

원저

방기황기탕의 유전자 다형성에 따른 비만 치료 효과 : 무작위 배정, 이중 맹검, 위약-대조군 임상시험

박정현 · Bose* · 임지연† · 김호준‡

강남경희한방병원 한방재활의학과, 동국대학교 의학과 연구실*, 동국대학교 의학대학원†, 동국대학교 한방재활의학과‡

Impact of GNB3, ADRB3, UCP2, and PPAR γ -Pro12Ala polymorphisms on *Boiogito* response in obese subjects : A randomized, double-blind, placebo-controlled trial

Jung-Hyun Park, Shambhunath Bose*, Chi-Yeon Lim†, Ho-Jun Kim‡

Dept. of Oriental Rehabilitation, Gangnam Korean Hospital, Kyung-Hee University

Institute of Medical Research, College of Medicine, Dong-Guk University*, Dept. of Medicine, Graduate School, Dong-Guk University†

Dept. of Oriental Rehabilitation, College of Oriental Medicine, Dong-Guk University‡

Objectives

The aim of the study was to investigate the efficacy of *Boiogito* for obesity. We examined the efficacy of *Boiogito* for obese patients and we expected the reaction of *Boiogito* would vary according to the single nucleotide polymorphism(SNPs).

Methods

111 subjects(body mass index $\geq 25\text{m/kg}^2$) were recruited and randomized to receive *Boiogito*(n=55) or Placebo(n=56) for 8weeks. Anthropometric factors, serum lipid profile, glucose, blood pressure(BP), pulse rate, resting metabolic rate and Korean version of obesity-related quality of life(KOQOL) scale measured at baseline and 8weeks.

SNPs(β 3-adrenergic receptor(ADRB3), G protein β 3(GNB3), peroxisome proliferator activated receptor gamma 2 gene(PPAR- γ 2), uncoupling protein(UCP2)) were conducted at baseline. Adverse reactions and safety outcome variables were also checked during trials.

Results

Both groups showed significant improvement on obesity after treatment. *Boiogito* group decreased triglyceride than did control group and improved KOQOL. *Boiogito* showed a significant higher efficacy in C/T and T/T genotype of GNB3 gene / in Trp64 and Arg64 genotype of ADRB3 gene / in D/D genotype of UCP2 gene / in Pro/Pro genotype of PPAR- γ gene.

Conclusions

Boiogito promoted obesity indexes without severe adverse reactions and proved its safety. Pharmacogenetical studies of *Boiogito* on obesity could be a effective method for the individualized treatment and prevention of obesity.

Key words : Bioigito, obesity, SNPs, RCT

■ 교신저자 : 김호준, 경기도 고양시 일산동구 석사동 동국대 한방병원 한방재활의학과교실
Tel : 031-961-9099 E-mail : kimklar@empal.com
■ 접수 : 2012년 12월 10일 수정 : 2012년 12월 20일 채택 : 2012년 12월 22일
■ 본 연구는 보건복지가족부 한의약 선도 기술 개발 사업의 지원에 의해 이루어졌음 (과제 고유번호 B090014)

I. 서론

비만은 식생활과 에너지 소모에 따른 환경적 인자와 유전적 인자에 의해서 발생되는데, 유전적 요인에 관한 장기간의 연구에 의하면, 유전적 요인이 비만의 결정에 40-70%를 차지하는 것으로 보고되었다¹⁾. 많은 연구에서 비만과 관련된 유전자를 밝혀내고 있으며²⁾, 비만의 위험인자로 알려진 대표 유전자 후보들은 대부분 열량 섭취 억제, 열발산 촉진, 지방세포 분해에 관여하는 유전자에서 단일 염기 다형성(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)이 일어난 경우이다³⁾. 비만과 관련된 SNP로 β 3-adrenergic receptor(ADRB3), G protein β (GNB), peroxisome proliferator activated receptor gene (PPAR), uncoupling protein(UCP) 등 200여종이 알려졌으며^{4,5)}, 한의학계에서도 UCP와 PPAR 등의 단일 염기 다형성 연구를 통해 한약의 비만 치료 기전을 밝히려는 시도가 이루어지고 있다^{6,7)}.

유전적 요인에 의한 약물의 효과와 부작용의 차이를 연구하는 약물유전체 연구(Pharmacogenetics)는 개개인에 가장 적절한 약을 적절한 농도로 투여하여 효과를 극대화시키고 부작용을 최소화시키는 것을 목표로 하는데⁸⁾, 한약의 유전체 연구는 유전자형에 따른 한약의 약물 대사 및 효과의 다양성을 파악하여 맞춤형 치료에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

이에 임상에서 비만 치료에 사용되는 처방인 방기황기탕을 사용하여 8주간 무작위 대조 임상시험을 한 뒤, 방기황기탕의 비만 치료에 대한 효과를 알아보고, 비만과 연관성 있다고 알려진 ADRB2, GNB3, PPAR- γ 2, UCP2 유전자의 다형성에 따른 약물 반응을 비교해 보고자 하였다. 이번 연구는 기존에 수행하였던 한방 비만 변증에 따른 방풍통성산과 방기황기탕의 치료효과 및 부작용을 비교

한 연구에서⁹⁾ 방기황기탕으로 치료 받은 대상만을 선정하여, 유전자형에 따른 방기황기탕의 결과를 분석한 연구이다.

II. 연구 방법

1. 연구대상

2009년 8월부터 2010년 11월까지 ○○○ 한방 병원에서 모집한 체질량 지수(body mass index, BMI) 25 kg/m² 이상인 18세 이상, 65세 미만의 114명의 남녀 피험자 중 스크리닝시 제외기준에 해당되는 3명을 제외한 111명이 임상 시험에 무작위 배정되었다.

총 시험기간은 8주로 무작위 배정된 111명 중 방기황기탕을 투여하는 군은 55명이었으며, 위약을 복용하는 대조군은 56명이었다. 무작위 배정된 111명의 피험자 중 28명이 중간에 탈락하였고, 방기황기탕 43명, 대조군 40명 총 83명이 시험을 완료하였다(Fig. 1).

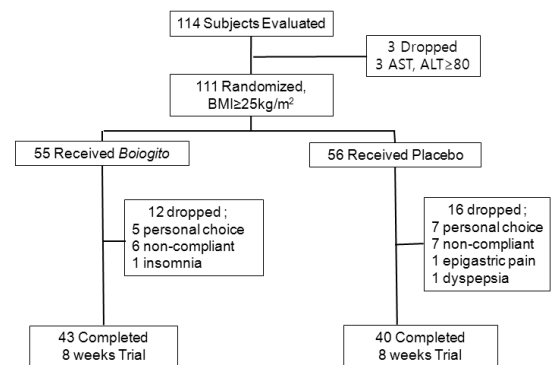


Fig. 1. Disposition of all subjects recruited for the study

피험자의 선정기준은 BMI 25 kg/m² 이상이며 최근 3개월간 체중이 3 kg 이상의 변동이 없고, 운

동량의 변화가 없으며 일반적으로 좋은 건강 상태를 지닌 비흡연자이며, 제외기준은 심질환, 신장질환, 간질환, 악성 종양 등의 환자와 기왕력자(Alanine aminotransferase, ALT, Aspartate aminotransferase,

AST>정상 상한치의 2.5배, creatinine>2.0 mg/dL), 체성분이나 대사량에 영향을 줄 수 있는 약물 복용자, 약물에 과민 반응이 있거나 임신 중 여성이었다(Table I).

Table I. Study Selection Criteria

Inclusion Criteria	Exclusion Criteria
① Subjects aged of 18-65 y	① Subjects with significant history or current presence of cardiovascular disease, hepatic and renal dysfunction, cancer
② BMI \geq 25 kg/m ²	- ALT, AST > 2.5 times of normal range
③ Weight stable individuals (\leq ±3 kg) in the preceding 3 months	- Creatinine > 2.0 mg/dL
④ Sedentary individuals	- Clinically significant abnormal ECG
⑤ Otherwise healthy nonsmokers	② Patient on drugs that could have interfered with the conduct of the study
⑥ Subjects signed informed consent forms	③ Known allergy or sensitivity to any of the medication
	④ Pregnant women

또한 교육받은 식이조절의 과정을 이행하지 못한 경우, 피험자에게 중대한 이상 반응이 생기는 경우, 피험자가 시험 중단을 요구하거나 임상시험 참가 동의를 철회한 경우, 전체 시험약 복용 순응도가 80% 미만인 경우, 담당의사의 지시 없이 시험 결과 판정에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경우 탈락 대상으로 하였다.

모든 피험자는 본 임상시험의 개요를 설명 듣고 동의서를 작성한 후 연구에 참여하였으며, 본 연구는 동국대학교 일산 한방병원의 IRB(institutional review board)를 통과하였다.

2. 무작위 배정

피험자 배정은 확률화 블록 계획법(randomized block design)을 기초로 하며 부여받은 피험자 번호순서에 따라 미리 생성된 난수표 대로 각 군별로 동일한 비율로 배정받으며, 맹검을 유지하기 위해 무작위 배정표와 배정된 약물은 임상시험이 종료된 후 공개하였다.

3. 투약 처방 및 식이 교육

투약되는 시험약은 방기황기탕 캡슐(244 mg 한풍제약, 한국), 대조약은 옥수수전분의 부형제로 제작된 위약 캡슐(250 mg 한풍제약, 한국)로 1회 4정씩, 1일 3회 복용하도록 하였다(Table II). 1회 방문 시 2주 분량의 약물을 제공하였고 2주마다 재방문하도록 하여 총 8주간 투여하도록 하였다. 미복용하고 남은 약물은 다음 방문시 반납하도록 하였으며 이를 통하여 투약 순응도를 확인하였다. 최종 순응도가 80% 이상인 경우는 임상시험계획서 위반으로 제외하였다.

식이요법으로는 피험자 체중의 kg당 1일 20-25 kcal로 조절하여 섭취하도록 식이 가이드라인을 교육받고, 매 방문시 24시간 회상법(24hour dietary recall methods)으로 섭취량을 확인하여 증례 기록서에 기재하였으며, 운동 요법은 따로 시행하지 않고 현재의 상태를 유지하도록 하였다.

Table II. The amounts of each crude drug required to prepare 244mg of *Boiogito* dry extract

	Crude drug	Content(mg)
Boiogito	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	250.1
	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	167.4
	<i>Atractylodis macrocephalae Rhizoma</i>	250.1
	<i>Zizyphi Fructus</i>	332.6
	<i>Astragali Radix</i>	417.5
	<i>Radix Stephaniae Tetrandrae</i>	417.5

4. 측정 항목

1) 신체 계측 및 혈액검사

피험자의 약물투여 전 혈압 및 심박수, 심전도, 신체계측 및 체성분 분석, 혈액 검사, 휴식시 대사량, 한국형 비만관련 삶의 질에 관한 설문지(Korean version of obesity-related QOL scale, KOQOL), 유전자 분석검사를 측정하였다.

체중은 매 2주마다 전자체중계(CAS. 150A. Korea)로 측정하였고, 키는 최초 1회 측정하여 BMI는 매 방문시 체중을 측정하여 체중 (kg) /키 (m²)로 계산하였다. 허리둘레는 WHO 방법에 따라 직립자세에서 최하위 늑골하부와 골반 장골능과의 중간 부위(전상장골극 3 cm 상부) 둘레를 측정하며 숙달된 동일 측정자가 측정자내 변이(intra-variability)를 검증한 후에 동일한 줄자를 사용하여 호기 끝에 피부를 누르지 않은 상태에서 3회 연속 측정된 평균값으로 산출하였다¹⁰⁾.

체성분분석기(BIA: Inbody 3.0, Biospace. Korea) 사용하여 총지방량과 체지방률을 측정하였으며, 휴식시 대사량(resting metabolic rate, RMR)은 가스교환 측정식의 휴대형 간접 열량계(indirect calorimetry)인 MedGem(Healthtech, USA)을 사용하여 방문 후 안정을 위해 30분간 휴식 후 시행되었다.

혈액검사로 임상시험 시작 전 간, 신장, 대사성 질환 등을 배제하기 위해 alanine aminotransferase

(ALT), aspartate aminotransferase(AST), blood urine nitrogen(BUN), creatinine, 혈당, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, 중성지방을 측정하였으며, ALT, AST가 정상 상한치의 2.5배인 경우와 creatinine 수치가 2.0 mg/dL 이상인 경우는 시험에서 제외하였다.

2) 유전자 분석

(1) DNA 분리

자원자의 말초정맥혈액에서 Lahiri¹¹⁾ 등의 방법으로 DNA를 분리하였다. 2 ml 마이크로튜브에 1 ml의 정맥혈을 넣고 TKM1 buffer 1 ml, 25 µl의 NP-40을 넣어 세포를 용해한 후 TKM1 buffer로 세척하고 TKM2 buffer 160 µl, 10% SDS 10 µl를 넣고 55도에서 10분간 배양한 뒤 6M NaCl을 첨가하여 단백질 침전시킨 후 100% 에탄올로 DNA를 침전, 70% 에탄올로 DNA를 세척한 후 DNA 추출, Tris-EDTA buffer에 보관하여 사용하였다.

(2) 중합효소연쇄반응(Polymerase chain reaction, PCR)

① G protein β 3gene (GNB3-C825T)

추출한 DNA 30ng에 sense, anti-sense primer와 DNA polymerase, PCR reaction buffer를 혼합하여 PCR을 시행하였다. 조건은 94도에서 10분간 denaturation, 94도 60초, 60도 45초, 72도 60초의 반응을 35회 반복하여, 마지막으로 72도에서 10분간 처리한 뒤 반응액을 30분간 전기영동하여 염색하고 amplified band를 확인하였다. Thymine(T) 대립유전자는 268bp에서, Cytosin(C) 대립유전자는 152, 116bp에서 관찰되므로 C/C, C/T, T/T로 구분하였다.

SNP sense primers : 5'-TGACCCACTTGCCAC CCGTGC-3'

antisense primers : 5'-GCAGCAGCCAGGGCT GGC-3'

② β 3-adrenergic receptor gene(ADRB3-Trp64Arg) 추출한 DNA 30ng에 sense, anti-sense primer와 DNA polymerase PCR buffer을 혼합하여 전기영동을 30분간 시켰다. PCR 반응후 Mva1 restriction enzyme으로 처리하여 amplified band가 Trp64 대립유전자는 99 bp에서 Arg64 대립유전자는 161 bp에서 관찰하였다.

SNP sense primers : 5'-CGCCCAATACCGCC AACAC-3'

antisense primers : 5'-CCACCAGGAGTCCCA TCACC-3'

③ Uncoupling protein 2(UCP2-del/ins)

분리된 DNA와 polymerase, primer 등을 혼합하여 PCR 반응을 시행하였다. PCR 생성물은 ethium bromide가 함유된 agarose gel에서 30분간 전기영동하고 Gel imaging system을 이용하여 DNA 절편크기에 따라 insertion(I) 혹은 deletion(D)형질로 구분하였고. 457 염기쌍만을 보이는 경우는 D/D 동형접합체로, 502 염기쌍만을 보이는 경우는 I/I 동형접합체로, 457 염기쌍과 502 염기쌍 모두를 보이는 경우는 D/I 이형접합체로 판독하였다.

SNP sense primers : 5'-CAGTGAGGGAAGTG GGAGG-3'

antisense primers : 5'-GGGGCAGGACGAA GATTC-3'

④ Peroxisome proliferator activated receptor gamma 2 gene(PPAR- γ 2: Pro12Ala)

분리된 DNA와 primer set를 이용하여 PCR 반응을 실시하였다. 증폭된 PCR 생성물을 제한효소

Hha1로 절단하고 agarose gel에서 전기영동하여 band를 확인하였는데 Pro/Pro type은 154bp에서 단일밴드가, Pro/Arg type은 154, 132, 22bp에서 3개의 밴드가, Arg/Arg type은 132, 22bp에서 2개의 밴드가 관찰되는 것으로 확인하였다.

SNP sense primers : 5'-ACTCTGGGAGATTCT CCTATTGGC

antisense primers : 5'-CTGGAAGACAAACTA CAAGA

5. 통계 분석

통계분석은 SAS ver 9.1을 사용하여 이루어졌으며, 각 자료는 평균±표준편차로 표기하였다. 통계적 분석은 ITT(intention to treat analysis) 분석으로 하였으며, 결측치(missing value)에 대한 처리방법으로 1차 유효성 평가변수(primary endpoint)인 BMI와 체중에 대해서 LOCF(last observation carried forward)방법으로 시행하였고 나머지 평가변수들은 있는 자료 그대로 분석하였다.

피험자의 일반적 특성 비교에서 망기황기탕 군과 대조군 간 student t-test를 시행했고, 각 군의 평가지표 치료 전후 비교는 paired t-test를 시행하였으며, 유전자 다형성 유형에 따른 두 군의 비교는 student t-test, 세 그룹의 평균비교를 위하여 one-way ANOVA를 시행한 뒤 통계적으로 유의할 때, 다중비교를 시행하여 가장 많은 결과에 따라 결론을 내렸다.

Ⅲ. 연구 결과

1. 피험자의 일반적 특성

망기황기탕군과 대조군의 피험자 특성은 아래와

같으며, 군간 유의한 차이는 없었다. 임상시험기간 동안 28명의 환자가 탈락하였으며, 방기황기탕 43명, 대조군 40명 총 83명이 완료되었다(Table III).

Table III. General characteristics of the subjects

	Boiogito (N=55)	Control (N=56)	P-value
Age, yr	41.6±8.93	39.21±10.12	0.191
Height, cm	160.38±6.98	161.79±7.85	0.321
Body weight, kg	74.5±10.18	76.86±11.7	0.258
WC, cm	97.28±8.18	98.99±7.81	0.285
BMI, kg/m ²	28.82±2.9	29.28±3.11	0.422
Body fat, %	38.21±5.25	39.02±5.39	0.428
Body fat mass, kg	28.64±6.15	29.87±6.83	0.324
RMR, kcal/d	1411.64±314.75	1453.39±335.02	0.507
fasting BST,	97.95±9.02	98.36±9.04	0.811
T-Chol, mg/dL	201.38±36.12	191.84±40.12	0.190
HDL, mg/dL	52.78±12.53	50.29±11.32	0.273
TG, mg/dL	130.13±53.13	123.02±67.02	0.537
KOQOL	34.15±8.58	34.52±8.56	0.819

BMI : body mass index, WC : waist circumference, RMR : resting metabolic rate, T-Chol : total cholesterol, TG : triglyceride, HDL : high density lipoprotein, KOQOL : Korean version of obesity-related quality of life scale, p-value for between groups

2. 유효성 평가

방기황기탕, 대조군 모두에서 투약 전에 비해 체중, 허리둘레, 체지방률, 체지방량, 체질량지수의 감소를 보였으나 군 간의 유의한 차이는 보이지 않았다. 방기황기탕군에서 중성지방은 유의하게 감소되었다(p=0.0137).

방기황기탕군에서(p=0.0017) 투약 후 비만 관련 삶의 질(KOQOL)의 점수가 유의하게 개선된 것이 관찰되고, 방기황기탕군에서 수축기 혈압과(p=0.0416) 이완기 혈압(p=0.0463) 모두 유의하게 감소되었다(Table IV).

Table IV. Changes of outcome variables by group after intervention

	Boiogito (N=55)	Control (N=56)	P ² between groups
	Week 8 - baseline		
Body weight	-0.93±1.68	-1.05±1.66	0.584
P ¹	0.0001*	0.0001*	
WC	-1.89±2.92	-1.84±2.68	0.366
P ¹	0.0001*	0.0001*	
BMI	-0.34±0.63	-0.41±0.59	0.320
P ¹	0.0002*	0.0001*	
Body fat %	-0.71±1.55	-0.68±1.26	0.777
P ¹	0.0046*	0.0014*	
Body fat mass	-0.99±1.57	-0.89±1.25	0.385
P ¹	0.0002*	0.0001*	
RMR	-26.67±420.64	-12.2±495.24	0.828
P ¹	0.6833	0.8755	
Fasting BST	0.47±9.15	0.32±5.5	0.866
P ¹	0.7404	0.7138	
T-Chol	1.4±26.79	-3.85±19.65	0.037
P ¹	0.7344	0.2165	
HDL	2±7.46	1.07±7.68	0.166
P ¹	0.0862	0.3762	
TG	-20.23±51.56	-15.34±59.73	0.765
P ¹	0.0137*	0.1079	
KOQOL	-2.91±5.69	-1.31±14.92	0.703
P ¹	0.0017*	0.5727	
SBP	-3.51±10.95	-4.76±11.29	0.311
P ¹	0.0416*	0.0102*	
DBP	-3.4±10.84	-3.76±11.87	0.753
P ¹	0.0463*	0.0494*	
PR	-2.07±11.59	-0.27±9.96	0.384
P ¹	0.2482	0.8640	

BMI : body mass index, WC : waist circumference, RMR : resting metabolic rate, T-Chol : total cholesterol, TG : triglyceride, HDL : high density lipoprotein, SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure, PR : pulse rate, P¹ : p-value for base line vs week 8 by paired t-test, P² : p-value for between groups by student t-test, ITT analysis, * significant as p<0.05

3. 유전자 유형 별 탕약의 치료 효과 분석

1) GNB3-C825T 유전자 다형의 방기황기탕 치료 효과

GNB3 단일염기다형성을 C/C, C/T, T/T 유형으로 나누어 탕약의 효과를 살펴보면, 방기황기탕 복용 후 C/T군에서 체중(p=0.0009) 및 체질량 지수(p=0.001), 허리둘레(p=0.0012), 체지방률(p=0.0027),

체지방량(p=0.0006), 중성지방이(p=0.017), T/T군 유의하게 감소되었다(Table V).
 에서 체중(p=0.0151) 및 체질량지수가(p=0.0166)

Table V. Changes in the treatment groups by GNB3 polymorphism

	Genotype	Boiogito		P-value
		Pre	Post	
Body weight	C/C	79.63±12.28	78.86±12.74	0.3449
	C/T	73.7±10.71	72.33±10.34	0.0009*
	T/T	73.01±8.07	71.73±7.67	0.0151*
BMI	C/C	31.79±4.18	31.46±4.24	0.3332
	C/T	27.94±2.07	27.46±2.11	0.001*
	T/T	28.34±1.94	27.86±1.91	0.0166*
WC	C/C	102.79±12.46	101.93±12.5	0.4253
	C/T	96.01±6.84	93.73±7.06	0.0012*
	T/T	96.94±7.06	95.14±6.37	0.0564
Body fat %	C/C	41.51±4.68	41.01±5.13	0.3486
	C/T	37.37±6.18	36.31±6.58	0.0027*
	T/T	37.84±4.47	37.59±4.24	0.5993
Body fat mass	C/C	33.37±8.03	32.74±8.55	0.2866
	C/T	27.33±5.27	26.12±5.72	0.0006*
	T/T	27.71±4.91	26.89±4.53	0.1293
RMR	C/C	1681.43±312.22	1412.86±468.25	0.2113
	C/T	1374.55±268.22	1413.81±407.74	0.7702
	T/T	1440.71±372.3	1454.29±235.17	0.89
TG	C/C	136.71±56.38	125.71±63.64	0.7344
	C/T	127.23±53.6	106.77±34.15	0.0171*
	T/T	132.5±63.71	108±40.15	0.1299
T-Chol	C/C	219.29±25.1	219.43±29.35	0.9687
	C/T	186.59±36.35	190.45±29.17	0.5458
	T/T	209±41.37	207.14±32.49	0.8152
HDL-Chol	C/C	49.57±9.68	54.14±14.06	0.2308
	C/T	52.5±12.73	53.68±13.66	0.4999
	T/T	56.86±14.99	58.86±15.89	0.2087
fasting BST	C/C	101.71±5.06	102.14±9.12	0.9081
	C/T	98.55±10.45	98.64±9.2	0.965
	T/T	99.5±9.62	100.57±8.73	0.6603
SBP	C/C	128.43±9.41	129±6.27	0.8721
	C/T	122.23±9.07	119.32±10.37	0.1858
	T/T	125.21±12.1	118.71±9.97	0.0851
DBP	C/C	79.14±13.08	74.57±8.04	0.1683
	C/T	78.09±8.78	74.45±7.54	0.1753
	T/T	78.07±7.9	75.64±8	0.4054
PR	C/C	82±12.27	80.29±8.28	0.6644
	C/T	75.18±11.5	73.77±12.66	0.6217
	T/T	73.57±7.5	70.29±9.68	0.251

BMI : body mass index, WC : waist circumference, RMR : resting metabolic rate, T-Chol : total cholesterol, TG : triglyceride, HDL : high density lipoprotein, SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure, PR : pulse rate, p-value for pre vs post by paired t-test

2) ADRB3-Trp64Arg 유전자 다형의 방기황기당 치료 효과

ADRB3 단일염기다형성을 Arg64, Trp64 유형으로 나누어 약물의 효과를 살펴보면 방기황기당 복용 후 Arg64군에서 체중(p=0.024), 체질량지수(p=0.0237), 허리둘레(p=0.0142)가 유의하게 감소

되었고, HDL 콜레스테롤은 Arg64군이 Trp64군에 비해 유의하게 증가하였다(p=0.0349). Trp64군에서는 체중(p=0.0025), 체질량지수(p=0.0037), 허리둘레(p=0.0037), 수축기혈압(p=0.0477), 이완기혈압(p=0.0181), 체지방률(p=0.0072), 체지방량(p=0.0013), 중성지방(p=0.0347)이 유의하게 감소되었다(Table VI).

Table VI. Changes in the treatment groups by ADRB3 polymorphism

	Genotype	<i>Boiogito</i>		
		Pre	Post	P
Body weight	Arg64	76.09±10.06	75.09±9.56	0.024*
	Trp64	73.51±10.27	72.59±10.25	0.0025*
BMI	Arg64	28.96±3.24	28.61±3.17	0.0237*
	Trp64	28.65±2.73	28.31±2.82	0.0037*
WC	Arg64	98.54±10.18	95.52±9.57	0.0142*
	Trp64	96.52±7.19	95.53±7.82	0.0037*
Body fat %	Arg64	38.93±6.07	37.83±6.84	0.2752
	Trp64	37.82±4.96	37.35±5.43	0.0072*
Body fat mass	Arg64	29.94±7.77	27.85±6.81	0.0618
	Trp64	27.91±5.28	27.28±6.07	0.0013*
RMR	Arg64	1503.53±388.01	1484.62±221.57	0.803
	Trp64	1369.73±275.49	1401.38±410.74	0.7515
TG	Arg64	128.82±48.08	114.38±54.02	0.2232
	Trp64	129.24±55.87	108.47±35.44	0.0347*
T-Chol	Arg64	194.24±35.73	203.69±35.88	0.4471
	Trp64	203.41±36.06	199.27±30.22	0.832
HDL-Chol	Arg64	52.82±10.73	59.62±13.94	0.0042*
	Trp64	53.14±13.38	53.63±14.35	0.7587
fasting BST	Arg64	95.29±7.4	98.54±9.44	0.3285
	Trp64	99.38±9.52	100.4±8.79	0.8661
SBP	Arg64	125.35±10.99	122.38±8.45	0.4458
	Trp64	122.49±9.91	119.97±10.92	0.0477*
DBP	Arg64	77.88±9.73	77.15±6.26	0.914
	Trp64	78.41±8.29	73.87±8.01	0.0181*
PR	Arg64	77±7.36	72.92±10.67	0.1056
	Trp64	75.05±10.93	74.03±11.87	0.6449

BMI : body mass index, WC : waist circumference, RMR : resting metabolic rate, T-Chol : total cholesterol, TG : triglyceride, HDL : high density lipoprotein, SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure, PR : pulse rate, P : p-value for pre vs post by paired t-test

3) UCP2-del/ins 유전자 다형의 방기황기당 치료 효과

UCP2 단일염기다형성을 D/D, D/I, I/I type으로 나누었을 때 I/I군은 대상자 수가 적어(n=3)

D/I군에 포함시켜 계산하였다.

방기황기당 복용 후 D/D군에서 체중(p=0.0024), 체질량지수(p=0.0037), 허리둘레(p<.0001), 체지방량(p=0.0026), 중성지방이(p=0.0373) 유의하게 감

소하였으며, D/I + I/I군에서 체중($p=0.0202$), 체지방률($p=0.0406$), 체지방량이($p=0.0312$) 유의하게 감소하였다(Table VII).

Table VII. Changes in the treatment groups by UCP2 polymorphism

	Genotype	Boiogito		P
		Pre	Post	
Body weight	D/D	74.24±10.16	73.33±9.81	0.0024*
	D/I+I/I	74.56±10.62	73.51±10.97	0.0202*
BMI	D/D	28.8±2.89	28.48±2.88	0.0037*
	D/I+I/I	28.6±2.9	28.19±3.09	0.0197*
WC	D/D	97.42±8.47	96.1±9.16	<.0001*
	D/I+I/I	96.42±7.65	94.21±5.8	0.298
Body fat %	D/D	37.72±5.41	37.41±6.29	0.0563
	D/I+I/I	39.46±4.92	37.68±4.76	0.0406*
Body fat mass	D/D	28.22±6.1	27.7±6.89	0.0026*
	D/I+I/I	29.49±6.49	26.88±4.55	0.0312*
RMR	D/D	1425.75±346.43	1464.48±367.21	0.7354
	D/I+I/I	1372.14±221.75	1343.85±349.87	0.8288
TG	D/D	132.18±47.74	112.8±43.98	0.0373*
	D/I+I/I	120.36±67.37	104.38±35.38	0.2148
T-Chol	D/D	198.83±32.9	198.67±32.72	0.6024
	D/I+I/I	205.36±44.34	205.08±29.85	0.9262
HDL-Chol	D/D	53±12.54	55.7±14.65	0.1254
	D/I+I/I	53.14±12.87	54.85±14.15	0.464
fasting BST	D/D	96.83±7.37	98.7±9.21	0.7733
	D/I+I/I	101.71±12.3	102.46±7.94	0.8782
SBP	D/D	122.88±10.12	120.17±10.69	0.1131
	D/I+I/I	124.86±10.85	121.92±9.25	0.2112
DBP	D/D	77.58±7.88	73.7±7.94	0.0743
	D/I+I/I	80.14±10.76	77.54±6.23	0.3824
PR	D/D	75.9±10.25	72.5±10.21	0.1209
	D/I+I/I	75±9.22	76.46±13.84	0.7791

BMI : body mass index, WC : waist circumference, RMR : resting metabolic rate, T-Chol : total cholesterol, TG : triglyceride, HDL : high density lipoprotein, SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure, PR : pulse rate, P : p-value for pre vs post by paired t-test

4) PPAR- γ 2의 Pro12Ala 유전자 다형의 방기황기탕 치료 효과

PPAR- γ 2 단일염기다형성을 Pro/Pro, Pro/Ala, Ala/Ala type으로 나누어 보았을 때 본 연구에서 Ala/Ala type은 관찰되지 않아 Pro/Pro군과 Pro/Ala군만 분석 대상으로 삼았다.

방기황기탕 복용 후 Pro/Pro군에서 체중($p<.0001$),

체지방률($p<.0001$), 허리둘레($p<.0001$), 수축기혈압($p=0.0181$), 이완기혈압($p=0.0253$), 체지방량($p=0.001$), 체지방량($p<.0001$)이 유의하게 감소하였고, Pro/Ala군에서는 유의한 결과가 없었다. 체중과($p=0.0170$) 체지방률($p=0.0106$), 체지방량은($p=0.0131$) Pro/Pro군이 Pro/Ala군에 비해 유의한 개선을 보였다(Table VIII).

Table VIII. Changes in the treatment groups by PPAR- γ 2 polymorphism

	Genotype	<i>Boiogito</i>		P
		Pre	Post	
Body weight	Pro/Pro	74.43±10.4	73.35±10.25	<.0001*
	Pro/Ala	75.43±7.67	76.4±6.95	0.1836
BMI	Pro/Pro	28.79±2.93	28.39±2.98	<.0001*
	Pro/Ala	29.18±2.79	29.6±2.41	0.1601
WC	Pro/Pro	97.08±8.36	95.2±8.33	<.0001*
	Pro/Ala	99.88±5.4	102.25±0.35	0.8679
Body fat %	Pro/Pro	38.38±5.27	37.35±5.85	0.001*
	Pro/Ala	36±5.21	40.4±5.66	0.3556
Body fat mass	Pro/Pro	28.63±6.25	27.21±6.27	<.0001*
	Pro/Ala	28.78±5.39	32.4±2.83	0.3326
RMR	Pro/Pro	1423.33±304.1	1420.25±364.96	0.5496
	Pro/Ala	1262.5±458.21	1565±374.77	0.4137
TG	Pro/Pro	131.61±54.13	109.02±41.96	0.0066*
	Pro/Ala	111.25±38.25	135.5±3.54	0.6695
T-Chol	Pro/Pro	199.1±35.98	197.71±29.44	0.8161
	Pro/Ala	230.5±26.08	260±7.07	0.3341
HDL-Chol	Pro/Pro	52.92±12.63	55.34±14.68	0.0543
	Pro/Ala	51±12.75	57.5±2.12	0.3228
fasting BST	Pro/Pro	98±9.18	99.98±9.12	0.5904
	Pro/Ala	97.25±7.68	97±0	0.3743
SBP	Pro/Pro	123.57±10.57	120.17±10.08	0.0181*
	Pro/Ala	122.75±2.63	131.5±7.78	0.4626
DBP	Pro/Pro	78.37±8.94	74.49±7.58	0.0253*
	Pro/Ala	78.5±4.12	82.5±2.12	0.1257
PR	Pro/Pro	76.04±10.2	73.76±10.75	0.2265
	Pro/Ala	73±3.92	72.5±28.99	0.1

BMI : body mass index, WC : waist circumference, RMR : resting metabolic rate, T-Chol : total cholesterol, TG : triglyceride, HDL : high density lipoprotein, SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure, PR : pulse rate, P : p-value for pre vs post by paired t-test

4. 안전성 평가

약물 복용 후 안전성을 평가하기 위하여 혈액 검사를 통해 간, 신장기능 관련 지표의 변화를 살펴 보았다(Table IX). 방기황기탕군에서 ALT와 AST

가 시험 전에 비해 유의하게 감소된 것을 확인할 수 있었으며, 대조군간의 유의한 차이는 없었다.

방기황기탕군과 대조군 모두 BUN과 creatinine 의 유의한 차이는 나타나지 않았다.

Table IX. Changes for Safety Outcome Variables

	<i>Boigito</i>		Control		P ²
	Baseline	week 8 - baseline	Baseline	week 8 - baseline	
ALT	27.78±24.47	-6.72±15	22±17.16	-1.88±8.89	0.226
P ¹		0.0054*		0.1838	
AST	23.65±15.35	-3.81±9.96	19.66±7.69	-1.17±5.5	0.523
P ¹		0.016*		0.1801	
BUN	12.81±3.3	0.39±3.1	12.99±3.53	0.05±3.18	0.889
P ¹		0.4126		0.9223	
Creatinine	0.7±0.11	0±0.08	0.67±0.1	-0.01±0.08	0.069
P ¹		0.9041		0.49	

ALT : alanine aminotransferase, AST : aspartate aminotransferase, BUN : blood urine nitrogen, P¹ : p-value for week 8 vs baseline by paired t-test, P² : p-value for between groups by student t-test

V. 고찰 및 결론

본 연구는 방기황기탕의 비만 효과와 안전성을 밝히고, 유전자 다형성에 따른 치료 효과를 비교하기 위한 무작위 대조 이중 맹검 임상 시험으로, 방기황기탕군 55명, 대조군 56명으로 무작위 배정되어 8주간 시행되었다

연구 결과, 방기황기탕, 대조군 모두 체중, 허리둘레, 체지방률, 체지방량, 체지방지수가 유의하게 감소되었지만 두 군간의 유의한 차이는 나타나지 않았는데, 대상자들 모두 식이교육을 통해 식이조절을 하였기 때문에 대조군에서도 체중감량이 나타난 것으로 생각된다.

방기황기탕군은 대조군에 비해 중성지방이 유의하게 감소되어 한약을 투여 받은 군에서 혈청지질의 개선이 나타난 것을 볼 수 있었다. 비만치료에 관한 기존 연구로 방기황기탕은 비만 백서의 체중 및 혈중 지질을 유의하게 감소시켰고¹²⁾, 방기황기탕의 혈위 주입 치료 후 비만 환자의 근육과 기초 대사량이 절식요법만 시행한 대조군에 비해 유의하게 증가되었음을 밝혀¹³⁾, 방기황기탕은 체중감량 및 대사량의 증가에 효과적인 것으로 나타났다. 또한 당뇨와 비만을 유발한 쥐에서 체중

과 피하지방 축적의 억제 효과를 나타내 피하지방 개선에 효과적인 것으로 보고되어¹⁴⁾, 비만 치료에 대한 효과를 입증하였다.

방기황기탕 투약 후 비만 관련 삶의 질(KOQOL)의 점수가 유의하게 개선되고, 수축기 혈압과 이완기 혈압 모두 유의하게 감소하였는데, 기존 연구에서 방기황기탕은 슬관절염과¹⁵⁾ 류마티스 관절염 환자의 단백뇨와 부종, 신기능 장애를 개선하고¹⁶⁾ 자간전증을 유발한 쥐의 고혈압을 조절하는데 효과적이라고 알려져¹⁷⁾, 방기황기탕은 단순 비만 지표의 개선뿐만 아니라 통증과 부종, 삶의 질 향상에도 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

비만의 유전적 요인에 대한 연관성이 밝혀짐에 따라 치료에 접목시키기 위한 약물유전체 연구도 활발히 진행 중으로, 유전적 요인에 따른 적합한 약물과 용량을 연구하는 약물유전체 연구는 개인의 특성차를 고려하여 다양하게 맞춤 치료하는 한 의학적인 원리와 상통하는 것으로 볼 수 있다. 본 연구에서는 비만과 관련 있다고 알려진 GNB3, ADRB3, UCP2, PPAR-γ2 유전자 다형성에 따라 각 당약의 약물 반응을 알아보아 개별화된 맞춤 치료에 접근하고자 하였다.

GNB3 유전자의 825 codon의 염기인 cytosine이 thymine으로 치환되는 변이가 본태성 고혈압,

비만, 심혈관 질환의 발생을 높인다고 알려져 있는데^{18,19)}, 독일, 중국, 아프리카 인들을 대상으로 한 연구에서 GNB3 유전자의 치환된 T 대립 유전자를 가진 사람이 체질량 지수가 높았으며²⁰⁾, 일본인들에서도 T 대립 유전자를 가진 사람이 총 콜레스테롤 수치가 높았다고 보고하였다²¹⁾.

방기황기탕 복용 후 C/T군에서 체중 및 체질량 지수, 허리둘레, 체지방률, 체지방량, 중성지방이 유의하게 감소되었으며, T/T군에서 체중 및 체질량지수가 유의하게 감소되어, 방풍통성산과 방기황기탕은 비만과 연관성을 보이는 T 대립 유전자를 가진 C/T, T/T 군에서 체중, 혈청 지질 등 치료 효과를 보였다.

ADRB3의 유전자 다형성은 갈색 지방세포에서의 열 발생과 지방분해 활동을 감소시키고 백색 지방세포에서 지질축적을 하는 것으로 알려져 있는데²²⁾, 한국인을 대상으로 한 연구에서 ADRB3의 다형성이 비만환자들에서 의미 있게 증가되어 있다고 하여 관련성을 밝혔다²³⁾. 일본 여성을 대상으로 저열량식이와 운동 요법을 시행한 연구에서 Arg64 대립 유전자를 가지고 있던 여성들은 Trp64 대립 유전자 여성에 비해 체중 감소가 적었고²⁴⁾, 건강한 여성들과²⁵⁾ 제 2형 당뇨병을 가지고 있는 여성들을 대상으로 한 연구에서도²⁶⁾ Arg64 대립 유전자는 대사율을 낮추고 체중 감소에 저항적이라고 보고하였다. 이번 연구 결과 방기황기탕 복용 후 Arg64군에서 체중, 체질량지수, 허리둘레가 유의하게 감소하였고, HDL 콜레스테롤은 Trp64군에 비해서 유의하게 증가하였는데, Trp64군에서 체중, 체질량지수, 허리둘레, 혈압, 체지방률, 체지방량, 중성지방이 유의하게 감소하여 방기황기탕도 Arg64군과 Trp64군에서 효과적인 것을 알 수 있었다. 본 연구에서 방풍통성산과 방기황기탕은 체중 감소에 저항성을 나타내는 Arg64 대립유전자를 가지고 있는 대상에서도 치료 효과를 나타내

었다.

UCP2는 미토콘드리아의 내막을 경계로 수소이온 농도경사에 의해 형성된 막 전위를 ATP의 생성 없이 감소시키고 열을 생산하는 작용을 하는 uncoupling protein의 하나로 다양한 장기와 조직 및 세포에 분포되어 있으며, 특히 에너지 대사의 주요 기관인 근육과 간 및 췌장의 베타 세포에도 존재하는 것으로 알려져 있다. UCP2가 막 전위를 감소시키고 열 발생을 증가시킨다는 점에서 비만 및 제 2형 당뇨병의 후보 유전자 중의 하나로 인식되고 있는데²⁷⁾, 방기황기탕 복용 후 D/D군에서 체중, 체질량지수, 허리둘레, 체지방량, 중성지방의 유의한 감소를 보였으며, D/I + I/I군은 체중, 체지방률, 체지방량이 유의하게 감소되었다. 기존 연구에서 중년 여성의 D/D 유전자 다형성 군이 체중, 체질량지수, LDL 콜레스테롤의 수치가 유의적으로 높았고²⁸⁾, 변이된 UCP2 유전자를 가진 사람은 운동의 효율성과 에너지 대사가 감소되어 비만의 위험에 더욱 노출되기 쉽다고 보고되었는데²⁹⁾, 본 연구에서 비만의 위험성이 높은 D/D군도 방기황기탕 복용 후 유의성 있는 치료 효과를 나타내었다.

PPAR- γ 2는 지방대사, 대사증후군, 염증 반응, 동맥 경화증에 있어서 여러 가지 유전자의 발현을 조절하는 중요한 역할을 하는데³⁰⁾, Pro12Ala 유전자 다형성에 관해 Ala 대립 유전자가 제2형 당뇨병의 유병률을 낮추는 것과 연관이 있으며³¹⁾, Ala 대립유전자가 PPAR- γ 전사 활성을 떨어뜨림으로써 지방세포에서 유래되는 인자들의 생성과 분비를 조절하는 것이 주된 역할이라는 결과들이 보고된 바 있다³²⁾.

본 연구에서 방기황기탕 복용 후 Pro/Pro군은 체중, 체질량지수, 허리둘레, 혈압, 체지방률, 체지방량이 치료 전에 비해 유의하게 감소하였고, 체중과 체질량지수, 체지방량은 Pro/Ala군에 비해

유의한 개선이 나타났다. 방기황기탕은 Pro/Pro 군에서 보다 유의성 있는 치료 효과를 나타낸 것을 볼 수 있다.

방기황기탕은 비만과 연관성 있다고 알려진 유전적 변이를 나타내는 대상에서도 치료효과를 보였으며, 이러한 한약의 약물 유전체연구를 통하여 환자 개개인의 유전형에 맞추어, 치료효과를 최대화하고 부작용을 최소화하는 맞춤 치료 방법을 제시할 수 있을 것이다.

안전성 연구에서 방기황기탕군은 치료 전에 비해 ALT, AST가 유의하게 감소하였으며, BUN과 creatinine은 약간 증가했지만 정상 범위 내였다. 방기황기탕을 혈위로 주입한 기존 연구에서 간, 신기능 검사상 유의한 변화 없이 안전하다고 밝혔는데¹³⁾, 이번 연구 결과에서도 방기황기탕 복용의 안전성에 대한 근거를 마련할 수 있었다.

비만의 약물 처방 적용시 BMI 25 kg/m²이상이거나 비만관련 인자가 동반된 경우 사용하는데, 한약 처방시에는 한방 변증에 의거하여 진단 후 처방하는 것이 치료 효과를 높이고, 부작용을 낮출 수 있다. 한방 비만 변증에 따른 방풍통성산과 방기황기탕의 치료효과 및 부작용을 비교한 기존 연구 결과⁹⁾ 방풍통성산 복용 후 實證 유형에서 치료 효과가 나타난 반면 부작용은 虛症 유형에서 다발하였고, 방기황기탕은 實證 유형에서 부작용이 다발하였다고 밝혀, 변증 유형에 따라 각 탕약의 치료 효과와 부작용이 다르게 나타남을 알 수 있었다. 한방 변증에 근거한 각 탕약의 임상 처방 권고안이 필요한데, 방기황기탕 사용에 대한 임상 권고안에서³³⁾ 살색이 희고, 피로하기 쉬우며, 하지 부종과 땀이 잘 나는 경향이 있는 비만인에게 사용하며, 實證인 肝鬱 유형에서 부작용이 다발하는 경향성을 보여 한약 처방시 변증 진단의 중요성을 밝혔다.

한약의 유전체 연구는 유전적 요인에 따라 한

약물의 효과와 부작용의 차이를 밝혀 개인의 치료 효과를 극대화시키고 부작용을 최소화시키기 위한 것으로, 향후 한약 처방의 새로운 진단의 지평을 열 수 있을 것이라 생각된다.

본 임상연구에서는 방기황기탕의 비만에 대한 효과를 검증하고, 단일염기다형성 유전자 검사로써 탕약의 약물반응을 살펴본다 개인차를 고려한 맞춤치료의 토대를 쌓고자 기대하였다. 체중 지표에 있어서 대조군과 효과 차이를 입증하지 못했지만 방기황기탕은 혈청 지질 및 삶의 질을 개선시켰고, 증대한 이상 반응 없이 안전성에 대한 근거를 확보할 수 있었다.

방기황기탕의 비만 치료 기전을 유전자다형성에 따라 살펴보았을 때, 유전자 다형성에 따른 차이를 발견할 수 있었으나, 뚜렷한 경향성은 나타나지 않았다. 유전자 다형성 유형 별로 약물 반응이 다름을 입증하여 향후 유사한 연구를 촉진하는 계기가 될 것으로 기대한다.

한의학적인 변증과 유전자간의 상관성에 관한 연구가 향후 지속되어 진단의 객관성 확립과 임상에서의 지침을 위한 진단 가이드라인이 이루어져야 할 것이다.

참고문헌

1. Koeppen-Schomerus G, Wardle J, Plomin R. A genetic analysis of weight and overweight in 4-year-old twin pairs. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25(6):838-44.
2. Yang W, Kelly T, He J. Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiol Rev.* 2007;29:49-61.
3. SH, Beck. Obesity related gene variations: PPAR- γ , UCP, β 3AR, calpain 10. *Kor J Obes* 2009;13(4):34, 221-9.

4. Jose, A. M., & Daniel, P. K. The PPAR trio: Regulators of myocardial energy metabolism in health and disease. *J. Molecular and Cellular Cardio.* 2008;44:968-75.
5. Hsiao DJ, Wu LS, Huang SY, Lin E. Weight loss and body fat reduction under sibutramine therapy in obesity with the C825T polymorphism in the GNB3 gene. *Pharmacogenet Genomics.* 2009;19(9):730-3.
6. BJ Lee, JH Ryu, JW Kim, JH Park, JW Park. The Anti-obesity Effects of Gambi-hwan Extract on Obese Rats Induced by High-fat Diet through the Expression of UCP-1 and PPAR- δ . *Kor J Orient Med.* 2007;28(4)136-4.
7. WJ Shim, JS Moon, SM Choi, SU Shin, KS Kim. The effects of UCP-2, 3 polymorphisms on weight loss among Korean overweight women. *Kor J Orient Med.* 2006;6(2):59-73.
8. IJ Jang. Introduction to Clinical Pharmacogenetics. *Kor J Clin Pharmacol Ther.* 2007;15(1):5-19.
9. JH Park, MJ Lee, HJ Kim, SW Hong, DK Lee. Efficacy and Adverse events of Bangpungdongseong-san(*Bofu-tsusho-san*) and Bangkihwangki-tang (*Boiogito-tang*) by Oriental Obesity Pattern Identification on Obese subjects. *J Oriental Rehab Med.* 2011;21(2):265-78.
10. SM Kim, SS Kim, SJ Yoon, KW Shim, HJ Choi, KM Kim, DJ Lee. What is the best simple anthropometric indexes of abdominal visceral fat in obese patients? *Kor. J. Obes.* 1998;7(2):157-68.
11. Lahiri DK. Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RELP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991;19(19):544.
12. YS Song. Effects of Bangkihwangki-tang, Bangkihwangki-tang with Lycii fructus and Lycii fructus on the weight of obese rats. *J Wonkwang Oriet Med.* 1991;1(1):25-43.
13. JL Lee, SH Chung, JS Lee, SS Kim, HD Shin. The clinical study about the effect of *Bangkihwangki-tang*. *J Orient Rehab Med.* 2001;11(1):297-315.
14. Shimada T, Akase T, Kosugi M, Aburada M. Preventive Effect of Boiogito on Metabolic Disorders in the TSOD Mouse, a Model of Spontaneous Obese Type II Diabetes Mellitus. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009 ;1-8.
15. Noguchi J, Shudo T, Nagata K. Efficacy of Boi-ogito for ethical use for osteoarthritis of the knee with joint fluid. *Seikei Saigai Geka.* 2004;47:999-1005.
16. Takahama M. Efficacy of Boi-ogi-to in the treatment of rheumatoid arthritis. *Nihon Toyo Igaku Zasshi.* 1995;45(3):569-74.
17. Takeia H, Nakaia Y, Hattoria N, Yamamotoa M, Takedaa S, Yamamotob M, Arishimab K. The herbal medicines Saireito and Boiogito improve the hypertension of pre-eclamptic rats induced by Nx-Nitro-L-arginine methyl ester. *Phytomedicine.* 2007;14:591-600.
18. Beige J, Hohenbleicher H, Distler A, Sharma AM. G-Protein beta3 subunit C825T variant and ambulatory blood pressure in essential hypertension. *Hypertension.* 1999;33(4):1049-51.
19. Hengstenberg C, Schunkert H, Mayer B, Döring A, Löwel H, Hense HW, Fischer M, Riegger GA, Holmer SR, Hengstenberg C, Schunkert H, Mayer B, Döring A, Löwel H, Hense HW, Fischer M, Riegger GA, Holmer

- SR. Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene (GNB3) with arterial hypertension but not with myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2001; 49(4):820-7.
20. Siffert W, Forster P, Jöckel KH, et al. A significant association of the 825T allele with an increased body mass index(BMI) has been observed in Germans, Chinese, and black Africans: Worldwide ethnic distribution of the G protein β 3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and black African individuals. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10:1921-31.
21. Ishikawa K, Imai Y, Katsuya T, et al. Total cholesterol is significantly higher in subjects with the T allele among Japanese : Human G-protein β 3 subunit variant is associated with serum potassium and total cholesterol levels but not with blood pressure. *Am J Hypertens.* 2000;13:140-5.
22. Arner P, Hoffstedt J. Adrenoceptor genes in human obesity. *J. Intern. Med.* 1999;245:667-72.
23. BJ Kim, SH Kim, DJ Kim, JR Hahm, JS Kim, KJ Ahn, JH Chung, YK Min, MS Lee, KW Kim. The significance of the β 3 adrenergic receptor gene polymorphism in obese Korean. *Diabet. Met. J* 1998;22(4):450-6.
24. Yoshida T, Sakane N, Umekawa T, Sakai M, Takahashi T, Kondo M. Mutation of beta 3-adrenergic receptor gene and response to treatment of obesity. *Lancet.* 1995;346:1433-4.
25. Shiwaku K, Nogi A, Anuurad E, Kitajima K, Enkhmaa B, Shimono K, et al. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2003;27:1028-36.
26. Sakane N, Yoshida T, Umekawa T, Kogure A, Takakura Y, Kondo M. Effect of Trp64Arg64 mutation in the beta 3adrenergic receptor gene on weight loss, body fat distribution, glycemic control, and insulin resistance in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 1997;20:1987-90.
27. Dalgarrd LT, Pedersen O. Uncoupling proteins: functional characteristics and role in the pathogenesis of obesity and type II diabetes. *Diabetologia.* 2001;44:946-65.
28. SM Lee. Study of cardiopulmonary capacity, blood profile and hsCRP according to UCP 2 I/D in the middle aged female. *J. Sport Lei Stu.* 2008;34:861-9.
29. Buemann B, Schierning B, Toubro S, Bibby BM, Sørensen T, Dalgaard L, Pedersen O, Astrup A. The association between the val/ala-55 polymorphism of the uncoupling protein 2 gene and exercise efficiency. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25(4):467-71.
30. Groemping Y, Rittinger K. Activation and assembly of the NADPH oxidase: A structural perspective. *Biochem J.* 2005;386:401-16.
31. Tönjes A, Stumvoll M. The role of the Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor in diabetes risk. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2007;10:410-4.
32. Masugi J, Tamori Y, Mori H, Koike T, Kasuga M. Inhibitory effect of a proline-to-alanine substitution at codon 12 of peroxisome proliferatoractivated receptor-gamma 2 on

- thiazolidinedione-induced adipogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000;268:178-82.
33. JH Park, HJ Kim. Clinical practice recommendations for *Bangpungdongseong-san(Bofutsusho-san)* and *Bangkihwangki-tang(Boiogito)* in obesity. *J Soci Kor Med Obes Res.* 2012;12(1):48-58.