

갈근 추출물이 에스트로겐 결핍 Rat의 비만관련 호르몬에 미치는 영향

백선은 · 백지윤¹ · 강기성¹ · 유정은

대전대학교 한의과대학 부인과교실, ¹가천대학교 한의과대학

Effects of *Pueraria lobata* on Obesity Related Hormones in Rats with Estrogen Deficiency

Seon-Eun Baek, Ji Yun Baek¹, Ki-Sung Kang¹, Jeong-Eun Yoo

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Korean Medicine, Daejeon University, ¹College of Korean Medicine, Gachon University

Received: November 13, 2017

Revised: November 28, 2017

Accepted: November 29, 2017

Correspondence to: Jeong-Eun Yoo
Department of Obstetrics and
Gynecology, Dunsan Korean Medicine
Hospital of Daejeon University, 75
Daedeok-daero 176beon-gil, Seo-gu,
Daejeon 35235, Korea
Tel: +82-42-470-9139
Fax: +82-42-470-9005
E-mail: jeyoo@dju.ac.kr

Copyright © 2017 by The Society of Korean
Medicine for Obesity Research

Objectives: This study was conducted to evaluate the effects of *Pueraria lobata* (PL) extract on obesity related hormones in rats with estrogen deficiency.

Methods: The experiments were performed with the use of ovariectomized rats as estrogen-deficient obesity rat model. They were grouped Normal (sham operation group), Control (ovariectomy group), 50 mg/kg PL (ovariectomy group + 50 mg/kg of PL), 100 mg/kg PL (ovariectomy group + 100 mg/kg of PL), 200 mg/kg PL (ovariectomy group + 200 mg/kg of PL). PL extract was orally administered for 8 weeks once a day. Body weights and serum levels of hormones, such as leptin, estradiol, cholecystokinin (CCK), ghrelin, and adiponectin were estimated by ELISA.

Results: PL extract significantly decreased body weight, the serum levels of leptin in estrogen-deficient obesity rats. PL extract significantly increased the serum levels of estradiol and CCK. However, PL extract did not directly effect on the levels of ghrelin and adiponectin in estrogen-deficient obesity rats.

Conclusions: It is concluded that PL extract reduced body weight, and regulate the hormones related to energy metabolism. PL extract decreased the serum levels of leptin. PL extract increased the serum levels of estradiol and CCK. These results indicate that PL might have potentials for treatment of obesity and complications during the menopause caused by estrogen-deficiency.

Key Words: Obesity, *Pueraria lobata*, Menopause, Estrogens, Hormones

서론

에스트로겐은 지방세포에서 지방형성 억제, 지방분해 증가, 지방세포 분화인자 발현을 억제하며, 시상하부에서 leptin 분비와 음식 섭취를 억제하고 근육 운동량을 증가시킨다¹⁾. 폐경기에 에스트로겐이 결핍되면 지방대사의 저하, 당 흡수 증가로 인한 과다한 지방축적을 유발하게 된다. 이로 인해 폐경기 여성은 비만, 당뇨병, 심혈관계 질환 등의 위험이 증가하는데, 특히 심혈관질환은 에스트로겐의 혈관 보호작용

이 사라지면서 위험도가 급격히 높아져서 50세 이상 여성의 사망률의 가장 큰 비중을 차지하고 있다²⁾.

2015년 발표된 국민영양조사에 따르면, 체질량지수가 25 kg/m² 이상인 경우를 비만이라고 정의하였을 때, 남성의 비만 유병률은 전 연령대에 걸쳐 비교적 비슷하였는데, 여성의 비만 유병률은 연령에 따라 증가하며 특히 폐경 이후인 50대에는 36.2%, 60대에는 41.7%의 높은 비율로 나타난다³⁾. 에스트로겐 결핍으로 유발되는 폐경기의 비만과 그에 따른 합병증을 예방하고 치료하는 것은 향후 여성의 건강유지와

삶의 질 향상에 중요한 문제이다. 또한 호르몬 대체요법 등을 장기간 사용하는 것이 유방암, 정맥혈전증, 당뇨병 등 의 발생 위험을 높인다고 알려지고 있어⁴⁾, 안전하면서도 비만 치료의 효능이 있는 약물개발의 필요성이 제기되고 있다.

Kim 등⁵⁾의 리뷰에 따르면, 한약제재를 이용하여 비만에 미치는 영향을 평가한 동물 실험은 처방과 단미를 포함하여 69편의 연구가 다수 진행되었지만, 이 중 에스트로겐 결핍성 비만에 대한 연구는 2편에 불과한 것으로 보고되었다. 또한 기존에 갈근이 에스트로겐 결핍 유도 rat의 체중과 관련 유전자 발현을 조절하는 효과가 있다는 연구^{6,7)}가 있었지만, 호르몬 수준의 변화를 확인한 연구는 부족한 실정이다.

갈근(葛根, *Puerariae Radix*)은 다년생 콩과(*Leguminosae*)에 속하는 칩(*Pueraria Lobata*)의 주피를 제거한 것으로 isoflavone인 daidzin과 perarin이 많이 함유되어 있다⁸⁾. 갈근의 현대 약리작용으로는 항염증, 항암작용, 간보호작용, 심혈관계에 대한 항-고콜레스테롤혈증, 당뇨 및 당뇨합병증에 대한 효과가 알려져 있다⁸⁾. 특히 갈근에 함유되어 있는 각종 isoflavone 계열 화합물이 estrogen receptor β 에 대한 agonist로 작용하여 호르몬 대체요법과 동등 이상의 효능이 있다는 보고가 있다⁹⁾.

호르몬은 지방조직, 췌장, 위장관 등에서 지방저장신호 또는 포만신호를 시상하부 중추에 전달하여 에너지 항상성을 조절하고 비만 발생의 중요한 역할을 한다. 이에 본 연구에서는 갈근 추출물이 난소 제거로 에스트로겐 결핍성 비만이 유발된 흰쥐(rat)에서 비만 관련 호르몬 변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 혈중 estradiol, leptin, adiponectin, ghrelin, cholecystokinin (CCK) 등 호르몬의 양을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재 추출 및 시료 제조

실험에 사용한 갈근(경남거창, 한국)은 (주)옥천당 (Yeongcheon, Korea)에서 구입하였으며, 500 g을 80% MeOH (1.5 L)로 상온 25°C에서 세 번 추출한 후 감압 건조하여 최종 메탄올 추출물 103.3 g을 얻었다.

2) 동물

실험동물은 두얼바이오텍(DooYeol Biotech, Seoul, Korea)에서 체중이 130~150 g인 5주령의 암컷 흰쥐(rat)를 공급받아 온도 24°C±2°C, 습도 50%~55%에서 사육하였고, 물과 식이는 제한 없이 제공하였다.

2. 방법

1) 폐경 동물모델 제작

암컷 흰쥐에 마취제(Zoletil:Rumpun mixture [3:1] 0.2 mg/kg, birth weight)를 복강 내 주입하여 마취한 후 등(back) 부위를 절개하여 양측 난소를 절제함으로써 폐경 동물모델을 제작하였다. 일부는 복부 절개 후 봉합시키는 Sham-operation을 실시하였다. 각 실험동물을 1주일간 고형 사료를 주어 상처를 회복시킨 뒤, 난소가 절제되지 않은 정상 대조군과 난소가 절제된 폐경유도 대조군으로 분류하였다.

2) 실험군 설정 및 약물 투여

실험은 실험동물을 5개 군으로 나누어 시행하였다. 즉 (1) 난소가 절제되지 않은 정상대조군(Normal), (2) 난소 절제 후 약물을 투여하지 않은 실험대조군(Control), (3) 난소 절제 후 50 mg/kg의 갈근 추출물을 투여한 군, (4) 난소 절제 후 100 mg/kg의 갈근 추출물을 투여한 군, (5) 난소 절제 후 200 mg/kg의 농도의 갈근 추출물을 투여한 군으로 나누었다. 실험에 사용한 동물은 정상대조군 6마리, 난소가 절제된 실험군은 각각 8마리로 하였으며, 실험군은 식수로 용해시킨 50, 100, 200 mg/kg 농도 갈근 추출물을 투여하였고, 정상대조군과 실험대조군은 동일 양의 식수를 매일 일정한 시간에 한 번 8주 동안 경구투여하였다.

3) 혈액 채취

실험동물을 12시간 이상 절식시킨 후, CO₂ 가스로 호흡 마취하고, 혈액은 복대동맥에서 채혈하여 ethylenediaminetetraacetic acid가 처리된 튜브와 별도의 처리가 없는 튜브에 넣어 4°C, 3,500 rpm, 10분 동안 원심 분리한 후 혈장과 혈청을 분리하여 -80°C에 보관하면서 분석에 이용하였다.

4) 체중 측정

체중은 실험 동물용 체중계(Ohaus, Seoul, Korea)를 이용하여 2시간 공복 상태에서 주 2회 일정한 시각에 측정하였다.

5) 호르몬 농도 측정

(1) 에스트라디올(estradiol)

혈청 중 estradiol 농도 측정은 ELISA Kit (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하였다. 혈청을 이용하기 전 잠재적으로 방해 받을 수 있는 단백질 또는 protein-bound estradiol을 제거하기 위해 먼저 400 μ l 혈청과 100 μ l pretreatment E를 microcentrifuge tube에 넣은 후 침전물이 없도록 섞었다. 이를 실온에 15분간 방치한 후 12,000 rpm에서 4분 동안 원심 분리하고, 250 μ l 상등액과 pretreatment F 75 μ l를 첨가하였다. 각 well에 estradiol primary antibody solution 100 μ l를 첨가한 후 plate sealers로 덮고, microplate shaker에서 550 rpm으로 1시간을 반응시켰다. 각 well에 400 μ l wash buffer로 4번 반복하여 세척한 후 남아있는 wash buffer를 깨끗이 닦아내고 Standard, Control 또는 sample을 100 μ l씩 첨가하였다. Blank 및 non-specific binding well에는 Calibrator Diluent RD5-62를 100 μ l씩 첨가하고, 각 well에 estradiol Conjugate를 50 μ l씩 첨가하여 plate sealers를 덮고 microplate shaker에서 550 rpm으로 2시간 반응시켰다. 이를 다시 washing buffer로 4번을 세척하고, 각 well에 substrate solution 200 μ l를 첨가한 후 실온에서 30분 동안 방치하였다. 여기에 stop solution 100 μ l를 첨가한 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 오차를 줄이기 위해 550 nm의 흡광도 값을 빼고 계산하였다. 표준물질의 표준곡선을 이용하여 estradiol의 농도를 계산하였다.

(2) Leptin

혈청 중 leptin의 농도는 ELISA Kit (R&D Systems, Inc.)를 이용하여 측정하였다. 먼저 Calibrator Diluent RD5-3으로 serum을 10배 희석하여 준비하고, 96 well microplate에 Assay Diluent RD1W를 각 well당 50 μ l 첨가하였다. Standard, Control 또는 희석된 혈청 sample을 50 μ l씩 넣어주었다. 이를 잘 섞은 뒤 plate sealers로 덮고 실온에서 2시간 방치하였다. 각 well에 wash buffer 400 μ l를 넣어 4번

반복 세척하고, 물기를 제거한 후 leptin Conjugate를 100 μ l씩 첨가하였다. 이를 plate sealers로 밀폐한 후 실온에서 2시간 방치하여 반응시키고 다시 wash buffer 400 μ l로 4번 세척하였다. Substrate solution을 100 μ l씩 첨가한 후 실온에서 빛을 차단한 조건으로 30분 반응시키고, stop solution을 100 μ l씩 첨가하여 반응을 종료시켰다. 이를 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 오차를 줄이기 위해 550 nm의 흡광도 값을 뺐다. 표준물질의 표준곡선을 이용하여 leptin의 농도를 계산하였다.

(3) 아디포넥틴(adiponectin)

혈청 중 adiponectin 농도는 ELISA Kit (R&D Systems, Inc.)를 이용하여 측정하였다. 혈청은 Calibrator Diluent RD5-26을 이용하여 1,000배 희석하여 사용하였다. Assay Diluent RD1W를 각 well에 50 μ l에 첨가 후 Standard, Control 또는 sample을 50 μ l씩 넣고, plate sealers를 붙이고 microplate shaker 550 rpm에서 1시간을 반응시켰다. 각 well에 wash buffer 400 μ l로 5번 세척하였다. 각 well에 rat adiponectin Conjugate 100 μ l를 첨가 후 plate sealers를 붙이고 microplate shaker 550 rpm으로 1시간 반응시켰다. 위와 같이 washing을 5번 반복하고 각 well에 substrate solution 100 μ l를 첨가 후 빛을 차단하고, 30분간 실온에 방치하였다. 각 well에 stop solution을 100 μ l씩 각 well에 첨가하여 후 잘 섞은 후 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정했다.

(4) Ghrelin, CCK

혈청 중 ghrelin, CCK 농도는 ELISA Kit (Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Burlingame, CA, USA)를 이용하였다. 혈청은 assay buffer로 10배 희석하여 사용했다. Blank는 비워두고 Standard, Control 또는 sample을 50 μ l씩 넣고, Blank를 제외한 각 well에 rehydrated biotinylated peptide 25 μ l씩 첨가 후 Plate sealers를 붙이고 microplate shaker 450 rpm으로 2시간을 반응시켰다. Washing buffer 350 μ l를 넣어 4번 반복 세척하고, 각 well에 SA-HRP 100 μ l씩 첨가했다. Plate sealers를 붙이고 microplate shaker 450 rpm에서 1시간을 반응시켰다. Wash buffer 350 μ l로 4번 반복 세척하여 물기 제거 후 각 well에 TMB 100 μ l씩 첨가하여 빛으로 보호하고, microplate shaker 450 rpm에서 1시간 동안 반응시켰다. 각 well에 2N HCl를 넣은 후

ELISA reader를 이용하여 흡광도 450 nm에서 측정했다.

결 과

1. 체중에 미치는 영향

난소절제술에 의해 폐경이 유도된 흰쥐모델에서 갈근 추출물의 체중변화에 대한 효과를 조사하였다. 그 결과 실험대조군(Control)의 체중은 정상대조군(Normal)에 비하여 유의성 있게($P < 0.05$) 증가되었다. 또한 100 mg/kg, 200 mg/kg의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군의 체중은 실험

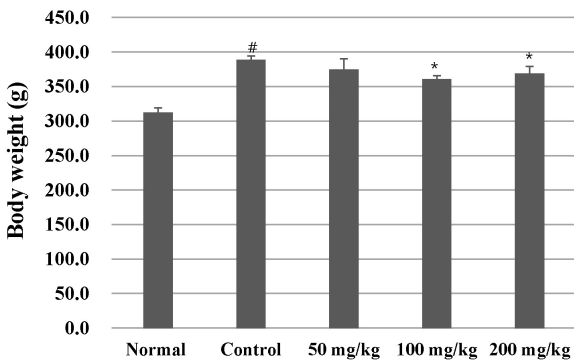


Fig. 1. Effect of *Pueraria lobata* (PL) on body weight in rats with estrogen deficiency. Normal: sham operation group, Control: ovariectomy group, 50 mg/kg: ovariectomy group + 50 mg/kg of PL, 100 mg/kg: ovariectomy group + 100 mg/kg of PL, 200 mg/kg: ovariectomy group + 200 mg/kg of PL. Each bar represents mean \pm standard deviation of 6 tests ($^*P < 0.05$ vs. Control, $^{\#}P < 0.05$ vs. Normal).

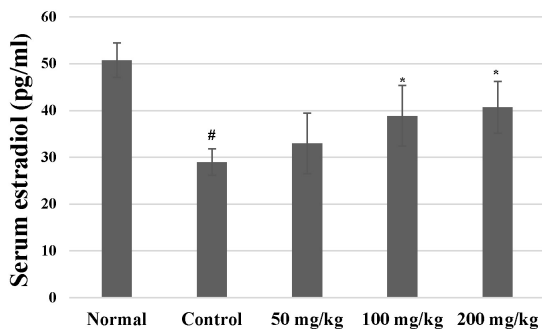


Fig. 2. Effect of *Pueraria lobata* (PL) on estradiol level in rats with estrogen deficiency. Normal: sham operation group, Control: ovariectomy group, 50 mg/kg: ovariectomy group + 50 mg/kg of PL, 100 mg/kg: ovariectomy group + 100 mg/kg of PL, 200 mg/kg: ovariectomy group + 200 mg/kg of PL. Each bar represents mean \pm standard deviation of 6 tests ($^*P < 0.05$ vs. Control, $^{\#}P < 0.05$ vs. Normal).

대조군보다 유의하게($P < 0.05$) 감소하였다. 갈근 추출물을 50 mg/kg의 농도로 경구 투여한 실험군의 체중은 실험대조군에 비해 약간 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 1).

2. Estradiol 농도에 미치는 영향

난소절제술에 의해 폐경이 유도된 흰쥐모델에서 갈근 추출물의 estradiol 호르몬 변화에 대한 효과를 조사한 결과, 실험대조군의 혈청 estradiol 농도는 정상대조군에 비하여 유의성 있게($P < 0.05$) 감소되었다. 또한 100 mg/kg, 200 mg/kg의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군에서는 혈청 estradiol 농도가 실험대조군(Control)에 비해 유의하게($P < 0.05$) 농도 의존적으로 증가하였다. 50 mg/kg의 갈근 추출물을 투여한 실험군에서도 혈청 estradiol 농도가 실험대조군에 비해 약간 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 2).

3. Leptin 농도에 미치는 영향

난소절제술에 의해 폐경이 유도된 흰쥐모델에서 갈근 추출물의 leptin 호르몬 변화에 대한 효과를 조사한 결과, 실험대조군의 혈청 leptin 농도는 정상대조군에 비하여 유의성 있게($P < 0.05$) 증가되었다. 100 mg/kg, 200 mg/kg의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군에서는 혈청 leptin 농도가 실험대조군에 비해 유의성 있게($P < 0.05$) 감소하였다. 50 mg/kg의 갈근 추출물을 투여한 실험군에서는 실험대조군에 비해 혈청 leptin 농도가 약간 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 3).

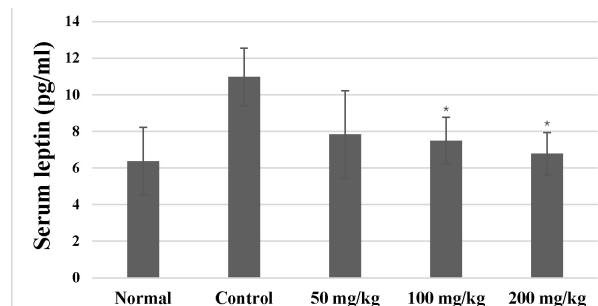


Fig. 3. Effect of *Pueraria lobata* (PL) on leptin level in rats with estrogen deficiency. Normal: sham operation group, Control: ovariectomy group, 50 mg/kg: ovariectomy group + 50 mg/kg of PL, 100 mg/kg: ovariectomy group + 100 mg/kg of PL, 200 mg/kg: ovariectomy group + 200 mg/kg of PL. Each bar represents mean \pm standard deviation of 6 tests ($^*P < 0.05$ vs. Control).

4. Adiponectin 농도에 미치는 영향

난소절제술에 의해 폐경이 유도된 흰쥐모델에서 갈근 추출물의 adiponectin 호르몬 변화에 대한 효과를 조사한 결과, 실험대조군의 혈청 adiponectin 농도는 정상대조군에 비하여 약간 증가하였으나 유의성은 없었다. 갱년기 동물모델에 50 mg/kg의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군의 혈청 adiponectin 농도는 실험대조군과 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. 100 mg/kg의 갈근 추출물을 투여한 실험군의 혈청 adiponectin 농도는 실험대조군에 비해 약간 감소하였으나 유의성은 없었다. 100 mg/kg의 갈근 추출물을 투여한 실험군에서는 실험대조군에 비해 혈청 adiponectin 농도가 오히려 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 4).

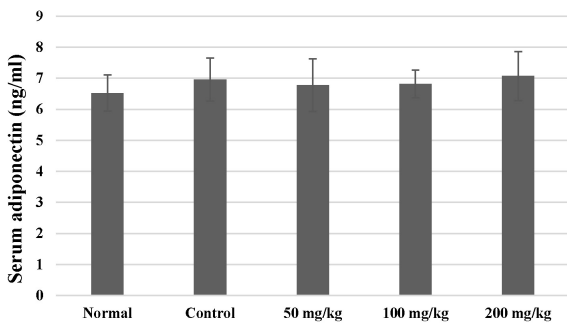


Fig. 4. Effect of *Pueraria lobata* (PL) on adiponectin level in rats with estrogen deficiency. Normal: sham operation group, Control: ovariectomy group, 50 mg/kg: ovariectomy group + 50 mg/kg of PL, 100 mg/kg: ovariectomy group + 100 mg/kg of PL, 200 mg/kg: ovariectomy group + 200 mg/kg of PL. Each bar represents mean \pm standard deviation of 6 tests.

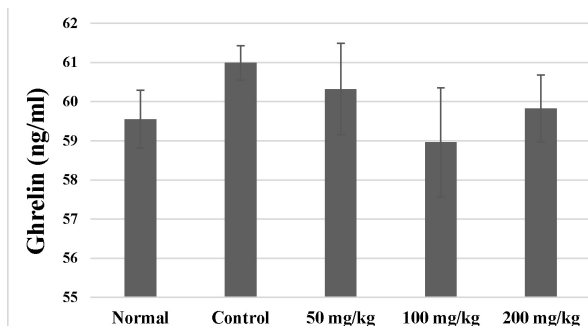


Fig. 5. Effect of *Pueraria lobata* (PL) on ghrelin level in rats with estrogen deficiency. Normal: sham operation group, Control: ovariectomy group, 50 mg/kg: ovariectomy group + 50 mg/kg of PL, 100 mg/kg: ovariectomy group + 100 mg/kg of PL, 200 mg/kg: ovariectomy group + 200 mg/kg of PL. Each bar represents mean \pm standard deviation of 6 tests.

5. Ghrelin 농도에 미치는 영향

난소절제술에 의해 폐경이 유도된 흰쥐모델에서 갈근 추출물의 ghrelin 농도 호르몬 변화에 대한 효과를 조사한 결과, 실험대조군의 혈청 ghrelin 농도는 정상대조군에 비하여 증가되어 있었으나 유의성은 없었고, 갱년기 동물모델에 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg 의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군에서는 혈청 ghrelin 농도가 실험대조군에 비해 약간 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 5).

6. CCK 농도에 미치는 영향

난소절제술에 의해 폐경이 유도된 흰쥐모델에서 갈근 추출물의 CCK 농도 호르몬 변화에 대한 효과를 조사한 결과, 실험대조군의 혈청 CCK 농도는 정상대조군에 비해 유의성 있게($P < 0.05$) 감소되었다. 갱년기 동물모델에 100 mg/kg 의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군에서는 혈청 CCK 농도가 실험대조군에 비해 유의하게($P < 0.05$) 증가하였다. 50 mg/kg의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군에서는 혈청 CCK 농도가 약간 증가하였으나 유의성은 없었다. 200 mg/kg 의 갈근 추출물을 경구 투여한 실험군에서는 실험대조군에 비해 혈청 CCK 농도가 약간 감소하였으나 유의성은 없었다 (Fig. 6).

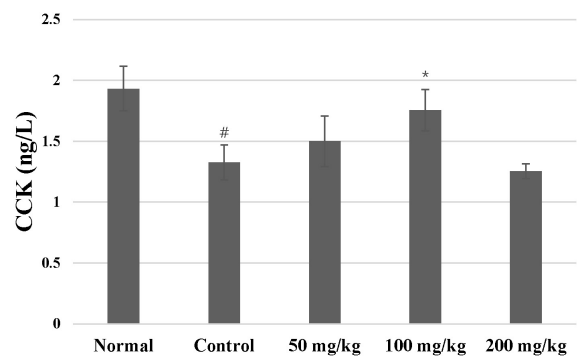


Fig. 6. Effect of *Pueraria lobata* (PL) on cholecystikinin (CCK) level in rats with estrogen deficiency. Normal: sham operation group, Control: ovariectomy group, 50 mg/kg: ovariectomy group + 50 mg/kg of PL, 100 mg/kg: ovariectomy group + 100 mg/kg of PL, 200 mg/kg: ovariectomy group + 200 mg/kg of PL. Each bar represents mean \pm standard deviation of 6 tests (* $P < 0.05$ vs. Control, [#] $P < 0.05$ vs. Normal).

고 찰

폐경은 난소 기능의 저하로 일어나는 월경의 영구적인 정지로 우리나라 여성은 평균 51세에 일어나게 되는데 폐경기 이후는 여성 평균 수명의 약 1/3을 차지하므로 건강관리와 질병 예방이 중요한 시기이다²⁾. 폐경기에는 난소에서 분비되는 여성 호르몬인 에스트로겐의 주기적인 생성이 중단되는데, 여성 호르몬 결핍 시 에스트로겐 수용체를 갖는 조직 및 기관이 영향을 받아 체지방량과 인슐린 저항성이 증가하고 간, 지방조직, 근육의 당대사 및 지질대사의 항상성 유지가 깨지게 된다¹⁰⁾. 따라서 폐경 후에는 체내 지방 분포가 변화되고, 복부 비만이 증가하며, 당뇨병, 고혈압, 고중성지방혈증 등의 대사증후군 발생과 심혈관계 질환의 위험을 증가시키게 된다.

비만은 대사증후군과 퇴행성 질환, 암 등의 위험도를 증가시키며, 폐경 이후에는 노화와 더불어 각종 질병으로 이환되기 쉽다. 따라서 갱년기에 발생하는 비만과 비만합병증을 예방하고 치료하는 것이 중요하며 이를 개선시키기 위한 약물 연구가 최근 활발히 이루어지고 있다¹¹⁾. 폐경 증후군 개선을 위해 사용되는 식물성 에스트로겐 보충제 중 black cohosh, buttercup, red clover 등의 사용이 허가되어 있으며, genistein, daidzein, equol의 에스트로겐 수용체 결합하는 작용기전에 대해 많은 연구보고가 이루어지고 있다¹²⁾. 또한 기존 세포실험과 동물실험 연구에서 estradiol이 혈당치와 콜레스테롤 수치를 현저히 감소시키고, 경구 당부하시험에서 혈당치의 체내 흡수를 감소시켜 대사성 질환과 관련되어 있다는 작용기전이 확인된 바 있다¹³⁾.

본 연구에서는 식물성 에스트로겐 효능이 있는 것으로 알려진 갈근 추출물이 에스트로겐 결핍으로 발생한 비만과 여성 호르몬에 대한 조절 효과를 확인해보고자 수행하였다. 먼저 흰쥐의 난소적출로 에스트로겐 결핍을 유도하였을 때 체중이 유의하게 증가하였고, 갈근 추출물을 100 mg/kg, 200 mg/kg 용량으로 8주 동안 투여하였을 때 대조군에 비해 유의하게 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 1). 또한 혈중 estradiol의 변화를 측정한 결과, 갈근 추출물 투여군에서 농도 의존적으로 대조군에 유의하게 증가하는 것으로 나타나서 갈근 추출물이 에스트로겐 수용체에 작용하는 기전을 통해 폐경기 비만 개선에 영향을 줄 수 있음을 확인하였다(Fig. 2).

비만의 발생하는 과정에서 에너지 항상성 조절은 대사 호르몬의 종합적인 작용에 의해 결정된다. 소장으로부터 흡수된 에너지원들은 주로 간, 지방 및 근육 조직에서 저장형태로 변환하여 있다가 여러 신호자극에 의해 에너지 동원이 일어나는데, 특히 인슐린, leptin, adiponectin의 상호작용이 매우 중요한 것으로 알려져 있다¹⁴⁾. Leptin은 지방세포에서 분비되는 호르몬으로, 혈액 내 leptin의 농도는 체지방량과 양의 상관관계가 있어 체지방량 표시인자로 활용되고 있다. Leptin의 농도는 음식 섭취에 따라 변하는데, 절식 후 수 시간 내에 leptin 농도는 급격하게 저하되며, 음식섭취 후 다시 올라가게 된다. 즉, leptin 농도가 감소하면 기아 신호로 작용하여 음식 섭취를 증가시키고, 에너지 보호를 시작하게 된다. Leptin은 시상하부의 궁상핵(arcuate nucleus)에 지방 저장 신호(adiposity signal)를 전달하여, 자율신경계과 연락하는 뉴런의 상호작용을 조절하여 음식섭취를 감소시키고, 에너지 소비를 증가시키는 방향으로 작용한다. 또한 지방세포에 작용하여 지방분해속도를 증가시키고, 췌장 베타 세포에 작용하여 인슐린의 합성과 분비를 억제하며, 근육에서 adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)를 활성화함으로써 지방산의 산화와 포도당의 흡수를 증가시킨다¹⁵⁾. 기존 연구에서 에스트로겐 결핍성 비만 흰쥐의 간 조직에서 말초성 조절기전에 의한 leptin 발현 억제와 갈근 추출물이 간 조직에서의 leptin 유전자 발현을 증가시키는 것으로 보고되었다. 한편 고칼로리 식이를 하면 인슐린이 반응해 증가한 인슐린이 leptin 증가를 자극하고, cortisol이 이것을 더욱 촉진함으로써 인슐린 저항증과 유사한 원리로 leptin 저항성을 유발하여 더 이상 제 기능을 하지 못하고 지속적인 비만을 유발하는 것으로 알려져 있다. 따라서 이러한 만성적인 leptin의 증가는 대사증후군, 심혈관계 질환을 유발하는 원인이 된다¹⁶⁾. 시상하부의 leptin 수용체는 에스트로겐의 영향을 받는데, 에스트로겐이 결핍된 경우 leptin 수용체가 감소되며, 이는 leptin의 민감성을 감소시켜서 난소 절제 수술 후에 혈청에서 비록 leptin이 증가하지만 비만이 유발되는 원인이 되는 것으로 알려져 있다^{17,18)}. 본 연구에서, 난소가 적출된 흰쥐는 에스트로겐 감소로 혈청 내 leptin의 농도가 증가하였고, 갈근 추출물을 100 mg/kg, 200 mg/kg 투여하였을 때 leptin의 농도가 감소하였다(Fig. 3). 기존 연구¹⁹⁾에 따르면 본 연구와 동일하게 난소적출로

에스트로겐 결핍이 유도된 흰쥐모델의 혈청 leptin 농도는 정상대조군에 비해 상승하고 에스트로겐 투여에 의해 감소되었다. 난소절제술 후 4주차까지는 혈청 leptin 증가와 상관없이 지방량이 증가하였으며, 7주에서 22주 사이에 기간이 경과할수록 지방 함량과 비례하여 혈청 leptin의 농도가 현저하게 증가하였다¹⁹⁾. 이를 통하여 폐경 유도 흰쥐에서 혈청 leptin 농도의 상승 기전이 에스트로겐 결핍으로 인한 직접적인 결과보다는 체지방량 증가로 인한 이차적인 결과임을 알 수 있었다. 본 실험에서도 난소 절제술 후 8주차에 혈청 leptin 농도를 측정하여 기존 연구¹⁹⁾와 유사한 결과를 얻었다.

Adiponectin은 지방세포에서 가장 많이 분비되는 펩티드 호르몬으로 에너지 대사에서 말초 및 중추신경에 작용하는 효과가 있다. 근육과 간에서 AMPK를 활성화하여, 혈당을 감소시키며, 인슐린 감수성을 증가시켜서 순환하는 인슐린의 농도를 저하시킨다. 중추신경계에서는 leptin과 유사한 방법으로 에너지 소비를 증가시키는 경로를 자극하지만, 음식 섭취에는 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다²⁰⁾. 본 연구의 난소적출을 통한 에스트로겐 결핍 폐경 유도 흰쥐에서 adiponectin이 다소 증가하였으나, 정상군에 비해 유의한 변화는 관찰되지 않았고, 갈근 추출물을 투여한 군에서도 대조군 대비 유의한 변화는 나타나지 않았다(Fig. 4).

한편, 음식 섭취와 식욕 조절은 위벽과 장벽에 내재하는 내분비세포와 뉴런이 장 내용물의 양과 조성을 감지하여 포만 신호 또는 지방저장신호를 뇌로 전달함으로써 이루어진다. Ghrelin은 벽세포(parietal cell) 점막에서 주로 분비되는 호르몬으로, 위산 분비, 위 운동과 위 배출을 증가시킨다. 또한 소장과 대장을 통한 유미즙(chyme)의 이동을 가속화시켜서 식욕을 촉진하는 신호로 알려져 있다. Ghrelin은 음식 섭취 직전에 분비가 증가하며, 십이지장의 포도당과 지방산 분비를 억제하지만 ghrelin 분비를 증가시키는 인자에 대해서는 연구된 것이 거의 없다²¹⁾. 본 연구 결과에서 폐경 유도 흰쥐에서 혈청 ghrelin 농도는 정상대조군에 비하여 증가되었고, 갈근 추출물 투여에 의해 감소하는 것으로 나타났다(유의성은 없었다)(Fig. 5).

CCK는 십이지장과 공장 점막층에 있는 I세포(I cell)에서 생성되는 호르몬으로, 단백질과 지방이 함유된 음식을 섭취하면 즉시 분비가 증가되어 췌장에서의 효소 분비를 촉진하게 된다. 또한 담낭수축을 유도하여 담즙을 배출시킬 수 있

게 하며, 위에서는 위산분비를 억제하는 역할을 하고 위장의 평활근층에 복합적으로 작용함으로써 위 배출을 지연시켜 포만감을 일으키게 한다. CCK의 분비 조절은 지방산과 아미노산에 자극 신호를 주며, 탄수화물은 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다²²⁾. 본 연구에서 폐경 유도 흰쥐의 혈청 내 CCK의 분비가 정상대조군에 비해 유의하게 감소하였고, 갈근 추출물 100 mg/kg 투여에서 대조군에 비해 유의적인 증가가 관찰되었다. 그러나 갈근 추출물 200 mg/kg 투여군에서는 오히려 CCK의 분비가 대조군 보다 감소하는 양상을 보였으며(Fig. 6), 이는 갈근 추출물과 같은 약물이 위장관을 통해 섭취되기 때문에 섭취량이 CCK 분비에 영향을 주는 것으로 생각되며, 이와 관련한 추가 연구가 필요하다.

본 연구에서는 갈근 추출물의 난소 제거로 에스트로겐 결핍성 폐경 유도 흰쥐에서 비만이 유발된 흰쥐에서 비만 조절 호르몬 분비에 대한 효과를 평가한 결과, 갈근 추출물 투여는 혈청 내 estradiol을 증가시키고 leptin 농도를 감소시켰으며 100 mg/kg 용량에서 CCK 농도를 증가시켰다. 본 연구에서 갈근 추출물은 ghrelin 분비를 다소 감소시켰으나 유의성은 없었고, adiponectin 분비에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 따라서 향후 에스트로겐 결핍 시 비만 조절 호르몬의 중추성 또는 말초성 작용기전을 조직 수준에서 검증하는 후속연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결론

이상의 결과를 종합하면, 갈근 추출물은 비만 조절 호르몬인 estradiol, leptin의 분비를 조절함으로써 에스트로겐 결핍으로 인해 발생하는 갱년기 비만과 비만 합병증을 개선시키는 데 효과를 나타낼 수 있을 것으로 판단하였다.

감사의 글

This work was supported by Young Researchers Program through the Ministry of Education of the Republic of Korea and National Research Foundation of Korea (2017R1C1B1011984).

References

1. Yang MS, Shin MS, An HR. A literature review on obesity in postmenopausal women. *J Korean Soc Study Obes.* 2008 ; 8(2) : 1-13.
2. Kim JG. Management of menopausal women. 3rd ed. Seoul : Kunja Publisher. 2009 : 341-7.
3. Korea Centers for Disease Control and Prevention (KCDC). 2015 Health behavior and chronic disease statistics [Internet]. Cheongju: KCDC; 2016. Available from: URL: https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/sub04/sub04_03.do.
4. Hamed S, Mindy S. Estrogen metabolism and breast cancer. *Cancer Lett.* 2015 ; 356(20) : 231-43.
5. Kim JM, Choi SM, Yang DH, An HD. The effect of oral administration at herbal medicines in animal models on obesity: A review of animal study reports published in Korea after 2010. *J Korean Rehab Med.* 2017 ; 27(3) : 13-32.
6. Shin HJ, Yoo JE, Jung EH, Yoo DY. Effects of *Pueraria lobata* on body weight and gene expression in obese rats muscle with estrogen deficiency. *J Korean Obstet Gynecol.* 2012 ; 25(3) : 71-84.
7. Shin YS, Hwang GS. The effects of *Pueraria lobata* extract on gene expression in liver tissue of rat with estrogen-deficient obesity. *J Korean Prevent Med.* 2014 ; 18(3) : 117-28.
8. Koon CM, Ko CH, Sun XX, Hoi SW, Tam JC, Cheung DW, et al. Gene expression profiling on the molecular action of danshen-gegen formula in a randomized placebo-controlled trial of postmenopausal women with hypercholesterolemia. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013 ; 2013 : 703705.
9. College of Korean Medicine Textbook Compilation Committee. Korean medicine pharmacology. Seoul : Shinil-Books. 2010 : 414.
10. Pedersen SB, Kristensen K, Hermann PA, Katzenellenbogen JA, Richelsen B. Estrogen controls lipolysis by up-regulating alpha2A adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor alpha. Implications for the female fat distribution. *J. Clin. Endocrinol Metab.* 2004 ; 89(4) : 1869-78.
11. Samat A, Rahim A, Barnett A. Pharmacotherapy for obesity in menopausal women. *Menopause Int.* 2008 ; 14(2) : 57-62.
12. Franco OH, Chowdhury R, Troup J, Voortman T, Kunutsor S, Kavousi M, et al. Use of plant-based therapies and menopausal symptoms: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2016 ; 315(23) : 2554-63.
13. Yamabe N, Kang KS, Lee W, Kim SN, Zhu BT. Estriol blunts postprandial blood glucose rise in male rats through regulating intestinal glucose transporters. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015 ; 308(5) : 370-9.
14. Choi YJ. Basic medical endocrinology. 2nd ed. Seoul : World Science. 2013 : 151-74.
15. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002 ; 26(11) : 1407-33.
16. Jéquier E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 ; 967(1) : 379-88.
17. Clegg DJ, Brown LM, Woods SC, Benoit SC. Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. *Diabetes.* 2006 ; 55(4) : 978-87.
18. Ainslie DA, Morris MJ, Wittert G, Turnbull H, Proietto J, Thorburn AW. Estrogen deficiency causes central leptin insensitivity and increased hypothalamic neuropeptide Y. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001 ; 25(11) : 1680-88.
19. Meli R, Pacilio M, Raso GM, Esposito E, Coppola A, Nasti A, et al. Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology.* 2004 ; 145(7) : 3115-21.
20. Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzarella G, Costagliola C, et al. New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. *Biomed Res Int.* 2014 ; 2014 : 658913.
21. Sangiao-Alvarellos S, Vázquez MJ, Varela L, Nogueiras R, Saha AK, Cordido F, et al. Central ghrelin regulates peripheral lipid metabolism in a growth hormone-independent fashion. *Endocrinology.* 2009 ; 150(10) : 4562-74.
22. Bowen J, Noakes M, Trenergy C, Clifton PM. Energy intake, ghrelin, and cholecystokinin after different carbohydrate and protein preloads in overweight men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 ; 91(4) : 1477-83.