

원 저

## 防風通聖散이 高脂肪飼料 食餌로 誘發된 肥滿생쥐에서 肥滿遺傳子 및 關聯因子에 미치는 影響

황상준, 송태원, 오민석

대전대학교 한의과대학 한방재활의학교실

### The Inhibitory Effects of *Bangpungtongseoung-san* on the Obese gene and Obese Inhibitory about Obese-mouse induced by High Fat Diet

Sang-jun Hwang, Tae-Won Song, Min-Suck Oh

Dept. of Oriental Medicine, College of Oriental Medicine,  
Daejeon University, Seoul, Korea.

**Objectives :** In this study, the aim was to investigate the inhibitory effects of *Bangpungtong-seoung-san* on the obese gene and obese inhibitory about obese-mouse induced by high fat diet.

**Methods :** In order to investigate the effects of *Bangpungtongseoung-san*(BPTS) on the obese gene and obese inhibitory, C57BL/6 mice were induced by high fat diet. C57BL/6 mice were divided into three groups(normal, high fat diet with control, high fat diet with BPTS extract) and fed for 13weeks.

**Results :** 1. The change of body weight and the final increase of body weight were decreased significantly.  
2. The amount of the adipocyte in body weight was decreased significantly.  
3. In primary adipocytes,  $\beta$ 3AR gene expression was increased significantly and leptin gene expression was decreased in 100 $\mu$ g/ml density significantly.  
4. In primary adipocytes, the amount of TNF- $\alpha$  was decreased in 100 $\mu$ g/ml density significantly and the amount of leptin was decreased but did not show significance.  
5. In adipocytes tissue, the expression of leptin was decreased and the expression of  $\beta$ 3AR was increased.

**Conclusions :** These results suggest that BPTS may inhibit the expression of the obese gene and obese inhibitory about obese-mouse induced by high fat diet.

**Key Words:** *Bangpungtongseoung-san*, adipocyte, obese gene, obese inhibitory.

### 緒 論

· 접수 : 2005년 6월 10일 · 논문심사 : 2005년 9월 22일  
· 채택 : 2005년 10월 21일  
· 교신저자 : 오민석, 충북청주시 상당구 용담동 173-9 대전대학교  
청주 한방병원 특진과 대전대학교 한의과 대학 한방재활의학과  
(Tel: 043-229-3700, Fax : 043-253-8757,  
E-mail : ohmin@dju.ac.kr)

肥滿이란 脂肪細胞의 肥大나 數的인 增加로 因해 脂肪이 過剩 蓄積된 狀態의 代謝障碍를 말한다<sup>1)</sup>.

肥滿의 原因은 遺傳, 代謝, 精神的 및 經濟的 要因 등이 關與하고 있으나 그 發生機轉은 營養攝

取가 消費를 超過함으로써 熱量이 中性脂肪의 形態로 脂肪組織에 過剩 蓄積되어 發生한다<sup>3)</sup>.

韓醫學에서는 肥滿에 關聯하여《素問·通評虛實論》<sup>3)</sup>과《靈樞·逆順肥瘦篇》<sup>3)</sup>에 “肥貴人卽 高粱之疾也” “年質壯大 血氣充盈膚革堅固 因加以邪刺此者 深而留之 此肥人也”로 나타나 있으며 肥, 肥人, 肥貴人<sup>3)</sup>, 肥白人<sup>4)</sup>, 肌膚盛<sup>5)</sup>, 肥胖<sup>6)</sup> 등으로 표현되었고, 原因은 氣虛, 濕, 痰 等<sup>7)</sup>이며, 治法은 補氣健脾, 祛濕化痰 等<sup>10)</sup>의 方法을 活用하고 있다.

防風通聖散은 金元四大家의 一人인 金代 劉의 《宣明方論》에 最初로 收載된 方劑로서 一切의 風熱과 飢飽勞役의 內外諸邪에 損傷되어 氣血이 沸鬱하고 表裏와 三焦가 俱實한 證을 治療할 目的으로 立方되었으<sup>11)</sup>, 以後에 諸風熱, 瘡疹, 瘡疥, 頭生白屑, 面鼻紫赤, 肺風瘡, 大風癩疾, 熱結二便不通, 酒毒 等에 發汗과 大小便排泄, 解熱의 功效를 가진 方劑로 利用되었으<sup>12)</sup> 近來엔 食積型 肥滿에 應用되고 있다<sup>13)</sup>.

防風通聖散의 肥滿에 對한 實驗的 研究로 安 等<sup>14)</sup>은 肥滿白鼠 血清中 脂質含量과 肝組織內의 脂肪蓄積을 低下시킴을, 申 等<sup>15)</sup>은 肥滿白鼠의 前脂肪細胞의 增殖과 分化를 抑制함을, 裴 等<sup>16)</sup>은 肥滿患者의 體成分의 變化를 報告하였으나, 防風通聖散이 肥滿遺傳子에 미치는 影響에 關한 研究는 不足한 실정이다.

이에 著者는 防風通聖散이 肥滿遺傳子와 肥滿抑制에 미치는 影響을 究明하고자, 高脂肪 飼料의 給與로 誘發된 肥滿생쥐를 對象으로 體重 變化를 觀察하였으며, RT-PCR을 利用하여 adipocyte內의 leptin과  $\beta$ 3AR, UCP-2의 發顯을 觀察하였고, ELISA kit를 利用하여 TNF- $\alpha$ 와 leptin의 生産量을 分析한 結果 有意性 있는 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

## 材料 및 方法

### 1. 재료

#### 1) 동물 및 사료

본 실험을 위하여 사용된 C57BL/6 생쥐(우, 30마

리, 20~24 g)는 한국생명공학연구원에서 분양 받아 고형사료(삼양사)와 고지방 사료(Bio-serv, U.S.A.)를 자유 식이하면서 물을 충분히 공급하고 실온 22±2℃를 유지하여 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 일반 사료와 고지방 사료의 kg당 조성의 내용과 분량은 다음과 같다 (Table 1, 2).

#### 2). 약제

본 실험에 사용한 防風通聖散의 구성은 方藥合編<sup>17)</sup>에 準하였으<sup>18)</sup>며, 사용한 약재는 大田大學校附屬 大田韓方病院에서 구입한 후 精選하여 사용하였고, 처방 1貼의 내용과 용량은 다음과 같다(Table 3).

## 2. 방법

### 1) 검액의 조제

防風通聖散(BPTS) 2첩을 증류수 1,300 ml에 넣어 2시간 동안 가열 후 여과액을 얻어 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하였다. 농축된 용액을 freeze dryer로 동결 건조하여 34 g의 분말을 얻었다.

**Table 1.** The Components of Normal Diet

Crude protein	22.1%
Crude fat	8.0%
Crude fiber	5.0%
Crude calcium oxide	8.0%
Calcium	0.6%
Phosphorus	0.4%

**Table 2.** The Components of High Fat Diet

Casein, High protein	26.0%
DL-Methionine	0.4%
Sucrose	16.2%
Corn Starch	16.0%
Beef Tallow	30.0%
Cellulose	5.0%
Mineral Mix, AIN-76	4.5%
Calcium Carbonat	0.4%
Vitamin Mix, Teklad	1.3%
Choline Dihydrogen Citrate	0.2%

**Table 3.** The Compositions of Bangpungdongseoungsan(BPTS)

韓藥名	生藥名	用量(g)
滑石	Talcum	6.37
甘草	Glycyrrhizae Radix	4.50
石膏	Cypsin Fibrosum	2.62
黃芩	Scutellariae Radix	2.62
桔梗	Platycodi Radix	2.62
防風	Sileris Radix	1.68
川芎	Cnidii Rhizoma	1.68
當歸	Angelicae gigantis Radix	1.68
赤芍藥	Paeoniae Radix	1.68
大黃	Rhei Undulati Rhizoma	1.68
麻黃	Ephedrae Herba	1.68
薄荷	Menthae Folium	1.68
連翹	Forsythiae Fructus	1.68
芒硝	Sodii Sulfas	1.68
荊芥	Nepetae Herba	1.31
白朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	1.31
梔子	Gardeniae Fructus	1.31
生薑	Zingiberis Rhizoma	3.75
Total Amount		41.53

얻어진 분말은 냉동고에서 보관하며 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2) 사료의 식이와 검역의 투여

동물은 일반 사료군(정상군), 고지방 사료군(대조군), BPTS군(실험군)의 3개군으로 나누어 12주 동안 자유식이 하였다. 검역의 경구 투여는 정상군과 대조군은 증류수를, 실험군은 BPTS 추출물을 각각 350 mg/kg의 농도로 물에 타서 12주간 매일 경구 투여하였다.

3) 체중 측정

7일 간격으로 동물의 체중을 0.1g 단위까지 측정하였다. 고지방사료를 12주간 급여하여 체중변화를 관찰하였다. 체중기는 Cas 저울을 사용하였다.

4) 지방 체세포내 비만 세포 발현량 분석

(1) In vitro

고지방 사료로 비만이 유발된 생쥐의 복강에서 지방체 조직을 잘게 절편 한 후 2% 우태아 혈청 (fetal bovine serum, FBS)이 포함된 RPMI 1640 배지

에 1 mg/ml의 collagenase IV를 가한 용액 15 ml로 37℃, shaking 배양기에서 30분 동안 조직을 분해하여 지방 체세포를 분리하였다. 분리된 지방 체세포는 배지로 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거하였다. 이들 지방 체세포들로부터 ACK 용액을 37℃에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 배지로 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다.

3일간 24 well plate에 지방 체세포 (1x10<sup>5</sup>cells)를 배양하고, BPTS (100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml)를 처리한 후 8 시간 배양한 후 RNazolB를 사용하여 total RNA를 추출하였다.

(2) In vivo

① 지방세포 분리 배양 및 ELISA 측정

가. 세포배양

C57BL/6 생쥐에 fat-diet를 12주간 급여한 후 체중이 증가되면 경추탈골로 치사시킨 후 복강내 지방세포를 분리하였다. 조직을 잘게 절편 한 후 2% 우태아 혈청 (fetal bovine serum, FBS)이 포함된 RPMI 1640 배지에 1 mg/ml의 collagenase IV를 가한 용액 15 ml로 37℃, shaking 배양기에서 30분 동안 5회 이상 조직을 분해 (digestion) 하여 지방세포를 분리하였다. 분리된 지방세포는 배지로 세척한 후 cell strainer (FALCON)에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거한다. 이들 세포들로부터 ACK 용액을 37℃에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 배지로 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다. 지방세포를 10% FBS-DMEM 배지에 7일간 배양한 후 지방세포를 분리하여 24 well plate에 5x10<sup>5</sup>세포씩 분주한다. 배양한 후 BPTS (100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml)를 처리하고 48 시간 배양하였다.

나. TNF-α 및 leptin의 생신량 분석

TNF-α 및 leptin의 배양상등액내의 측정은 enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA, Endogen, U.S.A.)로 생신량을 분석하였다. 각 well에 배양상등액 100 µl씩 분주하고, 1 시간 동안 실온에

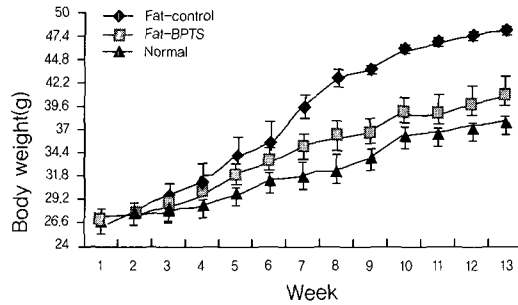


Fig. 1. Effect of BPTS extract on the change of body weight change in high fat diet-induced obesity mice. C57BL/6 mice were fed high fat diet containing BPTS extract for 13 weeks. The change of body weight was measured at every 2 day. Normal group received conventional food that contains low fat. Ten mice were used for each experimental group. Data are represented as the mean  $\pm$  SE.

서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100  $\mu$ l를 처리하고 1 시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100  $\mu$ l씩 분주하고 암소에서 30 분간 방치한 후 50  $\mu$ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

② 지방세포내 leptin 과  $\beta$ 3AR 발현량 조사  
가. 지방세포의 분리과 RNA 추출

C57BL/6 생쥐를 처사시킨 후 복강내의 지방세포를 떼어내어 액체 질소를 이용하여 균질화한 후 RNAzolB 700  $\mu$ l씩 첨가하여 세포막을 터트린 후, RNAzolB의 1/10 양에 해당하는 CHCl<sub>3</sub> (chloroform)을 넣은 후 15초간 vortex로 혼합하고 얼음에서 15분간 방치하였다. 4 $^{\circ}$ C 13,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 상층액을 취하여 동량의 iso-propanol과 혼합하여 다시 15분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고 1 ml의 70% EtOH을 넣고 washing한 후 상온에서 건조시켰다. 추출한 total RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 20  $\mu$ l의 증류수에 녹여 RT-PCR에 사용하였다.

나. 역전사-중합효소 연쇄반응 (RT-PCR)

역전사 (reverse transcription) 반응은 준비된 total RNA 3  $\mu$ g을 75 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 변성 (denaturation)시키고, 이에 2.5  $\mu$ l 10 mM dNTPs mix, 1  $\mu$ l random

sequence hexanucleotides (25 pmol / 25  $\mu$ l), RNA inhibitor로서 1  $\mu$ l RNase inhibitor (20 U/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l 100 mM DTT, 4.5  $\mu$ l 5 $\times$ RT buffer (250 mM Tris-HCl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>)를 가한 후, 1  $\mu$ l의 M-MLV RT (200 U/ $\mu$ l)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20  $\mu$ l가 되도록 하였다. 이 20  $\mu$ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 1시간 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 사용하였다.

다. cDNA-PCR

합성된 cDNA 중 1  $\mu$ l를 사용하여 20  $\mu$ l의 PCR 반응액 (10 mM Tris-Cl, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 7.5 mM 4NTPS, 20 pmol sense, antisense primers, 2 units Taq polymerase)을 제조하였다. PCR 반응액은 turbo thermocycler system을 사용하여 predenaturation 3분, denaturation 94 $^{\circ}$ C, 1분; annealing 55 $^{\circ}$ C, 1분; extension 72 $^{\circ}$ C, 1분 패턴으로 30회 반복하였다. 각 primer의 특성에 따라서 annealing 온도를 변화시켰으며 반응 산물은 1% agarose gel에서 전기영동하여 분석하였다.

6) 통계처리

실험 결과는 SPSS 11.0의 unpaired student's T-test를

사용하여 통계처리 하였으며  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  및  $p < 0.001$  수준에서 유의성을 검정하였다.

대조군에 비하여 큰 폭으로 감소하여 13주에는  $38.0 \pm 2.7\text{g}$ 으로 나타났다(Fig. 1).

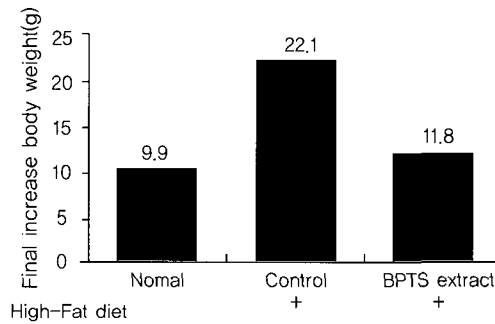
## 結果

### 1. 체중변화에 미치는 영향

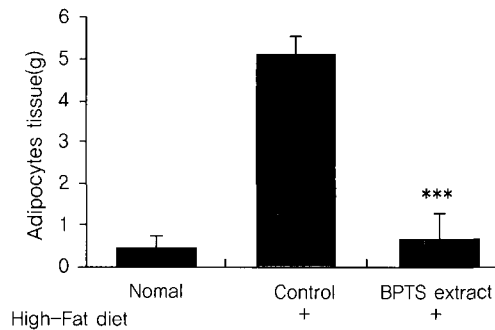
대조군의 체중 변화는 지속적인 증가를 나타내어 13주에는  $48.1 \pm 0.5\text{g}$ 으로 나타났고, BPTS 투여군은 4주까지는 동일한 양상으로 진행되다가, 6주부터는

### 2. 최종 체중 증가량에 미치는 영향

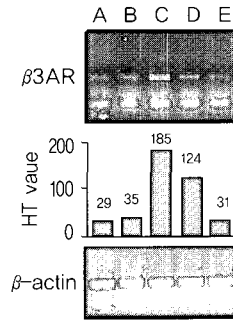
정상군은 실험 시작된 시점에 비해  $9.9 \pm 2.1\text{g}$ 이 증가하였고, 대조군은  $22.1 \pm 3.2\text{g}$ 이 증가하였다. 이에 비해 BPTS 투여군은  $11.8 \pm 3.7\text{g}$ 으로 증가하여 대조군에 비하여 큰 폭의 감소를 나타내었다(Fig. 2).



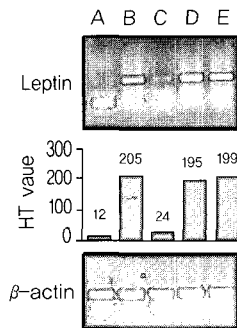
**Fig. 2.** Effect of BPTS extract on the body weight of high fat diet-induced obesity mice. C57BL/6 mice were fed high fat diet containing BPTS extract for 13 weeks. At the end of experimental treatment, the increase of body weight was measured. Normal group received conventional food that contains low fat. Ten mice were used for each experimental group. Data are represented as the mean  $\pm$  SE.



**Fig. 3.** Effect of BPTS extract on the weight of adipocyte in high fat diet-induced obesity mice. C57BL/6 mice were fed high fat diet containing BPTS extract for 13 weeks. The weight of adipocyte was measured at the end of experimental treatment. Normal group received conventional food that contains low fat. Ten mice were used for each experimental group. Data are represented as the mean  $\pm$  SE. Statistical analysis was performed using student's T-test (\*\*\*)  $p < 0.001$ .



**Fig. 4.** Effects of BPTS on the  $\beta$ 3AR mRNA gene expression in primary adipocytes isolated from fat-diet C57bl/6 mice. Primary adipocytes were isolated from the fat tissue of high fat-diet induced obesity mice, Cells were treated with BPTS in a concentration-dependent manner. Total RNA was isolated and then used for reverse transcription (RT). Using RT mixture, PCR was performed with  $\beta$ 3AR specific primer. PCR products were electrophoresed in 1.2% agarose gel. HT value was normalized to  $\beta$ -actin level. (A) normal, (B) high fat diet group, (C) 100  $\mu$ g/ml of BPTS, (D) 10  $\mu$ g/ml of BPTS, (E) 1  $\mu$ g/ml of BPTS.



**Fig. 5.** Effects of BPTS on the leptin mRNA gene expression in primary adipocytes isolated from fat-diet C57bl/6 mice. Primary adipocytes were isolated from the fat tissue of high fat-diet induced obesity mice, Cells were treated with BPTS in a concentration-dependent manner. Total RNA was isolated and then used for reverse transcription (RT). Using RT mixture, PCR was performed with leptin specific primer. PCR products were electrophoresed in 1.2% agarose gel. HT value was normalized to leptin level. (A) normal, (B) high fat diet group, (C) 100  $\mu$ g/ml of BPTS, (D) 10  $\mu$ g/ml of BPTS, (E) 1  $\mu$ g/ml of BPTS.

### 3. 체중내 adipocyte 중량에 미치는 영향

체중내 adipocyte 중량은 정상군이  $0.435 \pm 0.24$ g로 나타났고, 대조군은  $5.175 \pm 0.43$ g로 나타나 큰 폭으로 증가하였고, BPTS 투여군은  $0.689 \pm 0.68$ g로 대조군에 비하여 유의성 있는( $p < 0.001$ ) 감소를 나타내었다(Fig. 3).

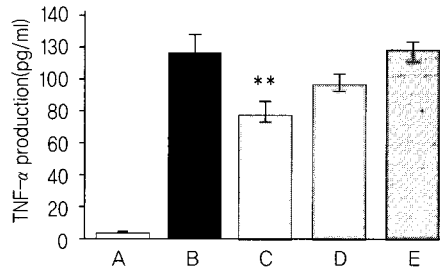
### 4. Primary adipose cell에서의 유전자 발현에 미치는 영향

#### 1) $\beta$ 3AR 발현에 미치는 영향

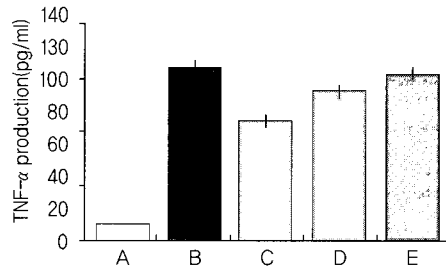
Primary adipose cell에서의  $\beta$ 3AR 발현에 미치는 영향에서, 정상군 HT 값은 29, 대조군 HT 값은 35, BPTS 투여군 100, 10, 1  $\mu$ g/ml 농도에서 185, 124, 31로 HT 값이 나타나 대조군에 비하여 큰 폭으로 발현이 증가하였다(Fig. 4).

#### 2) Leptin 발현에 미치는 영향

Primary adipose cell에서의 leptin 발현에 미치는 영향에서, 정상군 HT 값은 12, 대조군 HT 값은 205로



**Fig. 6.** Effects of BPTS extract on the TNF- $\alpha$  production in primary adipocytes isolated from fat-diet C57b/6 mice. Primary adipocytes were isolated from the fat tissue of high fat-diet induced obesity mice, Cells were treated with BPTS in a concentration-dependent manner. The TNF- $\alpha$  level in culture supernatants was measured by ELISA. Data are represented as the mean  $\pm$  SE of quadruplicated experiment. Statistical analysis was performed using student's *t*-test (\*\* $p$ <0.01). (A) normal, (B) high fat diet group, (C) 100  $\mu$ g/ml of BPTS, (D) 10  $\mu$ g/ml of BPTS, (E) 1  $\mu$ g/ml of BPTS.



**Fig. 7.** Effects of BPTS extract on the leptin production in primary adipocytes isolated from fat-diet C57b/6 mice. Primary adipocytes were isolated from the fat tissue of high fat-diet induced obesity mice, Cells were treated with BPTS in a concentration-dependent manner. The leptin level in culture supernatants was measured by ELISA. Data are represented as the mean  $\pm$  SE of quadruplicated experiment. (A) normal, (B) high fat diet group, (C) 100  $\mu$ g/ml of BPTS, (D) 10  $\mu$ g/ml of BPTS, (E) 1  $\mu$ g/ml of BPTS.

나타나 큰 폭으로 증가하였으나, BPTS 투여군 100, 10, 1  $\mu$ g/ml 농도에서는 각각 24, 195, 199으로 HT 값이 대조군에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으며 100  $\mu$ g/ml 농도에서는 큰폭의 감소가 나타났다(Fig. 5).

### 3) TNF- $\alpha$ 의 생성량에 미치는 영향

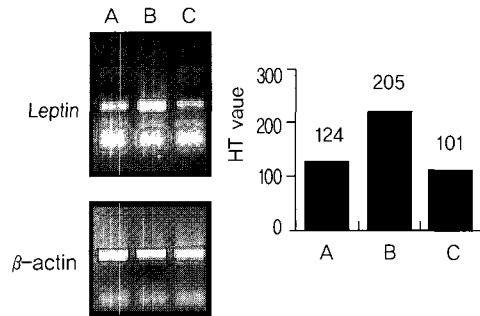
Primary adipose cell에서의 TNF- $\alpha$ 의 생성량은, 정상군은  $4.8 \pm 1.1$  pg/ml, 대조군은  $116 \pm 12.3$  pg/ml, BPTS 투여군 100, 10, 1  $\mu$ g/ml 농도에서  $78.6 \pm 7.6$ ,  $98 \pm 5.8$ ,  $118 \pm 6.3$  pg/ml로 나타났으며, 특히 100  $\mu$ g/ml

농도에서 유의성 있게( $p$ <0.01) 나타났다(Fig. 6).

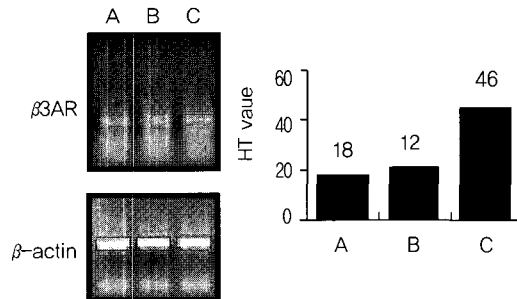
### 4) Leptin의 생성량에 미치는 영향

Primary adipose cell에서의 leptin의 생성량은, 정상군은  $82 \pm 15.5$  pg/ml, 대조군은  $957 \pm 144$  pg/ml로 나타났으며, BPTS 투여군 100, 10, 1  $\mu$ g/ml 농도에서  $656 \pm 105$ ,  $823 \pm 201$ ,  $911 \pm 123$  pg/ml로 나타났다(Fig. 7).

### 5. Adipocytes tissue에서의 유전자 발현에 미치는 영향



**Fig. 8.** Effects of BPTS on the obesity leptin mRNA gene expression in adipocytes tissue in normal and fat-diet induced C57bl/6 mice. Adipocyte tissues were isolated from normal an high fat-diet induced obesity mice. Total RNA was isolated and then used for reverse transcription (RT). Using RT mixture, PCR was performed with 5-Htp specific primer. PCR products were electrophoresed in 1.2% agarose gel. HT value was normalized to  $\beta$ -actin level. (A) normal, (B) high fat diet group, (C) high fat diet + BPTS



**Fig. 9.** Effects of BPTS on the obesity  $\beta$ 3AR mRNA gene expression in adipocytes tissue in normal and fat-diet induced C57bl/6 mice. Adipocyte tissues were isolated from normal an high fat-diet induced obesity mice. Total RNA was isolated and then used for reverse transcription (RT). Using RT mixture, PCR was performed with  $\beta$ 3AR specific primer. PCR products were electrophoresed in 1.2% agarose gel. HT value was normalized to  $\beta$ -actin level. (A) normal, (B) high fat diet group, (C) high fat diet + BPTS

1) Leptin 발현에 미치는 영향

Adipocytes tissue에서의 leptin 발현은, 정상군 HT 값은 124, 대조군 HT 값은 225, BPTS 투여군 HT 값은 101로 나타났다(Fig. 8).

2) beta3AR 발현에 미치는 영향

Adipocytes tissue에서의 beta3AR 발현에 미치는 영향에서, 정상군 HT 값은 18, 대조군은 HT 값은 21, BPTS 투여군 HT 값은 46 으로 나타났다(Fig. 9).

考 察

肥滿은 一般的으로 칼로리 攝取가 身體活動과 成長에 필요한 에너지 消費量을 超過하여 脂肪이 過剩 蓄積된 熱量의 不均衡상태를 말한다<sup>18)</sup>. 正常의 男子에서는 體重의 15-18%, 女子에서는 體重의 20-25%가 脂肪으로 構成되어 있으며, 體內的 脂肪量이 男子에서는 體重의 25-30% 以上, 女子에서는 體重의 30-35% 以上인 경우를 肥滿<sup>19)</sup>이라고 하나, 一般



的으로 標準體重의 10% 以上을 過體重이라고 하고, 20% 以上 超過된 경우를 肥滿으로 정의한다<sup>20)</sup>.

最近 생활수준의 向上으로 말미암아 예전에 비하여 그 發生率이 급격히 增加하고 있다<sup>13)</sup>. 이는 體重의 過多뿐만 아니라 脂肪蓄積에 따른 各種 代謝異常을 포함한 身體機能의 異常을 隨伴하여<sup>21)</sup> 動脈硬化症, 糖尿病, 心臟疾患, 關節疾患, 高脂血症, 脂肪肝 등의 成人病 疾患에 罹患되기 쉽다<sup>22)</sup>.

西醫學的으로 肥滿의 原因은 遺傳의 要因, 甲狀腺機能低下症이나 쿠싱 症候群 등의 一部 內分泌 疾患에 依한 호르몬 要因, 社會文化的 要素나 食生活 類型 등의 環境의 要因, 스테로이드제 등의 藥物濫用 등으로 나눌 수 있고, 이를 다시 遺傳의 要因과 호르몬 要因을 內的 要因으로, 社會文化的 要素나 食生活 類型 등의 環境의 要因을 外的 要因으로 分類한다<sup>23)</sup>.

肥滿의 成因은 비교적 複雜하여 體質, 年齡, 飲食, 勞動, 情志, 遺傳 등과 關係가 있으며<sup>24)</sup>, 治療方法으로는 食餌, 運動, 藥物, 手術, 行動變更<sup>25)</sup>이 있다.

韓醫學에서는 肥滿을 肥, 肥人, 肥貴人, 肌膚盛, 肥胖 等<sup>26)</sup>으로 表現하였고 그 形象에 對해서는 《靈樞·逆順肥瘦篇》<sup>27)</sup>에 “年質壯大 血氣充孕 膚革堅固...·肥人也”, 《靈樞·衛氣失常篇》<sup>28)</sup>에 “臑肉堅皮緩者肥” 라고 쓰여져 있다.

肥滿의 原因에 대하여 《黃帝內經》<sup>29)</sup>에 “數食甘味, 高粱之疾, 貪於取與” 라 하고, 《素問·通評虛實論》<sup>30)</sup>에 “肥貴人則膏粱之疾也” 라 하여서 膏粱厚味가 原因이 됨을 言及하였으며, 肥滿의 處方으로 塗 等<sup>31)</sup>은 實證인 경우에는 防風通聖散 大柴胡湯 大承氣湯 桃核承氣湯을, 虛證인 경우에는 防己黃芪湯 五苓散 合九味檳榔湯을, 虛實中間에는 桂枝茯苓丸 柴胡加龍骨牡蠣湯 九味半夏湯을 應用한다고 하였다.

防風通聖散은 劉<sup>32)</sup>의 《宣明方論》(A.D. 1172)에 처음 收錄되어있으며 防風通聖散의 適應症에 대하여 劉<sup>33)</sup>는 “一切風熱燥濕 四時傷寒 內外諸邪 所傷氣血 沸鬱 氣壅滯 鬱腸胃燥熱 風熱沸鬱 濕熱內鬱 一切穢毒 酒食毒 一切藥毒 雜病一切新舊” 라 하였고 朱<sup>34)</sup>는 風本於熱로 熱極卽生風하며 燥生於風 風動卽燥至

로 是熱風燥三者는 其一源流이니 治熱風燥三者之 總劑라 하였다. 楊 等<sup>35)</sup>은 汗風解表하며 瀉火通便하여 表裏俱實하며 風火壅盛한 實熱症에 多用한다는 效能外에도 蕁麻疹과 代謝作用의 抑制效果로 因하여 肥滿症 治療에도 活用될 수 있다고 하였다.

防風通聖散은 滑石, 甘草, 石膏, 黃芩, 桔梗, 防風, 川芎, 當歸, 赤芍藥, 大黃, 麻黃, 薄荷, 連翹, 芒硝, 荊芥, 白朮, 梔子, 生薑 等으로 構成되어 있는데<sup>17)</sup>, 그 中 大黃, 芒硝, 甘草는 調胃承氣湯으로서 胃腸內의 食毒을 몰아내며 防風, 麻黃은 皮膚를 열어서 病邪를 發散하고, 桔梗, 梔子, 連翹는 解毒, 消炎의 效能이 있으며, 荊芥, 薄荷는 頭部의 熱을 解消하고, 白朮은 滑石과 같이 水毒을 腎, 膀胱으로부터 排泄하며, 黃芩, 石膏는 消炎, 鎮靜作用을 하며, 當歸, 芍藥, 川芎은 行血을 調整할 수 있는 藥材로 構成되어 있어 風, 熱, 燥를 治療하는 代表的 方劑임을 알 수 있다<sup>29)</sup>. 따라서 防風通聖散은 風, 熱, 燥 三者를 治療하는 方劑로서 脾胃實熱 및 腎實熱이 原因이 되어 多食, 體肥健壯, 消穀善飢, 面色紅濼, 口乾舌燥, 大便秘結, 舌紅苔薄黃, 脈弦有力 등의 臨床症狀에 활용되는 바 實證 肥滿治療에 사용되어지고 있다<sup>30)</sup>.

이에 著者는 防風通聖散이 肥滿遺傳子와 肥滿抑制에 미치는 影響을 究明하고자, 高脂肪 飼料의 給與로 誘發된 肥滿생쥐를 對象으로 體重과 食餌量의 變化를 觀察하였으며, 血液學的 檢査와 함께 RT-PCR을 利用하여 adipocyte內의 leptin과  $\beta 3AR$ , GLUT1,4, LPL, 5-HtP의 發顯을 觀察하였고, ELISA kit를 利用하여 TNF- $\alpha$ 와 leptin의 生産量을 觀察한 結果 다음과 같았다.

체중변화를 살펴보면 대조군의 체중 변화는 지속적인 증가를 나타내어 13주에는  $48.1 \pm 0.5g$ 으로 나타났고, 실험군은 4주까지는 양성 대조군과 더불어 동일한 양상으로 진행되다가, 13주에는  $38.0 \pm 2.7g$ 으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 1).

최종 체중 증가량에 미치는 영향에 있어선 정상군은 실험 시작된 시점에 비해  $9.9 \pm 2.1g$ 이 증가하였고, 대조군은  $22.1 \pm 3.2g$ 이 증가하였다. 이에 비해

BPTS 투여군은  $11.8 \pm 3.7g$ 으로 증가하여 대조군에 비하여 큰 폭의 감소를 나타내었다(Fig. 2).

Adipocyte는 脂肪細胞로 體重變化와 肥滿의 指標로 意義가 있는데<sup>31)</sup>, 체중내 adipocyte 중량은 정상군이  $0.435 \pm 0.24g$ 로 나타났고, 대조군은  $5.175 \pm 0.43g$ 로 나타나 큰 폭으로 증가하였고, BPTS 투여군은  $0.689 \pm 0.68g$ 으로 대조군에 비하여 유의성 있는 ( $p < 0.001$ ) 감소를 나타내었다(Fig. 3).

脂肪 體細胞內 肥滿 細胞 發顯量 分析 中에서 遺傳子의 發顯 관찰에서  $\beta 3AR$ 은 주로 褐色 脂肪細胞에 分布하며 카테콜아민에 反應하여 脂肪分解와 熱生成에 關與하고, 肥滿遺傳子인 leptin의 濃度を 減少시키며,  $\beta 3AR$ 의 減少는 熱生成의 減少와 함께 脂肪細胞의 機能에도 影響을 미쳐 肥滿을 惹起시킬 수 있다<sup>32)</sup>. Primary adipose cell에서의  $\beta 3AR$  발현에 미치는 영향에서, 정상군 HT 값은 29, 대조군 HT 값은 35, BPTS 투여군 HT 값은 100, 10, 1  $\mu g/ml$  농도에서 각각 185, 124, 31로 나타나 대조군에 비하여 큰 폭으로 발현이 증가하였다(Fig. 4). 또한 primary adipose cell에서의 leptin 발현에 미치는 영향에서, 정상군 HT 값은 12, 대조군 HT 값은 205로 나타나 큰 폭으로 증가하였으나, BPTS 투여군 HT 값은 100, 10, 1  $\mu g/ml$  농도에서 각각 24, 195, 199로 나타나 대조군에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으며 100  $\mu g/ml$  농도에서는 큰폭의 감소가 나타났다(Fig. 5).

TNF(Tumor necrosis factor)는 BCG感染 생쥐에 LPS를 注射한 후 血清 中에 增加하는 因子로서 발견되었는데, 活性化된 macrophage와 T 淋巴球가 만드는 腫瘍細胞 傷害因子가 各各 TNF ( $TNF-\alpha$ )와 lymphotoxin ( $TNF-\beta$ )이다<sup>33,34)</sup>.  $TNF-\alpha$ 는 주로 活性化된 macrophage에 의하여 生成되는 炎症性 cytokine으로서 細胞性 免疫反應에 중요한 역할을 하고, 宿主의 다른 cytokines의 生成을 增加시키며 Gram 陰性桿菌感染에 同伴된 發熱, shock, 好中球의 活性度 등은 TNF 또는  $TNF$ 의 刺戟으로 生成되는 IL-1에 의해 惹起된다<sup>33,34)</sup>. Primary adipose cell에서의  $TNF-\alpha$ 의 생성량에 미치는 영향에서, 정상군은  $4.8 \pm 1.1 pg/ml$ , 대조군은  $116 \pm 12.3 pg/ml$ , BPTS 투여군은 100, 10, 1

$\mu g/ml$  농도에서 각각  $78.6 \pm 7.6$ ,  $98 \pm 5.8$ ,  $118 \pm 6.3 pg/ml$ 로 나타나 100  $\mu g/ml$  농도에서 대조군에 비하여 유의성 있게 ( $p < 0.01$ ) 감소하였다(Fig. 6). Primary adipose cell에서의 leptin의 생성량에 미치는 영향에서, 정상군은  $82 \pm 15.5 pg/ml$ , 대조군은  $957 \pm 144 pg/ml$ , BPTS 투여군은 100, 10, 1  $\mu g/ml$  농도에서 각각  $656 \pm 105$ ,  $823 \pm 201$ ,  $911 \pm 123 pg/ml$ 로 나타났다(Fig. 7).

$\beta 3AR$ 이 褐色 脂肪細胞뿐만 아니라 一般 脂肪細胞에도 分布함이 알려지고 있어 脂肪細胞의 크기나 分布 및 leptin 分泌에 關與할 것으로 생각되고 있다<sup>32)</sup>. Adipocytes tissue에서의 leptin 발현은, 정상군 HT 값은 124, 대조군 HT 값은 225, BPTS 투여군 HT 값은 101로 나타났다(Fig. 8). Adipocytes tissue에서의  $\beta 3AR$  발현에 미치는 영향에서, 정상군 HT 값은 18, 대조군은 HT 값은 21, BPTS 투여군 HT 값은 46으로 나타났다(Fig. 9).

以上の 內容을 總括해 보면 防風通聖散은 高脂肪 飼料의 給與로 誘發된 肥滿생쥐에서 體重의 變化와 最終 增加量을 有意성 있게 減少시켰고, adipocyte 重量을 有意성 있게 減少시켰다. 또한 肥滿 遺傳子에 있어서는 primary adipose cell에서  $\beta 3AR$ 의 發顯을 큰 幅으로 增加시켰으며, leptin의 發顯을 100  $\mu g/ml$  濃度에서 큰 幅으로 減少시켰다. 아울러 primary adipose cell에서  $TNF-\alpha$ 의 生成量을 100  $\mu g/ml$  濃度에서 有意성 있게 減少시켰음을 알 수 있다.

本 研究에서는 高脂肪 飼料의 給與로 誘導된 肥滿 生쥐를 通하여 體重의 變化 外에도 그간 研究가 不足했던 肥滿 遺傳子의 發顯變化를 實驗하였으나, 向後에는 遺傳的 肥滿을 가진 病態모델을 通한 實驗 및 運動負荷에 따른 變化의 研究가 필요할 것으로 생각된다.

## 結 論

防風通聖散이 肥滿에 미치는 影響을 알아보고자, 高脂肪 飼料의 給與로 誘導된 肥滿生쥐를 利用하여 體重의 變化, 肥滿에 關與하는 遺傳子의 發顯變化를 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 체중의 변화와 최종 증가량이 유의성 있게 감소되었다.

2. 체중 내의 adipocyte 증량은 유의성 있게 감소되었다.

3. Primary adipose cell에서  $\beta 3AR$ 의 발현은 큰 폭으로 증가되었고, leptin의 발현은  $100\mu g/ml$  농도에서 큰 폭으로 감소되었다.

4. Primary adipose cell에서  $TNF-\alpha$ 의 생성량은  $100\mu g/ml$  농도에서 유의성 있게 감소하였고 leptin 생성량은 감소하였으나 유의성은 없었다.

5. Adipocyte tissue에서 leptin 발현은 감소되었고  $\beta 3AR$  발현은 증가되었다.

以上の結果로 보아 防風通聖散은 肥滿治療에 積極的으로 活用될 수 있으리라 思料된다.

### 參考文獻

1. 국승래 외. 正常群과 肥滿群에서 허리-臀部 둘레비에 따른 體脂肪, 高脂血症, 血壓, 血糖과의 關係. 서울:가정의학회지. 1997;18(3): 317-325.
2. 金榮胡. 臨床藥學. 서울:臨床藥學社. 1987;4:16.
3. 馬元臺, 張隱庵. 黃帝內經素問靈樞. 臺北:臺聯國風出版社. 1981:218,260-261,324,344.
4. 李挺. 醫學入門. 서울:翰成社. 1983:126, 382,394, 400,423,452,465,497,505.
5. 張仲景. 金匱要略方論. 서울:成輔社. 1985:21, 35,70.
6. 中醫研究院主編. 中醫症狀鑑別診斷學. 北京:人民衛生出版. 1987:43.
7. 龔延賢. 萬病回春. 서울:杏林書院. 1982;上券:220,下券:1.
8. 虞天民. 醫學正傳. 서울:成輔社. 1986:75.
9. 金東佑 외. 肥滿症에 關한 文獻的 考察. 서울:東洋醫學. 1992;18(3):10.
10. 王光權. 減肥法初探. 浙江省:浙江中醫雜誌. 1985;3:128.
11. 劉完素. 宣明方論. 서울:麗江出版社. 1988;券十一:768.
12. 尹吉榮. 東醫臨床方劑學. 서울:明寶出版社. 1992;8,52-54.
13. 全國韓醫科大學 再活醫學科教室編. 東醫再活醫學科學. 서울:書苑堂. 1995:570-585.
14. 安정미, 김성수, 신현배. 防風通聖散이 肥滿誘導白鼠의 體重 및 脂質代謝에 미치는 影響.慶熙醫學. 1993;9(1):69-82.
15. 申秉澈, 宋勇善. 防風通聖散이 白鼠의 肥滿症 및 肥滿細胞에 미치는 影響. 韓方再活醫學會誌. 1997;7(1):101-118.
16. 배정환, 정석희, 이종수, 김성수, 신현대. 비만 환자에 있어 양해(防風通聖散)의 유용성 평가를 위한 임상시험. 韓方再活醫學會誌. 2003;13(1):37-46.
17. 黃度淵. 方藥合編. 서울:南山堂 1977:71,72,77, 121,122,123,124,128,137,139,140,147,148,150,159,160,171,172,185,187,240,338,342.
18. 李文鎬 외. 內科學. 서울:금강출판사. 1979:332-338.
19. 최중명 외. 肥滿과 關聯된 生活習慣에 關한 研究. 慶熙大學校 醫科大學. 1994:74.
20. 醫學教育研修院編. 家庭醫學. 서울:서울대학교출판부. 1987:281-283.
21. 王光權. 減肥法初探. 浙江中醫雜誌. 1985;3:128.
22. 이종호. 肥滿症의 治療. 서울:肥滿學會誌. 1992;1(1):21.
23. 허갑범. 肥滿症의 病因. 韓國營養學會誌. 1990;23(5):333-336.
24. 金眞順, 徐舞圭. 肥滿에 關한 研究. 高麗醫大誌. 1973;10:859.
25. 塗建中. 肥滿症의 中醫藥治 近況. 上海:上海中醫雜誌. 1989;8:33.
26. 劉完素. 劉河間三六書. 서울:成輔社. 1976:20,37,43,157,158
27. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 서울:大星文化社.

- 1982; 上卷:62,66-67,70,121,156,889.
28. 楊蘊祥, 劉翠榮編. 古今名方. 河南省:河南科學技術出版社. 1983:443,444.
29. 李尙仁. 本草學. 서울:醫藥社. 1975:56,58,100, 189,192,205,220,221,272,293,302,325,326,399, 421,480,489,474,498.
30. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂. 1971:367,420, 426,557,569.
31. 이삼열 외. 臨床病理檢査法. 서울:연세대학교 출판사. 2000:230,238,262.
32. 김용성. 肥滿과 遺傳子 研究 大韓肥滿學會誌. 2000;9(1):73-75.
33. 中島泉 著, 吳贊鎬 譯. 新免疫學入門. 지구문화사. 1997:63,118,120,123,124,127,128,175, 176,185-187,234,258,259.
34. 서울대학교 의과대학편. 腫瘍學. 서울:서울대학교출판부. 1992:188,189,228,229.