

원저

山査肉複合方이 생쥐의 비만억제에 미치는 영향

김형준 · 홍서영 · 허동석 · 윤일지 · 오민석

대전대학교 한의과대학 한방재활의학과 교실

The Inhibitory Effects of *Sansayukbokhap-bang*(SSYBHB) on the Obese-Mouse Induced High Fat Diet

Hyong-Jun Kim, Seo-Young Hong, Dong-Seok Heo, Il-Ji Yoon, Min-Seok Oh

Dept. of Oriental Rehabilitation Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Objectives

In order to investigate the effects of Sansayukbokhap-bang (SSYBHB) on the hematological and histological changes.

Methods

C57BL/6 mice were fed with high fat diet. C57BL/6 mice were divided into four groups and fed for 15weeks.

Results

1. The body weight of SSYBHB intake mice was significantly lower than high fat diet group.
2. The final increase of body weight was decreased significantly.
3. The levels of ALT, AST, total cholesterol, LDL-Cholesterol, triglyceride, Leptin were decreased significantly.
4. The levels of creatinine were decreased but did not show significance.
5. The level of HDL-cholesterol and the expression of β 3AR mRNA gene in 3T3-L1 Adipocytes were increased significantly.
6. Adipocytes' size was decreased significantly.
7. The expression of β 3AR mRNA gene, Leptin mRNA gene and serotonin mRNA gene in Adipocytes tissue was decreased significantly.

Conclusion

Based on these results, it is proved that SSYBHB is effective on the therapy of obesity by referring to obese-gene and obese inhibitory. So, it is expected that the clinical application of SSYBHB can help the treatment of obesity.

Key Words : Sansayukbokhap-bang, obesity, C57BL/6mice, body weight

■ 교신저자 : 윤일지, 대전시 서구 둔산2동 1136 대전대학교 부속 둔산한방병원
(042) 470-9136, koyij@dju.ac.kr
■ 접수: 08.04.17, 수정: 08.05.08, 채택: 08.06.14.

I. 緒 論

비만이란 대사 장애로 인해 체내에 지방이 과잉 축적된 상태를 말하는 것으로, 원인으로는 식사습관, 활동부족, 유전적 요인, 중추신경계 이상, 호르몬 요인, 심리적 장애를 들 수 있으며, 호흡기계, 순환기계, 위장관계, 근골격계, 비노생식기계들과 많은 관련성을 가진다¹⁾.

최근 비만의 유행률이 전 세계적으로 빠르게 증가하고 있고 비만은 단순히 미용 문제 뿐만 아니라 신체적, 정신적 건강에 심각한 장애를 초래하므로 세계보건기구 비만 자문위원회에서는 비만을 주요 보건 문제로 제안하고 있다²⁾.

韓醫學에서는 肥滿을 肥·肥人·肥貴人·肥胖 등으로 표현하였고³⁻⁵⁾ 《素問·通評虛實論》⁶⁾과 《靈樞·逆順肥瘦篇》⁶⁾에는 “肥貴人即膏粱之疾也” “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 原因은 氣虛, 濕, 痰 등⁷⁻¹⁰⁾이 있고, 治法으로는 補氣健脾, 祛濕化痰利水, 活血通絡 등의 方法이 활용¹¹⁾되고 있으며, 이러한 이론을 배경으로 비만에 대한 실험적 연구가 지속적으로 진행되고 있다¹²⁻²³⁾.

山查肉複合方은 助脾健胃, 消食積, 化瘀散結하는 山查肉과 補肝益腎, 養血祛風하는 何首烏, 利水滲濕, 泄熱하는 澤瀉, 清肝, 潤燥通便하는 決明子²⁴⁾ 등으로 구성된 처방으로 임상에서 비만환

자를 대상으로 활용되고 있는 경험방으로서 이에 대한 실험적 연구 및 보고는 아직 없는 실정이다.

이에 저자는 山查肉 何首烏 澤瀉 決明子 丹蔘 甘草 薄荷 葛根 麻黃 麥門冬 五味子 人蔘 玉竹 黃芪 白朮로 비교적 안전하게 활용할 수 있는 처방을 구성하여 山查肉複合方이라 이름하고 고지방 사료의 섭취로 유발된 비만 생쥐에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 동물실험과 세포실험 두 가지를 통해 체중의 변화, 혈액학적 변화 및 비만 세포의 유전자 발현 및 조직학적 변화를 측정할 결과 유의한 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 실험 재료

1) 동물 및 사료

본 실험을 위하여 사용된 C57BL/6 생쥐(우, 30 마리, 20~24 g)는 한국생명공학연구원에서 분양 받아 고형사료(삼양사)와 고지방 사료(Bioserv, USA)를 자유 식이하면서 물을 충분히 공급하고, 항온 항습 chamber내에서 실온 22 ± 2℃를 유지하여 1주 일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 일반 사료와 고지방 사료의 kg당 조성의 내용과 분량은 다음과 같다(Table I, II).

Table I. The Components of Normal Diet

Ingredients	Proportions %
Protein	22.1
Fat	8.0
Fiber	5.0
Calcium oxide	8.0
Calcium	0.6
Phosphorus	0.4

Table II. The Components of High Fat Diet

Ingredients	Proportions (%)
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	0.4

Table III. The Compositions of *Sansayukbokhap-bang*(SSYBHB)

Herbs	Pharmacognostic name	Dose (g)
何首烏	<i>Pleuropterus multiflorus</i>	10
澤瀉	<i>Alisma canaliculatum</i>	10
決明子	<i>Cassia Tora</i>	10
丹 蔘	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	8
山査肉	<i>Crataegi fructus</i>	12
甘 草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	4
薄 荷	<i>Mentha arvensis var. piperascens</i>	4
葛 根	<i>Puerariae radix</i>	6
麻 黃	<i>Ephedra sinica</i>	8
麥門冬	<i>Liriope platyphylla</i>	8
五味子	<i>Schisandra chinensis</i>	4
人 蔘	<i>Panax ginseng C.A.Meyer</i>	4
玉 竹	<i>Polygonatum odoratum var. pluriflorum</i>	4
黃 芪	<i>Astragalus membranaceus Bunge</i>	6
白 朮	<i>Atractylodes rhizoma</i>	6
Total		104

2) 약재

본 실험에 사용한 산사육복합방의 구성 약재는 대전대학교부속 대전한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였고, 처방 1첩의 내용과 용량은 다음과 같다(Table III).

3) 시약 및 기기

사용된 시약은 Diethyl - pyrocarbonate (DEPC), chloroform, RPMI-1640 배양액, dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS), ACK solution

(NH4Cl, KHCO3, EDTA), RNAase inhibitor promega (Madison Sigma. USA), 우태아혈청 (fetal bovine serum: FBS, Logan, USA), insulin (Sigma Co., USA), collagenase IV, trypsin-EDTA (Gibco BRL Co., USA), anti-biotic (Gibco BRL Co., USA), formaldehyde (Sigma Co., USA), trypan blue (Sigma Co., USA), ethanol (Merck Co., Germany), HCl (Merck Co., Germany), sodium bicarbonate (Sigma Co., USA), RBC lysis 용액 (Sigma Co., USA) RNAzolB (Tel-Test, Inc., USA), Taq polymer-

ase (Intron Co., Korea)를 사용하였다.

기기는 열탕추출기 (Daewoong, Korea), rotary vaccum evaporator (Büchi B-480, Switzerland), freeze dryer (EYELA FDU-540, Japan), CO2 incubator (Forma scientific Co., USA), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo, Japan), micro-pipet (Gilson, France), water bath (Vision scientific Co., Korea), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), centrifuge (Sigma, USA), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), homogenizer (OMNI, USA), plate shaker (Lab-Line, USA) 및 ELISA reader (Molecular Devices, Co., USA), Quantitative real-time-PCR (Applied Biosystems, USA) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

山査肉複合方 (SSYBHB) 2첩에 증류수 1,300 ml를 넣어 2시간 동안 가열 후 여과액을 얻어 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하였다. 농축된 용액을 freeze dryer로 동결 건조(-84℃)하여 41.5 g의 분말을 얻었다. 얻어진 분말은 냉동고에서 보관하며 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2) Mouse lung fibroblast cells (mLFCs) 배양

정상 C57BL/6 생쥐의 폐조직 (1g)을 잘게 분쇄하여 ACK 용액으로 적혈구를 제거한 후 cold D-PBS로 3회 세척하여 conical tube (15 ml)에 넣고 1,400 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 tube에 DMEM {containing collage-

nase A (5 mg/ml, BM, indianapolis, IN, USA) 와 DNase type I (0.15 mg/ml, Sigma), antibiotics (penicillinm 104 U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 µg/ml)}를 넣고 37℃ CO2 배양기에서 2 시간 동안 배양하였다. 여기에 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가하여 30 분간 배양 후 인산완충생리식염수 (PBS)로 약 2회 1,500 rpm에서 원심분리 하였다. 이를 DMEM-10% FBS로 1주일 동안 배양한 후 0.5% trypsin-0.2% EDTA로 세포를 분리하여 연속으로 1주일씩 3회 반복하여 살아있는 부착세포를 DMEM-5% FBS 배양액에서 2차 배양하였다.

3) 세포독성 측정

SRB assay법을 변형하여 사용하였다. 산사육복합방을 배양후 mLFCs에 SSYBHB (200, 100, 50, 10, 1 µg/ml)를 48 시간 동안 처리하고, 배양 종료 후에 배양액을 버리고 PBS로 2회 세척하였다. 세척한 각 well에 50% TCA (trichloroacetic acid)를 50 µl를 가하고, 1 시간 동안 4℃에 방치 하였다. 이를 다시 증류수로 5회 세척한 다음 well plate를 공기 중에서 건조하였다. 여기에 SRB (0.4%/1% acetic acid) 용액을 100 µl/well로 가하고 실온에서 30분간 염색하였다. 그리고 0.1% acetic acid 용액으로 약 4-5회 세척한 다음 공기 중에서 건조하고 10 mM Tris base로 100 µl/well로 용해시켰다. 이 well plate를 plate shaker에서 3.5 speed로 5분간 shaking하고, ELISA reader 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) 3T3-L1 cell에서의 β3AR 발현량 측정

(1) 세포배양

3T3-L1 세포는 37℃, 5% CO2 배양기에서 10%

FBS와 1% penicillin-streptomycin이 포함된 DMEM 배지에서 배양하였다. FBS는 잔존하는 보체성분을 불활성화시키기 위해 실온에서 녹인 후 heat inactivation (56°C water bath에서 30분간 가열)하여 사용하였으며, 배지는 0.2 µm membrane filter로 여과 후 사용하였다. 3T3-L1 세포는 부착해서 자라며 5 ml 배지를 넣은 T-25 culture flask에서 배양하였다. 세포를 회수할 때는 trypsin-EDTA 1 ml 을 가하여 37°C에서 1분간 반응시킴으로써 부착된 세포를 분리하고 배지 4 ml을 넣고 원심분리 (1,000 rpm, 3 분)를 하여 세척한 후 실험에 사용하였다.

(2) 지방세포 분화

3T3-L1 세포가 6 well plate의 약 70%를 차지하였을때, 분화 유도 용액을 가하였다. 분화 유도 용액은 3-isobutyl-1-methylxanthine (11.5 µg/ml) 5.5 µl, dexamthasone (10 mM) 0.5 µl, insuline (167 µM) 25.0 µl의 혼합 비율로 구성하였다. 분화 유도 용액을 처리한 후 2-3일에 한 번씩 insuline (167 µM) 25.0 µl를 처리하여 지방세포로 분화될 때까지 8 일간 배양하였다.

(3) 총 RNA 분리와 측정

배양하고 있는 3T3 L1 세포에 1 ml TRIzolB reagent (Invitrogen, USA)를 처리 하여 총 RNA를 분리하였다. 분리한 RNA에 100µl phenol과 100 µl chloroform : isoamylalcohol (24:1)을 넣고 잘 섞은 후 원심 분리하는 과정을 2번 반복함으로써 상층액을 분리한다. 0.5 ml isopropyl alcohol 을 이용하여 RNA를 침전시킨 후 70% ethanol로 세척하고 자연 건조시켰다. RNAase free water에서 RNA를 녹인 후 RNAase-free DNAase를 첨가하여 RT-PCR에 사용하였고, 이후, adipocytes tissue내의 leptin, β3AR과 serotonin 발현량 측정 방법과 동일하게 실험하였다.

5) 사료의 식이와 검액의 투여

동물은 C57BL/6를 사용하여 일반 사료군 (Normal, 이하 WT, n=6), 고지방 사료군 (Control, 이하 CT, n=6), reductil 투여군 (CT+reductil, 이하 reductil, 10 mg/kg, n=6), SSYBHB 투여군 (CT+SSYBHB, 이하 SSYBHB, n=6)의 4 개군으로 나누어 자유식을 하였다. 실험군의 몸무게가 28 g (7 주 간)으로 안정화 된 후 검액을 경구 투여하였다. 정상군과 대조군은 증류수를, 실험군은 SSYBHB 추출물을 17.2 mg/25 g의 농도로 물에 희석하여 8주간 매일 경구 투여하여 제 15주차에 측정하였다.

6) 체중 측정

7일 간격으로 동물의 체중을 0.1 g 단위로 측정하였다.

7) 채혈 및 혈청 분리

Ether로 마취하여 심장에서 혈액을 채취한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다.

8) Glucose 및 간내 효소 검사

Glucose, GOT (Aspartate Aminotransferase)와 GPT (Alanine Aminotransferase)의 활성도는 JSCC UV method의 원리를 이용하여 생화학 자동분석기로 측정하였다.

9) Creatinine 함량 측정

Creatinine의 함량은 enzymatic colorimetry method의 원리를 이용하여 생화학 자동분석기로

측정하였다.

10) Cholesterol 함량 측정

Total cholesterol의 함량은 enzymatic colorimetry method의 원리를 이용하여 생화학 자동 분석기로 측정하였고, LDL, HDL Cholesterol은 direct enzymatic assay을 이용하여 측정하였다.

11) 혈중 지질 함량 측정

Triglyceride의 함량은 enzymatic colorimetry method의 원리를 이용하여 생화학 자동분석기로 측정하였다.

12) Adipocytes tissue내의 leptin, β 3AR과 serotonin 발현량 측정

C57BL/6 생쥐를 치사시킨 후 복강 내의 지방 세포를 떼어내어 액체 질소를 이용하여 균질화하였다.

(1) RNA 추출

RNAzolB 600 μ l씩 첨가하여 세포막을 터트려, RNAzolB의 1/10 양에 해당하는 CHCl₃ (chloroform)을 넣은 후 15초간 혼합하고 얼음에서 15분간 방치하였다. 이를 4°C 13,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 상층액을 취하여 동량의 iso-propanol과 혼합하였다. 이를 다시 15분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고 1 ml의 70% EtOH을 넣고 washing한 후 상온에서 건조시켰다. 추출한 total RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 20 μ l의 증류수에 녹여 RT-PCR에 사용하였다.

(2) 역전사-중합효소 연쇄반응

역전사 (reverse transcription) 반응은 준비된 total RNA 3 μ g을 75°C에서 5분 동안 변성시키고, 여기에 2.5 μ l 10 mM dNTPs mix, 1 μ l random sequence hexanucleotides (25 pmol/5 μ l), RNA inhibitor로서 1 μ l RNase inhibitor (20 U/ μ l), 1 μ l 100 mM DTT, 4.5 μ l 5 × RT buffer (250 mM Tris-HCl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂)를 가한 후, 1 μ l의 M-MLV RT (200 U/ μ l)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로써 최종 부피가 20 μ l가 되도록 하였다. 이 20 μ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 37°C 항온 수조에서 1시간 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95°C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 사용하였다. 합성된 cDNA 중 1 μ l를 사용하여 20 μ l의 PCR 반응액 (10 mM Tris-Cl, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 7.5 mM 4NTPS, 20 pmol sense, antisense primers, 2 units Taq polymerase)을 제조하였다.

13) 조직 검사

실험 제 8주(15 주차)에 흰쥐를 ether로 마취시킨 다음 심장 천자를 통해 혈액을 채혈하고 복강을 절개하여 adipocyte tissue를 적출하였다. 각 실험군 별로 적출한 조직은 10% 중성 포르말린에 48 시간 고정하여 고정이 완료된 각 조직들은 흐르는 수돗물에서 12시간 수세하여 조직 내 고정액을 완전 제거하였다. 조직의 탈수를 위해 60%에서부터 100% 알코올에 이르기까지 농도 상승순으로 통상의 방법에 따라 탈수하고, xylene에 투명과정을 거친 다음 파라핀 블럭을 제작하였다. 제작된 블럭은 박절기(microtome)를 이용하여 3-4 μ m 두께로 절편을 만들어 탈 파라핀 및 함수

과정을 거친 다음 hematoxyline 과 eosin (H&E) 일반 염색을 실시하여 광학현미경 (Nikon, ×100, Japan) 상에서 관찰 및 사진 촬영 하였다.

3. 통계분석

실험 결과는 SPSS version 11.0의 unpaired student's t-test를 사용하여 통계처리 하였으며, $p < 0.05$, $p < 0.01$ 및 $p < 0.001$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 세포독성에 미치는 영향

mLFCs에 대한 세포독성에서는 대조군의 세포 생존율 $100.0 \pm 6.5(\%)$ 에 비하여, SSBHB의 1, 10, 50, 100, 200 ($\mu\text{g/ml}$) 농도에서는 각각 98.7 ± 4.7 , 96.8 ± 6.3 , 88.7 ± 3.8 , 87.4 ± 2.8 ,

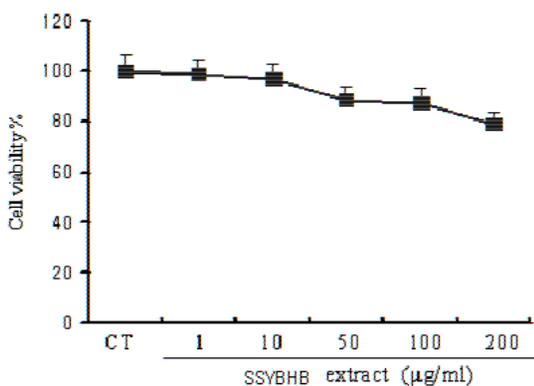


Fig. 1. Cytotoxicity of SSBHB on mouse lung fibroblast cells (mLFCs).

Mouse lung fibroblast cells (mLFCs) were treated with various concentration (200, 100, 50, 10, 1 $\mu\text{g/ml}$) of the SSBHB extract.

$79.0 \pm 3.8(\%)$ 로 나타났다(Fig. 1).

2. 3T3-L1 cell에서의 $\beta 3\text{AR}$ 발현에 미치는 영향

$\beta 3\text{AR}$ 발현은 정상군의 RQ값이 0.99 ± 0.011 , 대조군은 0.685 ± 0.055 , SSBHB 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도 투여군은 각각 1.619 ± 0.13 , 2.801 ± 0.186 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 증가효과를 나타내었다($p < 0.001$)(Fig. 2).

3. 체중 증가의 변화

실험 시작 첫 주에 정상군의 체중은 21.3 ± 0.6 g, 대조군은 20.7 ± 0.6 g, 양성대조군 (reductil)은 21.4 ± 0.3 g, SSBHB 투여군 20.2 ± 0.7 g로 나타났다. 대조군에 비하여 양성대조군과 SSBHB 투여군의 몸무게는 4주까지는 동일한 양상으로 진행하다가 6주부터는 큰 폭으로 감소

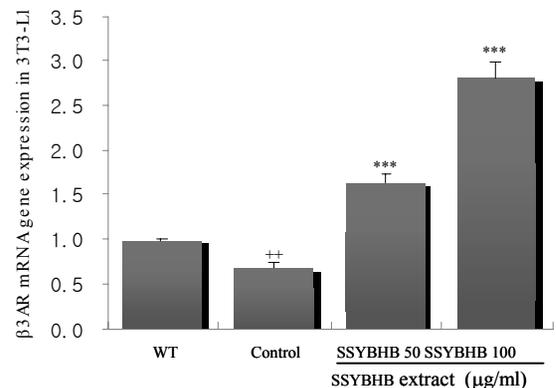


Fig. 2. Effects of SSBHB extract on the $\beta 3\text{AR}$ mRNA gene expression in 3T3-L1 adipocytes co-cultured with 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ of SSBHB for 8 hrs.

Real-time-PCR of $\beta 3\text{AR}$ and GDPH relative in co-cultured 3T3-L1 adipocytes cells. 3T3 adipocytes cells were isolated mRNA and RQ of $\beta 3\text{AR}$ mRNA expression for analyzed by real-time PCR. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with control group($***p < 0.001$).

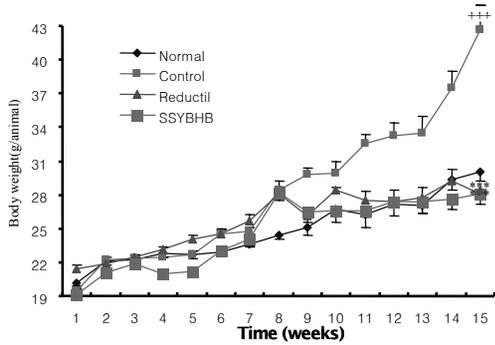


Fig. 3. Effect of SSBHB extract on the body weight change in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group(+++p<0.001). Statistically significant value compared with control group (***)p<0.001).

하여 15주에 정상군 30.0 ± 0.8 g, 대조군은 42.6 ± 1.2 g인데 반해, 양성대조군 (reductil)은 28.1 ± 0.1 g, SSBHB 투여군은 28.1 ± 0.8 g로 나타나, SSBHB 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(p<0.001)(Fig. 3).

4. 최종 체중에 미치는 영향

15주째 정상군의 체중은 실험 시작된 시점에 비해 30.0 ± 0.8 g이 증가하였고, 대조군은 42.6 ± 1.2 g, 양성대조군 (reductil)은 28.1 ± 0.2 g으로 나타난 반면, SSBHB 투여군은 15주째 28.1 ± 0.8 g로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(p<0.001)(Fig. 4).

5. 혈액학적 변화

1) ALT, AST 변화에 미치는 영향

ALT 변화는 정상군이 51.5 ± 9.7 IU/L, 대조군

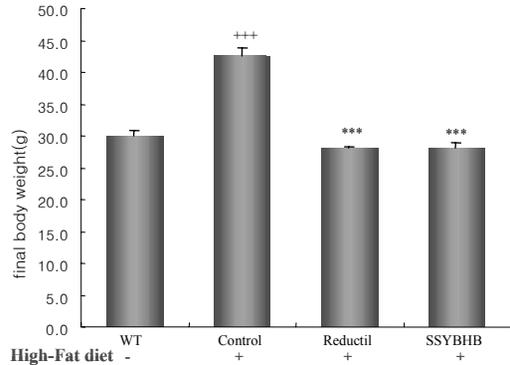


Fig. 4. Effect of SSBHB extract on the final body weight in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group (+p<0.05,++p<0.01,+++p<0.001). Statistically significant value compared with control group(***)p<0.001).

이 93.0 ± 22.7 IU/L로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서는 큰 폭으로 증가하였다. 이에 비해 양성대조군은 37.2 ± 5.7 IU/L, SSBHB 투여군에서는 31.4 ± 4.8 IU/L로 나타나 양성대조군과 더불어 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(*p<0.05).

AST 변화는 정상군이 233.4 ± 10.6 IU/L, 대조군이 286.3 ± 4.5 IU/L로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서는 증가하였다. 이에 비해 양성대조군은 91.3 ± 4.4 IU/L, SSBHB 투여군에서는 90.2 ± 11.6 IU/L로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(p<0.001)(Fig. 5).

2) Glucose 변화에 미치는 영향

정상군이 231.0 ± 20.9 mg/dL, 대조군이 266.0 ± 3.1 mg/dL, 양성대조군 (reductil)이 187.3 ± 11.5 mg/dL, SSBHB 투여군은 250.3 ± 9.5 mg/dL로 나타났다(Fig. 6).

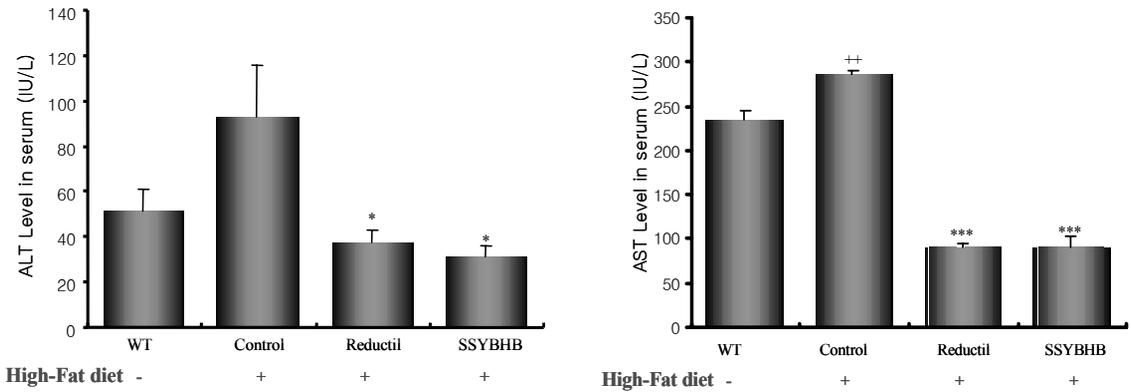


Fig. 5. Effects of SSBHB extract on the ALT and AST level in high Fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with the normal group(++ p <0.01). Statistically significant value compared with control group(* p <0.05, *** p <0.001).

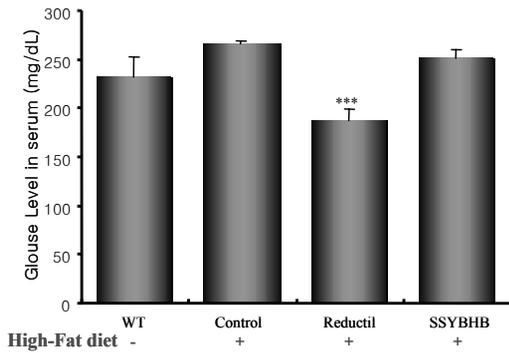


Fig. 6. Effects of SSBHB extract on the glucose level in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with control group(*** p <0.001).

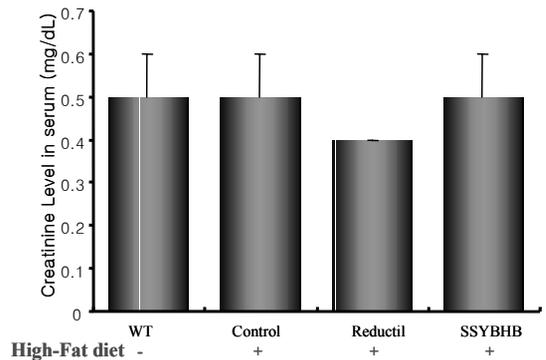


Fig. 7. Effects of SSBHB extract on the creatinine level in high fat diet-induced obesity mice.

3) Creatinine 변화에 미치는 영향

정상군이 0.5 ± 0.1 mg/dL, 대조군이 0.5 ± 0.1 mg/dL, 양성대조군 (reductil)은 0.4 ± 0.0 mg/dL, SSBHB투여군은 0.5 ± 0.1 IU/L로 나타났다(Fig. 7).

4) Total cholesterol 변화에 미치는 영향

정상군이 92.0 ± 9.4 mg/dL, 대조군이 $130.0 \pm$

9.7 mg/dL로 나타난 반면, 양성대조군 (reductil)은 102.0 ± 7.8 mg/dL, SSBHB 투여군에서는 103.5 ± 8.4 mg/dL로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(* p <0.05)(Fig. 8).

5) LDL-Cholesterol 변화에 미치는 영향

정상군이 5.3 ± 0.3 mg/dL, 대조군이 11.1 ± 0.2 mg/dL, 양성대조군이 6.3 ± 0.3 mg/dL로 나타난 반면, SSBHB 투여군은 8.3 ± 0.5 mg/dL

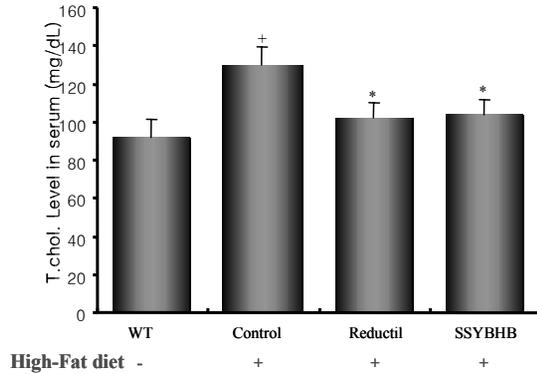


Fig. 8. Effects of SSBHB extract on the T.chol level in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group($+p<0.05$). Statistically significant value compared with control group($*p<0.05$).

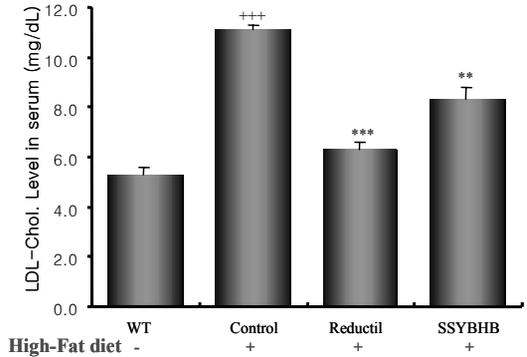


Fig. 9. Effects of SSBHB extract on the LDL-chol. level in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group($+++p<0.001$). Statistically significant value compared with control group($**p<0.01$, $***p<0.001$).

으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다($**p<0.01$)(Fig. 9).

6) HDL-Cholesterol 변화에 미치는 영향

HDL-Cholesterol 변화는 정상군이 77.5 ± 3.4 mg/dL, 대조군이 61.3 ± 6.3 mg/dL, 양성대조군 (reductil)이 83.1 ± 0.3 mg/dL로 나타난 반면, SSBHB투여군은 84.4 ± 5.3 mg/dL로 나타나 양성대조군과 더불어 대조군에 비하여 유의성 있는 증가효과를 나타내었다($*p<0.05$)(Fig. 10).

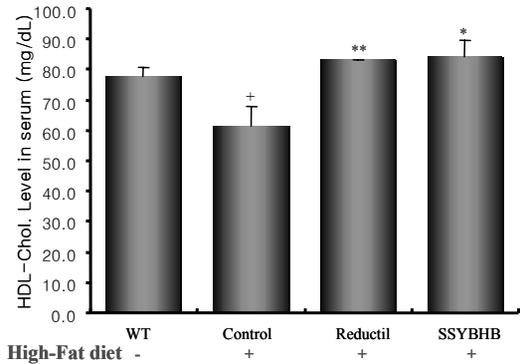


Fig. 10. Effects of SSBHB extract on the HDL-chol level in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group($+p<0.05$). Statistically significant value compared with control group($*p<0.05$, $**p<0.01$).

7) Triglyceride 변화에 미치는 영향

정상군이 40.7 ± 7.2 mg/dL, 대조군이 58.3 ± 1.4 mg/dL로 나타난 반면, 양성대조군 (reductil)이 30.3 ± 3.7 mg/dL, SSBHB 투여군은 38.5 ± 8.7 mg/dL으로 나타나, 양성대조군과 더불어 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다($*p<0.05$)(Fig. 11).

8) Leptin 변화에 미치는 영향

정상군이 3.7 ± 0.4 ng/dL, 대조군이 50.5 ± 2.5 ng/dL, 양성대조군 (reductil)이 11.5 ± 4.5

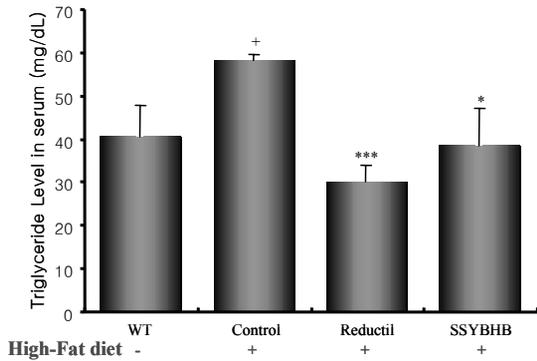


Fig. 11. Effects of SSYBHB extract on the triglyceride level in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group ($+p<0.05$). Statistically significant value compared with control group ($*p<0.05$, $***p<0.001$).

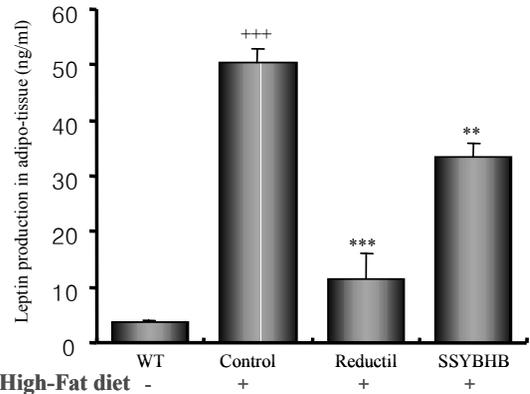


Fig. 12. Effects of SSYBHB extract on the Leptin level in high fat diet-induced obesity mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group ($+++p<0.01$). Statistically significant value compared with control group ($**p<0.01$, $***p<0.001$).

ng/dL은 나타난 반면, SSYBHB 투여군은 33.5 2.5 mg/dL으로 나타나 양성대조군과 더불어 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다($**p<0.01$)(Fig. 12).

6. Adipocytes tissue에서의 유전자 발현에 미치는 영향

1) β 3AR 발현에 미치는 영향

Adipocytes tissue에서 β 3AR mRNA 유전자 발현은, 정상군이 1.006 ± 0.006 , 대조군이 0.82 ± 0.076 , 양성대조군 (reductil)은 2.131 ± 0.360 , SSYBHB 투여군은 1.389 ± 0.027 RQ로 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다($p<0.001$)(Fig. 13).

2) Leptin 발현에 미치는 영향

Adipocytes tissue에서 leptin mRNA 유전자 발현은 정상군이 0.171 ± 0.006 , 대조군이 0.995

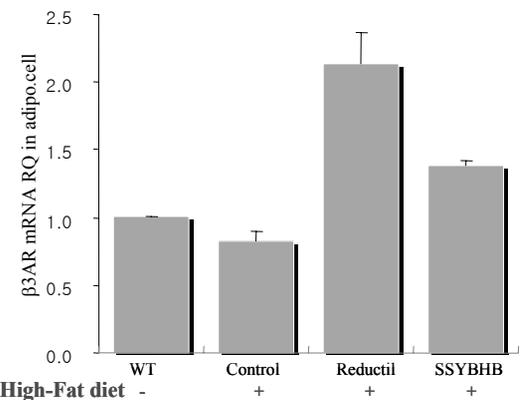


Fig. 13. Effects of SSYBHB on the β 3AR mRNA gene expression in adipocytes tissue in normal and fat-diet induced C57BL/6 mice. The results are expressed as the mean \pm S.E. Statistically significant value compared with normal group ($+p<0.05$). Statistically significant value compared with control group ($***p<0.001$).

± 0.076 , 양성대조군 (reductil)은 0.477 ± 0.023 , SSYBHB 투여군은 0.401 ± 0.027 RQ로 나타나,

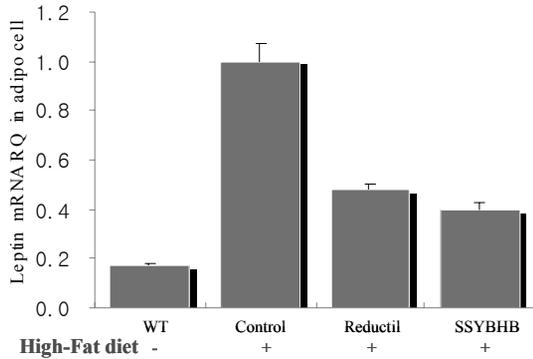


Fig. 14. Effects of SSBHB on the Leptin mRNA gene expression in adipocytes tissue in normal and fat-diet induced C57BL/6 mice. Adipocytes tissues were isolated mRNA and RQ of Leptin mRNA expression for analyzed by real-time PCR. The results are expressed as the mean \pm S.E.

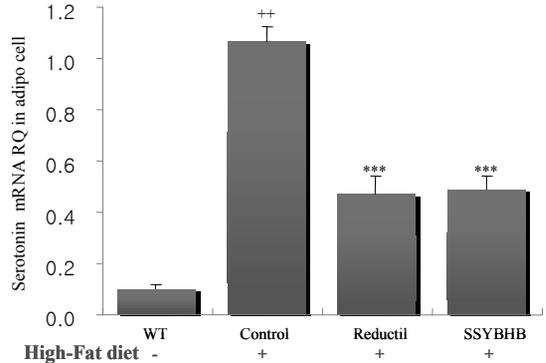


Fig. 15. Effects of SSBHB on the serotonin mRNA gene expression in adipocytes tissue in normal and fat-diet induced C57BL/6 mice. Adipocytes tissues were isolated mRNA and RQ of serotonin mRNA expression for analyzed by real-time PCR. The results are expressed as the mean \pm S.E.

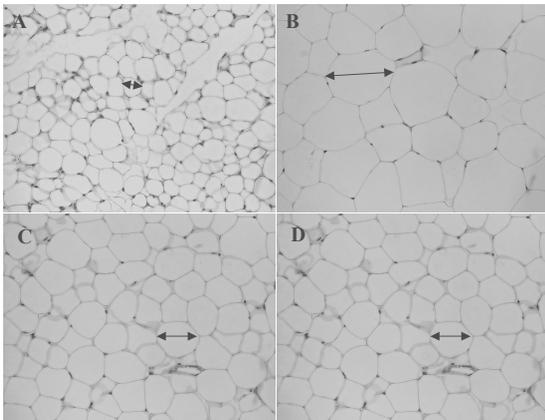


Fig. 16. Histological analysis of adipocytes tissue of normal and fat-diet induced C57BL/6 mice. Normal adipocytes tissue (A, WT). High fat-diet induced mouse adipocytes tissue (B, CT). High fat-diet and reductil induced mouse adipocytes tissue (C, reductil). High fat-diet and SSBHB induced mouse adipocytes tissue (D, SSBHB). They were sacrificed, liver was fixe in 10% buffered formalin and embedded in paraffin. Paraffin sections were stained with hematoxylin/eosin. The panels are representative photomicrographs of each of these risk at bright microscope (Nikon, $\times 100$, Japan).

양성대조군과 더불어 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다($***p < 0.001$)(Fig. 14).

3) Serotonin 발현에 미치는 영향

Adipocytes tissue에서 serotonin mRNA 유전자 발현은 정상군이 0.102 ± 0.018 , 대조군이 1.063 ± 0.063 , 양성대조군 (reductil)이 0.472 ± 0.067 , SSBHB 투여군은 0.491 ± 0.053 RQ로 나타나, 양성대조군과 더불어 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다($***p < 0.001$)(Fig. 15).

7. Adipocyte의 조직학적 변화

사진에서 보듯이 정상 adipose 조직에 비하여 고지방식으로 비만을 유도한 대조군은 adipocytes의 크기가 정상군은 $20 \mu\text{m}$, 대조군은 $125 \mu\text{m}$, 양성대조군 (reductil)은 $60 \mu\text{m}$, SSBHB 투여군은 $75 \mu\text{m}$ 로 나타나, 대조군에 비하여 상대적으로 adipocytes의 크기가 감소한 것을 관찰할 수 있었다

(Fig. 16).

IV. 考 察

비만은 칼로리의 섭취가 신체활동 및 성장에 필요한 에너지 소모량을 넘어서서 지방이 과도하게 축적된 에너지의 불균형 상태를 말한다¹⁾. 정상인의 경우 남자에서는 체중의 15-18%, 여자에서는 체중의 20-25%가 지방으로 구성되어 있는데, 체내의 지방량이 남자에서는 체중의 25-30% 이상, 여자에서는 체중의 30-35% 이상인 경우를 비만²⁾이라고 하나, 일반적으로 표준체중의 10% 이상을 과체중, 20% 이상인 경우를 비만으로 정의한다²⁵⁾.

비만의 원인은 유전적 요인, 갑상선 기능저하증이나 쿠싱 증후군 등의 일부 내분비 질환에 의한 호르몬 요인, 사회문화적 요소나 식생활 유형 등의 환경적 요인, 스테로이드제 등의 약물남용 등으로 나눌 수 있고, 이를 다시 유전적 요인과 호르몬 요인을 내적 요인으로, 사회문화적 요소나 식생활 유형 등의 환경적 요인을 외적 요인으로 분류한다²⁶⁾.

비만은 심혈관계 질환, 고혈압, 뇌졸중, 당뇨, 여러 종류의 암 등의 위험요인으로서 전 세계적으로 문제가 되고 있다. 비만은 생활수준의 향상과 함께 식생활의 변화로 점차 증가하는 추세에 있어²⁷⁾, 건강에 있어서 중대한 문제로 여겨지고 있으며 여성들에 있어서 특히 비만관련 질환들이 많이 있는 것으로 보고되고 있다²⁸⁾.

韓醫學에서는 비만을 肥, 肥人, 肥貴人, 肌膚盛, 肥胖 등⁵⁻⁷⁾으로 表現하였고 그 形象에 대해서는 《靈樞·逆順肥瘦篇》⁶⁾에 “年質壯大 血氣充孕 膚革堅固... 肥人也”, 《靈樞·衛氣失常篇》⁶⁾에 “膈肉堅 皮緩者肥” 라고 표현하였다.

肥滿의 병인 병리는 膏粱厚味한 음식을 多食하면 脾胃의 運化作用이 실조되고 脾胃의 運化기능이 실조되면 熱을 발생하여 津液을 炸하고 陰液이 耗傷하여 飲食을 求하게 되므로 음식섭취가 왕성하게 되어 肥滿이 되는 것이다. 氣虛하면 運化기능이 무력해져 濕痰이 發生하여 肥滿을 야기하며, 濕痰은 체내의 水液代謝機能이 失調되어 나타나는 병리적 산물임과 동시에 체내의 水液代謝의 균형을 깨는 요인으로 濕痰이 체내에 형성되면 肥滿을 야기한다¹⁾.

한의학적인 肥滿의 治療는 오장육부간의 기능을 적절히 조절하는 것을 목표로 하고, 氣虛型 肥滿, 氣滯型 肥滿, 氣逸型 肥滿, 痰飲型 肥滿, 脾實型 肥滿, 脾虛濕型 肥滿, 肝乘脾型 肥滿, 運動障礙型 肥滿등 유형에 따라 치료 방향을 설정한다^{1,11)}.

이러한 이론을 바탕으로 비만에 대한 실험적 연구가 수많은 한약처방으로 진행되었지만¹²⁻²³⁾ 山査肉를 위주로 구성된 처방에 대한 연구는 아직 없었다.

이에 저자는 산사육복합방이 비만의 치료에 미치는 영향을 실험적으로 규명하기 위하여 고지방 사료의 섭취로 유발된 생쥐를 대상으로 체중 측정, 혈액학적 검사, 지방 세포의 조직학적 변화 등을 관찰하였다.

우선 mLFCs에 대한 세포독성에서는 대조군의 세포생존율 100.0 ± 6.5%에 비하여 SSBHB의 1, 10, 50, 100, 200 μm/mg농도에서는 각각 98.7 ± 4.7, 96.8 ± 6.3, 88.7 ± 3.8, 87.4 ± 2.8, 79.0 ± 3.8(%)로 나타났다(Fig. 1).

β3AR 발현은 정상군의 RQ값이 0.99 ± 0.011, 대조군은 0.685 ± 0.055, SSBHB 50, 100 μm/mg 농도 투여군이 각각 1.619 ± 0.13, 2.801 ± 0.186로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 증가효과를 나타내었다(Fig. 2).

체중 증가의 변화는 정상군은 15주에 $30.0 \pm 0.8\text{g}$ 으로 나타났고, 대조군의 체중 변화는 지속적인 증가를 나타내어 15주에는 $42.6 \pm 1.2\text{g}$ 으로 나타났다. 이에 비해 양성대조군과 SSBHB 투여군은 4주까지는 동일한 양상으로 진행하다가 6주째부터 큰 폭으로 감소하여 15주째 SSBHB 투여군은 $28.1 \pm 0.8\text{g}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(Fig. 3).

최종 체중 증가량은 실험 시작된 시점에 비해 정상군이 $30.0 \pm 0.8 \text{ g}$ 이 증가하였고, 대조군은 $42.6 \pm 1.2 \text{ g}$, 양성대조군은 $28.1 \pm 0.2 \text{ g}$ 으로 나타난 반면, SSBHB 투여군은 15주째 $28.1 \pm 0.8 \text{ g}$ 으로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(Fig. 4).

혈청 변화에 미치는 영향을 종합하면 다음과 같이 요약할 수 있다.

ALT와 AST는 간에서 생성되는 효소로 간에 지방이 과다하게 축적되는 경우 수치가 상승하여 비만환자의 경우는 혈중 농도가 증가하는 경향이 있다²⁹⁾.

ALT 변화는 정상군이 $51.5 \pm 9.7 \text{ IU/L}$, 대조군이 $93.0 \pm 22.7 \text{ IU/L}$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서는 큰 폭으로 증가하였다. 이에 비해 양성대조군은 $37.2 \pm 5.7 \text{ IU/L}$, SSBHB 투여군에서는 $31.4 \pm 4.8 \text{ IU/L}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(Fig. 5).

AST 변화는 정상군이 $233.4 \pm 10.6 \text{ IU/L}$, 대조군이 $286.3 \pm 4.5 \text{ IU/L}$ 로 나타나 정상군에 비하여 대조군에서는 증가하였다. 이에 비해 양성대조군은 $91.3 \pm 4.4 \text{ IU/L}$, SSBHB 투여군에서는 $90.2 \pm 11.6 \text{ IU/L}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다. 이상의 결과는 고지방사료로 인한 간의 지방축적을 산사육복합방이 효과적으로 방어하는 것으로 생각할 수 있다(Fig. 5).

Glucose는 혈액내 포도당량을 파악하여 인슐린의 분비 여부와 잉여 포도당이 지방으로 전환되는 과정을 알아보는 지표로 삼을 수 있다²⁹⁾.

Glucose 변화는 정상군이 $231.0 \pm 20.9 \text{ mg/dL}$, 대조군이 $266.0 \pm 3.1 \text{ mg/dL}$, 양성대조군 (reductil)이 $187.3 \pm 11.5 \text{ mg/dL}$ 로 나타난 반면, 양성대조군과 더불어 SSBHB 투여군은 $250.3 \pm 9.5 \text{ mg/dL}$ 로 나타났다(Fig. 6).

Creatinine은 내인성 단백대사의 종산물로 신장 기능을 측정하는데 활용된다. 혈중 creatinine 농도는 신장의 배설 기능에 관련이 있기 때문에 신혈류량 감소, 신사구체 여과치가 감소할 경우에 증가한다²⁹⁾.

Creatinine 변화는 정상군이 $0.5 \pm 0.1 \text{ IU/L}$, 대조군이 $0.5 \pm 0.1 \text{ IU/L}$ 로 나타난 반면, 양성대조군은 $0.4 \pm 0.0 \text{ IU/L}$, SSBHB 투여군은 $0.5 \pm 0.1 \text{ IU/L}$ 로 나타났다(Fig. 7).

Cholesterol은 세포막, 신경세포의 수초 그리고 지단백을 구성하는 성분이다. 저밀도 지단백은 콜레스테롤과 결합하여 LDL-Cholesterol을 이루는데 LDL-Cholesterol은 우리 몸으로 콜레스테롤을 운반하며 비만도가 높으면 LDL-Cholesterol의 농도가 증가하는 것으로 밝혀져 있다²⁹⁾.

Total cholesterol 변화는 정상군이 $92.0 \pm 9.4 \text{ mg/dL}$, 대조군이 $130.0 \pm 9.7 \text{ mg/dL}$ 로 나타난 반면, 양성대조군은 $102.0 \pm 7.8 \text{ mg/dL}$, SSBHB 투여군에서는 $103.5 \pm 8.4 \text{ mg/dL}$ 로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(Fig. 8).

LDL-Cholesterol 변화는 정상군이 $5.3 \pm 0.3 \text{ mg/dL}$, 대조군이 $11.1 \pm 0.2 \text{ mg/dL}$, 양성대조군이 $6.3 \pm 0.3 \text{ mg/dL}$ 로 나타난 반면, SSBHB 투여군은 $8.3 \pm 0.5 \text{ mg/dL}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(Fig. 9).

HDL-Cholesterol 변화는 정상군이 77.5 ± 3.4

mg/dL, 대조군이 61.3 ± 6.3 mg/dL, 양성대조군 (reductil)이 83.1 ± 0.3 mg/dL로 나타난 반면, SSBHB투여군은 84.4 ± 5.3 mg/dL로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 증가효과를 나타내었다(Fig. 10).

Triglyceride는 glycerin에 3분자의 지방산이 ester와 결합한 것으로 전신의 각종 지방조직의 주성분으로 생체의 에너지 저장에 관여하고 있다. 이 수치의 측정은 지질대사이상의 해명에 매우 중요한 역할을 하고 있다²⁹⁾.

Triglyceride 변화는 정상군이 40.7 ± 7.2 mg/dL, 대조군이 58.3 ± 1.4 mg/dL, 양성대조군이 30.3 ± 3.7 mg/dL 나타난 반면, SSBHB 투여군은 38.5 ± 8.7 mg/dL로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(Fig. 11). 이상의 결과로 산사육복합방은 체내의 지질감소를 유발하고 지방세포 분화를 억제하는 효능이 있을 것으로 사료된다.

Leptin은 식품섭취와 에너지 균형의 변화를 통하여 체지방을 조절하는 기능을 가지고 있다²⁹⁾. 지방조직의 크기가 증가하면 leptin을 분비하여 시상하부의 식욕중추에 지속적으로 신호를 보내고 이에 따라 에너지 섭취가 줄어든다²⁹⁾.

Leptin 변화는 정상군이 3.7 ± 0.4 mg/dL, 대조군이 50.5 ± 2.5 mg/dL, 양성대조군이 11.5 ± 4.5 mg/dL로 나타난 반면, SSBHB 투여군은 33.5 ± 2.5 mg/dL로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(Fig. 12). 이런 결과를 바탕으로 산사육복합방은 Leptin과 관련된 식욕 및 대사조절에 관여하여 지방량을 조절하는 것으로 생각되어진다.

Adipocytes tissue에서 $\beta 3AR$ mRNA 유전자 발현은 정상군이 1.006 ± 0.006 , 대조군이 0.82 ± 0.076 , 양성대조군은 2.131 ± 0.360 , SSBHB 투여군은 1.389 ± 0.027 RQ로 나타나 대조군에 비하여

유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(Fig. 13). Adipocytes tissue에서 leptin mRNA 유전자 발현, 정상군이 0.171 ± 0.006 , 대조군이 0.995 ± 0.076 , 양성대조군은 0.477 ± 0.023 , SSBHB 투여군은 0.401 ± 0.027 RQ로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다(Fig. 14).

Adipocytes tissue에서 serotonin mRNA 유전자 발현은 대조군의 RQ 값이, 정상군이 0.102 ± 0.018 , 대조군이 1.063 ± 0.063 , 양성대조군이 0.472 ± 0.067 , SSBHB 투여군은 0.491 ± 0.053 RQ로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(Fig. 15).

정상 adipose 조직에 비하여 고지방식으로 비만을 유도한 대조군은 adipocytes의 크기가 정상군은 $20 \mu m$, 대조군은 $125 \mu m$, 양성대조군은 $60 \mu m$, SSBHB 투여군은 $75 \mu m$ 로 나타나, 대조군에 비하여 상대적으로 adipocytes의 크기가 감소한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 16). 이는 비만을 유발하는 Leptin 유전자 관련 등을 억제함으로써 adipocytes의 크기를 감소할 수 있었던 것으로 생각된다.

이상의 내용을 총괄해 보면 산사육복합방은 고지방 사료의 식이로 유발된 비만생쥐에서 유의성 있게 체중을 감소시켰고, 최종 체중증가량, ALT, AST, total cholesterol, LDL-Cholesterol, triglyceride, Leptin을 유의성 있게 감소 시켰다. 3T3-L1 cell에서의 $\beta 3AR$ 유전자 발현과 HDL-cholesterol을 유의성 있게 증가시켰고, creatinine은 감소시켰으나 유의성은 없었다. 또한 Adipocytes tissue에서는 $\beta 3AR$ mRNA 유전자, leptin mRNA 유전자, serotonin mRNA 유전자의 발현을 유의성 있게 감소시켰다.

이상의 실험결과는 SSBHB이 비만에 유의한 효과가 있음을 뒷받침해준다. 그러나 완전히 과체중인 상태의 쥐에서 체중감소가 나타나는 지에 대한 실험이나 체중이 증가되는 과정에서 증가

속도가 감소하는지에 대한 실험 등이 추가로 연구, 뒷받침되어야 할 것이다. 또한 본 실험에 사용된 개별약물에 대한 평가와 임상실험이 필요하다. 사료되며 향후 유전적 비만을 가진 병태모델을 통한 실험 및 침구나 운동부하에 따른 변화의 연구 등이 필요할 것으로 생각된다.

V. 結 論

山査肉複合方이 비만억제에 미치는 영향을 알아보기, 고지방 사료의 섭취로 비만을 유도한 생쥐를 이용하여 체중의 변화, 혈액학적, 조직학적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 산사육복합방은 기간에 따른 체중 증가 및 최종 체중을 유의성 있게 감소시켰다.
2. 최종 체중 증가량은 유의성 있는 감소를 나타내었다.
3. ALT, AST, total cholesterol, LDL-Cholesterol, triglyceride, Leptin 은 유의성 있게 감소되었다.
4. 3T3-L1 cell에서의 β3AR유전자의 발현과 HDL-cholesterol은 유의성 있게 증가되었다.
5. Adipocytes tissue 내에서의 β3AR mRNA, serotonin mRNA, leptin mRNA유전자 발현은 유의성 있게 감소되었다.
6. Adipose 조직에서 adipocytes의 크기가 유의성 있게 감소하였다.

이상의 결과로 볼 때에 산사육복합방은 비만 지표에 능동적으로 작용하여 체중의 증가를 억제한 것으로 생각된다.

VI. 參考文獻

1. 한방재활의학회. 한방재활의학회. 서울:군자출판사. 2003;349-51.
2. 대한비만학회편. 임상비만학. 서울:고려의학. 2001; 19, 81-91, 89-96, 115-6, 129-33, 181-9, 191-204, 241, 243-7, 373-90.
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;218,260-1,324,344.
4. 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.
5. 張仲景. 金匱要略方論. 서울:成輔社. 1985;21, 35, 70.
6. 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, 260-1, 324, 344.
7. 李挺. 醫學入門. 서울:翰成社. 1983;126, 382, 394, 400, 423, 452, 465, 497, 505.
8. 龔延賢. 萬病回春. 서울:杏林書院. 1982;1;220.
9. 虞天民. 醫學正傳. 서울:成輔社. 1986;75.
10. 金東佑 外, 肥滿症에 關한 文獻의 考察, 東洋醫學, 1992;18(3):10-21.
11. 김정연, 송용선, 비만에 대한 동서의학적 고찰, 동의물리요법과학회지, 1993;3(1):299-314.
12. 景虎修. 單味枸杞子 可治 肥胖病. 北京:新中醫. 1988;37.
13. 김영진. 十二味寬中湯이 백서의 비만증에 미치는 효과. 원광대학교대학원. 1996.
14. 김수익. 防己黃芪湯 전탕액이 백서의 실험적 비만증과 전지방세포인 3T3-L1의 지방세포분화에 미치는 영향. 원광대학교대학원. 1996.
15. 신병철 외, 防風通聖散이 白鼠의 肥滿症 및 肥滿細胞에 미치는 影響, 한방재활의학회지, 1997;7(1):101-18.
16. 이상봉. 五苓散이 肥滿誘導 흰쥐의 體重 및 血清

- 脂質에 미치는 영향. 동국대학교대학원. 1997.
17. 이기주, 太陰調胃湯이 백서의 비만증 및 유도 비만세포에 미치는 효과, 대한동의병리학회지, 1996;10(1):88-98.
 18. 신동준. 太陰調胃湯과 麻黃이 肥滿 白鼠의 Leptin에 미치는 影響. 원주. 상지대학교대학원. 1999.
 19. 박지하. 體減大補湯이 高脂肪食餌로 誘發한 肥滿 흰쥐에 미치는 影響. 경산. 대구한의대학교 대학원. 2001.
 20. 신미숙. 調胃升清湯 및 그 加味方이 비만마우스의 체중과 혈청 함량 변화에 미치는 영향. 나주. 동신대학교대학원. 2001.
 21. 김재중. 太陰人 寒多熱少湯이 肥滿誘導 白鼠의 體重 및 脂質代謝에 미치는 影響. 경원대학교대학원. 2002.
 22. 이재익. 太陰調胃湯 煎湯液이 肥滿白鼠에 미치는 影響. 원광대학교대학원. 2002.
 23. 장진택. 加味麻杏甘石湯 및 蒲黃이 肥滿誘導 白鼠의 體重 및 脂質 대사에 미치는 影響. 세명대학교대학원. 2003.
 24. 전국한의과대학 본초학공동교재 편찬위원회. 본초학. 서울:영림사. 1991;305, 369, 510, 583
 25. 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;74-85.
 26. Misra A. High prevalence of diabetes, obesity and dyslipidmeemia in urban slum population of northern India. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 2002;26(9):1281.
 27. 이동녕, 임은미. 비만과 관련된 여성질환에 관한 연구, 대한한방방부인과학회지, 2001;14(1):294-310.
 28. 權榮烜, 宋勇善. 節食療法에 의한 肥滿症의 臨床的 研究, 동의물리요법학회지, 1994;5(1):225-60.
 29. 이삼열 외. 臨床病理檢査法. 연세대학교출판사. 2000;230-62.