

麻黃藥鍼이 비만 유발 생쥐의 지방대사에 미치는 영향

김효재, 김은지, 한양희
동신한방병원 한방내과

The Effect of *Ephedra sinica* Pharmacopuncture on Lipid Metabolism in an Experimental Mouse Model of Obesity

Hyo-jae Kim, Eun-ji Kim, Yang-hee Han

Dept. of Internal Korean Medicine, Dong-Shin Hospital of Korean Medicine

ABSTRACT

Objectives: This study aimed to investigate the impact of *Ephedra sinica* pharmacopuncture on the weight and lipid metabolism of obese mice.

Methods: Obesity was induced in male C57BL/6 mice by a 60% fat diet. The animals were divided into three groups ($n=5$) fed a normal diet, high-fat diet, and high-fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture. After 13 wk, fasting blood sugar levels were measured in each group, and oral glucose tolerance tests were conducted. After 15 wk, body weight, epididymal fat pad weight, subcutaneous fat pad weight, and serum lipid and gene expression of hormone sensitive lipase (HSL), adipose triglyceride lipase (ATGL), monoacylglycerol lipase (MGL), perilipin, and peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ were measured in each group.

Results: In the *Ephedra* group, body weight, fasting blood sugar, and oral glucose tolerance were significantly decreased. In addition, in the *Ephedra* group, the gene expression of HSL was significantly increased, whereas that of perilipin was significantly decreased.

Conclusions: These results provide evidence that *E. sinica* pharmacopuncture affects obesity and obesity-induced metabolic syndrome, including insulin resistance and dyslipidemia, by activating lipolysis via the HSL pathway in adipose tissue.

Key words: *Ephedra sinica*, pharmacopuncture, obesity, insulin resistance, metabolic syndrome, lipolysis, HSL, perilipin

1. 서론

비만의 이환율은 전 세계적으로 증가하여, 비만과 관련된 질환으로 사망에 이르는 수가 연간 340만 명에 이른다¹. 특히 복부 비만은 고혈압, 제 2형 당뇨병, 고지혈증, 혈관질환 및 특정 암의 발생위

험을 높인다². 이상지혈증, 당뇨병, 고혈압이 병발하는 대사증후군의 발생에 있어서도 비만으로 인한 인슐린 저항성의 증가가 가장 중요한 발병 단계이다³. 이에 따라 현재 비만치료에 대한 다양한 연구가 진행되고 있으나, 치료약물에 대한 구체적인 권고사항은 아직 국제적으로 확립되지 않았다⁴.

한의학적으로는 비만을 濕, 痰의 병리 상황으로 파악하여, 朱는 “氣虛生寒 寒生濕 濕生痰 故肥多寒濕”이라 하였으며⁵, 張은 “肥人多氣虛之症 然肥人多濕多滯”라 하였고⁶, 劉는 “血實氣虛則肥 所以肥

· 투고일: 2016.06.22, 심사일: 2016.09.24, 게재확정일: 2016.09.28
· 교신저자: 한양희 서울시 양천구 오목로 351 동신한방병원
TEL: 02-2640-2700 FAX: 02-2640-2727
E-mail: omdhyh@daum.net
· 이 논문은 2016년도 동신대학교 대학원 한의학 석사학위 논문임.

子能寒不能熱 有寒則傷血”이라 하였다⁷. 임상적으로는 비만치료에 변증에 따라 다양한 처방을 활용하는데, 빈용 처방은 太陰調胃湯, 調胃升清湯, 防風通聖散 등 이고, 다용하는 본초는 薏苡仁, 當歸, 甘草, 蘿藦子, 川芎, 麻黃 등이다. 이 중 麻黃을 위주로 하여 처방된 약물요법이 비만치료에 가장 많이 이용되고 있는데⁸, 麻黃은 發汗利水, 溫散寒邪 등의 효능이 있어 風, 寒, 濕으로 인한 비만치료에 응용하며, 동물연구와 무작위배정시험에서 체중 감소 효과를 보였다^{9,10}. 이전까지 麻黃藥鍼을 이용한 비만과 관련된 연구로는 혈청지질 및 간기능에 미치는 영향을 분석한 윤 등¹¹의 연구와 지방세포의 대사에 미치는 영향을 분석한 정 등¹²의 연구가 있었으나, 피하지방의 변화 등 국소적 효과와 지질대사와 당대사의 혈액학적 변화 등 전신적 효과를 동시에 분석한 연구는 없었다.

이에 본 저자는 비만형 동물 모델에 麻黃藥鍼을 투여한 후 체중, 피하지방의 무게, 내장지방의 무게, 혈당, 인슐린 저항성, 지질대사와 관련된 유전자의 발현정도 등의 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험방법

1. 검체의 제조

본 실험에 사용한 麻黃은 경희의료원 약재과에서 구입 후, 정선하여 사용하였다. 총량 1,000 g의 麻黃(*Ephedra sinica*)을 1,500 ml의 80% 에탄올에 넣어 heating mantle를 이용하여 2시간 동안 가열 추출하고, applicator를 이용하여 500 ml 플라스크에 넣은 후, filter로 걸러냈다. 여과액을 rotary evaporator (Model NE-1, 東京理化學株式會社, Japan)로 건조시켜, 건조된 1차 추출물 1 g씩을 10 ml의 증류수로 용해시킨 후, 95 °C 수조에서 2시간 동안 가열하였고, 가열한 추출물을 14,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 上清液을 수거하였다. 上清液을 직경 0.2 μm의 필터에 통과시켜 여과멸균하였고, -70

°C에 보관 후 사용하였다. 麻黃의 최종 수거율은 26.2%였다.

2. 비만 동물 모델의 제작

체중 19~21 g이 되는 6주령 수컷 C57BL/6 mouse (중앙실험동물, Korea)을 12시간씩 낮과 밤이 교대되고, 40~70%의 습도가 유지되며, 먹이와 물은 자유롭게 먹도록 하여 1주일간 적응기를 거쳤다. 그 후 정상군을 제외한 모든 실험군에 비만을 일으킨다고 알려진 60% fat을 함유한 high fat diet(HFD, Research Diets, D12492)를 13주간 먹였다(Table 1).

Table 1. Composition of Experimental Diets

	Normal	Control	<i>Ephedra</i>
Casein (g)	22.0	25.85	25.85
L-Cysteine (g)	0.18	0.39	0.39
Corn starch (g)	50.0		
Maltodextrin (g)	7.5	16.15	16.15
Sucrose (g)	10.0	8.89	8.89
Cellulose, BW200 (g)		6.46	6.46
Soybean oil (g)	4.0	3.23	3.23
Lard (g)		31.66	31.66
Mineral mixture S10026 (g)	4.0	1.29	1.29
DiCalcium phosphate (g)		1.68	1.68
Calcium carbonate (g)		0.71	0.71
Sodium bicarbonate (g)	1.0		
Potassium citrate (g)	0.4	2.13	2.13
Vitamin mixture V10001 (g)	1.0	1.29	1.29
Cholin bitartrate (g)	0.2	0.26	0.26
Total (g)	100.28	99.99	99.99

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

3. 실험군 배정 및 연구계획

실험군은 male C57BL/6 mouse 5마리씩 일반식을 섭취한 정상군(normal group), 고지방식이를 섭취한 대조군(control group), 고지방식이 후 麻黃藥鍼(麻黃 추출물을 피하주사로 투여)을 투여하는 실험군(*Ephedra* group)으로 나누었다. 麻黃藥鍼군

은 13주차부터 1주일에 3회 총 3주간 오른쪽 하복부 피하지방 부위에 麻黃藥鍼 5 mg/ml 0.2 cc를 주사하고, 왼쪽 하복부 피하지방 부위에는 생리식염수 0.2 cc를 주사하였다.

4. 체중 및 사료 섭취량 측정

체중 측정은 실험 개시 일과 실험 종료일 마지막 sampling하기 전, 두 번에 걸쳐 측정하였다. 아침 사료 공급 전에 전자저울(CAS 2.5D, Korea)에 플라스틱 bowl에 mouse를 올려놓고, mouse가 안정 상태에 이른 후 나타나는 체중을 기록하였다.

사료 섭취량은 매일 아침 식이 교체 시에 측정하였고, 전달 준 사료의 무게에서 cage 당 남은 사료 무게를 제외한 값을 1일 사료 섭취량으로 환산하여 계산하였다.

5. 경구당부하검사(oral glucose tolerance test, OGTT) 측정

실험 14주째에 mouse를 14시간 동안 금식시킨 후 공복 시 혈당을 측정하였고, glucose(2 g/kg body weight)를 D.W.에 녹여 경구 투여시켜 30분 후, 60분 후, 120분 후 혈당을 측정하였다. mouse의 tail vein에서 채취한 혈액과 strip-operated blood glucose sensor(ACCU-CHEK Performa, Australia) 기기를 이용하였다.

6. 혈청 지질 분석

실험 16주째 마지막 투약 다음날 mouse의 심장에서 채혈한 혈액에서 total cholesterol, high density lipoprotein(HDL) cholesterol, triglyceride를 분석하였다.

7. 피하지방 측정

실험 16주째 mouse를 희생시킨 후 개복하여 좌측과 우측의 피하지방 조직(subcutaneous fat pad) 무게를 각각 전자저울(CAS 2.5D, Korea)로 측정하였다.

8. 내장지방 무게 측정

실험 16주째 mouse를 희생시킨 후 개복하여 좌측과 우측 부고환 지방 조직(epididymal fat pad)의 무게를 전자저울(CAS 2.5D, Korea)을 사용하여 측정하였다.

9. 지방 조직에서의 RNA 분리

실험 16주째 mouse를 희생시킨 후 개복하여 부고환 지방 조직(epididymal fat pad) 및 피하지방(subcutaneous fat)을 분리하여 알루미늄 호일에 싸서 신속하게 액화질소에 담가 -70 °C에 보관한 후, Mini RNA Isolation II™(ZYMO RESEARCH, CA, USA)을 이용하여 RNA를 분리하였다. 보관된 지방조직을 해동시킨 후 tube에 넣고, ZR RNA buffer를 300 µl씩 분주한 후, homogenizer로 분쇄하고, 1,000 rpm에서 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이를 Zymo-Spin III Column에 옮긴 후 2 ml collection tube에 꽂고 2,000 rpm으로 1분간 원심 분리하였다. Column에 RNA wash buffer를 350 µl 분주한 후 1분간 원심분리한 후 2회 세척한 다음, column을 1.5 ml tube에 꽂고 RNA-free water를 50 µl 분주한 후 1,000 rpm으로 원심 분리하여 최종적으로 RNA를 수거하였고, 사용하기 전까지 -70 °C에 보관하였다.

10. 지방분해 관련 유전자 발현 분석

지방 세포에서의 지방분해 관련 물질인 hormone-sensitive lipase(HSL)의 유전자(NM_010719.5), adipose triglyceride lipase(ATGL)의 유전자(NM_025802.3), monoacylglycerol lipase(MGL)의 유전자(NM_001166251.1), perilipin의 유전자(NM_175640.2), PPAR-γ의 유전자(NM_011146.3) 발현 정도는 실시간 정량 역전사 연쇄중합반응(quantitative Real time-polymerase chain reaction, qRT-PCR)을 이용하여 측정하였다. qRT-PCR에 앞서 cDNA의 제작은 Advantage RT for PCR Kit(Clontech, USA)을 이용하였다. 지방 조직에서 분리한 RNA 1 µg에 OligodT와

RNase-free H₂O를 넣고 70 °C에서 2분간 반응시킨 후, 10 nM dNTP, Recombinant RNase Inhibitor, MMLV Reverse Transcriptase, 5X Reaction Buffer를 각각 넣고 42 °C에서 60분, 94 °C에서 5분씩 반응시켰다.

역전사를 통해 얻어진 각각의 complementary DNA(cDNA)에 Taqman master mix, Taqman AOD primers, dH₂O를 혼합하여 7900HT Fast Real-Time PCR System(Applied Biosystems®, USA)을 이용하여 연쇄증합반응을 시행하였다. 유전자 발현 분석은 SDS Software 2.4(Applied Biosystems®, USA)를 이용하여 얻은 각각의 유전자에 대한 threshold cycle(Ct)값을 GAPDH 기준으로 relative quantitation (RQ)값으로 환산한 다음 fold change값을 계산하였다. 측정된 fold change값은 정상군을 1로 산정하여 이에 대한 값으로 환산하여 표시하였다.

11. 통계 분석

통계학적 비교분석은 GraphPad PRISM 5 (Graphpad software inc., San Diego, USA)를 이용하였고, 각 군 간의 비교는 one-way analysis of variance(ANOVA)에 이어, Tuckey's post-hoc test로 사후 검증하였다. 실험결과는 평균±표준오차(mean±S.E.)로 표시했으며, 양방 검정 유의도(Two-tailed p value)는 p값이 <0.05 수준일 때를 기준으로 하였다.

III. 결 과

1. 사료섭취량과 체중의 변화

15주간 측정된 1일 평균 사료 섭취량은 정상군(2.92±0.27 g)과 대조군(2.50±0.23 g), 麻黃藥鍼투여군(2.51±0.30 g) 모두에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Table 2).

실험 15주 후, 고지방식을 섭취한 대조군의 평균 체중이 51.8±0.84 g으로 정상군의 평균 체중 30.96±1.20 g 보다 유의하게 높았다(p<0.001). 麻黃藥鍼투여군의 평균 체중은 48.96±0.83 g으로 대조군

에 비해 체중 증가가 유의하게 억제되었다(P<0.05) (Table 3, Fig. 1).

Table 2. Food Intake Per a Day of Each Experimental Group

	Normal	Control	<i>Ephedra</i>
Food intake (g)	2.92±0.27	2.50±0.23	2.51±0.30

Data represent means±standard deviation (n=5).

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

Table 3. Body Weight of Each Experimental Group

	Normal	Control	<i>Ephedra</i>
Body wight (g)	30.96±1.20	51.8±0.84***	48.96±0.83#

Data represent means±standard deviations (n=5).

* Significantly different from normal group (***) p<(0.001)

Significantly different from control group (# p<0.05)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

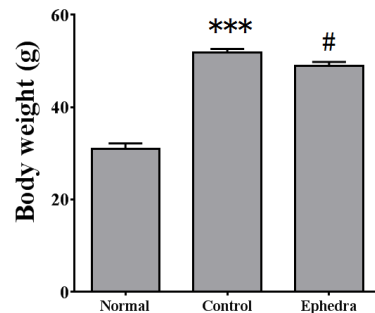


Fig. 1. Body weight of each experimental group.

* Significantly different from normal group (***) p<(0.001)

Significantly different from control group (# p<0.05)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

2. 당대사에 미치는 영향

실험 14주째에 실시한 경구 당부하 검사(OGTT)

에서 대조군은 정상군에 비해 0분 후(p<0.01), 30분 후(p<0.05), 60분 후(p<0.01), 120분 후(p<0.01) 혈당이 모두 유의하게 높았고, AUC(area under a 100 gm OGTT curve)의 값도 922.2±96.31으로 정상군의 557.8±46.02에 비해 유의하게 높았다(p<0.01). 麻

黃藥鍼투여군은 대조군에 비하여 30분 후(p<0.05), 60분 후(p<0.01), 120분 후(p<0.01) 혈당이 유의하게 낮았고, AUC의 값도 646.2±39.15로 대조군에 비해 유의하게 낮았다(p<0.05)(Table 4, Fig. 2).

Table 4. Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) of Each Experimental Group

Group	OGTT (mg/dl)				
	0 min	30 min	60 min	120 min	AUC
Normal	76.6±7.26	249.6±20.01	215.2±24.23	109.4±8.84	557.8±46.02
Control	150±18.79**	365.6±44.59*	376.2±40.39**	210.6±9.76**	922.2±96.31**
<i>Ephedra</i>	137.6±18.40	263±15.38#	235±14.09##	158.8±13.20##	646.2±39.15#

Data represent means±standard deviations (n=5).

* Significantly different from normal group (* p<0.05, ** p<0.01)

Significantly different from control group (# p<0.05, ## p<0.01)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

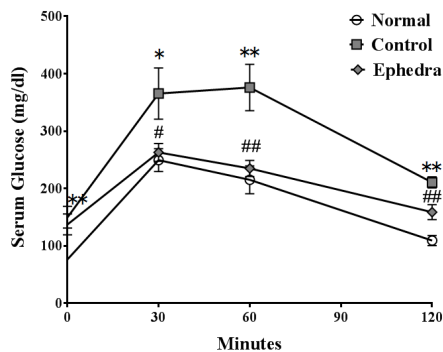


Fig. 2. Oral glucose tolerance test of each experimental group.

* Significantly different from normal group (* p<0.05, ** p<0.01)

Significantly different from control group (# p<0.05, ## p<0.01)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

3. 지질대사에 미치는 영향

1) 혈중 지질수치의 변화

혈중 총콜레스테롤(total cholesterol)의 농도는 정상군의 72.2±19.90 mg/dl에 비해 대조군이 213.4±29.00 mg/dl로 유의하게 높았으나(p<0.01), 麻黃藥鍼투여군이 162.6±13.05 mg/dl로 대조군과 유의한 차이가 없었고, 혈중 중성지방(TG)과 고밀도(HDL) 콜레스테롤의 농도는 정상군과 대조군, 麻黃藥鍼투여군 모두에서 유의한 차이가 없었다(Table 5, Fig. 3).

Table 5. Lipid Profile of Each Experimental Group

	Normal	Control	<i>Ephedra</i>
Total cholesterol (mg/dl)	72.2 ±19.90	213.4 ±29.00**	162.6 ±13.05
HDL cholesterol (mg/dl)	9.4 ±1.40	10.6 ±2.08	9.8 ±1.85
Triglyceride (mg/dl)	164.4 ±36.17	153.4 ±6.58	131.6 ±14.29

Data represent means±standard deviations (n=5).

* Significantly different from normal group (** p<0.01)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

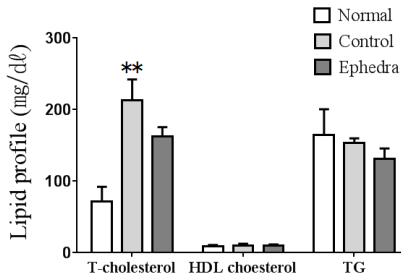


Fig. 3. Lipid profile of each experimental group.

* Significantly different from normal group (** p<0.01)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

2) 피하지방의 변화

피하지방 분석을 위해 麻黃藥鍼을 투여한 우측 복부의 피하지방 무게와 생리식염수를 피하주사로 투여한 좌측 복부의 피하지방 무게를 비교하였다. 그 결과, 우측 복부 지방의 무게가 1.03 ± 0.09 g으로 좌측 복부 지방의 무게 1.48 ± 0.14 g보다 유의하게 적었다(p<0.05)(Table 6, Fig. 4).

Table 6. Subcutaneous Fat Pad Weight of *Ephedra* Group

	Lt.	Rt.
Subcutaneous fat pad weight (g)	1.48 ± 0.14	$1.03 \pm 0.09^*$

Data represent means±standard deviation (n=5).

* Significantly different from left side of abdomen sample (* p<0.05)

Lt. : left abdomen samples of *Ephedra* group which are applied with normal saline injection.

Rt. : right abdomen samples of *Ephedra* group which are *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.

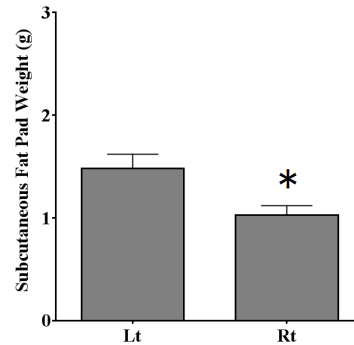


Fig. 4. Subcutaneous fat pad weight of *Ephedra* group.

* Significantly different from left side of abdomen sample (* p<0.05)

Lt : left abdomen samples of *Ephedra* group which are applied with normal saline injection.

Rt : right abdomen samples of *Ephedra* group which are *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.

3) 내장지방의 변화

내장지방에 해당하는 부고환지방조직의 무게는 정상군의 0.82 ± 0.10 g에 비해 대조군은 1.82 ± 0.04 g으로 유의하게 증가했고(p<0.001), 麻黃藥鍼투여군에서는 1.14 ± 0.076 g으로 대조군 보다 유의하게 감소했다(p<0.001). 간의 무게는 정상군의 1.54 ± 0.08 g에 비해 대조군에서 3.15 ± 0.20 g으로 유의하게 증가했고(p<0.01), 麻黃藥鍼투여군은 2.78 ± 0.18 g으로 대조군과 유의한 차이가 없었다(Table 7, Fig. 5).

Table 7. Visceral Fat of Each Experimental Group

	Normal	Control	<i>Ephedra</i>
Epididymal fat pad weight (g)	0.82 ± 0.10	$1.82 \pm 0.04^{**}$	$1.14 \pm 0.08^{###}$
Liver weight (g)	1.54 ± 0.08	$3.15 \pm 0.20^{**}$	2.78 ± 0.18

Data represent means±standard deviation (n=5).

* Significantly different from normal group (** p<0.01)

Significantly different from control group (### p<0.001)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

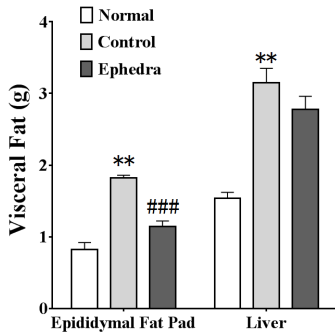


Fig. 5. Visceral fat of each experimental group.

* Significantly different from normal group (** p<0.01)

Significantly different from control group (### p<0.001)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

5. 지방분해 관련 유전자의 발현에 미치는 영향

1) Hormone-sensitive lipase(HSL)의 유전자(NM_010719.5)

HSL의 발현정도는 정상군의 값을 1로 산정하였을 때, 대조군에서 2.14±0.23으로 유의하게 높았다 (p<0.001). 대조군과 비교하였을 때, 麻黃藥鍼투여군의 오른쪽 복부지방조직에서는 3.26±0.26, 왼쪽 복부지방조직에서는 1.85±0.27로 식염수를 주사한 왼쪽 복부지방조직에서 측정된 HSL값은 유의한 차이가 없었지만, 麻黃藥鍼을 투여한 오른쪽 복부지방조직에서 측정된 HSL값은 유의하게 높았다 (p<0.05). 왼쪽 복부지방조직에서 측정된 HSL값과 비교하였을 때 오른쪽 복부지방조직에서 측정된 HSL값이 유의하게 높았다(p<0.01)(Table 8, Fig. 6).

2) Adipose triglyceride lipase(ATGL)의 유전자(NM_025802.3)

ATGL의 발현정도는 정상군의 값을 1로 산정하였을 때, 대조군에서 1.53±0.44로 유의한 차이가 없었고, 麻黃藥鍼투여군의 오른쪽 복부지방조직에서는 3.18±0.85, 왼쪽 복부지방조직에서 2.25±0.39로 대조군과 비교하였을 때, 麻黃藥鍼투여군의 왼쪽 복부지방조직과 오른쪽 복부지방조직에서 측정된 값에 유의한 차이는 없었다(Table 8, Fig. 7).

Table 8. Gene Expression of Each Experimental Group

	Normal	Control	<i>Ephedra</i> (Rt.)	<i>Ephedra</i> (Lt.)
HSL	1.03±0.02	2.14±0.23***	3.26±0.26 ^{#,@}	1.85±0.27
ATGL	1.00±0.34	1.53±0.44	3.18±0.85	2.25±0.39
MGL	1.00±0.01	1.54±0.24*	1.01±0.18	1.02±0.21
Perilipin	1.00±0.01	0.87±0.09	0.60±0.09 ^{#,@}	0.99±0.12
PPAR-γ	1.01±0.02	3.30±0.27***	2.91±1.12	2.80±0.49

Data represent fold changes from relative quantitations of each gene.

* Significantly different from normal group (* p<0.05, *** p<0.001)

Significantly different from control group (# p<0.05)

@ Significantly different from *Ephedra* (Lt.) group (@ p<0.05, @@ p<0.01)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : of 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

Ephedra (Rt.) : right abdomen samples of *Ephedra* group which are *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.

Ephedra (Lt.) : left abdomen samples of *Ephedra* group which are applied with normal saline injection.

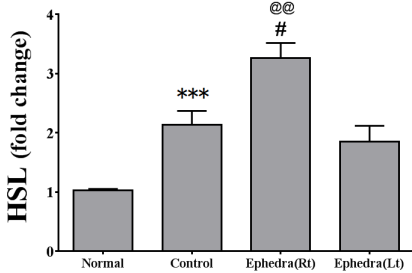


Fig. 6. Gene expression of hormone-sensitive lipase (HSL) in each experimental group.

* Significantly different from normal group (***) p<0.001

Significantly different from control group (#) p<0.05

@ Significantly different from *Ephedra* (Lt.) group (@@ p<0.01)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : of 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

Ephedra (Rt.) : right abdomen samples of *Ephedra* group which are *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.

Ephedra (Lt.) : left abdomen samples of *Ephedra* group which are applied with normal saline injection.

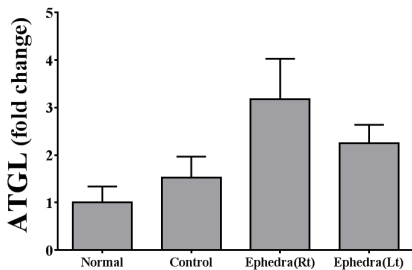


Fig. 7. Gene expression of adipose triglyceride lipase (ATGL) in each experimental group.

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : of 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

Ephedra (Rt.) : right abdomen samples of *Ephedra* group which are *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.

Ephedra (Lt.) : left abdomen samples of *Ephedra* group which are applied with normal saline injection.

3) Monoacylglycerol lipase(MGL)의 유전자(NM_001166251.1)

MGL의 발현정도는 정상군의 값을 1로 산정하여 비교하였을 때, 대조군에서 1.54 ± 0.24 로 유의하게 높았다(p<0.05). 대조군과 비교하였을 때 麻黃藥鍼투여군의 왼쪽 복부지방조직에서는 1.02 ± 0.21 , 오른쪽 복부지방조직에서는 1.01 ± 0.18 로 유의한 차이가 없었다(Table 8, Fig. 8).

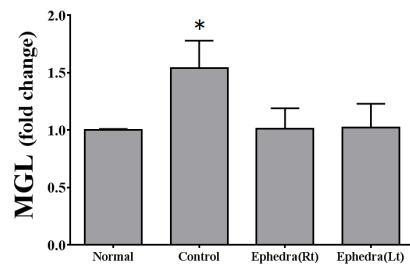


Fig. 8. Gene expression of monoacylglycerol lipase (MGL) in each experimental group.

* Significantly different from normal group (* p<0.05)

Normal : normal diet

Control : 60% fat diet

Ephedra : of 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture

Ephedra (Rt.) : right abdomen samples of *Ephedra* group which are *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.

Ephedra (Lt.) : left abdomen samples of *Ephedra* group which are applied with normal saline injection.

4) Perilipin의 유전자(NM_175640.2)

Perilipin의 발현정도는 정상군의 값을 1로 산정하여 비교하였을 때, 대조군에서 0.87 ± 0.09 로 유의한 차이가 없었다. 대조군과 비교하였을 때, 麻黃藥鍼투여군의 왼쪽 복부지방조직에서 측정된 perilipin 값은 0.99 ± 0.12 로 유의한 차이가 없었지만, 麻黃藥鍼투여군의 오른쪽 복부지방조직에서 측정된 perilipin 값은 0.60 ± 0.09 로 유의하게 낮았다(p<0.05). 왼쪽 복부지방조직에서 측정된 perilipin 값에 비해 오른쪽 복부지방조직에서 측정된 perilipin 값은 유의하게 낮았다(p<0.05)(Table 8, Fig. 9).

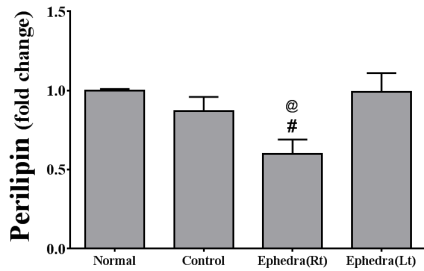


Fig. 9. Gene expression of perilipin in each experimental group.

Significantly different from control group (# p<0.05)
 @ Significantly different from *Ephedra* (Lt.) group (@ p<0.05)
 Normal : normal diet
 Control : 60% fat diet
Ephedra : of 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture
Ephedra (Rt.) : right abdomen samples of *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.
Ephedra (Lt.) : left abdomen samples of *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied with normal saline injection.

5) PPAR- γ 의 유전자(NM_011146.3)

PPAR- γ 의 발현정도는 정상군의 값을 1로 산정하여 비교하였을 때, 대조군에서 3.30±0.27로 유의하게 높았다(p<0.001). 대조군과 비교하였을 때, 麻黃藥鍼투여군의 왼쪽 복부지방조직에서는 2.80±0.49, 오른쪽 복부지방조직에서는 2.91±1.12로 모두 유의한 차이가 없었다(Table 8, Fig. 10).

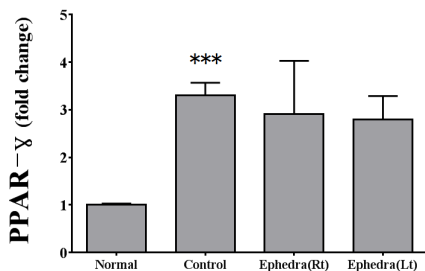


Fig. 10. Gene expression of PPAR- γ in each experimental group.

* Significantly different from normal group (***) p<0.001

Normal : normal diet
 Control : 60% fat diet
Ephedra : of 60% fat diet with *Ephedra sinica* pharmacopuncture
Ephedra (Rt.) : right abdomen samples of *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied at.
Ephedra (Lt.) : left abdomen samples of *Ephedra sinica* pharmacopuncture applied with normal saline injection.

IV. 고찰

본 실험에서는 실험동물의 체중을 인체의 비만 지표인 BMI에 같음하여 평가하였다. 고지방 식이를 한 동물 모델의 체중이 일반 식이를 한 동물군에 비해 유의하게 증가 된 것을 확인한 후, 실험군에 마황 추출물을 3주간 피하주사하고 체중을 측정 한 결과, 麻黃藥鍼 투여군의 체중이 대조군에 비해 유의하게 낮았으므로 麻黃藥鍼의 체중증가 억제 효과를 확인했다.

체중증가와 과체중, 비만은 혈중 cholesterol과 triglyceride 농도의 상승과 관련이 있다. 특히, total cholesterol 농도는 복부비만 그룹(허리-엉덩이 둘레 비율이 0.8 이상인 여성과 1.0 이상인 남성)에서 더 높게 나타났다는 보고¹³가 있다. 본 실험에서 정상군에 비해 대조군의 혈중 총콜레스테롤 수치가 유의하게 높아 비만상태를 나타냈고, 麻黃藥鍼 투여군에서 대조군 보다 낮게 나타났으나 유의한 차이는 없었다.

내장지방의 변화를 비교 분석하기 위해 부고환 지방조직의 무게를 측정한 결과, 麻黃藥鍼투여군의 부고환지방조직의 무게는 대조군에 비해 유의하게 낮았으므로, 麻黃藥鍼이 비만으로 인한 내장지방의 증가를 억제 한 것으로 사료된다.

피하지방의 변화를 살펴보기 위해 麻黃藥鍼을 투여한 우측 복부와 생리식염수를 투여한 좌측 복부에서 각각 샘플을 채취하여 피하지방의 무게를

비교한 결과, 우측복부의 지방이 유의하게 적었다. 이는 麻黃藥鍼이 피하지방 증가에 대해 억제 효과를 나타낸 것이며, 麻黃 추출액이 생체내 대사과정을 거치기 전에 국소의 피하지방부위에서 직접 작용하여 지방분해 효과를 나타낸다는 것을 시사한다.

지방세포의 지질대사 과정에는 adipocyte triglyceride lipase(ATGL)와 hormone-sensitive lipase(HSL), monoglyceride lipase의 세 효소가 관여 한다¹⁴. 이 중 ATGL과 HSL은 지방분해의 첫 번째 단계를 담당하며, 반응이 비교적 느리고, catecholamine과 natriuretic peptide라는 신호전달물질에 의해 직접 활성화되므로 지방분해 반응 전체의 속도조절 단계에 해당하는 중요한 역할을 하므로¹⁵, 비만치료 연구에 중요한 목표로 여겨진다. 한편, perilipin은 구조단백질로서 인체의 에너지 상태에 따라 triglyceride가 지방분해 효소에 노출되는 정도를 조절하며 지방분해효소의 활성을 최대화하여 지질대사에 관여 한다¹⁶. 또한, 핵내 수용체인 peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)는 음식물로 섭취한 지방과 지방으로부터 만들어진 대사산물에 의해서 활성화되므로 체내 지방의 센서로서 역할을 하는 동시에, 활성화 된 후에는 역으로 지방의 대사를 지배하는 역할을 한다¹⁷. PPAR- α 와 PPAR- γ 는 insulin-sensitizing thiazolidinedione(TZD)과 lipid-lowering fibrate 약물의 타겟 수용체이므로 당뇨병과 비만의 치료에 중요한 연구 과제이다.

실험동물의 지질대사를 분석하기 위해 피하지방조직에서 RNA를 추출하여, HSL, ATGL, monoglyceride lipase, perilipin, PPAR- γ 의 발현 정도를 측정하였다. 그 결과, HSL은 麻黃藥鍼을 투여한 우측 복부에서 생리식염수를 투여한 좌측 복부와 대조군에 비해 높았다. Perilipin은 麻黃藥鍼을 투여한 우측 복부에서 생리식염수를 투여한 좌측 복부와 대조군에 비해 낮았다. ATGL과 monoglyceride lipase, PPAR- γ 는 유한 차이가 없었다. Perilipin 농도가 낮은 것은 지방대사활성이 높은 것과 관련된다는 연구결과¹⁸를 참고하면, 麻黃藥鍼이 지방세포에서

HSL이 관여하는 지방대사과정에 영향을 미쳐 지방분해를 촉진시켰고, 결과적으로 lipid droplet의 수를 감소시켜 perilipin의 발현이 감소된 것으로 해석할 수 있다.

지방대사와 당대사의 조절은 유전자의 발현단계에서 밀접하게 연관되어 있다. 간과 근육에 지방이 과도하게 축적되면 인슐린 저항성을 유발하기 때문¹⁹, 비만이 제 2형 당뇨병 발병의 주요 위험 인자²⁰가 된다. 본 실험에서는 실험동물에 경구 당부하 검사를 실시한 결과, 麻黃藥鍼투여군에서 측정된 공복시 혈당, 당부하 30분 후, 60분 후, 120분 후의 혈당수치가 모두 대조군에 비해 크게 감소하였고, AUC 값도 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 이는 麻黃藥鍼이 비만으로 인해 증가된 인슐린 저항성을 완화 시킨 것으로 해석된다.

HSL과 ATGL의 발현정도는 인슐린저항성과 반비례 하게 나타난다는 연구가 있고²¹, HSL 결핍환자에서 인슐린 저항성이 증가해 있다는 보고가 있다²². 한편, 운동요법을 시행하여 체중감량을 하는 동안 HSL 발현정도의 변화를 측정한 연구에서는 식이요법과 운동요법의 강도를 높게 한 그룹에서 HSL 발현이 더욱 증가했다고 밝혔다²³. 위의 내용을 종합해 보면, 본 실험에서 麻黃藥鍼은 비만 모델 실험동물에서 HSL가 관여하는 지방분해과정의 단계에 영향을 미쳐, 체중 증가의 억제, 피하지방 증가의 억제, 인슐린 저항성의 억제 등의 작용을 나타낸 것으로 보인다.

V. 결 론

麻黃藥鍼이 비만 상태가 유발된 실험동물의 생화학 지표와 비만 관련 지표에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 麻黃藥鍼은 체중증가를 유의하게 억제하였다.
2. 麻黃藥鍼은 공복시 혈당과 경구 당부하 검사에서 30분 후, 60분 후, 120분 후 혈당을 유의하게

감소시켰다.

3. 麻黃藥鍼은 지방세포의 HSL 유전자의 발현을 유의하게 증가시켰다.
4. 麻黃藥鍼은 지방세포의 perilipin 유전자의 발현을 유의하게 감소시켰다.

참고문헌

1. Alexander E, Selwyn A, Calitz C, Yach D, Wan YC. Obesity: Cause and prevalence. in Encyclopedia of food and health 2016. Amsterdam: Elsevier; 2015, p. 132-8.
2. Hainer V, Toplak H, Mitrakou A. Treatment Modalities of Obesity: What fits whom?. *Diabetes Care* 2008;31(2):269-77.
3. National institutes of health. Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. *NIH publication* 1998;98(4083):13-18.
4. Shin MS. Management of Overweight and Obesity: Review of the "2013 AHA/ACC/TOS Guideline for the Management of Overweight and Obesity in Adults". *The Journal of Internal Korean Medicine* 2014;87(2):136-45.
5. Ju JH. Dangyesimbeopbuyeo. Seoul: Daeseong; 1982, p. 889.
6. Jang GB. Gyeong Akjeonseo. Seoul: Aulus media; 1994, p. 314.
7. Yu HG. Samyukseo. Seoul: Sungbosa; 1976, p. 282.
8. Hwang MJ, Sin HD, Song MY. Literature Review of Herbal Medicines on Treatment of Obesity Since 2000—Mainly about *Ephedra Herba*. *Journal of Korean Medicine for Obesity Research* 2007; 7(1):39-54.
9. Song MY, Kim HJ. Analysis of Main Single Medicinal Herbs for Anti-Obesity. *Journal of Korean Medicine for Obesity Research* 2013; 13(2):51-57.
10. Yeo JJ, Hyeong RC, Yang CS, Jeong SI, Seo US, Jang IS. Effects of Mahuang for Weight Loss in Healthy Adults : A Double-Blind, Controlled, Randomized, Clinical Trial. *Journal of Korean Medicine* 2007;28(1)69:63-71.
11. Yun DH, Gang JD, Ju JS, Chae US, Na CS. Effects of herbal acupuncture(Atratyloides japonica, Coix lachrymajobi, Ephedra sinica, Atratyloides japonica mixed with Coix lachrymajobi and Ephedra sinica mixed with Green tea) at Pungnyung(ST40) and Umnungchon(SP9) in obese Rats induced by high fat diet (p87-100). *Journal of Pharmacopuncture* 2004;7(1)12:87-100.
12. Jeong JJ, Kim BU. The Effect of Ephedrae Herba Pharmacopuncture on Adipocyte Metabolism. *Journal of Korean oriental internal medicine* 2008;29(1):80-9.
13. Shekelle RB, Shryock AM, Paul O, Lepper M, Stamler J, Liu S, et al. Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease. The Western Electric study. *New England Journal of Medicine* 1981;304:65-70.
14. Arner P, Langin D. Lipolysis in lipid turnover, cancer cachexia, and obesity-induced insulin resistance. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2014;25(5):255-62.
15. Girousse A, Langi D. Adipocyte lipases and lipid droplet-associated proteins: insight from transgenic mouse models. *International Journal of Obesity* 2012;36(4):581-94.
16. Brasaemle DL. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. *Journal of Lipid Research* 2007;48:2547-59.
17. Evans RM, Barish GD, Wang YX. PPARs and

- the complex journey to obesity. *Nature Medicine* 2004;10(4):1-7.
18. Mottagui-Tabar S, Ryden M. Evidence for an important role of perilipin in the regulation of human adipocyte lipolysis. *Diabetologia* 2003;46:789-97.
 19. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation* 2000;106(2):171-6.
 20. Dabelea D, Pettitt DJ, Jones KL, Arslanian SA. Type 2 diabetes mellitus in minority children and adolescents. An emerging problem. *Endocrinology of Metabolic Clinics in North America* 1999;28:709-29.
 21. Jocken J WE, Langin D, Smit E, Saris W HM, Valle C, Hul GB, et al. Adipose triglyceride lipase and Hormone-sensitive lipase protein expression is decreased in the obese insulin resistance state. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007;92(6):2292-9.
 22. Zechner R, Langin D. Hormone-sensitive lipase deficiency in humans. *Cell Metabolism* 2014;20:199-201.
 23. You T, Wang X, Yang R, Lyles MF, Gong D, Nicklas BJ. Effect of exercise training intensity on adipose tissue hormone sensitive lipase gene expression in obese women under weight loss. *Journal of Sport and Health Science* 2012;1:184-90.