

# 합환피 추출물의 지방세포 분화 억제 효과

이수호 · 이영래<sup>1</sup> · 류도곤 · 김하림<sup>2</sup> · 김미성<sup>2</sup> · 김병숙<sup>3</sup> · 권강범\*

원광대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 원광대학교 치과대학 구강생화학교실, 2: 원광대학교 의과대학 대사기능제어연구센터,  
3: 전북과학대학교 호텔조리영양과

## Inhibitory Effects of *Albizziae Cortex* Extracts on Adipocyte Differentiation

Su Ho Lee, Young Rae Lee<sup>1</sup>, Do Gon Ryu, Ha Rim Kim<sup>2</sup>, Mi Seong Kim<sup>2</sup>, Byung Sook Kim<sup>3</sup>, Kang Beom Kwon\*

Department of Physiology, School of Korean Medicine, Wonkwang University,

1: Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, Wonkwang University,

2: Center for Metabolic Function Regulation, School of Medicine, Wonkwang University,

3: Department of Hotel Culinary Arts & Nutrition, Jeonbuk Science College

In this study, *Albizziae Cortex* extracts (ACE) have potent effects on adipogenesis and on lipolysis in OP9 cells. There was no cytotoxicity while cells were treated with ACE in designated time intervals, unaffected by various concentrations. In the cells with ACE-treated, increases in fat storage were inhibited, and also confirmed by Oil red O. To understand the underlying mechanism at the molecular level, the effects of ACE were examined on the expression of the genes involved in adipogenesis by using real-time PCR. In this cell model, the mRNA level of adipogenic genes such as peroxisome-proliferator-activated receptors gamma (PPAR $\gamma$ ) and CAAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBP $\alpha$ ) were decreased by ACE treatment, comparing with those of control group. Collectively, our data suggest that ACE may have great potential as a novel anti-obesity agent.

keywords : *Albizziae Cortex*, OP9 cells, Adipocyte differentiation, Lipolysis

## 서 론

지방세포는 체내 대사에 있어 중요한 기관의 하나로, 단순한 에너지 저장기관이 아니라 여러 가지 호르몬을 분비하는 내분비기관이기도 하며, 대사과정에서 능동적인 작용을 하는 장기이다<sup>1</sup>. 지방세포는 지방전구세포 (preadipocyte)가 분화(differentiation)되어 형성되므로 지방세포 분화 기전 연구 또한 지방조직의 기능을 이해하는데 필요하다<sup>2-4</sup>. 지방세포의 기능 조절 실패와 관련 있는 질환중의 하나가 비만(obesity)이다. 비만은 지방세포내의 중성지방(triglyceride) 양이 증가하거나 지방세포의 수가 늘어나는 것을 의미한다. 따라서 비만을 해결하는 중요한 방법은 지방세포로의 분화를 억제하는 것이라 할 수 있다.

한의학에서 비만은 “肥, 肥胖, 肥人, 肉人, 肥貴人” 등<sup>7</sup>의 범주에 속하며, 黃帝內經에서는 膏粱厚味와 甘味の 음식을 많이 먹어서 생긴다 하였고<sup>8</sup>, 이후 여러 문헌에서는 비만의 원인으로 先天稟賦, 飲食失調, 久臥久坐, 內傷七情 등으로 인한 濕, 痰, 氣虛, 氣滯 및 瘀血 등이라고 기록되어 있다. 治法으로는 補氣健脾, 化濕利水, 祛痰, 通腑消導, 活血通絡 등이 활용되고 있다<sup>5</sup>.

최근에 한약재를 이용한 비만 치료제의 개발이 시도되고 있는 계 뽕잎 추출물<sup>6</sup>, 창출 약침<sup>7</sup>, 택사<sup>8</sup>, 삼정환<sup>9</sup>이 실험적으로 유효한 항비만 효과가 있다고 보고하였다.

합환피(*Albizziae Cortex*)는 콩과에 속한 낙엽소교목인 자귀나무의 껍질을 건조한 것으로, 安神解鬱, 活血止痛消腫 등의 효능으로 心神不安, 憂鬱, 失眠, 健忘 등의 치료에 활용되고 있다. 합환피에 대한 실험적 보고로 이 등의 에탄올로 유도된 발기부전에 대한 효과<sup>10</sup>, 박 등의 백혈병 세포주에 대한 세포고사 유도 효과<sup>11</sup>, 최 등의 항산화 효과<sup>12</sup>가 있다. 그러나 합환피의 지방세포 기능에 대한 연구는 아직 보고되지 않았다.

본 연구에서는 합환피 추출물이 지방세포 분화에 대한 효과와 그 기전을 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 세포배양

OP9 세포주는 미국 세포주 은행 (American Type Culture Collection, ATCC, Manassas, VA: catalog no. CRL-2749)에서

\* Corresponding author

Kang Beom Kwon, Department of Physiology, School of Korean Medicine, Wonkwang University, 344-2, Sinyong-dong, Iksan-si, Jeollabuk-do, Korea  
·E-mail : dession@wku.ac.kr ·Tel : +82-63-850-6917

·Received : 2016/11/29 ·Revised : 2016/12/14 ·Accepted : 2016/12/21

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2016.12.30.6.447

Available online at https://kmpath.jams.or.kr

구입해서 사용하였으며, 20% FBS, 2 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin을 함유한 MEM-α 배지에서 5% CO<sub>2</sub>를 함유하며, 37°C를 유지하는 세포배양기에서 배양하였다.

## 2. 합환피 에탄올 추출물 분리

합환피는 원광대학교 한의과대학 본초학 교실에서 진품 여부를 확인받았으며, 추출과정을 살펴보면 50 g을 70% 에탄올 수용액 300 ml로 2시간 가열 환류추출하고 여과한 다음 여액을 감압 농축하여 합환피의 70% 에탄올추출물 4.3 g을 얻은 후 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

## 3. 지방세포 분화 유도

1.5×10<sup>5</sup> cells/ml의 OP9 세포를 2일 동안 20% FBS, 2 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin이 포함된 MEM-α 배지에서 배양한 후 분화를 유도하였다. 분화 유도는 10% FBS, 175 nM insulin, 0.25 µM dexamethasone, 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine, 2 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin을 함유한 MEM-α 배지에서 2일 동안 배양한 후 10% FBS, 175 nM insulin, 2 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin을 함유한 MEM-α 배지에서 3일 동안 배양하였다.

## 4. 세포 독성 시험 (EZ-CyTox assay)

분화된 또는 분화되지 않은 OP9 세포를 2×10<sup>5</sup> cells/ml의 농도로 96 well plate에 이식한 후 다양한 농도의 합환피 추출물을 처리한 후 배양하였다. 정해진 시간 합환피 추출물을 노출 시킨 후 10 µl의 EZ-CyTox 용액 (Daeil Lab Service Co., Ltd, Seoul, Korea)을 각 well에 첨가한 후 3시간 37°C를 유지하는 세포배양기에 배양한 후 ELISA reader (Molecular Device, USA)로 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

## 5. Oil red O staining

1.5×10<sup>5</sup> cells/ml의 OP9 세포를 6-well plate에 이식한 후 다양한 농도의 합환피 추출물을 처리한 후 지방세포로 분화를 유도하였다. 2일 또는 5일 동안 분화를 유도한 후 세포를 10% formalin으로 20분 동안 고정시킨 후 PBS(pH 7.4)로 3번 세척하였다. 1 ml Oil red O solution (Sigma, O0625)를 첨가한 후 60분 동안 염색시킨 후 PBS를 이용하여 3번 세척하고 건조시킨 후 isopropanol로 지방을 염색한 Oil red O solution를 추출하여 ELISA reader로 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

## 6. Western blot analysis

정해진 시간 동안 합환피 추출물을 분화된 또는 미분화된 OP9 세포 투여한 후, 세포내 단백질은 M-PER (Mammalian Protein Extraction Reagent) (Pierce Biotechnology, Rockford, IL, USA)를 사용하여 분리하였다. 단백질의 농도는 Bradford method를 사용하여 조사하였다. 샘플 (20 µg)은 12% 아크릴아마이드와

함께 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 사용하여 분리하였고, Hybond™-polyvinylidene fluoride membranes (GE Healthcare Life Sciences, Buckinghamshire, UK)을 사용하여 이동하였다. 각각의 membrane은 2% bovine serum albumin 또는 5% skim milk를 사용하여 2시간 블로킹 하였고, 1 µg/ml 일차항체는 2000배 희석하여 4°C에서 overnight 처리하였다. 이차항체는 HRP-conjugated IgG (1:2000 dilution)를 사용하였다. 단백질 발현양은 image analyzer (Fuji-Film, Tokyo, Japan)를 사용하여 확인하였다.

## 7. Total RNA 분리

OP9 세포로부터 total RNA의 분리는 Trizol reagent (Life Technologies, UK)를 이용하여 제조회사가 제공하는 방법에 따라 수행하였다. 각각의 세포를 원심분리하여 모은 후 1000 µl RNAzol B로 용해시킨 후 200 µl chloroform을 첨가하여 얼음 속에서 5분 반응시켰다. 반응이 끝난 후 4°C에서 13,000 rpm으로 20분 원심분리하여 상층액 500 µl을 새로운 tube에 옮겼다. 위 상층액에 동량의 isopropanol을 첨가하여 섞은 후 얼음에서 30분 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 4°C에서 13,000 rpm으로 20분 원심분리하고 침전물을 75% EtOH로 2번 세척하였다. 세척된 RNA를 건조시킨 후 DEPC water 20 µl로 녹이고 분광광도계에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

## 8. 실시간 역전사 효소 중합반응 (Real Time PCR)

역전사 반응 (reverse transcription reaction)은 2 µg total RNA와 Prime Script™ reagent kit (perfect realtime)(TaKaRa BIOINC.)를 이용하여 제조회사에서 제공하는 방법에 따라 수행하였다. 역전사 반응은 total RNA (2 µg), oligo d(T)primer (25pmol), PrimeScript RT enzyme Mix I, 5X primeScript Buffer가 함유된 반응액으로 37°C에서 15분, 85°C에서 5시간 동안 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 실시간 역전사 효소 중합 반응은 10배 희석한 cDNA에 Power SYBY Green PCR Master Mix를 이용하여 수행하였다. 발현된 각각 유전자의 mRNA 양은 LightCycler System software (Roche)를 이용하여 GAPDH에 대한 상대적인 양으로서 계산하였다. 사용된 primer의 sequence는 Table 1에 기록하였다.

Table 1. Sequences and Accession Numbers for Primer, Forward and Reverse, Used in Real-Time PCR.

Gene	Sequence for Primers	Accession no.
GAPDH	Forward: CGTCCCGTAGACAAAATGGT Reverse: TTGATGGCAACAATCTCCAC	NM_008084
aP2	Forward: AGCCTTTCTCACCTGGAAGA Reverse: TTGTGGCAAAGCCCACTC	NM_024406
PPAR $\gamma$	Forward: GAAAGACAACGGACAATCACC Reverse: GGGGGTGATATGTTTGAACCTG	NM_011146
C/EBP $\alpha$	Forward: TTGTTTGGCTTTATCTCGGC Reverse: CCAAGAAGTCGGTGACAAAG	NM_007678

## 9. 통계처리

실험 결과는 mean±SD로 표시하였으며 유의성의 검정은 One-Way Anova test (Microcal Origin; version6.0; Microsoft; USA)에 의하였으며 p < 0.05인 것만 유의한 것으로 하였다.

## 결 과

### 1. 합환피 추출물의 전지방세포(preadipocyte)에 대한 독성 효과

합환피 추출물의 지방세포 분화 조절에 대한 실험을 위해 OP9 세포에 5, 10, 20, 30, 50, 100 µg/ml 농도로 합환피 추출물을 48 시간 동안 처리한 후 세포 독성을 조사하였다.

Fig. 1와 같이 10 µg/ml 까지 합환피 추출물을 처리한 군에서 독성을 나타내지 않아 이후 실험에 10 µg/ml의 합환피 추출물을 사용하였다.

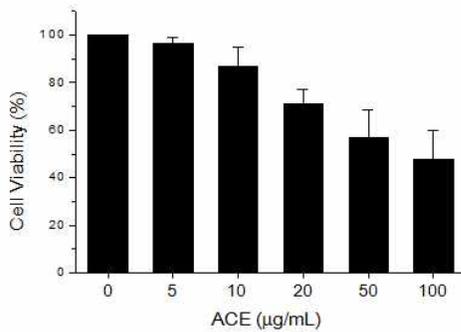


Fig. 1. Effects of *Albizziæ Cortex* Extracts (ACE) on cytotoxicity in OP9 cells. Cells were treated with various concentration of ACE for 48 hours. The cell viability was evaluated by EZ-CyTox assay as described in materials and methods.

### 2. 지방세포 분화에 대한 합환피 추출물의 효과

지방세포 분화에 대한 합환피 추출물의 효과를 조사하기 위하여 10 µg/ml의 농도로 OP9 세포에 0-2일간, 3-5일간 각각 부분 처리하고, 0-5일간 전체 처리한 후에 각 세포 내에 축적된 지방 (lipid droplet)의 양을 측정하였다.

Fig. 2는 지방세포로 분화가 끝난 OP9 세포를 지방에 특이적인 반응을 나타내는 Oil red O 염료를 이용하여 지방 축적량을 조사한 결과이다.

대조군은 분화가 끝난 후 세포내 지방 축적 정도가 증가하였으나 합환피 추출물을 0-2일간, 0-5일간 처리한 군은 지방 축적이 억제되었으나 3-5일간 처리한 군의 지방 축적이 억제되지 않았다.

### 3. 합환피 추출물이 PPAR $\gamma$ 와 C/EBP $\alpha$ 발현에 미치는 영향

합환피 추출물이 지방세포 분화를 조절하는 전사 인자로 알려진 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  발현에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실험이 끝난 OP9 세포를 수집하여 실시간 역전사 효소 중합반응과 Western blot assay를 통해 m-RNA level (Fig. 3B)과 protein level(Fig. 3A)에서 대조군과 비교 확인하였다.

그 결과 Fig. 3에서 나타나듯이 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ 의 발현은 0-2일간, 0-5일간 처리한 군은 억제되었으나 3-5일간 처리한 군에서는 억제되지 않았다. 또한 PPAR $\gamma$ 에 관련된 유전자 중 하나인

aP2의 mRNA 발현 또한 0-2일간, 0-5일간 합환피 추출물을 처리한 군에서 대조군에 비해 유의하게 억제되었다(Fig. 3B).

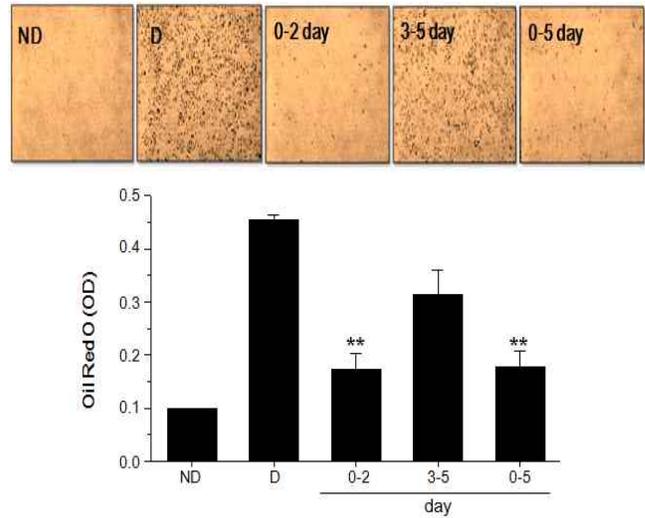


Fig. 2. Effects of *Albizziæ Cortex* Extracts (ACE) on adipocyte differentiation in OP9 cells. For differentiation of OP9 cells, cells were cultured in MEM- $\alpha$  medium containing 175 nM insulin, 0.25 µM dexamethasone and 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine for 2 days, and then in MEM- $\alpha$  medium containing 175 nM insulin for 3 days. A 10 µg/ml ACE was added at the early stage (0-2 days), late stage (3-5 days), or the entire period (0-5 days). After 5 days of differentiation, these cells were subjected to Oil Red O staining as described in materials and methods. Data are mean ± SD values of at least three independent experiments. \*\*, p < 0.01 vs. D group. ND: no differentiation, D: differentiation.

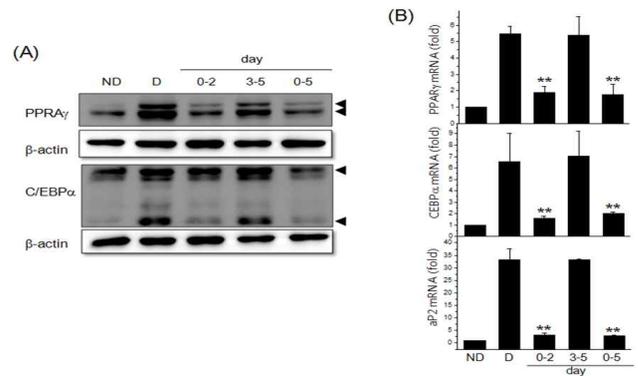


Fig. 3. Effects of *Albizziæ Cortex* Extracts (ACE) on PPAR $\gamma$  and C/EBP $\alpha$  expression in OP9 cells. Differentiation conditions and ACE treatments are same as Figure 2 legends. PPAR $\gamma$  and C/EBP $\alpha$  protein and mRNA expression levels were measured by real time PCR and Western blot analysis, respectively, as described in Materials and Methods. Data are mean ± SD values of at least three independent experiments. \*\*, p < 0.01 vs. D group. ND: no differentiation, D: differentiation.

### 4. 합환피 추출물이 세포 증식과 C/EBP $\beta$ 인산화에 미치는 영향

지방세포 분화를 위해 필요한 분화초기의 세포 증식과 C/EBP $\beta$  인산화에 대한 합환피 추출물의 효과를 조사하기 위하여 분화초기(0-2 days)에 합환피 추출물을 처리한 후 세포수와 인산화된 C/EBP $\beta$ 의 양을 대조군과 비교 확인하였다.

그 결과 Fig. 4에서 나타나듯이 합환피 추출물을 처리한 군에

서는 대조군에 비해 세포 증식이 억제되었으며 (Fig. 4A), 또한 C/EBP $\beta$ 의 인산화도 억제되었다(Fig. 4B).

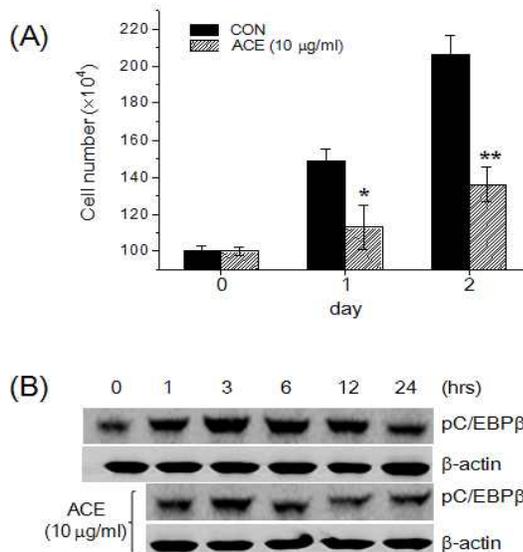


Fig. 4. Effects of *Albizziae Cortex* Extracts (ACE) on cell proliferation and C/EBP $\beta$  phosphorylation in OP9 cells. Differentiation conditions are same as Figure 2 legends. Cell proliferations and C/EBP $\beta$  phosphorylation were measured by cell count and Western blot assay, respectively, as described in Materials and Methods. Data are mean  $\pm$  SD values of at least three independent experiments. \*,  $p < 0.05$ , \*\*,  $p < 0.01$  vs. CON group. CON: control.

## 고찰

비만은 호르몬 분비의 변화나 유전적 요인 및 정신·사회·경제적 요소 등의 복합적인 작용에 의해 에너지 섭취와 소비 사이의 균형이 무너지는 상태로, 단순한 체중과다가 아닌 대사장애를 동반한 체내 지방의 과잉 축적 상태를 의미하고, 제 2형 당뇨의 경우 인슐린 분비 결함 및 인슐린 저항성 또는 간의 포도당 과다 생산 등에 기인한 당 대사 장애와 이에 동반되는 이차적인 기능 이상이 특징인 질환이다.

최근에 한의학 이론에 근거한 항비만제제 개발을 위한 다양한 연구가 시도<sup>6-9)</sup>되고 있으나 합환피에 대한 연구는 보고되지 않았다.

지방조직은 다양한 크기의 지방세포로 구성되어 있으며 주로 중성 지방(Triglyceride, TG)을 저장하는 단순한 조직으로 알려져 있었으나 최근에 다양한 호르몬을 분비하여 에너지 대사과정에서 능동적인 역할을 하는 장기로 인식되고 있다<sup>1)</sup>. 비만은 지방세포의 수가 증가하고 또한 지방세포에 지방이 과도하게 축적되어 다양한 대사 질환을 유발하는 질병으로 알려져 있으며 최근 식생활의 변화로 인해 급속하게 증가하고 있다. 이러한 비만을 해결하기 위하여, 순적으로 접근하여 지방세포의 분화를 억제하거나 또는 양적으로 접근하여 과도하게 축적된 지방의 분해를 촉진시키는 방법을 연구하고 있다. 본 연구에서는 합환피 추출물을 이용하여 지방세포의 분화를 억제 여부를 조사하였다.

본 연구에서 다양한 농도의 합환피 추출물을 OP9 세포에 처리하였을 때 10  $\mu$ g/ml까지 세포 독성을 나타내지 않아(Fig. 1) 10  $\mu$

g/ml 합환피 추출물을 대상으로 지방세포 분화에 대한 효과를 조사하였다.

지방세포 분화는 초기에 C/EBP $\beta$  등과 같은 전사 인자(transcription factor)가 관여하여 세포를 증식시키며, 이후 C/EBP $\beta$  등에 의해 작동되는 PPAR $\gamma$ 와 C/EBP $\alpha$ 이 작용하여 지방을 축적시켜 지방세포로 분화를 유도한다<sup>13-15)</sup>.

먼저 지방세포 분화에 대한 합환피 추출물의 효과를 조사하기 위하여 합환피 추출물을 분화 초기(0-2일), 분화 완성기(3-5일), 전체 분화 과정(0-5일)에 처리한 후 지방세포 분화 여부를 조사하였다(Fig. 2). 그 결과 분화 초기와 전체 분화과정에 합환피 추출물을 처리한 군에서 지방세포 분화가 유의하게 억제되었다. 이러한 결과는 합환피 추출물은 지방세포 분화 초기에 일어나는 세포 증식을 억제하여 지방세포 분화를 억제하는 것으로 유추할 수 있다. 그래서 합환피 추출물의 지방세포 증식에 대한 효과를 조사하였다. Fig. 4에서 나타났듯이 합환피 추출물은 지방세포 분화 초기에 세포 증식을 유의하게 억제하였으며, 그 과정에 C/EBP $\beta$ 의 인산화 억제가 관여하였다. C/EBP $\beta$ 는 지방세포 분화 초기에 세포 증식에 관여하는 주요한 전사 인자로서 인산화를 통해 핵내로 이동하여 세포 증식과 관련된 다양한 유전자의 발현을 조절한다<sup>16)</sup>. 위 실험에서 합환피 추출물은 C/EBP $\beta$ 의 인산화 억제에 의해 지방세포 분화 초기에 세포 증식을 억제하는 것을 추측할 수 있다. 또한 C/EBP $\beta$ 는 세포 증식에 관여하는 것 이외에 성숙한 지방세포의 분화와 관련된 C/EBP $\alpha$ 와 PPAR $\gamma$ 의 발현을 촉진시켜 aP2, FAS 및 LPL 등의 지방세포 표지유전자 발현이 활성화되고, 분화 과정을 촉진하여 최종 단계로 진행될 수 있게 한다<sup>17,18)</sup>. 최종적으로 분화된 세포는 지방방울(lipid droplet)을 생성하고 중성지방(triglyceride)을 축적함으로써 세포의 크기가 증대되는 형태학적 변화와 함께 표지유전자 발현에 지속적으로 관여하는 생화학적 특성을 나타낸다<sup>33,34)</sup>. 합환피 추출물을 분화 초기에 처리한 후 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  발현에 대한 효과를 조사한 결과 대조군에 비해 유의하게 억제되었으며 또한 지방세포 분화 전과정에 처리한 군에서도 역시 유의하게 억제되었다. 그러나 분화 완성기에 합환피 추출물을 처리한 군에서는 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  발현의 증가가 억제되지 않았다(Fig. 3). 이러한 결과는 합환피 추출물은 분화 초기에 C/EBP $\beta$ 의 인산화를 억제하고, 이로 인해 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  발현이 억제되어 지방세포 분화를 억제한다는 것을 시사한다.

이상을 종합해 볼 때 합환피 추출물은 지방세포 분화 과정에서 전사인자 및 그 표적 유전자의 발현을 억제함으로써 lipid droplet 및 triglyceride 생성을 감소시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

향후 본 연구를 토대로 합환피 추출물의 항비만 효과를 임상적으로 입증하기 위한 후속 연구가 이루어져야 하며, 이를 통해 합환피 추출물이 항비만 제제 개발의 후보 물질이 될 수 있을 것이다.

## 결론

합환피 추출물이 지방세포 분화에 미치는 효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

합환피 추출물은 지방세포 분화를 유의하게 억제하였다.

합환피 추출물의 지방세포 분화 억제 기전에 C/EBP $\beta$  인산화 억제에 의한 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  발현 감소가 포함되어 있다.

이상의 결과는 합환피 추출물이 지방세포 분화 억제를 통한 항비만 제제 개발의 한 후보 물질이 될 수 있는 실험적 근거를 제시한 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2016학년도 원광대학교 교비지원에 의해서 수행되었습니다.

## References

- Otto, T.C., Lane, M.D. Adipose development from stem cell to adipocyte. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 40: 229-242, 2005.
- MacDougald, O.A., Lane, M.D. Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation. *Annu. Rev. Biochem.* 64: 345-373, 1995.
- Trujillo, M.E., Scherer, P.E. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr. Rev.* 27(7):762-778, 2006.
- Gregoire, F.M., Smas, C.M., Sul, H.S. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol. Rev.* 78(3):783-809, 1998.
- Heo, S.Y., Kang, H.S. Intervention and Discussion of Obesity in East-West Medicine. *J. Of Oriental Rehabilitation Medicine.* 7(1):272-286, 1997.
- Kim, E.J., Kim, G.Y., Kim, Y.M., Choi, K.H., Jang, S.J. Anti-obesity Effect of Mulberry Leaves Extraction in Obese Rats High-fat Diet. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology* 23(4):831-836, 2009.
- Yoo, E.J., Seo, B.K., Nam, S.S., Kang, S.K. Anti-obesity Effect of Rhizoma Atractylodis Herbal Acupuncture in High Fat Diet-induced Obese ICR Mouse. *Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society* 27(6):31-42, 2010.
- Jeong, H.S. Efficacy of Alismatis Orientale Rhizoma on Obesity induced by High Fat Diet. *The Korea Journal of Herbology* 28(3):95-106, 2013.
- Song, M.Y., Shambhunath Bose, Kim, H.J. Anti-Obesity Effects of Fermented Samjung-hwan in High Fat Diet Rats. *Journal of Society of Korean Medicine for Obesity Research* 13(1):17-23, 2013.
- Lee, M.D., Jeong, J.C. Effects of Albizzia Julibrissin on Chronic Ethanol-treated Erectile Dysfunction in Rats. *Journal of Korean Medicine* 27(2):232-248, 2006.
- Park, Y.J., Jung, W.C., Jeong, D.Y., Lee, Y.U., Lee, I., Lee, K.S., Jeon, B.H., Sung, K.K., Moon, B.S. Effects of the Water Extract from Albizzia julibrissin on Apoptosis and Cell Cycle Progression in the Human Leukemic Jurkat Cells. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology* 17(6):1383-1392, 2003.
- Choi, M.S., Kim, D.I., Lee, T.K., Kim, E.Y., Ryu, M.R. Study on antioxidative and Antihypertensive Effects of the Water Extracts of Albizzia julibrissin. *Korean Journal of Korean Medicine Obstetrics and Gynecology* 17(4):61-72, 2004.
- Rosen, E.D., Spiegelman, B.M. Molecular regulation of adipogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16: 145-171, 2000.
- White, U.A., Stephens, J.M. Transcriptional factors that promote formation of white adipose tissue. *Mol. Cell Endocrinol.* 318(1-2):10-14, 2010.
- Wu, Z., Puigserver, P., Spiegelman, B.M. Transcriptional activation of adipogenesis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11(6):689-694, 1999.
- Hamm, J.K., Park, B.H., Farmer, S.R. A role for C/EBP $\beta$  in regulating peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity during adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J. Biol. Chem.* 276(21):18464-18471, 2001.
- Freytag, S.O., Paielli, D.L., Gilbert, J.D. Ectopic expression of the CCAAT/enhancer-binding protein alpha promotes the adipogenic program in a variety of mouse fibroblastic cells. *Genes Dev.* 8(14):1654-1663, 1994.
- Yeh, W.C., Cao, Z., Classon, M., McKnight, S.L. Cascade regulation of terminal adipocyte differentiation by three members of the C/EBP family of leucine zipper proteins. *Genes Dev.* 9(2):168-181, 1995.