

桑葉이 비만 유발 생쥐의 인슐린 저항성 및 지방세포 염증에 미치는 영향

마영훈, 김효재, 한양희
동신한방병원 한방내과

The Effects of *Mori folium* on Insulin Resistance and Adipose Tissue Inflammation in an Experimental Mouse Model of Obesity

Young-hoon Ma, Hyo-jae Kim, Yang-hee Han

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

ABSTRACT

Objective: This study was undertaken to investigate the effects of *Mori folium* on insulin resistance and adipose tissue inflammation in an experimental mouse model of obesity.

Methods: Obesity was induced in C57BL/6 mice by feeding them a high-fat diet. The mice were divided into four groups ($n=6$): a normal diet, high-fat diet, high-fat diet with 40 mg of *Mori folium*, and high-fat diet with 800 mg of *Mori folium* groups. After 13 wk, the body weights, fasting blood glucose and fasting serum insulin levels, insulin resistance (homeostatic model assessment) levels, oral glucose tolerance test levels, epididymal fat and liver weights, and gene expression of tumor necrosis factor- α , interleukin-6, and interferon- γ were measured. In addition, adipose tissue macrophages were analyzed by fluorescence-activated cell sorting.

Results: *Mori folium* significantly reduced blood glucose levels, oral glucose tolerance levels, and liver weights. It also reduced adipose tissue macrophage numbers and tumor necrosis factor receptor- α gene expression.

Conclusions: These results show that *Mori folium* has insulin resistance reduction and anti-inflammatory effects in an experimental mouse model of obesity.

Key words: *Mori folium*, obesity, blood glucose, insulin resistance, anti-inflammatory

1. 서론

비만은 선진국에서 가장 흔한 대사질환 중 하나로, 우리나라에서도 식생활과 생활양식이 서구화됨에 따라, 열량 섭취가 증가하고 활동량이 감소하면서 비만 인구가 급증하고 있다¹. 비만 환자는 지방조직 내에

macrophage가 침착되고 염증 매개 인자의 분비량이 증가하며 인슐린 신호 전달 체계가 교란되어 인슐린 저항성이 발생하는 등 대사 기능이 저하되어 있는데, 이 과정에 염증반응이 중요하게 작용한다². 지방조직에서의 염증반응은 사이토카인 생산의 이상, 급성기 반응물질의 증가, 염증 신호전달계의 활성화를 거치는데, 이 과정을 조절하여 염증 상태에서 회복을 촉진하고, 항염증 작용을 하며, 인슐린 저항성을 개선하는 것은 비만과 대사 질환의 치료에 중요하다³.

한의학에서는 비만의 주원인을 先天稟賦, 過食

· 투고일: 2016.08.19, 심사일: 2016.09.24, 게재확정일: 2016.09.28
· 교신저자: 한양희 서울시 양천구 오목로 351 동신한방병원
TEL: 02-2640-2700 FAX: 02-2640-2727
E-mail: omdhyh@daum.net

肥甘厚味, 久臥久坐, 外感濕邪, 內傷七情 등으로 인한 氣滯, 痰濁, 水濕 및 血瘀 등으로 본다⁴. 비만에서 나타나는 만성 염증 상태와 비만 관련 대사질환은 風熱, 濕邪의 범주로 볼 수 있다.

桑葉(상엽)은 發散風熱과 除濕邪의 작용이 있어 비만 관련 대사질환의 치료에 이용할 수 있다. 《本草求真》에서 상엽의 효능에 대해 “清肺瀉胃 涼血燥濕”이라 하여 “肺熱과 胃氣를 瀉下하며 血分에서 熱邪를 제거하고 濕邪를 제거한다”라 하였다⁵. 상엽에는 rutin, quercetin, isoquercetin 등의 항산화 물질과 γ -aminobutyric acid 등이 함유되어, 혈중 중성지방과 콜레스테롤 저하작용이 있으므로, 고지혈증 등의 치료에 효과가 있다고 밝혀졌다⁶. 이전까지 상엽에 관한 연구로 桑葉 추출물이 세포 내 지방 축적 및 포도당 수송에 영향을 준다는 박 등⁷의 연구와 당뇨병 합병증에 관한 김 등⁸의 연구가 있었으나, 상엽의 항염증 작용에 초점을 맞춘 논문은 桑葉 단일 제제에 한해서는 박 등⁹의 연구 1편에 불과하다. 이에 저자는 비만에서 지방세포의 염증과정에 桑葉이 미치는 영향을 살펴보기 위해, 비만 실험동물 모델에 상엽추출물을 투여한 후, 인슐린 저항성 지수 및 지방세포 내 염증지표를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험방법

1. 검체 제조

상엽(*Mori Folium*)은 ○○대학교 한방병원에서 구입한 후 정선하였다. 상엽 1,000 g을 각각 80% 에탄올 1,500 ml에 넣고 heating mantle에서 2시간 동안 가열하여 추출하고 여과한 여액을 filter로 걸러냈다. 여과액은 rotary evaporator(model NE-1, 東京理化學株式會社, Japan)로 동결 건조한 뒤, 실온에서 보관하였다. 최종 수거율은 10.78%이었다.

2. 고지방 식이 유발 비만 동물 모델의 제작

19~21 g의 C57BL/6 mouse(중앙실험동물, Korea) 수컷을 12시간씩 낮과 밤이 교대되고, 40~70%의 습

도가 유지되는 환경에서 먹이와 물은 자유롭게 먹도록 하면서 1주일간 적응기를 거쳤다. 그 후 정상군을 제외한 모든 실험군에 인슐린 저항성을 일으킨다고 알려진 60% fat diet(HFD, Research Diets, D12492)를 13주간 섭취시켜 비만을 유발하였다.

3. 실험군 배정 및 연구 계획

수컷 C57BL/6 mouse를 6마리씩 정상군(normal), 고지방 식이를 유발한 대조군(HFD), 상엽 400 mg 투여군(mori 400), 상엽 800 mg 투여군(mori 800)으로 나누었다. 정상군을 제외한 나머지 3개 군들은 60% fat diet를 13주간 섭취시켜 비만과 제 2형 당뇨병을 유발하였다. 고지방 식이 투여 8주 후, 정상군과 고지방식이군의 체중에 유의한 차이가 있음을 확인하고, 대조군에는 생리식염수를, 상엽 400 mg 투여군은 상엽추출물을 1일 400 mg/kg, 상엽 800 mg 투여군은 상엽추출물을 1일 800 mg/kg씩 5주간 경구 투여하였다(Table 1).

Table 1. Composition of Experimental Diets

	Normal	HFD	Mori 400	Mori 800
Casein, 30 mesh (g)	22.0	25.85	25.85	25.85
L-Cysteine (g)	0.18	0.39	0.39	0.39
Corn starch (g)	50.0			
Maltodextrin (g)	7.5	16.15	16.15	16.15
Sucrose (g)	10.0	8.89	8.89	8.89
Cellulose, BW200 (g)		6.46	6.46	6.46
Soybean oil (g)	4.0	3.23	3.23	3.23
Lard (g)		31.66	31.66	31.66
Mineral mix S10026 (g)	4.0	1.29	1.29	1.29
DiCalcium phosphate (g)		1.68	1.68	1.68
Calcium carbonate (g)		0.71	0.71	0.71
Potassium citrate, 1 H ₂ O (g)	0.4	2.13	2.13	2.13
Vitamin mix V10001 (g)	1.0	1.29	1.29	1.29
Choline bitartrate (g)	0.2	0.26	0.26	0.26
Sodium bicarbonate (g)	1.0			
<i>Mori Folium</i> (g)			0.4	0.8
Total (g)	100.28	99.99	100.39	100.79

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

4. 체중 측정

체중은 실험 개시 일에 최초 측정 한 후, 실험 종료일에 마지막 sampling하기 전에 한 번 더 측정하였다. 전자저울(CAS 2.5D, Korea)을 사용하여 아침 사료 공급 전에 측정하였고, 플라스틱 bowl에 생쥐를 올려놓고, 생쥐가 안정 상태가 되면 나타나는 체중을 기록하였다.

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

경구 당부하 검사는 실험 12주째에 14시간 금식시킨 후 공복 시 혈당을 측정하고, glucose(2 g/kg body weight)를 D.W.에 녹여 경구 투여한 다음, 30분 후, 60분 후, 120분 후 생쥐의 tail vein에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였고, strip-operated blood glucose sensor(ACCU-CHEK Performa, Australia) 기기를 이용하였다.

6. 인슐린 저항성 측정

실험 11주째에 8시간 이상 금식시킨 생쥐의 tail vein에서 혈액을 채취하여 혈당 및 insulin을 측정하였고, 다음의 공식을 이용하여 인슐린저항성수치(HOMA-IR)를 계산하였다.

$HOMA-IR = \text{공복 시 혈당(fasting blood glucose)} (\text{mg/dl}) \times \text{공복 시 인슐린(fasting serum insulin)} (\mu\text{g/ml}) \times 0.0717225161669606$

7. 혈청 인슐린 농도 측정

고지방 식이 투여 11주째에 생쥐의 tail vein에서 혈액을 BD microtainer serum separator tubes에 채취한 다음 실온에서 2,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고, ultra sensitive mouse insulin ELISA kit(Crystal Chem INC, USA)를 이용하여 혈청 인슐린 농도를 측정하였다. 이 과정에서 96well antibody-coated microplate에 insulin standards 및 샘플을 5 μl 씩 분주한 다음 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 반응시켰다. 이를 5차례 세척 후, anti-

insulin enzyme conjugate를 각 well에 분주하고 30분간 실온에서 반응시켰다. 이후 7차례 세척 후, enzyme substrate solution을 넣고 40분간 반응시켰고, reaction stop solution을 넣고 10분 후에 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 분석하였다.

8. 부고환 지방 조직 및 간 무게 측정

실험 13주째에 생쥐를 희생시킨 후, 개복하여 부고환 지방 조직(epididymal fat pad) 및 간의 무게를 전자저울(CAS 2.5D, Korea)을 사용하여 측정하였다.

9. Stromal vascular cell(SVC)의 분리

실험 12주째에 생쥐를 희생시킨 후, 개복하여 부고환 지방 조직을 채취하였고, phosphate buffered saline(PBS, Gibco, USA)에 2% bovine serum albumin(BSA, Gibco, USA)이 들어간 용액에 지방조직을 넣은 후, 가위를 이용하여 1~2 mm 크기의 작은 조각으로 잘랐다. 여기에 collagenase(Sigma, USA)와 DNase I(Roche, USA)를 넣고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20~25분간 흔들어 조직이 분쇄되도록 한 다음, 2% BSA/PBS에 5 mM EDTA를 넣은 용액을 각 tube에 넣고 섞은 후, 100 μM 필터(BD biosciences, USA)로 분쇄되지 않은 지방조직을 걸러내고, 1,000 rpm으로 3분간 원심 분리하였다. 지방세포가 포함된 상청액을 스포이드를 이용해 분리한 후, 하층의 pellet을 제외한 나머지 용액을 제거하고 PBS에 2% fetal bovine serum(FBS, Sigma, USA)을 넣은 용액에 넣은 다음, 100 μm cell strainer(BD bioscience, USA)를 이용하여 불필요한 조직을 제거하고 200 \times g에서 10분 동안 원심 분리하여 하부에 모인 SVC를 수집하였다.

10. 지방조직 macrophage에 대한 Fluorescence-activated cell sorting(FACS) 분석

지방조직에서 분리한 SVC를 cellometer(Nexcelom Bioscience LLC, USA)를 이용하여 세포수를 측정 한 후 각 샘플 당 1 well에 1×10^5 cell 농도로 조정하였다. FcBlock 20 $\mu\text{g/ml}$ (BD Pharmingen, USA)

을 1:100의 비율로 넣고 10분간 반응시킨 다음, fluorophore-conjugated된 antibodies인 CD45-APC Cy7(Biolgend, USA), CD68-APC(Biolgend, USA), CD11c-phycoerythrin(CD11b-PE, Biolgend, USA), CD206-FITC(Biolgend, USA)를 넣고 차광상태에서 20분간 반응시켰다. 2% FBS/PBS 용액으로 세척한 다음, FACSCalibur(BD bioscience, USA)를 이용하여 분석하였다. 이후 FlowJo 프로그램(Tree star, inc, USA)을 이용하여 CD45(+), CD68(+), CD11c(+), CD206(+)인 macrophage의 퍼센트, CD45(+), CD68(+), CD11c(+), CD206(+)인 macrophage의 퍼센트를 분석하였다.

11. 지방 조직에서의 RNA 분리

실험 12주째 생쥐를 희생시킨 후, 개복하여 부고환 지방 조직을 분리하여 알루미늄 호일에 싸서 신속하게 액화질소에 담가 RNA 분리 전까지 -70°C 에 보관한 후, Mini RNA Isolation IITM(ZYMO RESEARCH, CA, USA)을 이용하여 분리하였다. 보관된 지방조직을 해동시킨 다음 tube에 넣고 여기에 ZR RNA buffer 300 μl 씩을 분주한 다음, homogenizer를 이용하여 조직을 분쇄하고, tube를 1시간 동안 얼음에 놓은 후, 상층액을 Zymo-Spin III column에 옮기고, 2 ml collection tube에 꽃아 2,000 rpm으로 1분간 원심분리 하였다. Column에 RNA wash buffer 350 μl 를 분주하고 132,000 rpm으로 1분간 원심분리 한 후 2회 세척하고, column을 1.5 ml tube에 옮겨 꽃고 RNA-free water 50 μl 를 분주한 후, 1,000 rpm으로 1분간 원심 분리하여 RNA를 수거하였고, 사용하기 전까지 -70°C 에 보관하였다.

12. 염증관련 유전자 발현 분석

Advantage RT for PCR Kit(Clontech, USA)를 이용하여 cDNA를 제작하였고, 실시간 정량 역전사 연쇄중합반응(quantitative real time-polymerase chain reaction, qRT-PCR)을 이용하여 TNF- α , IFN- γ , IL-6 유전자의 발현을 측정하였다.

지방 조직에서 분리한 1 μg 의 RNA에 OligodT와 RNase-free H₂O를 넣고 70°C 에서 2분간 반응시킨 다음, 10nM dNTP, Recombinant RNase Inhibitor, MMLV Reverse Transcriptase, 5X Reaction Buffer를 각각 넣고 42°C 에서 60분, 94°C 에서 5분씩 반응시켰다. 역전사를 통해 얻어진 각각의 complementary DNA(cDNA)에 2x SYBR Reaction buffer, primers, dH₂O를 혼합하여 7900HT Fast Real-Time PCR System(Applied Biosystems®, USA)을 이용하여 연쇄중합반응을 시행하였다. 연쇄중합반응에 사용된 각각의 primer의 염기 서열은 TNF- α 의 경우 5'-TTCTG TCTAC TGAAC TTCGG GGTGA TCGGT CC-3'과 5'-GTATG AGATA GCAAA TCGGC TGACG GTGTG GG-3'을, IFN- γ 의 경우 5'-ACTGGCAAAAGGATGGTGAC-3'과 5'-TGAG CTCATTGAATGCTTGG-3'을, IL-6의 경우 5'-AACG ATGATGCACTTGCAGA-3'과 5'-GAGCATTGGAA ATTGGGGTA-3'을, housekeeping gene으로는 GAPDH의 경우 5'-AGTCCATGCCAT CACTGCCACC-3'과 5'-CCAGTGAGCTTCCCGT TCAGC-3'을 각각 사용하였다. 유전자 발현 분석은 SDS Software 2.4 (Applied Biosystems®, USA)를 이용하여 얻은 각각의 유전자에 대한 threshold cycle(CT)값을 EF-1 α 기준으로 relative quantitation(RQ)값을 환산한 후에 fold change값을 계산하였다. 측정된 fold change 값은 정상군을 1로 산정하여 이에 대한 값으로 환산하여 표시하였다.

13. 통계 분석

GraphPad PRISM statistical package(ver 2.00, Graphpad software inc., San Diego, USA)를 이용하였고, 각 군 간의 비교는 one-way analysis of variance(ANOVA)에 이어 Tuckey's post-hoc test로 사후 검증하였다. 각각의 수치는 평균 \pm 표준오차(mean \pm S.E.)로 표시했으며, 양방 검정 유의도(Two-tailed p value)는 p값이 <0.05 일 때를 기준으로 하였다.

III. 결 과

1. 체중변화에 미치는 영향

실험 13주후 대조군의 체중은 45.15±0.86 g으로 정상군 30.74±2.78 g에 비해 유의하게 증가하여 비만이 유도되었다(p<0.001). 상업 400 mg 투여군은 44.06±1.22 g, 상업 800 mg 투여군은 40.39±2.44 g으로 모두 대조군에 비해 유의한 변화는 없었다(Table 2, Fig. 1).

Table 2. Body Weight of Each Experimental Group

	Normal	HFD	Mori 400 mg	Mori 800 mg
Body weight (g)	30.74 ±2.78	45.15 ±0.86***	44.06 ±1.22	40.39 ±2.44

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg
* Significantly different from normal group (***) p<0.001

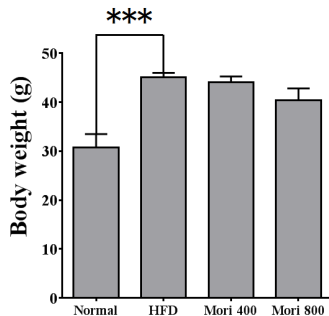


Fig. 1. The body weight of each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

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

2. 공복 혈당과 혈청 인슐린 농도 및 인슐린저항성에 미치는 영향

실험 시작 11주째에 8시간 이상 금식시킨 후 공복 혈당 및 insulin을 측정하였고, 결과를 통해

HOMA-IR를 사용하여 인슐린 저항성을 구하였다.

대조군의 공복 혈당은 223.83±15.40 mg/dl로서 정상군의 136.40±23.81 mg/dl에 비해 유의성 있는 증가를 보였다(p<0.01). 상업 400 mg 투여군은 191.60±7.59 mg/dl으로 대조군에 비해 감소하는 경향성을 보였으나 유의성은 없었다. 상업 800 mg 투여군은 172.20±19.74 mg/dl으로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05)(Table 3, Fig. 2).

대조군의 혈청 인슐린 농도는 3.15±0.22 µg/dl로 정상군의 0.85±0.08 µg/dl에 비해 유의하게 증가하였다(p<0.001). 상업 400 mg 투여군은 2.19±0.31 µg/dl로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05). 상업 800 mg 투여군은 1.88±0.18 µg/dl로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.001)(Table 3, Fig 3).

대조군의 HOMA-IR은 50.43±4.45로 정상군의 8.62±2.26에 비해 유의하게 증가하였다(p<0.001). 상업 400 mg 투여군은 29.98±4.31으로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01). 상업 800 mg 투여군은 22.70±2.22로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.001)(Table 3, Fig. 4).

Table 3. Fasting Blood Glucose, Fasting Serum Insulin and HOMA-IR Level of Each Experimental Group

	Normal	HFD	Mori 400	Mori 800
FBG (mg/dl)	136.40 ±23.81	223.83 ±15.40**	191.60 ±7.59	172.20 ±19.74#
FSI (µg/dl)	0.85 ±0.08	3.15 ±0.22***	2.19 ±0.31#	1.88 ±0.18###
HOMA-IR	8.62 ±2.26	50.43 ±4.45***	29.98 ±4.31##	22.70 ±2.22###

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg, FBG : fasting blood glucose, FSI : fasting serum insulin, HOMA-IR : homeostasis model assesment of insulin resistance

* Significantly different from normal group (** p<0.01, *** p<0.001)

Significantly different from HFD group (# p<0.05, ## p<0.01, ### p<0.001)

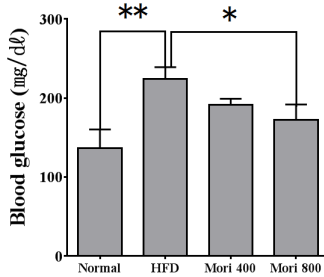


Fig. 2. Fasting blood glucose of each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

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

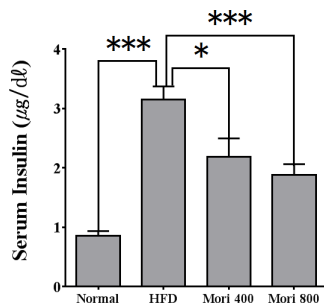


Fig. 3. Fasting serum insulin of each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

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

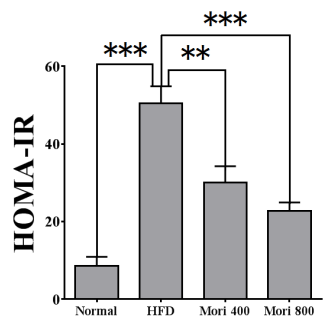


Fig. 4. HOMA-IR of each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

* Significantly different from normal group, HFD group (** p<0.01, *** p<0.001)

3. 경구 당부하 검사에 미치는 영향

실험 12주째 14시간 이상 금식시킨 후 시행한 경구 당부하 검사에서, 공복 시 혈당은 대조군에서 271.17±44.75 mg/dl로 정상군의 116.40±11.17 mg/dl 보다 유의하게 높았다(p<0.01). 상엽 400 mg 투여군은 206.60±33.99 mg/dl, 상엽 800 mg 투여군은 197.80±5.65 mg/dl로 대조군에 비해 유의한 변화는 없었다. 30분 후 혈당은 대조군에서 373.33±32.18 mg/dl로 정상군의 136.40±16.55 mg/dl에 비해 유의하게 높았다(p<0.001). 상엽 400 mg 투여군은 267.40±42.37 mg/dl로 대조군에 비해 유의하게 낮았다(p<0.05). 상엽 800 mg 투여군은 273.80±19.46 mg/dl로 대조군에 비해 유의하게 낮았다(p<0.05). 60분 후 혈당은 대조군에서 304.83±32.01 mg/dl로 정상군의 116.80±12.97 mg/dl에 비하여 유의하게 높았고(p<0.001). 상엽 400 mg 투여군은 273.40±53.86 mg/dl로 대조군에 비해 낮았으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 232.00±23.01 mg/dl로 대조군에 비해 낮았으나 유의성은 없었다. 120분 후 혈당은 대조군에서 210.50±26.59 mg/dl로 정상군의 101.00±12.24 mg/dl에 비해 유의하게 높았고(p<0.01). 상엽 400 mg 투여군은 197.60±37.25 mg/dl로 대조군에 비해 낮았으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 198.00±31.53 mg/dl로 대조군에 비해 낮았으나 유의성은 없었다(Table 4, Fig 5).

Table 4. Blood Glucose Levels of Each Experimental Groups in Oral Glucose Tolerance Test

	Normal	HFD	Mori 400 mg	Mori 800 mg
OGTT (mg/dl)				
0 min	116.40 ±11.17	271.17 ±44.75**	206.60 ±33.99	197.80 ±5.65
30 min	136.40 ±16.55	373.33 ±32.18***	267.40 ±42.37#	273.80 ±19.46#
60 min	116.80 ±12.97	304.83 ±32.01***	273.40 ±53.86	232.00 ±23.01
120 min	101.00 ±12.24	210.50 ±26.59**	197.60 ±37.25	198.00 ±31.53

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg, OGTT : oral glucose tolerance test
 * Significantly different from normal group (** p<0.01, *** p<0.001)
 # Significantly different from HFD group (# p<0.05)

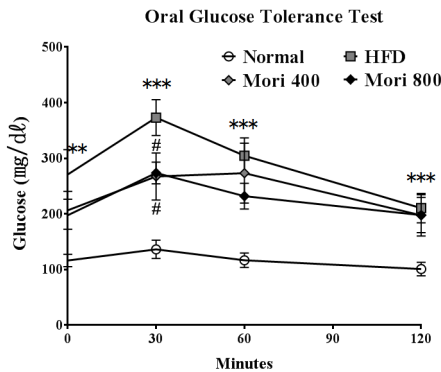


Fig. 5. Oral glucose tolerance test of each experimental group.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg
 * Significantly different from normal group (** p<0.01, *** p<0.001)
 # Significantly different from HFD group (# p<0.05)

4. 부고환 지방 및 간의 무게에 미치는 영향

부고환 지방층의 무게는, 대조군에서 2.07±0.17 g 으로 정상군의 1.08±0.28 g에 비해 유의하게 증가하였으며(p<0.01), 상엽 400 mg 투여군은 1.85±0.19 g

으로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 1.59±0.19 g 으로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다(Table 5, Fig. 6).

간의 무게는 대조군에서 2.27±0.08 g으로 정상군의 1.42±0.04 g에 비해 유의하게 증가하였으며(p<0.001), 상엽 400 mg 투여군은 1.95±0.28 g으로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 1.85±0.14 g으로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05)(Table 5, Fig. 6).

Table 5. Organ Weight of Each Experimental Group

	Normal	HFD	Mori 400 mg	Mori 800 mg
Epididymal fat (g)	1.08 ±0.28	2.07 ±0.17**	1.85 ±0.19	1.59 ±0.19
Liver (g)	1.42 ±0.04	2.27 ±0.08***	1.95 ±0.28	1.85 ±0.14#

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg
 * Significantly different from normal group (** p<0.01, *** p<0.001)
 # Significantly different from HFD group (# p<0.05)

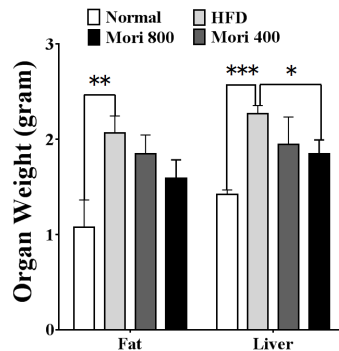


Fig. 6. Organ weight of each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg
 * Significantly different from normal group, HFD group (* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)

5. 지방세포의 macrophage 발현에 미치는 영향

Adipose tissue macrophage(ATM)의 숫자는 대조군에서 74069.50±6681.25로 정상군의 24116.60±3812.98에 비해 유의하게 증가하였으며(p<0.001), 상엽 400 mg 투여군은 51658.20±4250.40으로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05). 상엽 800 mg 투여군은 41915.40±6410.29로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01)(Table 6, Fig. 7).

CD45+cell은 대조군에서 99763.83±7718.89로 정상군의 52064.60±6454.62에 비해 유의하게 증가하였으며(p<0.001), 상엽 400 mg 투여군은 79408.00±1679.06로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05). 상엽 800 mg 투여군은 69369.20±8104.12로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05)(Table 6, Fig. 8).

ATM과 CD45+ cells의 비율은 대조군에서 74.09±1.98로 정상군의 46.27±3.20에 비해 유의하게 증가하였고(p<0.001), 상엽 400 mg 투여군은 64.99±4.88로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 59.90±4.04로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01)(Table 6, Fig. 9).

CD206+ ATM의 숫자는 대조군에서 32477.50±6089.44

로 정상군의 14531.20±1821.76에 비해 유의하게 증가하였고(p<0.05), 상엽 400 mg 투여군은 21355.40±2976.72로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 15429.20±1752.06로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05)(Table 6, Fig. 10).

CD206+ ATM과 ATM의 비율은 대조군에서 42.59±4.58로 정상군의 61.89±6.64에 비해 유의하게 감소하였다(P<0.05). 상엽 400 mg 투여군은 41.07±3.92, 상엽 800 mg 투여군은 38.23±4.27로 모두 대조군에 비해 유의한 변화는 없었다(Table 6, Fig. 11).

CD11c+ ATM의 숫자는 대조군에서 39566.17±3641.49로 정상군의 6416.80±2177.19에 비해 유의하게 증가하였고(p<0.001), 상엽 400 mg 투여군은 24651.00±2056.88로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01). 상엽 800 mg 투여군은 20230.00±2939.99로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01)(Table 6, Fig. 12).

CD11c+ ATM과 ATM의 비율은 대조군에서 53.68±3.02로 정상군의 24.71±3.90에 비해 유의하게 증가하였다(P<0.001). 상엽 400 mg 투여군은 48.39±4.17, 상엽 800 mg 투여군은 48.48±1.83으로 모두 대조군에 비해 유의한 변화는 없었다(Table 6, Fig. 13).

Table 6. Adipose Tissue Macrophage (ATM) Number, CD45+ Cells, CD206+ ATM Number, CD11c+ ATM Number and The Ratios of ATM/CD45+ Cells, CD206+ ATM/ATMs, CD11c+ ATM/ATMs in Each Experimental Group

	Normal	HFD	Mori 400	Mori 800
ATM number	24116.60±3812.98	74069.50±6681.25***	51658.20±4250.40#	41915.40±6410.29##
CD45+ cells	52064.60±6454.62	99763.83±7718.89***	79408.00±1679.06#	69369.20±8104.12#
ATM/CD45+ cells (%)	46.27±3.20	74.09±1.98***	64.99±4.88	59.90±4.04##
CD206+ ATM number	14531.20±1821.76	32477.50±6089.44*	21355.40±2976.72	15429.20±1752.06#
CD206+ ATM/ATMs (%)	61.89±6.64	42.59±4.58*	41.07±3.92	38.23±4.27
CD11c+ ATM number	6416.80±2177.19	39566.17±3641.49***	24651.00±2056.88##	20230.00±2939.99##
CD11c+ ATM/ATMs (%)	24.71±3.90	53.68±3.02***	48.39±4.17	48.48±1.83

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

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

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

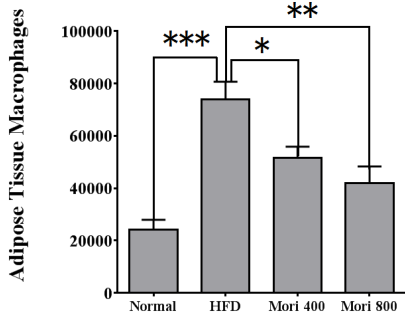


Fig. 7. The number of adipose tissue macrophage (ATM) in each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

* Significantly different from normal group, HFD group (* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)

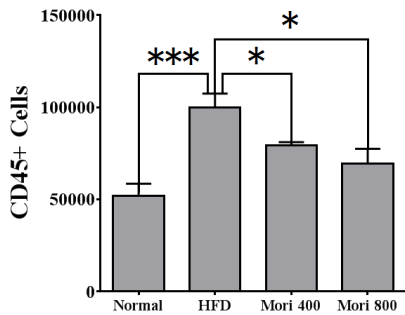


Fig. 8. The number of CD45+ cells in each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

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

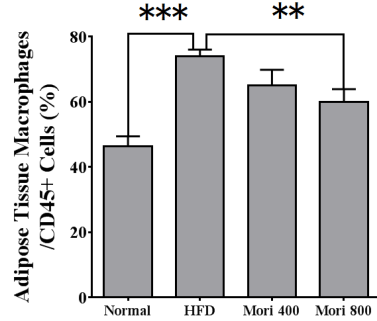


Fig. 9. The ratio of adipose tissue macrophage (ATM)/CD45+ cells in each experimental group. Each column represents the mean ±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

* Significantly different from normal group, HFD group (** p<0.01, *** p<0.001)

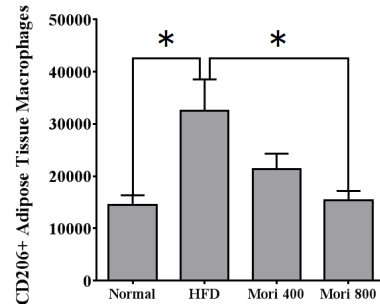


Fig. 10. The number of CD206+ ATM in each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg

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

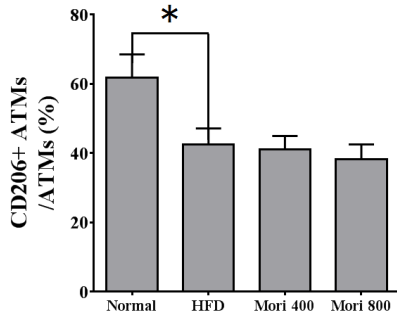


Fig. 11. The ratio of CD206+ ATM/ATMs in each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg
 * Significantly different from normal group, HFD group (* p<0.05)

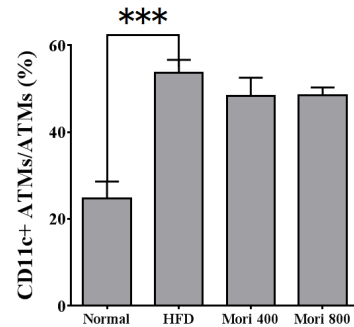


Fig. 13. The ratio of CD11c+ ATM/ATMs in each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg
 * Significantly different from normal group, HFD group (***) p<0.001)

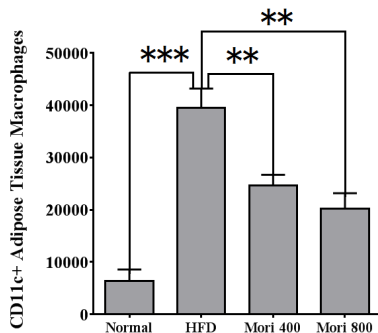


Fig. 12. The number of CD11c+ ATM in each experimental group. Each column represents the mean±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg
 * Significantly different from normal group, HFD group (** p<0.01, *** p<0.001)

6. 염증관련 유전자 발현에 미치는 영향

TNF- α 는, 정상군을 1로 산정하였을 때, 대조군에서 6.59 ± 0.50 으로 유의하게 증가하였고(p<0.001), 상엽 400 mg 투여군은 6.10 ± 0.31 로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 4.78 ± 0.56 으로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(P<0.05)(Table 7, Fig. 14).

IFN- γ 는, 정상군을 1로 산정하였을 때, 대조군에서 6.75 ± 2.08 로 유의하게 증가하였고(p<0.05), 상엽 400 mg 투여군은 2.65 ± 1.05 로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 2.02 ± 0.45 로 대조군에 비해 감소하는 경향성은 보였으나 유의성은 없었다(Table 7, Fig. 14).

IL-6은, 정상군을 1로 산정하였을 때, 대조군에서 9.15 ± 1.88 로 유의하게 증가하였고(p<0.01), 상엽 400 mg 투여군은 10.73 ± 2.07 , 상엽 800 mg 투여군은 6.13 ± 1.07 로 모두 대조군에 비해 유의한 변화는 없었다(Table 7, Fig. 14).

Table 7. The Gene Expression of Tumor Necrosis Factor (TNF)-α, Interferon (IFN)-γ and Interleukin (IL)-6 in Each Experimental Group

	Normal	HFD	Mori 400	Mori 800
TNF-α	0.95 ±0.16	6.59 ±0.50***	6.10 ±0.31	4.78 ±0.56#
IFN-γ	1.10 ±0.29	6.75 ±2.08*	2.65 ±1.05	2.02 ±0.45
IL-6	1.16 ±0.21	9.15 ±1.88**	10.73 ±2.07	6.13 ±1.07

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg, TNF-α : tumor necrosis factor-α, IFN-γ : interferon-γ, IL-6 : interleukin-6

* Significantly different from normal group (* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)

Significantly different from HFD group (# p<0.05)

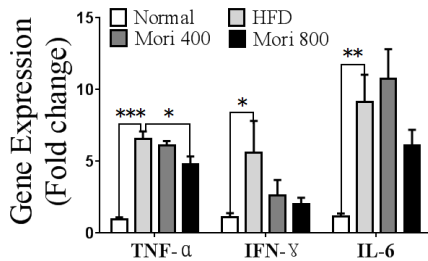


Fig. 14. The gene expression of tumor necrosis factor (TNF)-α, interferon (IFN)-γ and interleukin (IL)-6 in each experimental group. Each column represents the mean ±S.E.

Normal : normal diet, HFD : high fat diet, Mori 400 : *Mori Folium* 400 mg, Mori 800 : *Mori Folium* 800 mg, TNF-α : tumor necrosis factor-α, IFN-γ : interferon-γ, IL-6 : interleukin-6

* Significantly different from normal group, HFD group (* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)

IV. 고찰

비만은 체내 지방조직에서 염증세포 및 염증 매개자들을 증가시켜 인슐린 저항성을 일으키고 제 2형 당뇨병, 동맥경화의 발생 요인으로 작용한다¹⁰. 지방

조직으로 침윤되어 활성화 된 대식세포는 염증성 사이토카인과 케모카인인 TNF-α, IL-6, MCP-1의 분비 증가를 통해 비대한 지방세포의 아디포사이토카인 분비이상을 악화시키거나, 대식세포의 침윤을 가속화 하여 염증을 증폭시키는 악순환을 일으키며, 세포내로의 당 유입능력을 감소시키고, 전구지방세포의 분화능력을 저하시켜 대사이상을 유발한다¹¹. 따라서 지방조직의 염증제어는 비만과 관련한 대사질환의 발생 및 진행을 지연시키는 데에 중요한 과정이다¹⁰.

桑葉(*Mori Folium*)은 뽕나무과(*Moraceae*)에 속한 落葉喬木인 뽕나무 *Morus alba linne* 또는 기타 동속 근연식물의 잎으로, 疏散風熱, 清肺潤燥, 清肝明目하는 효능이 있어 風熱感冒, 肺熱燥咳, 頭暈頭痛, 目赤昏花를 다스린다¹³. 《東醫寶鑑》에서는 “治面上肺毒瘡, 如大風瘡”이라고 하여 “얼굴에 나는 대풍창 같은 폐독창을 상엽이 치료한다”고 하여, 桑葉의 항염작용을 기술하고 있다¹⁴.

체중 조절은 비만 치료뿐만 아니라 제 2형 당뇨병 치료에 영향을 주며, 5~10% 정도의 체중 감량으로도 당뇨병 위험 감소 및 혈압, 혈당, 지질을 감소시키는 것으로 알려져 있다¹⁵. 13주간 고지방식을 섭취시킨 결과, 대조군의 체중은 정상군에 비해 유의하게 증가하였다. 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군은 대조군에 비해 체중 증가가 억제되는 경향성은 있었으나, 유의성은 없었다. 이 등¹⁶의 연구에서 상엽만 투여한 실험군에서는 체중이 감소하지 않았으나 식이절제를 동반한 실험군에서는 체중이 감소한 것으로 나타나, 상엽 단독 투여와 함께 식이절제가 동반되어야 체중감소 효과가 나타날 것으로 보인다.

공복 혈당과 혈청 인슐린의 농도 그리고 그 두 가지 수치로 계산되는 HOMA-IR은 내당능 진단이 가능한 대표적인 지표이지만¹⁷, 인슐린 분비결함과 인슐린 저항성이 공존하는 제 2형 당뇨병의 확진에는 OGTT가 더 정확하여¹⁸, 본 실험에서 각 실험군의 공복 혈당과 OGTT, 혈청 인슐린 농도, HOMA-IR을 모두 측정하였다. 공복 혈당에서 상

엽 400 mg 투여군은 대조군에 비해 혈당 상승이 억제되었으나 유의성이 없었고, 상엽 800 mg은 혈당 상승을 유의하게 억제하였다. OGTT에서 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군 두 군에서 대조군에 비해 평균 혈당이 낮게 나타났으나 식후 30분 후의 수치에서만 유의성이 나타났고, 그 외의 항목에서는 유의성이 없었다. 혈청 인슐린 농도는 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군 모두에서 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. HOMA-IR은 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군 모두 대조군에 비해 유의하게 낮았다. 당뇨병, 고혈압 그리고 관상동맥질환 등의 대사성 질환의 발생에 인슐린 저항성이 밀접하므로¹, 상엽의 혈당 조절과 인슐린 저항성 개선 효과는 당뇨병 치료 뿐 아니라 대사증후군의 치료에 활용될 수 있다.

실험군과 대조군에서 체내 지방조직 증가와 염증상태를 판별하는 중요한 지표¹⁹인 부고환 지방의 무게와 간 조직의 무게를 측정하였는데, 부고환 지방 조직의 무게는 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였고 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군은 대조군에 비해 무게는 감소하는 경향성을 보였으나 유의성이 없었다. 간의 무게는 대조군에서 정상군에 비해 유의성 있는 무게 증가가 있었다. 상엽 400 mg 투여군은 대조군에 비해 무게는 감소하는 경향성을 보였으나 유의성이 없었다. 상엽 800 mg 투여군은 대조군에 비해 무게가 유의하게 감소하였다. 지방조직과 간 조직의 무게 증가는 염증 상태를 의미하므로^{3,19}, 상엽을 고용량으로 투여했을 때, 간의 지질 침착이 억제되고 염증이 개선되는 효과를 나타냈다.

비만 상태에서는 대식세포의 형질이 M1으로 전환되어 염증성 활동 상태를 띠면서 TNF- α , IL-6, IL-12 등의 염증성 사이토카인의 분비를 활성화하고, 마른 상태에서의 M2 형질의 대식세포는 낮은 수준으로 염증성 사이토카인 발현을 일으킨다²⁰. M1 형질의 대식세포는 표면에 CD11c의 표지자를 가지고 있고, M2 형질의 대식세포는 CD206의 표

지자를 가지고 있어서 표지자에 대한 수용체를 분석하여 형질을 파악할 수 있다^{21,22}. 한편, CD45는 모든 백혈구에서 발현되는 수용체 결합 단백질 티로신인산 가수분해효소로 T세포 수용체의 신호 전달을 강화하여 T세포의 발생 및 분화에 중요한 역할을 하며, B세포의 발생과 분화에 관여하고 림프구의 항원수용체를 비롯한 여러 수용체를 통한 신호전달에 영향을 미친다²³.

따라서 본 연구에서는 면역반응의 정도를 알아보기 위해 CD11c, CD206, CD45가 발현 정도를 분석하였고, FACS을 통해 ATM과 CD45+cell, 대식세포와 반응하는 수용체의 퍼센티지를 측정하여 대식세포의 침착량과 염증반응의 정도를 측정하였다. 그 결과, 지방조직내 대식세포의 숫자와 CD45가 발현된 세포수는 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며, 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군은 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 대식세포 중 CD45 세포의 비율은 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였고, 상엽 800 mg 투여군에서 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. CD206가 발현된 세포의 수는 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였고, 상엽 800 mg 투여군에서 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. CD11c가 발현된 세포의 수는 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였고, 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군은 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 이는 상엽이 지방조직 내 대식세포의 활성화와 침착을 억제하는 것으로, 상엽의 항염 작용을 확인하였다.

지방조직 내 대식세포는 TNF- α , IFN- γ , IL-6와 같은 염증성 사이토카인을 생성하여 면역반응을 활성화하는데, 과도한 분비는 인슐린 저항성을 일으키고 자가면역반응을 유발할 수 있다^{25,26}. TNF- α 는 비만으로 유발된 여러 가지 실험모델들의 지방조직에서 분비가 증가하는 것으로 보고되었다^{2,24}. 적정량의 TNF- α 분비는 근육과 지방 조직에서 인슐린 수용체 티로신 키나제의 활성을 증가시킴으로써

인슐린 감수성을 개선하지만, 다량의 TNF- α 분비는 인슐린 자극 티로신 인산화의 강력한 억제제 또는 인슐린 수용체의 티로신 키나제 활성의 결함을 일으킨다²⁴. IFN- γ 는 자연 살해 세포와 자연 살해 T세포에 의해 생성되어 세포 내 병원균에 대한 면역과 종양 제어에 유의하며 항바이러스 및 면역조절작용을 한다²⁵. IL-6은 염증의 급성 단계에 신속하게 반응하는 사이토카인으로, IL-6의 조절이상으로 합성이 과다해지면 만성 염증 상태와 자가면역질환을 유발한다²⁶.

본 연구에서 TNF- α 는 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였다. 상엽 400 mg 투여군은 대조군에 비해 감소하는 경향성을 보였으나 유의성은 없었고, 상엽 800 mg 투여군은 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 한편 IFN- γ 는 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였지만, 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군 모두 대조군에 비해 유의한 변화는 없었다. 또한 IL-6 발현은 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 증가하였지만, 상엽 400 mg 투여군과 상엽 800 mg 투여군에서는 대조군에 비해 유의한 변화는 없었다. 이는 상엽이 염증 매개 인자인 TNF- α 의 분비를 억제하는 효과가 있어, 인슐린 신호 전달 체계를 개선시키고 결과적으로 인슐린 저항성을 감소시킨다는 것을 의미한다. 앞서 언급한 HOMA-IR의 감소효과와 함께, 염증성 사이토카인의 증감과 인슐린 저항성의 정도가 비례하여 감소되었으며, 상엽이 항염증 효과와 인슐린 저항성 개선효과를 동시에 나타내는 기전을 설명해준다. 다만 추후 다른 염증매개인자에 대한 연구와 염증매개인자의 분비와 인슐린 저항성과의 관계에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

본 연구 결과를 종합하면, 상엽은 비만이 유발된 동물모델에서 유의한 체중감소 효과를 보이지 않았지만, 간의 지방 침착과 지방 조직에서 대식세포의 증가와 침착을 억제하였다. 지방조직 내 대식세포의 활성을 감소시켜 염증매개인자를 억제하여 염증 반응이 억제되었고, 그로 인해 인슐린 저항성이 개선되었으며, 결과적으로 혈당 개선효과를 나

타냈다. 따라서 상엽은 당대사를 정상화하고 만성 염증상태를 개선하는 효과를 가지고 있어, 비만으로 인해 유발되는 대사 질환의 예방 및 치료에 중요하게 활용될 수 있을 것으로 생각한다.

V. 결 론

상엽이 비만 유발 생쥐의 인슐린 저항성 및 지방조직 염증에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 상엽 800 mg 투여군에서 공복 시 혈당이 유의하게 감소하였다.
2. 상엽 400 mg 투여군과 800 mg 투여군에서 혈청 인슐린 농도가 유의하게 감소하였다.
3. 상엽 400 mg 투여군과 800 mg 투여군에서 HOMA-IR이 유의하게 감소하였다.
4. 상엽 400 mg 투여군과 800 mg 투여군에서 경구 당부하 혈당 수치가 30분 후 유의하게 감소하였다.
5. 상엽 800 mg 투여군에서 간의 무게가 유의하게 감소하였다.
6. 상엽 400 mg 투여군에서 adipose tissue macrophage (ATM)와 CD45+cells 그리고 CD11c+에 반응하는 ATM이 유의하게 감소하였다.
7. 상엽 800 mg 투여군에서 adipose tissue macrophage (ATM)와 CD45+cells 및 ATM과 CD45+ cells의 비율이 감소하였으며, CD206+와 CD11c+에 반응하는 ATM이 유의하게 감소하였다.
8. 상엽 800 mg 투여군에서 지방세포의 TNF- α 유전자 발현이 유의하게 감소하였다.

참고문헌

1. Park SM, Ahn IS, Kim DS, Kang SA, Kwon DY, Yang HJ. Anti-obesity Effects of Tae-

- Um-Jo-Wee-Tang and Do-Dam-Tang in Female Rats with Diet-induced Obesity. *J Appl Biol Chem* 2010;53(1):44-50.
2. Koo SH. Metabolic diseases-with a focus on the latest research study on obesity and the metabolic syndrome and diabetes. *Ksbmb News* 2010;30(4): 29-36.
 3. Park CY, Yu HJ. Inflammation and obesity. *jke* 2004;19(2):97-108.
 4. Yang YG. hwangjenaegyounyoungchuhaesuk. Seoul: Sungbosa; 1980, p. 304, 416.
 5. Hwang KS. Bonchogugin. Seoul: Yeusungdang; 1997, p. 36.
 6. Andallu B, Varadacharyulu NC. Lee, Antioxidant role of mulberry leaves in streptozotocin-diabetic rats. *Clin Chim Acta* 2003;338(1-2):3-10.
 7. Park JY, Jun SY, Kim SO, Lee ES, Lee YS, Ahn HD, et al. Effects of Mixed Korean Medicinal Water Extract(MAPC) on Lipid Accumulation and Glucose Transport in 3T3-L1 Adipocytes and L6 Skeletal. *jhsa* 2013;13(2): 1-11.
 8. Kim OK, Jung JC. Effects of the Mori folium Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Jsokm* 2006;27(1):91-103.
 9. Park SM, Byun SH, Kim YW, Jo IJ, Kim SC. Inhibitory effect of Mori Folium ethanol extract on pro-inflammatory mediator in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 cells. *jkaoh* 2012;27(3): 31-8.
 10. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005;115(5):1111-9.
 11. Suganami T, Nishida J, Ogawa Y. A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(10):2062-8.
 12. Kang JH, Yu RN. Effects of Functional Food Components in Reducing Obesity-induced Inflammation and Metabolic Diseases. *jkosso* 2012;21(3):132-9.
 13. College of Oriental Medicine Herbal Studies Textbook Compilation Committee. Herbal Studies. Seoul: Younglimsa; 2000, p. 182-4.
 14. Heo J, Yun SH, Kim HJ. Donguibogam. Hadong: Donguibogam Publisher; 2005, p. 481.
 15. Lau DCW. Diabetes and weight management. *PCD* 2010;4(1):24-30.
 16. Lee JS, Rho HI, Yun DL, Lee SR, Ryu JH. Histological and Serological anti-Obesity Effect of Mori Folium in Obesity Induced SD Rat by High Fat Diet. *The Journal of Internal Korean Medicine* 2012;33(3):306-16.
 17. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000;23(1):57-63.
 18. Kim JH. Diagnosis of diabetes and oral glucose tolerance test. *jkda* 2005;5(1):34-6.
 19. Park EJ, Lee JH, Yu GY, He G, Ali SR, Holzer RG, et al. Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression. *Cell* 2010;140(2): 197-208.
 20. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization *J Clin Invest* 2007; 117(1):175-84.
 21. Wentworth JM, Naselli G, Brown WA, Doyle L, Phipson B, Smyth GK, et al. Pro-inflammatory CD11c+CD206+ adipose tissue macrophages are associated with insulin resistance in human obesity. *Diabetes* 2010;59(7):1648-56.
 22. Shaul ME, Bennett G, Strissel KJ, Greenberg

- AS, Obin MS. Dynamic, M2-like remodeling phenotypes of CD11c adipose tissue macrophages during high-fat diet-induced obesity in mice. *Diabetes* 2010;59(5):1171-81.
23. Altin JG, Sloan EK. The role of CD45 and CD45-associated molecules in T cell activation. *Immunol Cell Biol* 1997;75(5):430-45.
24. Hotamisligil GS, BM Spiegelman. Tumor necrosis factor α : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994;43(1):1271-8.
25. Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of interferon- γ during innate and adaptive immune responses. *Advances in Immunology* 2007;96:41-101.
26. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives* 2014;6:a016295.