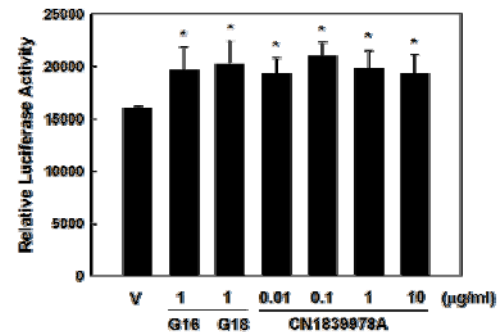


Fig. 7. Regulation of PPAR α reporter gene expression by GGEx or CN1839978A in 3T3-L1 preadipocytes. Cells were transiently transfected with expression plasmids for PPAR α , a luciferase reporter gene construct containing 3 copies of the PPPE from the rat acyl-CoA oxidase gene and β -galactosidase gene. Cells were treated with GGEx or CN1839978A at the initial time of culture. Following incubation for 24 h, cells were harvested, lysed and were subsequently assayed for luciferase and β -galactosidase activities. All values are expressed as the mean \pm SD of relative luciferase units/ β -galactosidase activity. Experiments were performed at least three times. * $p < 0.05$ Significantly different from vehicle. G16, GGEx16; G18, GGEx18; V, vehicle.

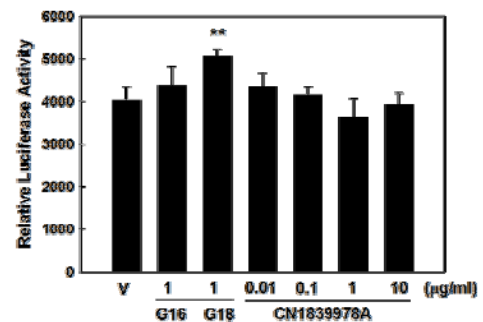


Fig. 8. Regulation of PPAR δ reporter gene expression by GGEx or CN1839978A in 3T3-L1 preadipocytes. Cells were transiently transfected with expression plasmids for PPAR δ , a luciferase reporter gene construct containing 3 copies of the PPPE from the rat acyl-CoA oxidase gene and β -galactosidase gene. Cells were treated with GGEx or CN1839978A at the initial time of culture. Following incubation for 24 h, cells were harvested, lysed and were subsequently assayed for luciferase and β -galactosidase activities. All values are expressed as the mean \pm SD of relative luciferase units/ β -galactosidase activity. Experiments were performed at least three times. * $p < 0.01$ Significantly different from vehicle. G16, GGEx16; G18, GGEx18; V, vehicle.

고 찰

Energy homeostasis는 흡수한 에너지와 소비된 에너지 사이의 정밀한 균형을 나타낸다. 그러나 이러한 균형이 깨지게 되면 비만이나 동맥경화증, 그리고 제 2형 당뇨병과 같은 대사 이상을 일으키는데, PPAR이 energy balance를

조절하는 중요한 인자로 밝혀짐으로써 이 분야의 연구가 활발히 진행 중이다. PPAR는 핵에 존재하는 호르몬 수용체의 한 종류로서 유전자의 활성을 조절하는 전사인자이다. PPAR isotype에는 α , β/δ , γ 세 종류가 있으며, 이들은 조직에 특이적으로 발현됨으로써 서로 다른 생물학적 기능을 나타낸다.

이중 PPAR α 에 대한 연구는 고지혈증 치료제인 fibrate류(예, fenofibrate)가 PPAR α ligand로 밝혀짐으로써 크게 증가되었으며, triglyceride의 혈중 농도를 낮추고 사람의 경우 high density lipoprotein의 농도를 증가시킴으로써 고지혈증 및 심혈관질환의 효과적인 약물로 알려져 있다^{12,13}. 또한 PPAR α -null 마우스들은 시간이 지남에 따라 비만이 되며, fenofibrate는 여러 실험동물의 몸무게를 감소시킴으로써 비만 조절자로서의 가능성을 시사한 바 있다^{14,15}.

PPAR δ 의 연구결과를 보면 C2C12 cell이나 L6 myotube에 PPAR δ agonist를 처리했을 때 지질대사 관련 유전자들의 발현이 증가하고 지방산 산화가 촉진된다^{16,17}. 또한 PPAR δ agonist를 비만마우스에 처리했을 때 지방무게가 감소되고 인슐린 민감성이 향상되었다^{18,19}. 이러한 결과로 보아 PPAR δ 역시 비만을 비롯한 metabolic syndrome의 치료에 유용할 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 비만조절효과가 있는 것으로 알려진 GGEx16, GGEx18과 CN1839978A의 항비만유전자 활성을 비교하고자 NMu2Li liver cell, C2C12 skeletal muscle cell 및 3T3-L1 preadipocyte의 동물세포주에서 PPAR α 와 PPAR δ 의 reporter gene 활성을 조사하였다.

PPAR α luciferase activity의 경우 NMu2Li liver cell에서는 GGEx16, GGEx18 그리고 0.01 ug/ml CN1839978A에 의해 통계적으로 유의하게 증가되었으며, C2C12 skeletal muscle cell에서는 GGEx18에 의해서만 촉진되었다. 또한 3T3-L1 preadipocyte에서는 GGEx16, GGEx18, 모든 농도의 CN1839978A 처리에 의해 통계적으로 유의하게 증가되었다. 이와같은 결과로 보아 GGEx18이 PPAR α reporter gene 발현을 촉진하는데 가장 효과적인 것으로 보인다.

PPAR δ luciferase activity의 경우 NMu2Li liver cell에서는 GGEx16, GGEx18, CN1839978A 모두 영향을 주지 않았다. 그러나 C2C12 skeletal muscle cell에서는 GGEx16과 GGEx18에 의해 촉진되었으며, 그효과는 GGEx18에서 더욱 현저하였다. 3T3-L1 preadipocyte에서는 GGEx18에 의해서만 통계적으로 유의하게 증가되었다. 이와같은 결과로 보아 GGEx18이 PPAR δ reporter gene 발현을 촉진하는 것으로 보인다.

따라서 PPAR α 와 PPAR δ 의 비만조절 작용을 근거로 생각해볼 때 GGEx18은 비만치료제로서의 가능성을 보여준다.

결론

GGEx16, GGEx18과 CN1839978A 사이에 비만억제효과의 정도를 비교하기 위하여 NMu2Li liver cell, C2C12 skeletal muscle cell 및 3T3-L1 preadipocyte의 동물세포

포주에서 PPAR α 와 PPAR δ 의 reporter gene의 발현을 조사하여 다음의 결론을 얻었다.

GGEx18과 CN1839978A는 간세포와 지방전구세포에서 PPAR α reporter gene 발현을 유사하게 증가시켰으며, CN1839978A와 달리 GGEx18은 골격근세포의 PPAR α 와 PPAR δ reporter gene 발현도 통계적으로 유의하게 증가시켰다. 따라서 GGEx18이 CN1839978A에 비하여 PPAR α 와 PPAR δ action을 더욱 효과적으로 촉진할 것으로 생각되며, 궁극적으로 비만억제작용도 더 클 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2012R1A2A2A01004508).

참고문헌

1. Yoon KH, Lee HY, Jung YS, Seo BI, Park GR, Yoon MC, Shin SS. Modulation of obesity by Gyeongshingangjeehwan18 in ob/ob mice. *Kor J Herbology* 2010 ; 25(3) : 1-9.
2. Lee HY, Yoon KH, Seo BI, Park GR, Yoon MC, Shen ZB, Cui HH, Shin SS. Molecular biologic mechanism of obesity by GGEx18. *Kor J Herbology* 2011 ; 26(1) : 65-74.
3. Jung YS, Yoon KH, Choi SB, Yoon MC, Shin SS. Clinical efficacy of Gyeongshingangjeehwan16 according to obesity related to measurement variables. *J Korean Oriental Med Pre.* 2008 ; 16(1) : 169-83.
4. Jung YS, Yoon KH, Choi SB, Yoon MC, Shin SS. Clinical efficacy of Gyeongshingangjeehwan16 according to bioimpedance analysis system. *Journal of Oriental Neuropsychiatry* 2008 ; 19(1) : 71-81.
5. Ge Q, Gao ZL, Liu SS. Fat-reducing facebeautifying medicine. *CN 001839978* (2006.10.04).
6. Liu He Jian. 『hwangjesomunseonmyeongnonbang (Treatise on Explaining Prescriptions from the Emperor's Canon on Medicine)』 volume 3, first edition. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine. 2006 : 24-5.
7. Choi EM, Ryu EK. Effect of Bang-Pung-Tong-Seoung-San on obese patients. *J Korean Med Obes Res.* 2001 ; 1(1) : 1-11.
8. Kim BW, Kim DG. Effects of Bangpoongtongsungsankamibang extract on the obese SD rats induced by 2% cholesterol diet. *J Korean Oriental Ped.* 2007 ; 21(1) : 211-26.
9. Hwang SJ, Song TW, Oh MS. The Inhibitory Effects of Bangpungdongseoung-san on the Obese gene and Obese Inhibitory about Obese-mouse induced by

- High Fat Diet. *J Korean Oriental Med.* 2006 ; 27(1) : 11–22.
10. Cha MK, Lee JY, Kim DG, Lee KT. Effects of Bangpoongtongsungsan on Adipose Tissue and Hyperlipidemia of 3T3–L1 Induced Rats. *J Korean Oriental Ped.* 2006 ; 20(2) : 177–96.
 11. Ahn HS, Lee JY, Kim DG. Anti-obestic Effects of Bangpoongtongsungcankamibang(BTSK) in 3T3–L1 preadipocyte cells and the Lipid Metabolism of Obesity induced Rats. *J Korean Oriental Ped.* 2006 ; 20(1) : 219–40.
 12. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. Role of the peroxisome proliferator–activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res.* 1996 ; 37 : 907–25.
 13. Neve BP, Fruchart JC, Staels B. Role of the peroxisome proliferator–activated receptors (PPARs) in atherosclerosis. *Biochem Pharmacol.* 2000 ; 60 : 1245–50.
 14. Costet P, Legendre C, Moré J, Edgar A, Galtier P, Pineau T. Peroxisome proliferator– activated receptor alpha–isoform deficiency leads to progressive dyslipidemia with sexually dimorphic obesity and steatosis. *J Biol Chem.* 1998 ; 273 : 29577–85.
 15. Chaput E, Saladin R, Silvestre M, Edgar AD. Fenofibrate and rosiglitazone lower serum triglycerides with opposing effects on body weight. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 ; 271 : 445–50.
 16. Muoio DM, MacLean PS, Lang DB, Li S, Houmard JA, Way JM, Winegar DA, Corton JC, Dohm GL, Kraus WE. Fatty acid homeostasis and induction of lipid regulatory genes in skeletal muscles of peroxisome proliferator–activated receptor (PPAR) alpha knock–out mice. Evidence for compensatory regulation by PPAR delta. *J Biol Chem.* 2002 ; 277(29) : 26089–97.
 17. Holst D, Luquet S, Nogueira V, Kristiansen K, Leverve X, Grimaldi PA. Nutritional regulation and role of peroxisome proliferator–activated receptor delta in fatty acid catabolism in skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta.* 2003 ; 1633(1) : 43–50.
 18. Tanaka T, Yamamoto J, Iwasaki S, Asaba H, Hamura H, Ikeda Y, Watanabe M, Magoori K, Ioka RX, Tachibana K, Watanabe Y, Uchiyama Y, Sumi K, Iguchi H, Ito S, Doi T, Hamakubo T, Naito M, Auwerx J, Yanagisawa M, Kodama T, Sakai J. Activation of peroxisome proliferator–activated receptor delta induces fatty acid beta–oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome. *Proc Nati Acad Sci U S A.* 2003 ; 100(26) : 15924–9.
 19. Wang YX, Lee CH, Tjep S, Yu RT, Ham J, Kang H, Evans RM. Peroxisome proliferator– activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell.* 2003 ; 113(2) : 159–70.