

## 황기맥문동탕이 에스트로겐 결핍 Rat의 체중 변화와 비만 관련 유전자 발현에 미치는 영향

대전대학교 한의과대학 부인과교실  
이혜인, 유동열, 유정은

### ABSTRACT

#### Effects of *Hwanggimacmundong-tang* on Body Weight and Gene Expression in Obese Rats with Estrogen Deficiency

Hye-In Lee, Dong-Youl Yoo, Jeong-Eun Yoo  
Dept. of Korean Medicine Obstetrics & Gynecology, College of Korean  
Medicine, Dae-Jeon University

**Objectives:** This study was conducted to assess the effects of *Hwanggimacmundong-tang* extract (HM) on obese rats with estrogen deficiency.

**Methods:** The experiments were performed with ovariectomized rats as estrogen-deficient obesity model. Rats were grouped NC (Normal Control Group: sham operation group), OC (Obesity Control Group: estrogen-deficient group), HML (20 mg/kg/day), HMH (100 mg/kg/day). HM was administered orally for six weeks. Body weights and serum lipid level were measured, and real-time PCR was performed to estimate the effect of HM on gene expression in liver.

**Results:** HM decreased the total cholesterol and triglyceride in serum. And HM increased leptin, CPT1 gene expression in liver tissue of obese rats with estrogen deficiency. However HM decreased PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , HMGCR, CYP8B1, LPL, ACAT1, ACAT2, ApoB, ACOX gene expression in liver tissue of obese rats with estrogen deficiency.

**Conclusions:** It is concluded that HM reduced total cholesterol and triglyceride in serum, and regulate gene expression related to lipid metabolism. These results indicate *Hwanggimacmundong-tang* that might have potential for treatment of obesity and complications during the menopause caused by estrogen-deficiency.

**Key Words:** *Hwanggimacmundong-tang*, Obesity, Menopause, Estrogen-deficiency, Gene Expression

## I. 서 론

비만이란 체내에 지방조직이 과다하게 축적된 상태를 의미한다<sup>1)</sup>. 전세계적으로 매년 최소 280만 명의 사람이 과체중과 비만으로 사망하고 있으며<sup>2)</sup>, 우리나라에서도 생활습관의 서구화로 비만과 그 합병증에 대한 관심이 높아지고 있다. 비만은 당뇨병, 지질대사 이상, 고혈압, 심혈관 질환, 담석증, 퇴행성 관절염, 암 등의 위험도를 증가시키며<sup>1)</sup> 부인과적인 측면에서 비만은 월경이상과 불임증, 자궁내막암등의 빈도를 높인다<sup>3)</sup>.

폐경은 생물학적 개념으로 난포 기능이 소실되어 일어나는 월경의 영구적인 정지를 의미하며, 폐경기에는 성선자극 호르몬에 반응하는 난포의 고갈로 인해 난포 형성과 여성 호르몬인 에스트로겐의 주기적인 생성이 중단된다<sup>3)</sup>. 에스트로겐은 시상하부에서 leptin 분비를 자극하여 음식 섭취를 줄이며, 지방세포에서 지방 축적을 억제하고 분해를 증가시키고, 지방세포 분화를 억제시키는 등의 작용을 한다<sup>4)</sup>. 따라서 폐경이 되면 체내 지방 분포가 변화되고 복부 비만이 증가하여 결국에는 제 2형 당뇨병, 고혈압, 고중성 지방혈증 등의 대사증후군과 심혈관계 질환의 위험이 증가한다<sup>1)</sup>. 특히 폐경이 된 여성이 비만이 있는 경우 유방암 및 생식기암 발병 위험성이 높고 노화와 더불어 각종 질병에 이환되어 있는 경우가 많으므로 비만 치료가 중요하다<sup>5)</sup>.

기존에 국내에서 발표된 한약제재 경구투여가 비만에 미치는 영향을 평가한 동물 실험은 단일성분을 이용한 논문이 13편, 혼합제재를 이용한 논문이 56편으

로, 대부분 고지방식이 또는 유전자 조작으로 비만을 유발한 모델에서 시행되었다<sup>6)</sup>. 한편, 에스트로겐 결핍으로 발생한 비만에 효과가 있는 단미제에 관한 국내 연구는 갈근<sup>7,8)</sup>, 선삼<sup>9)</sup>이 있었고, 혼합제재를 이용한 연구는 찾아보기 어려웠다.

본 연구에 사용한 황기맥문동탕은 갱년기장애와 비만에 사용하는 약재로 구성된 새로운 처방으로 황기, 맥문동, 시호, 생지황, 산수유가 2:1:1:1:1의 비율로 구성되어 있다. 특히 황기<sup>10)</sup>, 맥문동, 시호<sup>11,12)</sup>는 여성호르몬의 천연 대체물질로서 알려져 있는 isoflavone을 함유하고 있어 에스트로겐 부족에 효과가 있으며, 시호<sup>13)</sup>, 생지황<sup>14)</sup>, 산수유<sup>15)</sup>는 혈중 지질과 지방조직에 영향을 주어 체중을 줄이는 효과가 있다. 그러므로 황기맥문동탕이 에스트로겐 결핍으로 발생하는 비만에 효과가 있을 것으로 사료되어 실험을 수행하였다.

이에 본 연구에서는 황기맥문동탕이 난소 제거로 에스트로겐 결핍성 비만이 유발된 rat의 체중과 혈청 중 lipid 함량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol의 함량을 측정하였다. 또한 황기맥문동탕이 비만과 관련된 유전자 발현에 미치는 영향을 측정하기 위하여 간조직에서 leptin, PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , HMGCR, CYP8B1, CYP27, SREBP-1c, LPL, ACAT1, ACAT2, ApoB, CPT1, ACOX, LDLR의 유전자 발현을 측정하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 재 료

#### 1) 약 재

사용한 한약 복합제는 황기맥문동탕으로 황기, 맥문동, 시호, 생지황, 산수유를 각각 2:1:1:1:1로 배합하여 제조하였다. 약재는 대전대학교 둔산한방병원에서 구매한 것을 엄선하여 사용하였다. 추출은 2.4 l의 증류수를 이용하여 100°C로 환류 추출하였으며, 추출물을 여과한 후 동결 건조하여 실험에 사용할 때까지 냉동보관 하였다. 황기맥문동탕 추출물은 이하 HM라 명명하였다(Table 1).

Table 1. The Composition of *Hwanggimacmundong-tang*

Herbal name	Pharmacognostic name	Dose (g)
黃 芪	<i>Astragi Radix</i>	40
麥門冬	<i>Liriopis Tuber</i>	20
柴 胡	<i>Bupleuri Radix</i>	20
生地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	20
山茱萸	<i>Corni Fructus</i>	20
Total		120

#### 2) 동 물

실험동물은 오리엔탈바이오에서 암컷 SD rat를 공급받아 실험실에서 1주일 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공조명설비로 조명시간을 오전 7시부터 오후 7시까지 12시간으로 조절하고, 실내온도는 22°C 내외로 습도는 60% 내외로 유지하였다. 정상군에 투여하는 사료는 고품사료(Samyang Corporation, Korea)로 조단백 21%, 무기질 8.0%, 조셀룰로오즈 5.0%, 조지방 3.5% 등으로 구성되어있다. 급수는 일반 상수도를 사용하였고,

급수와 사료는 제한을 두지 않았다.

### 2. 방 법

#### 1) 비만 동물 실험

##### (1) 에스트로겐 결핍성 비만유도

Rat에 ketamine(Yuhan) 1 ml/kg를 근육 주사하여 전신마취를 시킨 후 복부의 털을 제거하였다. 70% EtOH를 사용하여 수술부위를 소독한 후 피부, 복근, 복막을 1 cm 정도 절개한 후 난소를 절제하고 다시 봉합하였다. 정상군은 난소 절제수술과 같은 방법으로 rat의 복막 절개까지만 시행하고, 난소 적출은 하지 않고 재봉합하는 모의수술(sham operation)을 시행하였다.

##### (2) 실험군 설정 및 약물 투여

실험은 4개의 군으로 나누어 실시하였다. 즉, (1) 복막 절개 후 난소 적출을 시행하지 않은 모의수술 정상군(NC) (2) 난소 적출 후 약물을 투여하지 않은 실험대조군(OC) (3) 난소 적출 후 HM을 20 mg/kg씩 경구로 투여한 군(HML) (4) 난소 적출 후 HM을 100 mg/kg씩 경구로 투여한 군(HMH)으로 나누었다. 실험에 사용한 동물은 NC와 OC는 10마리, HML과 HMH는 8마리씩으로 하였다. 투여한 약물은 동결건조 추출을 200 mg/ml이 될 수 있도록 생리식염수에 녹여서 1일 1회씩 6주간 투여하였다. 마지막 투여 24시간 후에 rat를 희생시켜 장기와 혈액을 취하고, 장기는 분리한 즉시 질소 탱크에 넣었다가 -80°C로 보관하였다.

##### (3) 체중 측정

체중은 실험동물용 체중계(Ohaus, Korea)로 측정하였다.

##### (4) 혈청 지질 함량 측정

약물을 투여하고 24시간 후 채혈하여 3000 rpm으로 10분간 원심분리를 시행하여 상층을 20  $\mu$ l씩 취하였다. Total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol 함량은 영동제약에서 구입한 키트를 사용하여 측정하였다.

## 2) 유전자 발현 실험

### (1) 총 RNA 분리

Rat에서 얻은 간조직을 PBS에 넣고 균질화한 후, 1 ml의 TRIzol reagent(Invitrogen, USA)를 가하여 총 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA 용액에 200  $\mu$ l의 chloroform : isoamylalcohol(24:1)을 넣고 섞어 14,000 rpm으로 원심 분리하여 그 중 상층액 500  $\mu$ l를 분리하였다. 0.5 ml isopropyl alcohol을 넣어 영하 20°C로 하룻밤동안 RNA를 침전시킨 후 1,400 rpm으로 20분 동안 원심분리를 실시하였다. 상층액을 버린 다음 70% 에탄올로 세척하여 자연 건조시켰다. RNase free water에서 RNA를 녹인 다음 RNase-free DNase를 넣어 -70°C에서 저장하였다.

### (2) cDNA 제조

대조군과 실험군에서 각각 분리한 1  $\mu$ l의 total RNA액에 RNase free water 3  $\mu$ l와 oligo dT(농도 100 pmol) 1  $\mu$ l를 넣고 조심스럽게 혼합한 후, 65°C에서 10분간 incubation하였다. Primer가 annealing 되도록 4°C에서 약 5분간 방치한 후, reverse transcriptase(M-MLV 200 U/ $\mu$ l), dNTP, reverse transcriptase buffer(각 2.5 mM), RNase inhibitor, DTT(100 nM)을 첨가한 다음, 아주 조심스럽게 혼합하였다. 이 후, 42°C에서 90분간 incubation 하고 95°C에서 5분간 처리한 다음 사용했다.

### (3) Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction(RT-PCR)

Oligo(dT) primer(Promega, Cat.No. C1101), reaction buffer(50 mM Tris-HCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 75 mM KCl, 10 mM DTT, pH 8.3)(Promega, Cat.No. M1705), 200 unit M-MLV-RT(Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase)(Promega, Cat.No. M1705)와 1 mM dNTP(Promega, Cat.No. U1515)를 분리한 RNA에 처리해 역전사를 시행하여 cDNA를 합성하였다. PCR은 총 volume 25  $\mu$ l에 0.2 mM dNTPs, 10XPCR buffer, 2 pmole의 sense와 antisense primer를 넣은 혼합액에 1.25 unit의 Taq polymerase(Promega, Cat.No. M8295)와 cDNA를 투입하여 PCR을 실시하였다. PCR 조건은 94°C에서 4분, 30 cycles의 [94°C(20초), 54°C(20초), 72°C(30초)], 72°C 10분으로 하였다(Perkin Elmer, USA). 증폭된 PCR의 산물은 2% agarose gel에서 전기영동 하였다. 전기영동 후 나온 band는 density 분석 프로그램 Gel-Pro analyzer 3.1(Media Cybernetics, USA)을 활용하여 처리하였다. RT-PCR에 사용한 primer는 아래와 같다(Table 2).

### (4) Real time RT-PCR

각각의 optical tube(MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode and Optical Adhesive Films, Applied Biosystems, Cat. No. 4314320)에 3배의 SybrGreen Mix 2.5  $\mu$ l(Sigma-Aldrich, Cat.No. S9430)과 위에서 합성한 각각 2.5 mM의 dNTP 2  $\mu$ l, cDNA 1  $\mu$ l, Tag Polymerase 0.3  $\mu$ l, 10XTag polymerase buffer 2.5  $\mu$ l, 10 pmol/ $\mu$ l primer pair mix 1  $\mu$ l와 H<sub>2</sub>O 14.7  $\mu$ l를 넣고, 95°C 5분 1 cycle 후 95°C 30초, 45°C 30초, 72°C 60초로 40 cycles, 95°C 20분 1 cycle로 증폭시켰다. Primer는 RT-PCR에 사용한

것을 활용하였다. PCR을 마치고 tube를 꺼낸 다음, 반응액 5  $\mu$ l를 이용하여 3% agarose gel에서 PCR specificity를 측정하였으며, ABI PRISM® 7000 Sequence

Detection System(Applied Biosystems, Cat.No. 4349157)을 사용해 real time PCR의 결과를 분석하였다.

Table 2. Primer Sequence Used for RT-PCR

Target gene	Forward (5'-3')
	Reverse (5'-3')
ACAT1	ATGTGGGAAGTAAATGAAGC AAATACTAGCCAGACCGAAT
ACAT2	CGGTCATGCTGATCCTCTTT GTGTCAACCAGCTCCCAAAT
ACOX	ACTATATTTGGCCAATTTTGTG TGTGGCAGTGGTTCCAAGCC
ApoB	TTGACACACTGAAGTTCCTA ACATCAAACCCTGGTATTAG
CPT1	TATGTGAGGATGCTGCTTCC CTCGGAGAGCTAAGCTTGTC
CYP27	CTCAAGAGACTGTCGGCAC CTTCTGGATCTCTGGGTT
CYP8B1	ATGAAGGCTGTGCGAGAG TCTCTCCATCACGCTGTC
HMGCR	GCTGGTGAGTTGTCCTTGAT CTTCTTGGTGCATGTTCCCT
LDLR	CTTGCCCTGATGGTATGCTA CTTGCGCTTCAGTGACACA
Leptin	GACACCAAACCCTCAT CAGTGTCTGGTCCATCT
LPL	GCCCAGCAACATTATCCAGT AGCAGCATGGGCTCCAAGA
PGC-1 $\alpha$	GAAGCGGGAGTCTGAAAGG GTAAATCACACGGCGCTCTT
PPAR $\gamma$	TCGGAGGGCTCTGTCATC CATCTGTAAGTGGGGACA
SREBP-1c	GGAGCCATGGATTGCACATT AGGAAGGCTTCCAGAGAGGA

### 3. 통계처리

각 결과는 SPSS v12.0을 사용하여 평균 $\pm$ SEM으로 표시하였다. 결과에 관한 유의성 검증을 위해서 student's t-test를 실시하였으며,  $p < 0.05$ 인 경우 유의성이

있다고 판정하였다.

### III. 결 과

#### 1. 체중의 변화

약물을 투여하고 6주 후 체중을 측정 한 결과, 정상군(NC)은 약 277 g이었고 대조군(OC)은 371 g, 저용량 투여군(HML)은 359 g, 고용량 투여군(HMH)은 348 g

으로 측정되었다.

대조군(OC)은 정상군(NC)에 비해서 유의한 체중증가를 보였으며, 고용량 투여군(HMH)과 저용량 투여군(HML) 모두 대조군보다 체중이 감소하였으나 유의한 차이는 없었다(Fig. 1).

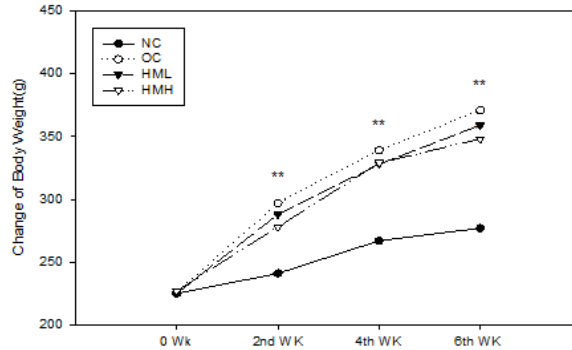


Fig. 1. Effect of HM on change of body weight.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* :  $p < 0.01$ , OC vs NC

#### 2. HM이 혈청 중 lipid 함량에 미치는 영향

1) Total cholesterol 함량에 미치는 영향  
정상군이  $50.1 \pm 13.8$  mg/dl이었으며, 대조군이  $79.3 \pm 13.8$  mg/dl로 정상군보다 유의성 있게 증가하였다. 저용량 투여군은  $78.1 \pm 10.3$  mg/dl로 대조군에 비해서 감소하였으나 유의성은 없었고, 고용량 투여군은  $60.9 \pm 13.1$  mg/dl로 대조군에 비해서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 2).

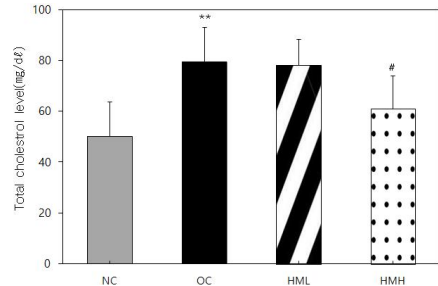


Fig. 2. Effect of HM on the serum total cholesterol level in rats.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* :  $p < 0.01$ , OC vs NC

# :  $p < 0.05$ , OC vs HMH

2) Triglyceride 함량에 미치는 영향

정상군은 54.8±8.9 mg/dl이었으며, 대조군은 117.7±19.8 mg/dl로 정상군에 비해 유의성 있게 증가하였다.

저용량 투여군은 111.6±24.7 mg/dl로 대조군에 비해서 감소하였으나 유의성이 없었고, 고용량 투여군은 94.6±19.7 mg/dl로 대조군에 비해서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 3).

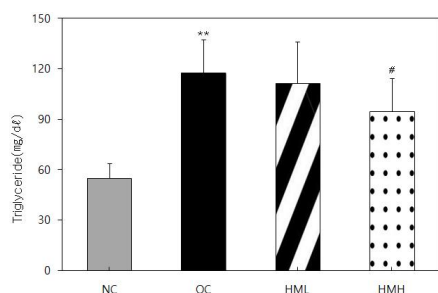


Fig. 3. Effect of HM on the serum triglyceride level in rats.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* : p<0.01, OC vs NC

# : p<0.05, OC vs HMH

3) HDL-cholesterol 함량에 미치는 영향

정상군은 47.2±11.3 mg/dl이었으며, 대조군은 34.9±8.4 mg/dl로 정상군에 비해 감소하였으나 유의성은 없었다.

저용량 투여군은 38.9±10.2 mg/dl, 고용량 투여군은 42.7±9.8 mg/dl로 대조군에 비해서 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 4).

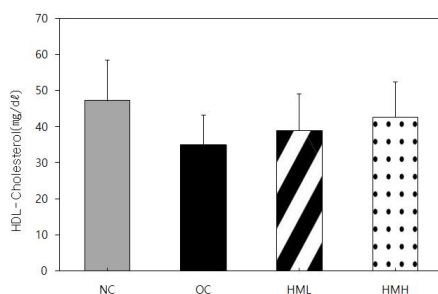


Fig. 4. Effect of HM on the serum HDL-Cholesterol level in rats.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

3. HM이 mRNA 발현에 미치는 영향

1) Leptin 발현에 미치는 영향

대조군은 leptin 발현이 정상군에 비해 유의성 있게 억제되었으며, 고용량 투여군은 대조군에 비해 leptin 발현이 유의성 있게 증가하였다(Fig. 5).

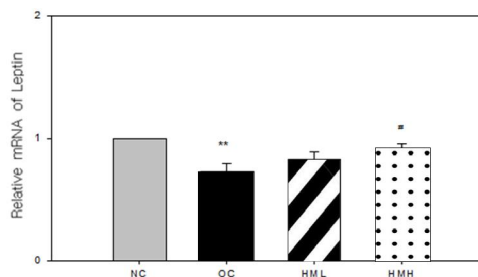


Fig. 5. Effect of HM on the leptin gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* : p<0.01, OC vs NC

# : p<0.05, OC vs HMH

2) PPAR $\gamma$  발현에 미치는 영향

대조군은 PPAR $\gamma$  발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며, 저용량 투여군은 대조군에 비해 PPAR $\gamma$  발현이 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

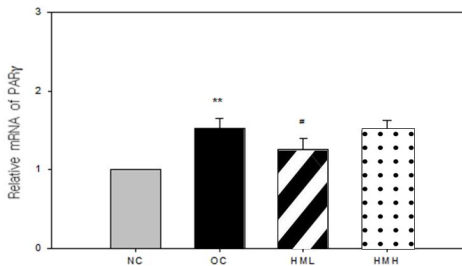


Fig. 6. Effect of HM on the PPAR $\gamma$  gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* : p<0.01, OC vs NC

# : p<0.05, OC vs HML

3) PGC-1 $\alpha$  발현에 미치는 영향

대조군은 PGC-1 $\alpha$  발현이 정상군에 비해 유의하게 증가되었으며, 저용량 투여군 및 고용량 투여군에서 대조군에 비해 PGC-1 $\alpha$  발현이 유의하게 감소하였다(Fig. 7).

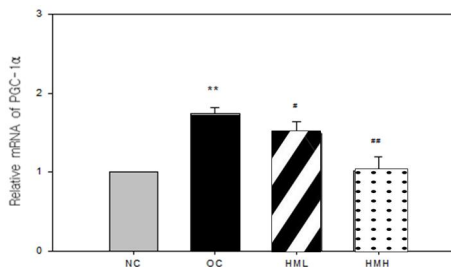


Fig. 7. Effect of HM on the PGC-1 $\alpha$  gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* : p<0.01, OC vs NC

# : p<0.05, OC vs HML

## : p<0.01, OC vs HMH

4) HMGCR 발현에 미치는 영향

대조군은 HMGCR 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가되었으며, 저용량 투여군은 HMGCR 발현이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

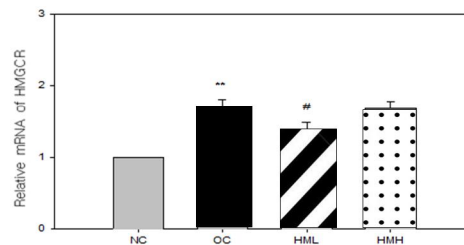


Fig. 8. Effect of HM on the HMGCR gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* : p<0.01, OC vs NC

# : p<0.05, OC vs HML

5) CYP8B1 발현에 미치는 영향

대조군은 CYP8B1 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가되었으며, 저용량 투여군은 대조군에 비해 CYP8B1 발현이 유의하게 감소되었다(Fig. 9).



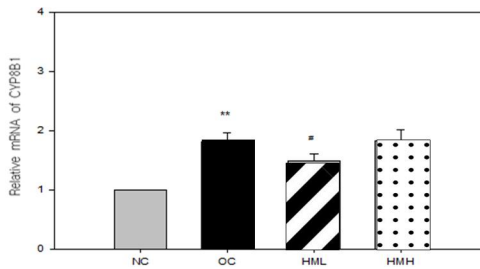


Fig. 9. Effect of HM on the CYP8B1 gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMM : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* :  $p < 0.01$ , OC vs NC

# :  $p < 0.05$ , OC vs HML

6) CYP27 발현에 미치는 영향

대조군은 CYP27 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으나, 저용량 투여군 및 고용량 투여군은 CYP27 발현이 대조군과 비교하여 유의한 변화가 없었다(Fig. 10).

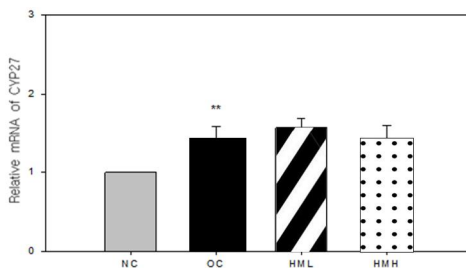


Fig. 10. Effect of HM on the CYP27 gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMM : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* :  $p < 0.01$ , OC vs NC

7) SREBP-1c 발현에 미치는 영향

대조군은 SREBP-1c 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으나, 저용량 투여군 및 고용량 투여군은 SREBP-1c 발현이 대조군에 비해 별다른 차이를 나타내지 못했다(Fig. 11).

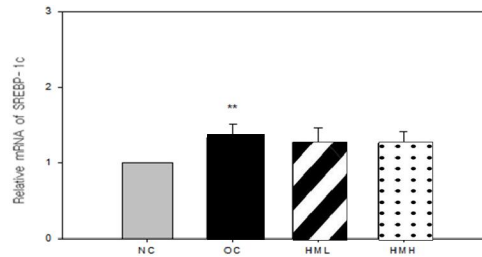


Fig. 11. Effect of HM on the SREBP-1c gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMM : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* :  $p < 0.01$ , OC vs NC

8) LPL 발현에 미치는 영향

대조군은 LPL 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였고, 고용량 투여군은 LPL 발현이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig. 12).

9) ACAT1 발현에 미치는 영향

대조군은 ACAT1 발현이 정상군과 큰 차이가 없었으나, 저용량 투여군은 ACAT1 발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소되었다(Fig. 13).

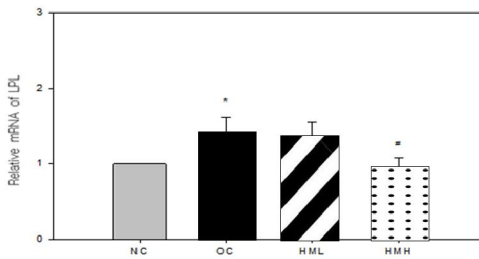


Fig. 12. Effect of HM on the LPL gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\* :  $p < 0.05$ , OC vs NC

# :  $p < 0.05$ , OC vs HMH

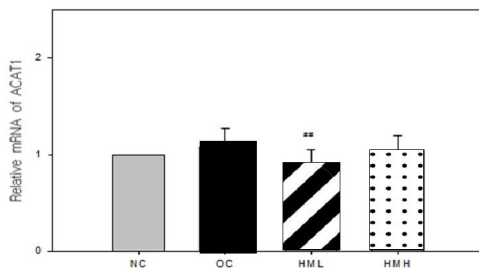


Fig. 13. Effect of HM on the ACAT1 gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

## :  $p < 0.01$ , OC vs HML

#### 10) ACAT2 발현에 미치는 영향

대조군은 ACAT2 발현이 정상군에 비해 큰 차이가 없었으나, 저용량 투여군은 ACAT2 발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소되었다(Fig. 14).

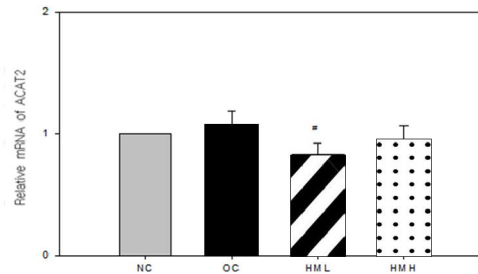


Fig. 14. Effect of HM on the ACAT2 gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

# :  $p < 0.05$ , OC vs HML

#### 11) ApoB 발현에 미치는 영향

대조군은 ApoB 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며, 저용량 투여군은 ApoB 발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 15).

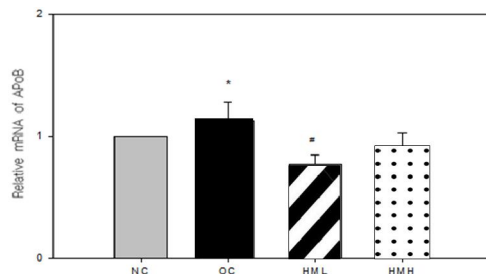


Fig. 15. Effect of HM on the ApoB gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\* :  $p < 0.05$ , OC vs NC

# :  $p < 0.05$ , OC vs HML

12) CPT1 발현에 미치는 영향

대조군은 CPT1 발현이 정상군에 비하여 유의하게 감소되었으며, 저용량 투여군은 CPT1 발현이 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 16).

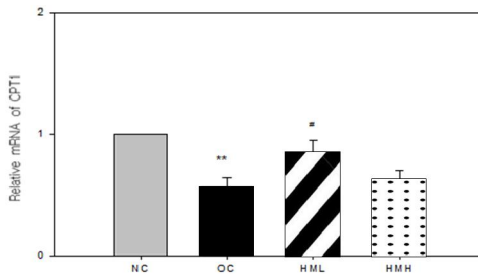


Fig. 16. Effect of HM on the CPT1 gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\*\* :  $p < 0.01$ , OC vs NC

# :  $p < 0.05$ , OC vs HML

13) ACOX 발현에 미치는 영향

대조군은 ACOX 발현이 정상군에 비하여 유의하게 증가하였고, 고용량 투여군은 ACOX 발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 17).

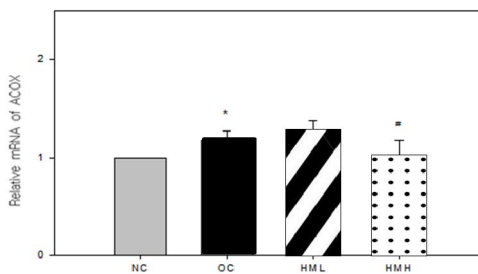


Fig. 17. Effect of HM on the ACOX gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

\* :  $p < 0.05$ , OC vs NC

# :  $p < 0.05$ , OC vs HMH

14) LDLR 발현에 미치는 영향

대조군은 LDLR 발현이 정상군에 비해 억제되는 경향을 보였으나 유의성이 없었으며, 저용량 투여군 및 고용량 투여군은 대조군에 비하여 발현이 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 없었다(Fig. 18).

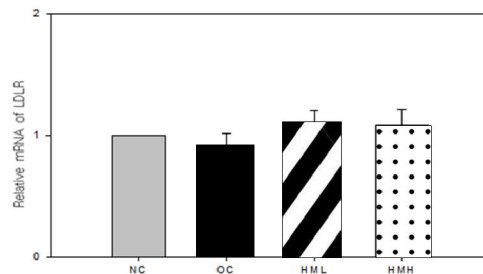


Fig. 18. Effect of HM on the LDLR gene expression of liver tissue of rat.

NC : normal control group (sham operation group)

OC : obesity control group (estrogen-deficient group)

HML : group of obesity group administered HM 20 mg/kg/day, P.O. for six weeks

HMH : group of obesity group administered HM 100 mg/kg/day, P.O. for six weeks

V. 고찰

비만이란 지방의 과잉 축적을 의미하며, 지방세포가 비대해지거나 수적으로 증가하여 지방조직의 축적이 늘어나고 다양한 합병증을 동반하는 질환의 집합체라 할 수 있다<sup>3)</sup>.

2015년에 발표된 국민건강영양조사<sup>16)</sup>에 따르면 체질량지수가 25 kg/m<sup>2</sup> 이상인 경우를 비만이라고 정의하였을 때, 만 19세 이상의 성인 여성에서 비만 유병률은 26%로 여성 4명 중 1명은 비만에 해당한다. 연령에 따른 유병률을 보면 체질량 지수를 기준으로 하였을 때 여성은 20대에 13.4%에서 서서히 증가하여 특히 40대에서는 25.4%였던 유병률이 50대에는 36.2%, 60대에는 41.7%, 70대 이후에 40.8%로 증가하였다. 또한 여성에서 허리둘레가 85 cm 이상인 경우를 비만으로 정의하였을 때 여성의 비만 유병률은 20대에서 10.9%, 40대에서 19.7%였으며 50대에서 29.5%, 60대에서 43.8%, 70대 이후에서 51.4%였다. 남성의 비만 유병률이 전 연령대에 비교적 비슷한 것과 달리 여성의 비만 유병률은 연령에 따라 증가하며 특히 50대 이후에 비만과 더불어 대사증후군의 유병률이 증가가 뚜렷하였다.

위와 같이 여성은 폐경기가 되면 에스트로겐이 감소하여 지방 조직의 대사 변화가 일어나 체중 및 체지방의 증가가 가속화되며<sup>17)</sup>, 체지방의 분포에도 변화가 생겨 복부 비만과 복부내장지방이 증가하게 된다<sup>18)</sup>. 뿐만 아니라 복부비만의 증가로 인하여 인슐린 저항성, 지질 대사의 이상을 유발하게 된다<sup>19,20)</sup>. 그러므로 폐경 이후에는 대사증후군의 유병률과 심혈관계 질환의 위험이 증가한다고 할 수 있다<sup>21)</sup>. 따라서 비만과 그에 따른 합병증을 예방, 치료하기 위한 노력이 필요하다.

본 연구에 사용한 황기맥문동탕은 황기, 맥문동, 시호, 생지황, 산수유로 구성된 새로운 처방이다. 황기는 補氣固表, 利水消腫하고, 맥문동은 質潤하여 滋陰生津

하고 清熱而不傷胃하고 清心除煩한다. 시호는 疏肝解鬱하며 升陽시키며 실증과 허증에 모두 사용할 수 있다. 생지황은 清熱生津하고 清營涼血하며, 산수유는 補益肝腎의 효능으로 陽虛와 陰虛에 고루 배합하여 사용할 수 있다<sup>33)</sup>. 맥문동, 생지황, 산수유는 滋陰의 효능을 가져 갱년기의 주요 병리기전인 陰虛火動에 도움이 되며 황기, 맥문동, 생지황, 산수유는 補益하여 비만 치료를 할 때 식이조절 등으로 허약해지기 쉬운 몸의 기능을 보충해 줄 수 있다. 또한 시호는 疏肝解鬱하므로 갱년기에 다발하는 肝氣鬱結 증상을 치료하는데 적합하다.

기존에 시행된 비만증 대상 한약제제 동물실험을 리뷰한 연구<sup>6)</sup>에 따르면, 총 69편의 연구에서 황기맥문동탕의 구성 약물 중 산수유, 맥문동, 시호가 각각 10, 6, 3회의 빈도로 처방에 포함되어 사용되었다. 비만 처방 중에서 산수유는 육미지황탕가미방<sup>22)</sup>, 수풍순기환가감방<sup>23)</sup> 등 10가지 처방에 사용되었으며, 맥문동은 가미한다열소탕<sup>24)</sup>, 청심연자탕<sup>25)</sup>, 육미지황탕가미방<sup>22)</sup>, 조위승청탕<sup>26,27)</sup>, 감비4호방<sup>28)</sup>, 태음조위탕<sup>29)</sup>에 사용되어 대부분 태음인에 쓰이는 四象 처방에 포함되어 있었다. 시호는 대시호탕<sup>30,31)</sup>, 육간산<sup>32)</sup>의 구성약물로 사용되었다.

약리학적으로 황기<sup>10)</sup>, 맥문동<sup>11,12)</sup>, 시호<sup>11,12)</sup>는 식물성 유사호르몬(phytoestrogen)의 일종으로 여성호르몬의 천연 대체물질로서 알려져 있는 isoflavone을 함유하고 있다. 또한 시호는 고지방식이 rat의 체중 및 혈중 지질 농도를 감소시키는 것으로 보고되었다<sup>13)</sup>. 생지황의 주요 성분인 phytosterol류는 식물성 스테롤로 혈청 콜레스테롤 함량을 감소시키고 장

내의 콜레스테롤 흡수를 억제하며<sup>14)</sup>, 산수유는 신생혈관의 형성을 억제하여 지방조직의 혈관 질을 변화시켜 지방조직의 퇴화를 가져와 체중을 줄이는 효과가 있다<sup>15)</sup>.

위와 같은 효능을 가진 4가지 구성약물 중에 특히 황기가 補氣固表, 利水消腫하고 isoflavone을 함유하여 갱년기에 에스트로겐 결핍으로 발생하는 비만을 위한 처방에 효과적이라 생각하여, 황기를 君藥으로 하여 황기, 맥문동, 시호, 생지황, 산수유를 2:1:1:1:1의 비율로 배합한 황기맥문동탕으로 실험을 수행하였다.

이에 저자는 황기맥문동탕이 난소 제거로 에스트로겐 결핍성 비만에 미치는 영향을 알아보기 위하여 rat의 체중변화, total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol의 함량을 측정하고, 비만과 관련된 유전자의 발현에 미치는 영향을 측정하기 위하여 간조직에서 leptin, PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , HMGCR, CYP8B1, CYP27, SREBP-1c, LPL, ACAT1, ACAT2, ApoB, CPT1, ACOX, LDLR의 mRNA 발현을 측정하였다.

먼저 HM이 비만에 미치는 영향을 검토하기 위하여 약물을 투여하고 6주 후에 체중측정을 시행한 결과, 정상군은 약 277 g이었고 대조군은 371 g, 저용량 투여군은 359 g, 고용량 투여군은 348 g으로 측정되었다. 대조군은 정상군에 비해서 유의한 체중증가를 보였으며, 고용량 투여군과 저용량 투여군은 대조군에 비해 체중이 감소하였으나 유의한 차이는 없었다(Fig. 1).

HM이 혈청 중 지질대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈청 중 total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol

함량에 미치는 영향을 살펴보았다. Total cholesterol은 대조군이 정상군보다 유의성 있게 증가하였으며 고용량 투여군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 2). Triglyceride는 대조군이 정상군에 비해 유의성 있게 증가하였으며, 고용량 투여군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 3). HDL-cholesterol은 대조군이 정상군에 비해서 감소하였으나 유의성은 없었으며 저용량 투여군과 고용량 투여군은 대조군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 4).

Leptin은 에너지균형을 조절하는 주요 인자로 ob유전자 발현으로 나타나는 단백질이다<sup>34)</sup>. Leptin은 식욕을 억제하여 체중을 조절하며<sup>35)</sup>, 체지방량 정보를 뇌에 전달하여 식습관, 대사와 내분비기능 등을 조절하고, 지방합성을 억제하고 지방분해를 촉진한다<sup>34)</sup>. 또한 시상하부에 있는 leptin 수용체 (Ob-R $\beta$ )는 에스트로겐의 상태에 의해 조절되며, 5개월 동안 에스트로겐이 결핍되면 leptin 수용체가 감소되므로 이것이 난소 적출 후에 혈청 leptin이 증가하여도 에스트로겐이 감소하여 비만이 유발되는 기전을 설명할 수 있다<sup>36)</sup>. HM이 leptin 발현에 미치는 영향을 평가한 결과 대조군은 leptin 발현이 정상군에 비해 유의성 있게 억제되었으며, 고용량 투여군은 대조군에 비하여 leptin 발현이 유의성 있게 증가하였다(Fig. 5).

PPAR $\gamma$ 는 지방세포의 분화와 대사에 중요한 조절을 하는 PPAR family의 하나로, 지방조직 생성을 촉진하고 leptin 유전자 발현을 감소시켜서 leptin에 의해 유도되는 지방분해와 지방산 산화를 제한함으로써 지방생성을 촉진한다<sup>37,38)</sup>. HM

이 PPAR $\gamma$  발현에 미치는 영향을 평가한 결과 대조군은 PPAR $\gamma$  발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며, 저용량 투여군은 대조군에 비해 PPAR $\gamma$  발현이 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

PGC-1 $\alpha$ 는 PPAR $\gamma$ 의 co-activator로 작용하여 체내 지방 생성을 증가시키는 PPAR- $\gamma$  작용을 촉진한다<sup>39)</sup>. HM이 PGC-1 $\alpha$  발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 PGC-1 $\alpha$  발현이 정상군에 비해 유의하게 증가되었으며, 저용량 투여군 및 고용량 투여군은 PGC-1 $\alpha$  발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 7).

HMGCR은 cholesterol 합성과정에서 HMG CoA를 mevalonate로 변환시키는 효소로 콜레스테롤 합성과 정상 세포 기능에 필수적인 nonsterolisoprenoids를 생성하는 과정의 반응 결정 단계에 관여하는 효소로, 이를 억제하면 cholesterol 합성이 감소될 수 있다<sup>40)</sup>. HM이 HMGCR 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 HMGCR 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가되었으며, 저용량 투여군은 HMGCR 발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

CYP8B1 및 CYP27는 cholesterol의 분해과정을 통해 cholic acid를 형성하는 효소이다<sup>41,42)</sup>. HM이 CYP8B1 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 CYP8B1 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가되었으며, 저용량 투여군은 대조군에 비해 CYP8B1 발현이 유의하게 감소되었다(Fig. 9).

HM이 CYP27 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 CYP27 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으나, 저용량 투여군 및 고용량 투여군은 CYP27

발현이 대조군에 비하여 유의한 변화가 없었다(Fig. 10).

SREBPs는 지방산과 콜레스테롤의 생합성 경로에 연관되어 있는 효소를 활성화시켜 간에서 지방산과 콜레스테롤 합성을 조절하는 전사활성인자이다. SREBP에는 1a, 1c 및 2의 세가지 종류가 있으며 SREBP-1c는 주로 지방산과 중성지방의 합성에 관여한다<sup>43)</sup>. HM이 SREBP-1c 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 SREBP-1c 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으나, 저용량 투여군 및 고용량 투여군은 SREBP-1c 발현이 대조군에 비해 별다른 차이를 나타내지 못했다(Fig. 11).

여성이 폐경이 되거나 동물에서 난소를 적출하면 LPL이 증가하여 지방세포 내 지방이 축적되며 음식섭취가 촉진되어 몸무게가 증가하는데, 에스트로겐의 활성형인 에스트라디올(E<sub>2</sub>)을 투여하면 지방축적이 감소한다<sup>44)</sup>. HM이 LPL 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 LPL 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였고, 고용량 투여군은 LPL 발현이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig. 12).

ACAT는 여러 조직의 세포막에 결합된 효소로 ACAT1과 ACAT2의 2개의 isozyme이 존재한다. 이 효소는 cholesterol와 long-chain fatty acyl-CoA를 이용하여 cholesteryl esters(CE)를 생성하여 세포 내에 저장형태로 바꿔준다. 또한 만성적으로 대식세포에 축적되는 경우 거품세포를 형성하여 초기 단계의 동맥경화를 유발하는데 중요한 역할을 한다<sup>45)</sup>.

HM이 ACAT1 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 ACAT1 발현이

정상군과 큰 차이가 없었으나, 저용량 투여군은 ACAT1 발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소되었다(Fig. 13).

HM이 ACAT2 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 ACAT2 발현이 정상군에 비해 큰 차이가 없었으나, 저용량 투여군은 ACAT2 발현이 감소되었다(Fig. 14).

ApoB는 lipoprotein의 protein부분인 apolipoproteins으로 triacylglycerol이나 cholesterol과 결합하여 VLDL, LDL, IDL 등을 형성한다. 이들은 lipoprotein에 작용하는 효소의 활성을 조절하고 구조를 유지하며, lipoprotein의 세포내 흡수를 촉진시킨다. 따라서, 동맥경화와 같은 질병을 유발하는 LDL, VLDL을 형성하는 기질로서 작용한다<sup>46)</sup>. HM이 ApoB 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 ApoB 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며, 저용량 투여군은 ApoB 발현이 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 15).

CPT1이 골격근 세포에서 발현이 감소되면 지방산이 세포질에서 미토콘드리아 속으로 이동하지 못하게 됨으로써 지방산이 중성지방으로 재합성되어 저장되거나 미토콘드리아에서 정상적으로 지방산의  $\beta$ -산화가 이루어지지 않으므로 비만과 관련된다<sup>47)</sup>. HM이 CPT1 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 CPT1 발현이 정상군에 비하여 유의하게 감소되었으며, 저용량 투여군은 CPT1 발현이 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 16).

ACOX는 지방산의  $\beta$ -산화에 촉진하는 효소로서 호르몬 생성과 지방대사에 중요한 역할을 한다<sup>48)</sup>. HM이 ACOX 발

현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 ACOX 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였고, 고용량 투여군은 ACOX 발현이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig. 17).

LDLR은 콜레스테롤이 풍부한 LDL을 세포내로 수송하여 혈중 LDL-cholesterol을 감소시키는 효과가 있으므로, LDLR에 돌연변이가 생기면 혈중 콜레스테롤을 높혀 고콜레스테롤혈증을 일으킨다<sup>49)</sup>. HM이 LDLR 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, 대조군은 LDLR 발현이 정상군에 비해 억제되는 경향을 보였으나 유의성이 없었으며, 저용량 투여군 및 고용량 투여군은 대조군에 비하여 발현이 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 없었다(Fig. 18).

이상의 결과를 종합해서 보면 HM은 에스트로겐 결핍으로 비만이 유발된 rat의 체중을 감소시켰으나 유의성이 없었으며 혈청 중 total cholesterol과 triglyceride 함량을 유의하게 감소시켰다. 또한 지질 대사에 관여하는 leptin, PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , HMGCR, CYP8B1, LPL, ACAT1, ACAT2, ApoB, CPT1, ACOX 발현을 조절하여 체내 지방을 유의하게 감소시켰다. 비만은 지방의 과잉축적을 의미하므로 비록 HM의 체중 감소 효과는 유의하지 않았으나 혈청 중 지질의 함량을 유의하게 감소시킨 것으로도 비만 치료에 효과가 있다고 생각된다. 또한 HM의 비만과 비만합병증에 대한 치료 기전을 자세히 평가하기 위하여 복부의 피하지방과 내장 지방, 혈당 등을 측정하는 연구와 더불어 임상에서의 활용을 위한 다양한 제제 개발을 위한 연구 등이 추가적으로 이루어질 필요가 있다.

## V. 결 론

황기맥문동탕 추출물(HM)이 갱년기에 발생하는 비만에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 난소절제로 인하여 에스트로겐 결핍성 비만이 유발된 rat의 체중, 혈청 지질 함량과 간조직에서 비만과 관련된 유전자 발현을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HM은 에스트로겐 결핍으로 비만이 유발된 rat의 체중을 감소시켰으나 유의성은 없었다.
2. HM은 에스트로겐 결핍으로 비만이 유발된 rat의 혈중 total cholesterol, triglyceride 함량을 유의하게 감소시켰다.
3. HM은 에스트로겐 결핍으로 비만이 유발된 rat의 leptin과 CPT1의 유전자 발현을 유의하게 증가시켰다.
4. HM은 에스트로겐 결핍으로 비만이 유발된 rat의 PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , HMGCR, CYP8B1, LPL, ACAT1, ACAT2, ApoB, ACOX의 유전자 발현을 유의하게 감소시켰다.

이상의 내용을 종합하였을 때, 황기맥문동탕은 갱년기에 에스트로겐 결핍으로 인해 발생하는 비만과 비만 합병증 치료제로서의 개발 가능성이 있으며, 향후 이에 관한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Received : Apr 27, 2018

Revised : Apr 30, 2018

Accepted : Mar 16, 2018

## 감사의 글

이 논문은 대한민국 교육부와 한국연구재단의 신진연구지원사업의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2017R1C1B1011984).

“This work was supported by Young Researchers Program through the Ministry of Education of the Republic of Korea and National Research Foundation of Korea(NRF-2017R1C1B1011984).”

## References

1. Korean academy of oriental rehabilitation medicine. Oriental rehabilitation medicine. 3rd ed. Seoul:KoonJa publisher. 2012 :350-4.
2. World Health Organization(2017). 10 facts on obesity. Fact sheets. 2017. Available from:URL:http://www.who.int/features/factfiles/obesity/en.
3. The Society of Korean Obstetrics and Gynecology. Korean Obstetrics & Gynecology(Ha) 1st edition. Seoul: Euseongdang. 2012:295-302.
4. Cooke PS, Naaz A. Role of Estrogens in Adipocyte Development and Function. Experimental biology and medicine. 2004;229(11):1127-35.
5. Kim HJ. Effect of Aromatherapy Program on Lowering BMI and Serum Estrogen Level in Obese Post-menopause Women. Korean J Women Health Nurs. 2008; 14(2):150-5.
6. Kim JM, et al. The Effect of Oral Administration at Herbal Medicines



- in Animal Models on Obesity: A Review of Animal Study Reports Published in Korea after 2010. *Journal of Korean Medicine Rehabilitation*. 2017;27(3):13-32.
7. Shin HJ, et al. Effects of *Pueraria lobata* on Body Weight and Gene Expression in Obese Rats Muscle with Estrogen Deficiency. *J Korean Obstet Gynecol*. 2012;25(3):71-84.
  8. Shin YS, Hwang GS. The effects of *Pueraria lobata* extract on gene expression in liver tissue of rat with estrogen-deficient obesity. *Journal of Society of Preventive Korean Medicine*. 2015;18(3):117-28.
  9. Jung SG. Effects of SunGinseng in Gene Expression of 3T3L1 adipocytes and in the Estrogen-deficient Obesity. Doctor's thesis. Graduate School of Kyungwon University. 2007.
  10. Im KR, et al. Analysis of Isoflavonoid Contents in *Astragalus membranaceus* Bunge Cultivated in Different Areas and at Various Ages. *KSBB Journal*. 2010;25:271-6.
  11. Zhang XH, Liu SX, Xu M. The research of phytoestrogen and chinese herb. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*. 2002;13(4):261-4.
  12. Song HS, Suo CZ. The research progress of phytoestrogen and its effect on central nervous system. *Liaoning J Tradit Chin Med*. 2006;33(10):1372-3.
  13. Lee JM, Lee E, Choi MY. Effects of powdered siho(*Bupleuri Radix*) on lipid composition and TBARS in rat fed high cholesterol. *Kor J Herbology*. 2000;15(1):67-71.
  14. Calpe-Berdiel L, Escola-Gil JC, Blanco-Vaca F. New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis*. 2009;203:18-31.
  15. Shin JH, et al. Selection and Mechanism of Anti-Obesity Agents from Natural Products Based on Anti-Angiogenesis. *KSBB Journal*. 2009;24:122-30.
  16. 2015 Health Behavior and Chronic Disease Statistics. Cheongju: Korea Centers for Disease Control & Prevention. 2016:20-6. Available from: URL: [https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/sub04/sub04\\_03.do?classType=7](https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/sub04/sub04_03.do?classType=7).
  17. Pasquali R, et al. Body weight, fat distribution and the menopausal status in women. *Int J Obes Related Metab Disord*. 1994;18:614-21.
  18. Sowers MF, et al. Changes in body composition in women in women over six years at midlife: ovarian and chronological aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:895-901.
  19. Lindheim SR, et al. Comparison of estimates of insulin sensitivity in pre- and postmenopausal women using the insulin tolerance test and the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *J Soc Gynecol Investig*. 1994;1:150-4.
  20. Carr MC. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2404-11.

21. Gohlke-Bärwolf C. Coronary artery disease is menopause a risk factor? *Basic Res Cardiol.* 2000;95(1):I77-83.
22. Kim TW, Kang SB. Antiobese and Antidiabetic Effects of *Yookmijihwang-tang-gamibang*, a Traditional Polyherbal Formula on the Obese and Type II Diabetic C57BL/6JHam-ob/ob Mice. *Herbal Formula Science.* 2013;21(2):110-20.
23. Song SY, et al. Anti-Glycemic and Anti-Lipid Effects of Ethanol Extract of *Supungsunkih-wan-gagambang* in High Fat Diet-induced Obese Mice. *J Korean Oriental Med.* 2011;32(5):1-11.
24. Lee HI, et al. Effects of *Gami-Handayeolso-Tang* on Body Fat Reduction in High Fat Diet-Fed Obese Mice. *Journal of Korean Medicine Rehabilitation.* 2016;26(1):13-31.
25. Yoon YS, et al. Effects of *Cheongshimyeonja-tang* on the Body Weight and Serum Lipid Levels in High Fat Diet Induced Obese Mice. *Herbal Formula Science.* 2014;22(1):123-39.
26. Lee MJ, et al. Effects of *Choweseungcheng-tang* on Obesity and Hyperlipidemia in High-fat-diet-induced Obese Mice. *J Korean Oriental Med.* 2011;32(4):37-47.
27. Oh SW, Kim BW. Effects of *Jowiseungcheung-tang* Extract on the Lipid Metabolism, Anti-oxidation and Inflammatory Reflex High Fat Diet Obese Rats. *Korean J Orient Int Med.* 2013;34(1):1-13.
28. Hwang JP, Yoon IJ. The Anti-obesity Effects of *Gambibang 4* on Obesity-induced Mice. *J Korean Oriental Med.* 2010;31(1):30-46.
29. Yang DH, et al. The Effects of *Taeyeumjowee-tang* and *Taeyeumjoweebaemahwang-tang* on Obese rats. *Kor J Herbology.* 2010;25(3):103-9.
31. Le MD, Jung PE. The Effects of *Dai-saiko-to(Da-Chai-Hu-Tang)* on 3T3-L1 Preadipocytes and High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *J Pediatr Korean Med.* 2015;29(1):1-14.
32. Chun JM, et al. The Anti-obesity Effect of 5 Herbal Formulas in High Fat Diet Induced Obese Mice. *Herbal Formula Science.* 2013;21(2):44-52.
33. National Oriental Medicine School Coeditorship of Herbal Medicines Professors. *Herbal Medicine.* 2nd rev. ed. Seoul:Youngrimsa. 2008:186-7, 231-2, 576-8, 644-5, 687-88.
34. Andreasen CH, et al. Studies of CTNBL1 and FDFT1 variants and measures of obesity: analyses of quantitative traits and case-control studies in 18,014 Danes. *BMC Med Genet.* 2009;10:17.
35. Li MD. Leptin and beyond: an odyssey to the central control of body weight. *Yale J Biol Med.* 2011;84(1):1-7.
36. Pedersen SBP, et al. Estrogen controls lipolysis by up-regulating alpha2A adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor alpha. Implications for the female fat distribution. *J Clin.*

- Endocrinol Metab. 2004;89:1869-78.
37. Nakagami H, Morishita R. Obesity and gastrointestinal hormones—dual effect of angiotensin II receptor blockade and a partial agonist of PPAR- $\gamma$ . *Curr Vasc Pharmacol*. 2011; 9(2):162-6.
  38. Lee SB, Keum DH, Lee MJ. Oriental and Western Medical Study on the cause and treatment of Obesity. *The Journal of Dong Guk Oriental Medicine*. 1996;5(1):33-52.
  39. Matsuzawa Y, et al. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:29-33.
  40. Jo Y, Debose-Boyd RA. Control of cholesterol synthesis through regulated ER-associated degradation of HMG CoA reductase. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2010;45(3):185-98.
  41. Lundell K, Wikvall K. Species-specific and age-dependent bile acid composition: aspects on CYP8B and CYP4A subfamilies in bile acid biosynthesis. *Curr Drug Metab*. 2008;9(4):323-31.
  42. Meir K, et al. Human sterol 27-hydroxylase (CYP27) overexpressor transgenic mouse model. Evidence against 27-hydroxycholesterol as a critical regulator of cholesterol homeostasis. *J Biol Chem*. 2002;277(37):3436-41.
  43. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*. 1997;89(3):331-40.
  44. Khor VK, et al. Estrogen sulfotransferase regulates body fat and glucose homeostasis in female mice. *AmJ Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(4):657-64.
  45. Yang L, et al. Enhancement of human ACAT1 gene expression to promote the macrophage-derived foam cell formation by dexamethasone. *Cell Res*. 2004;14(4):315-23.
  46. Contois JH, et al. Apolipoprotein B and cardiovascular disease risk: position statement from the AACC Lipoproteins and Vascular Diseases Division Working Group on Best Practices. *Clin Chem*. 2009;55(3):407-19.
  47. Hood DA, et al. Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *J Exp Biol*. 2006;209(12):2265-75.
  48. Poirier Y, et al. Peroxisomal beta-oxidation—a metabolic pathway with multiple functions. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1763(12):1413-26.
  49. Navarra T, et al. The lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and its soluble form: cardiovascular implications. *J Atheroscler Thromb*. 2010;17(4):317-31.