



## 저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

碩 士 學 位 論 文

산삼복합약침이 비만세포 및  
고지방식으로 비만이 유도된 C57BL/6J  
mice에 미치는 항비만 효과

暎園大學校 大學院

韓醫學科

再活醫學科學 專攻

金 珉 佑

碩 士 學 位 論 文

산삼복합약침이 비만세포 및  
고지방식으로 비만이 유도된 C57BL/6J  
mice에 미치는 항비만 효과

Anti-Obesity Effect of Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture on  
Adipocyte and High Fat Diet-Induced Obese C57BL/6J mice

景園大學校 大學院

韓醫學科

再活醫學科學 專攻

金 珉 佑

碩 士 學 位 論 文

指導教授 宋閏卿

산삼복합약침이 비만세포 및  
고지방식으로 비만이 유도된 C57BL/6J  
mice에 미치는 항비만 효과

Anti-Obesity Effect of Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture on  
Adipocyte and High Fat Diet-Induced Obese C57BL/6J mice

위 論文을 韓醫學 碩士學位 論文으로 提出함

2012年 2月 日

暎園大學校 大學院

韓醫學科

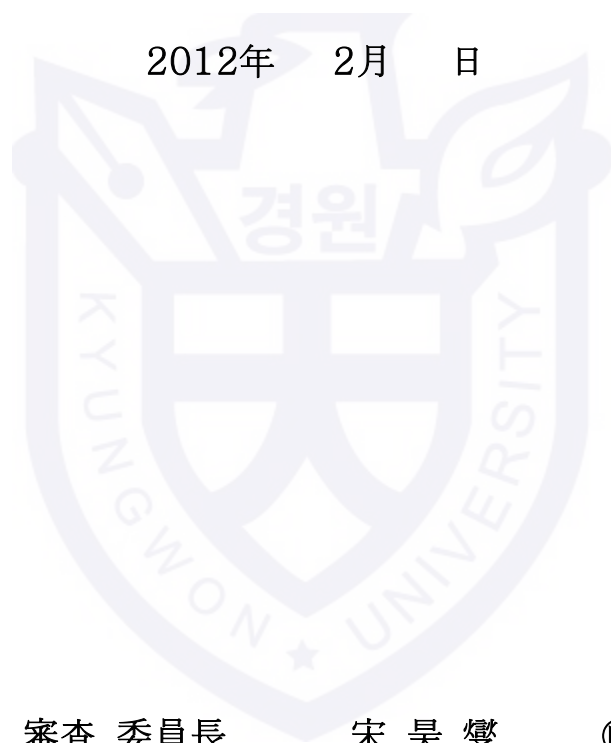
再活醫學科學 專攻

金 珉 佑

이 論文을 金珉佑의

韓醫學碩士 學位論文으로 認准함

2012年 2月 日



審査 委員長      宋 昊 燮      ㉡

審 查 委 員      林 瑩 鎬      ㉡

審 查 委 員      宋 閔 卿      ㉡

# 국문초록

## 연구배경:

비만인구의 증가 속에 비만 치료의 새로운 시도로 약침요법에 대해서도 많은 주목이 가해지고 있다. 현재 비만 치료법으로 약침을 활용한 연구는 다수 있으나 각 약재에 대한 단편적 연구가 많고, 세포실험, 동물실험, 임상연구로 이어지는 체계적 연구가 부족하며, 세포독성에 관한 안정성 및 간, 신장 등의 안전성에 관한 연구도 부족하다. 이에 세포실험 및 동물실험을 통해 산삼복합약침의 항비만 효과와 항염증 효과 및 안전성 등에 관한 연구를 진행하였다.

## 연구방법:

3T3-L1 및 Macrophage cell에 산삼복합약침액을 처리해 세포 단위에서 세포독성과 항비만효과, 항염증효과에 대해 연구하였고, 고지방식이로 비만이 유도된 C57BL/6J mice의 脾俞에 해당하는 부위에 산삼복합약침을 주입하여 간 및 신장 안전성과 항비만효과에 대해 연구하였다.

## 결과 및 고찰:

세포실험에서 MTT assay 결과 세포 독성이 없었고, 3T3-L1의 NO 생성량 증가와 지방 축적을 감소 및 Adiponectin, PPAR- $\gamma$ 의 발현 증가를 보아 항비만효과가 있을 것으로 생각되고, Macrophage cell의 NO 생성량 억제와 iNOS, COX-2의 발현 억제 및 NF- $\kappa$ B의 활성화 억제를 보아 항염증효과가 있을 것으로 생각된다. 동물실험에서 HFD군에 비해

WGC군의 AST, ALT,  $\gamma$ -GTP, BUN 농도가 유의하게 낮아져 안전성을 보여주었고, 체중 증가 억제와 혈장 및 간에서 채취한 혈액의 지질 농도 감소, 혈중 인슐린 농도 및 leptin 농도의 감소가 유의성 있게 나타나 항비만효과가 있는 것으로 사료된다.

## 결론:

이상의 결과를 살펴보면 산삼복합약침은 비만 치료제로써 유의한 효과가 있으며 항염증 효과도 기대해 볼 수 있는 안전한 치료제로 생각된다.



# 목 차

I. 서론 .....	1
II. 재료 및 방법 .....	3
1. 실험재료 .....	3
1) 산삼복합약침액의 조제 .....	3
2) 3T3-L1 및 Macrophage cell .....	4
3) 실험 동물 .....	4
2. 실험방법 .....	5
1) 세포실험 .....	5
(1) 세포독성 측정 .....	5
(2) NO 분비 측정 .....	5
(3) 3T3-L1의 분화 억제 측정 .....	6
(4) Macrophage cell의 항염증 효과 측정 .....	7
2) 동물실험 .....	9
(1) 군 분류 및 비만유도 .....	9
(2) 취혈 및 약침처치 .....	11
(3) 체중 변화 기록 .....	12
(4) 조직 적출 및 채혈 .....	12
(5) 간 및 신장 기능 측정 .....	12
(6) 혈중 지질농도 분석 .....	13
(7) 간조직의 지질함량 측정 .....	13
(8) 혈중 인슐린농도 측정 .....	13
(9) 혈중 Leptin함량 측정 .....	13
3) 통계분석 .....	14
III. 연구결과 .....	15
1. 세포실험 .....	15
1) 세포독성 .....	15



2) NO 분비 .....	18
3) 3T3-L1의 분화 억제 .....	21
4) 3T3-L1에서 Adiponectin, PPAR- $\gamma$ 발현 .....	23
5) Macrophage cell의 항염증 효과 .....	25
(1) iNOS발현과 COX-2 .....	25
(2) NF- $\kappa$ B .....	28
2. 동물실험 .....	30
1) 체중의 변화 .....	30
2) 간, 신장 무게 및 부고환 주위 지방량 .....	32
3) AST, ALT, $\gamma$ -GTP 및 BUN 농도 .....	34
4) 지질농도 .....	36
5) 혈중 인슐린농도 .....	38
6) 혈중 Leptin농도 .....	40
IV. 고찰 .....	42
V. 결론 .....	53
참고문헌 .....	55
Abstract .....	67

## List of Tables

Table 1. Composition of the experimental diet .....	10
Table 2. Classification of laboratory animals .....	11
Table 3. Changes in food intake, body weight gain and food efficiency ratio of the mice fed a high fat diet treated wild ginseng complex pharmacopuncture for 10 weeks. ....	31
Table 4. Changes in liver, kidney and epididymal adipose tissue weights of mice fed a high fat diet treated wild ginseng complex pharmacopuncture for 6 weeks. ....	33
Table 5. Activities of AST, ALT, BUN and glucose contents in body of mice fed a high fat diet containing injection wild ginseng complex pharmacopuncture for 10 weeks. ....	35
Table 6. Effects of Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture in the body lipid and glucose levels in high fat diet-induced obese mice. ....	37

## List of Figures

Fig. 1. Experimental design .....	11
Fig. 2. Effect of wild ginseng complex pharmacopuncture on cell viability in NIH/3T3 mouse fibroblast. ....	16
Fig. 3. Effect of wild ginseng complex pharmacopuncture on cell viability in Raw264.7 mouse macrophage. ....	17
Fig. 4. Effect of wild ginseng complex pharmacopuncture on NO production and inflammatory mediator production in LPS stimulated NIH/3T3 mouse fibroblast cells. ....	19
Fig. 5. Effect of Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture on NO production and inflammatory mediator production in LPS stimulated Raw264.7 mouse macrophage cells. ....	20
Fig. 6. On Post-MDI 8 days, cultures were fixed and stained for triacylglycerol with Oil Red O. ....	22
Fig. 7. Wild ginseng complex pharmacopuncture's anti-obesity gene expression analysis in 3T3-L1. ....	24
Fig. 8. Effects of sample on iNOS expression in LPS-treated Raw 264.7 cells. ....	26
Fig. 9. Effects of sample on COX-2 expression in LPS-treated Raw 264.7 cells. ....	27

Fig. 10. Effects of sample on NF- $\kappa$ B expression in LPS-treated Raw 264.7 cells. ....	29
Fig 11. Insulin levels in plasma. ....	39
Fig. 12. Leptin levels in serum. ....	41



# I. 서론

식생활의 서구화와 함께 사회적·경제적 여건 향상과 더불어 동물성 지방 섭취 및 신체활동량의 전반적인 감소 등이 원인이 되어 비만의 발생률이 점차 증가하고 있다. 체내에 과잉으로 축적된 지방은 생체 내의 에너지 대사에 직접적으로 영향을 주어 열량소비저하, 지방산화의 억제 및 혈액 내 유리지방산의 과잉<sup>1)</sup>, 혈중 지질과산화의 촉진, 중성지방의 증가, 당대사의 이상, 인슐린의 분비와 감수성의 약화 등<sup>2,3)</sup> 생체 내 대사산물의 생성과 기능에 이상을 초래하고, 이로 인해 고혈압<sup>4)</sup>, 당뇨<sup>5)</sup> 뿐 아니라 고지혈증, 심장질환, 관절염, 호흡기 질환, 암, 성기능 장애 등의 각종 성인병 및 만성 질환을 유발한다<sup>6-8)</sup>.

우리나라 비만인구도 점차 증가하고 있어 1997년 이후 10년간 비만율이 5.7% 증가되었고, 2007년 인구를 추정할 때 복부비만 인구는 무려 858만여 명에 달한다<sup>9)</sup>. 이렇듯 비만 치료 시장이 점차 거대화 되고 있는 가운데 치료방법으로써 약물요법, 식이 및 운동요법, 행동수정요법 등 뿐만 아니라<sup>10)</sup>, 저주파 전침자극<sup>11)</sup>, 초음파<sup>12)</sup>, 고주파<sup>13)</sup> 등의 국소 부위 지방 침착에 대한 치료가 이루어지고 있으며, 최근 새로운 시도으로써 약침요법에 대한 관심이 증가하고 있다.

비만에 대한 약침 연구는 세포실험, 동물실험 뿐 아니라 임상연구도 다수 보고되고 있으나, 각 약재에 대한 단편적인 연구가 많고 세포실험, 동물실험, 임상연구로 이어지는 체계적 연구가 부족한 것이 아쉬우며, 세포독성에 관한 안정성 및 간, 신장 등의 안전성에 관한 연구도 부족하다<sup>14)</sup>.

이에 저자는 이미 약침 액으로써 비만 치료에 활용된 연구가 다수 있는 산삼과 약침 제제로써 연구는 활발하였으나 비만치료제로써는 단편적

인 연구밖에 없는 우황, 웅담, 사향을 배합하여 만든 산삼복합약침을 이용하여 세포실험 및 동물실험을 시행하였고 산삼복합약침의 항비만 효과 및 항염증 효과와 안전성 등에 관한 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 산삼복합약침액의 조제

약재는 사향(우리생약), 우황(우리생약), 웅담(우리생약), 산삼(우민농산, Ontario Canada)으로 구성되어 있다.

50% 주정 알코올에 웅담, 우황, 사향 일정량을 넣고, 완전 밀봉한 후 20℃이하에서 3개월간 침지한다. 침지시킨 액은 종이필터(Watman No.2)로 여과하고, 증탕과정을 거쳐 주정 알코올을 증발시킨 후, 0.45 um Nitrocellulose 필터로 여과하고, 증탕을 통하여 주정 알코올을 제거한 후 0.20 um Nitrocellulose 필터로 여과하여 건조하여 분말을 만든다.

깨끗이 세척한 산삼을 그늘에서 말려 물기를 제거한 후 주사액 1 L에 100 g의 산삼을 정량하여 100℃에서 3시간 동안 추출한다. 추출한 산삼액은 농축 후 동일한 부피의 95%(v/v) 주정 알코올을 처리하여 원심분리(8,000rpm×20min)하여 상등액을 회수하고, 회전진공증발기로 알코올을 완전히 제거한다. 주사용 증류수로 부피를 1 L로 재조정 후 0.85% NaCl을 넣고 pH를 7.2로 조정하고 0.45 um Nitrocellulose 필터와 0.2 um Nitrocellulose 필터로 여과한 후 살균된 앰플병에 주입한다.

산삼복합약침의 조제는 10%(w/v) 산삼 증류 추출 약침액 20 ml에 사향, 웅담, 우황으로 구성된 V약침을 녹여 Clean room(Class 100)에서, 살균된 약침병과 살균된 0.20  $\mu$ m 필터로 여과하여 충전 밀봉된 것을 실험에 사용하였다.

## 2) 3T3-L1 및 Macrophage cell

실험에 사용된 NIH/3T3 mouse fibroblast( $1 \times 10^4$ ) (ATCC, USA) (이하 3T3-L1이라 지칭함)와 Raw264.7 mouse macrophage( $5 \times 10^4$ ) (ATCC, USA) (이하 Macrophage cell이라 지칭함)을 구입하여 사용하였다.

## 3) 실험 동물

체중 15g 내외의 C57BL/6J 백서(4주령, male)를 중앙실험동물(Korea)에서 공급받아 온도  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도  $50 \pm 5\%$ 에서 밤낮을 12시간씩 조절하고 물과 식이를 공급하였다. 물은 자율 섭취로 일주일에 3회 새로운 물을 공급하였다. 4주령의 쥐를 1주간 적응 시킨 후 실험을 진행하였다.



## 2. 실험방법

### 1) 세포실험

#### (1) 세포독성 측정

세포독성의 지표가 되는 세포생존율은 MTT assay로 측정하였다<sup>15)</sup>. 3T3-L1, Macrophage cell을 96 well plate에서 24시간 배양하였으며, 약침액은 농도별(1, 5, 10, 25, 50%)로 희석하여 세포주에 처리하였고, 2시간 후 LPS(Lipopolysaccharide)를 처리한 후 0.5 mg/ml 의 MTT[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]시약(Sigma-Aldrich, USA)을 이용하여 0.1 mg MTT/(200  $\mu$ l) well 에 넣고 2시간 동안 배양하였다. 각 실험군당 시료는 3개씩 처리하였고, 배양 후 상등액을 제거하고, 200  $\mu$ l 의 PBS 로 세척한 후, 100  $\mu$ l의 DMSO를 가하여 MTT의 환원에 의해 생성된 formazan을 용해시킨 후, ELISA microplate reader(Model: MQX200R, BioTek, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존률은 control cell 에 대한 백분율로 표시하였다.

$$viability(\% \text{ of control}) = \frac{\text{absorbance of treated sample}}{\text{absorbance of control}} \times 100$$

#### (2) NO 분비 측정

3T3-L1과 Macrophage cell로부터 생성된 NO의 생성량을 측정하였다. 각 실험군당 샘플수는 3개씩 처리하였다. 약침액을 농도별(1, 5, 10, 25, 50%)로 cell에 처리하고, 2시간 후에 LPS를 처리하였으며, 24시간 동안 96 well plate에서 배양한 후 세포 배양 상등액 100  $\mu$ l 와 Griess 시약(1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid + 1%  $\alpha$

-naphthylamide in H<sub>2</sub>O) 150  $\mu$ l 를 혼합한 후, 5분 동안 반응시켜 ELISA microplate reader(Model: MQX200R, BioTek, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선 작성을 위해 sodium nitrite(NaNO<sub>2</sub>)를 standard로 사용하여 비교하였다<sup>15)</sup>.

### (3) 3T3-L1의 분화 억제 측정

#### ① 지방세포분화 측정

3T3-L1을 10~15일간 배양해 50~70% 이상의 세포가 분화된 성숙된 지방세포로 변하게 되면 세포의 형태를 관찰하여 세포 모양이 둥글어지고 세포질이 지방으로 꽉 찬 정도를 광학현미경으로 육안 관찰하였다.

#### ② Oil-Red-O 염색

생체 외 실험으로 전지방세포(preadipocyte)인 3T3-L1이 지방세포의 대사과정을 연구하는데 널리 이용되고 있다. 3T3-L1을 배양액을 이용하여 5%로 이산화탄소가 공급되는 배양기에서 온도는 37℃로 배양하였다. 배양액은 10% fetal bovine serum(FBS)과 항생제(antibiotics)가 포함된 Dulbecco's modified Eagle's media (DMEM)을 사용하며, 2-3일 간격으로 배양세포 포면을 인산완충염용액 (phosphate buffered saline,PBS)으로 세척한 후 0.5% 트립신(trypsin)을 넣고 처리하여 세포를 탈착시켜 계대 배양하였다. 세포를 개별 실험에 사용할 때는 분화유도물질인 인슐린 (5  $\mu$ g/ml), dexamethasone (DEX, 0.25  $\mu$ M), 1-methyl-3-methylxanthine (MIX, 0.5 mM) 이 함유된 분화유도 배양액으로 교환하여 1-3일간 배양하여 지방세포로 분화를 유도한다. 배양 3일 후 인슐린만 함유하는 배지로 2-3일간 배양한 후 인슐린을 제거한 배양액으로 바꾸고, 중성지방으로 유입되는 포도당 측정 실험이나 포도당

산화 실험시에는 8일째에 저농도 (5 mM) 포도당을 함유한 배양액으로 배양한다. 산삼복합약침액 처리는 분화유도 전 혹은 분화유도 후에 처리하였다<sup>16)</sup>.

#### (4) Macrophage cell의 항염증 효과 측정

##### ① 세포 배양과 처리

Macrophage cell의 성장을 위한 기본 배지로는 10% FBS, penicillin 100 U/ml, streptomycin 100  $\mu$ g/ml를 포함하는 DMEM 배지를 사용하였으며, T-flask에 접종하여 CO<sub>2</sub> incubator(5% CO<sub>2</sub>, 95% air)에서 37°C 조건으로 배양한다. 배양된 세포는 일주일에 2~3회 refeeding하고 6~7일 마다 cell scraper를 이용해 계대배양하면서 실험에 사용한다. 각 실험에서 배양된 세포에 시료를 농도별(0.1, 0.2mg/ml)로 첨가하고 2시간 배양한 후 스트레스를 유발하기 위해 Lipopolysaccharide(LPS) 1  $\mu$ g/ml를 첨가하고 20시간 배양한다.

##### ② Western blot

NF- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B), iNOS(inducible nitric oxide synthase), COX-2(cyclooxygenase-2) protein expression은 western blot을 이용하여 측정하였다. 처리된 세포를 PBS로 씻어내고 cell scraper를 사용하여 부유시킨 다음 원심 분리하여 세포를 수집하였다. 회수한 세포에 적당량의 lysis buffer [250 mM NaCl, 25 mM Tris-HCl (pH 7.5), 1% v/v NP-40, 1 mM DTT, 1 mM PMSF, protease inhibitor cocktail (10  $\mu$ g/ml aprotinin, 1  $\mu$ g/ml leupeptin)]를 첨가하여 ice에 보관하면서 10분마다 1시간동안 vortex한 후, 4°C에서 13,500 rpm으로 15분간 원심 분리하여 그 상층액을 회수하

였다. 상층액의 단백질 농도는 Bio-Rad 단백질 정량 시약 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하여 정량하고 Laemmli sample buffer (Bio-Rad)와 mercaptomethanol을 섞어 sample을 만들었다.

이렇게 만든 동량의 단백질을 sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동으로 분리한 후, acrylamide gel을 nitrocellulose membrane으로 transfer시켰다. 5% skim milk를 함유한 TBS-T (1% Tween 20 in PBS)에 넣고 상온에서 1시간동안 blocking하고 TBS-T로 5분마다 3번 세척하였다. 준비된 membrane에 1차 antibody를 처리하여 상온에서 2시간 또는 4℃에서 overnight 시킨 다음 TBS-T로 5분마다 3번 세척하였다.

처리된 1차 antibody에 맞는 2차 antibody (TBS-T로 1:1000으로 희석해서 사용)를 사용하여 상온에서 40분에서 1시간 정도 반응시킨 후, TBS-T로 5분마다 3번 세척하고, ECL 용액을 적용시킨 다음 암실에서 BioMax MR film (Kodak, USA)에 감광시켜 단백질의 발현을 분석한다 (17-20).

## 2) 동물실험

### (1) 군 분류 및 비만유도

정상군에 공급된 식이는 pellet type의 Rodent Diet with 10%Kcal Fat사료(D12450B)(Research Diets, USA)를 공급하였으며, 고지방사료의 경우 Rodent Diet with 45%Kcal Fat 사료(D12451)(Research Diets, USA)를 사용하였다(Table 1). 4주령의 생쥐를 1주간 적응 시킨 후 정상군의 경우 10%Kcal Fat사료를 공급하였고, 비만 유도를 위해 45%Kcal Fat 사료를 공급하여 4주간 비만을 유도하였으며, 비만 유도 후 6주간 실험하였다. 실험군은 정상군(이하 ND군이라 지칭함), High Fat Diet군(이하 HFD군이라 지칭함), High Fat Diet군에 산삼복합약침을 시술한군(이하 WGC군이라 지칭함)으로 나누어 실험을 진행하였으며, 실험동물은 부산대학교 Institutional Animal Ethics Committee의 규정(승인번호 : PNU-2011-000384)에 따랐고, 각 군의 분류는 난괴법에 따라 다음과 같이 분류하였다(Table 2)(Fig. 1).

Table 1. Composition of the experimental diet

	RD 10%kcal		HFD 45%kcal	
	gm%	kcal%	gm%	kcal%
Protein	19.2	20.0	24	20
Carbohydrate	67.3	70	41	35
Fat	4.3	10	24	45
Total		100		100
kcal/gm	3.85		4.73	
Ingredient	gm	kcal	gm	kcal
Casein 80mesh	200	800	200	800
L-Cysteine	3	123	3	12
Corn starch	315	1,200	72.8	291
Maltodextrin10	35	140	100	400
Sucrose	350	1,400	172.8	691
Cellulose,BW200	50	0	50	0
Soybean oil	25	225	25	225
Lard	20	180	177.5	1,598
Mineral Mix S10026	10	0	10	0
Dicalcium phosphate	13	0	13	0
Dicalcium carbonate	5.5	0	5.5	0
potassium citrate 1H2O	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40	10	40
Choline bitartrate	2	0	2	0
FD&C Yellow Dye#40	0.05	0	0	0
FD&C Red Dye#40	0	0	0.05	0
FD&C Blue Dye#1	0	0	0	0
Total	1,055.05	4,057	858.15	4,057

Table 2. Classification of laboratory animals

ND (Normal diet)	10kcal% fat diet 사료	
HFD (High fat diet)	45%kcal fat 사료	생리 식염수 주사군, n=7
WGC (High fat diet +Wild ginseng complex pharmacopuncture )		산삼복합약침 주사군, n=7

		4 weeks	6weeks
4weeks mice		normal diet group, n=7	normal diet group, n=7
			HFD, n=7
	High fat diet group (45%kcal fat), n=14		WGC, n=7

Fig. 1. Experimental design

## (2) 취혈 및 약침처치

WGC군에는 제조된 산삼복합약침을 26G 1ml 주사기를 이용해서 강 등<sup>21)</sup>의 논문에서 근거하여 인체의 脾俞(BL20)와 상응하는 부위에 취하였는데, 즉 11th thoracic vertebrae와 12th thoracic vertebrae의 중점에서 수평으로 肩胛骨(scapula) 내측연의 수직연장선과 만나는 선상의 중점이 되는 부위로 latissimus dorsi muscle 위에 취하였다. 각 혈위에

0.2ml 씩 1일 1회 좌우 번갈아 가며 시술하였고, HFD군은 생리식염수를 동일한 방법으로 시술하였다.

### (3) 체중 변화 기록

생쥐의 체중을 매일 일정한 시간에 측정하여 체중의 변화를 기록하였으며, 섭취량은 매일 오후 4시에 공급하는 식이량과 남아있는 식이량을 조사하여 1일 섭취량을 확인하였다.

### (4) 조직 적출 및 채혈

10주간의 실험이 종료된 후 백서의 조직 적출 및 채혈을 하기 위하여, 조레틸2.0과 에탄올을 3:1의 비율로 섞어서 1마리당 0.3ml 복강 주사하여 마취상태에서 개복하였다. 개복 후에 심장이 멎기 전에 심장에서 채혈을 하였으며, 간과 신장, 고환지방조직을 적출하여, 조직의 무게를 측정하였다. 해부 직후에 심장에서 채혈하여 얻은 혈액으로 serum과 plasma 샘플을 만들었다. 혈액을 반씩 나누어서 받은 헤파린 튜브에 넣고 10000rpm에서 15분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 plasma 샘플로 사용하였고, 나머지 반은 일반 진공 튜브에 넣어 혈액을 응고시켜 응고된 덩어리를 건져내고 남은 액을 분리하여 serum 샘플로 사용하였다.

### (5) 간 및 신장 기능 측정

간독성을 확인하기 위하여 AST, ALT,  $\gamma$ -GTP 농도를 Reitman-Frankel의 효소법을 응용한 GOT, GTP 측정용 시액(아산제약 kit)을 사용 분석하였으며, 신장독성은 BUN농도를 Urease-Indophenol 법을 사용하여 분석하였다.



## (6) 혈중 지질농도 분석

혈중 총 콜레스테롤 농도 측정은 Allain의 효소법<sup>22)</sup>을 응용한 총 콜레스테롤 측정용 시액(아산제약 kit)으로 정량하였으며, 혈중 중성지질 농도 측정은 McGowan 등의 효소법<sup>23)</sup>을 이용하여 발색법 원리에 따라 중성지질 측정용 시액(아산제약 kit)으로 측정하였다. 혈중 HDL-콜레스테롤 농도 측정은 측정용 시액으로 측정하였으며, 혈중 LDL-콜레스테롤 농도는 Friedewald의 계산식으로 구하였다<sup>24)</sup>.

## (7) 간조직의 지질함량 측정

적출한 간을 0.25M의 sucrose용액에 넣어 보관하였고, 0.005~0.007 inch, 400rpm으로 Homogenizer로 분쇄한 후에 2,500rpm, 4℃에서 10분간 원심분리 후 상층액을 사용하여, 혈중 지질 농도를 분석한 방법으로 측정하였다.

## (8) 혈중 인슐린농도 측정

혈장의 인슐린 농도 측정은 헤파린이 처리된 tube에 혈액 수집 후 원심분리하여 혈장을 분리하였으며, 인슐린 농도는 ELISA법을 따라 Rat/Mouse Insulin ELISA kit를 사용하여 인슐린 농도를 측정하였다.

## (9) 혈중 Leptin함량 측정

혈액에서 원심분리기로 분리하여 -76℃에 보관되어 있던 혈청을 이용하여 렙틴 농도를 측정하였다. 상품화된 키트(Mediagnost, Aspenhastrasse, Reutlingen, Germany)를 사용하여 방사면역 측정법(Radioimmuno assay, RIA)으로 측정하였으며, 이 측정법의 민감도는 0.1 ng/ml로 하였다.

### 3) 통계분석

실험에 사용된 통계분석시스템은 SAS Clinical Data Integration solution(ver. 9.1)(SAS, USA)을 사용하여 분석하였으며, 분석결과는  $\text{mean} \pm \text{SD}$ 로 나타내었다. 각 군간 평균차이에 대한 유의성 검증을 위하여 one-way ANOVA를 사용하였으며, 다군간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 사후 검정하였다.  $p < 0.05$  인 경우 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

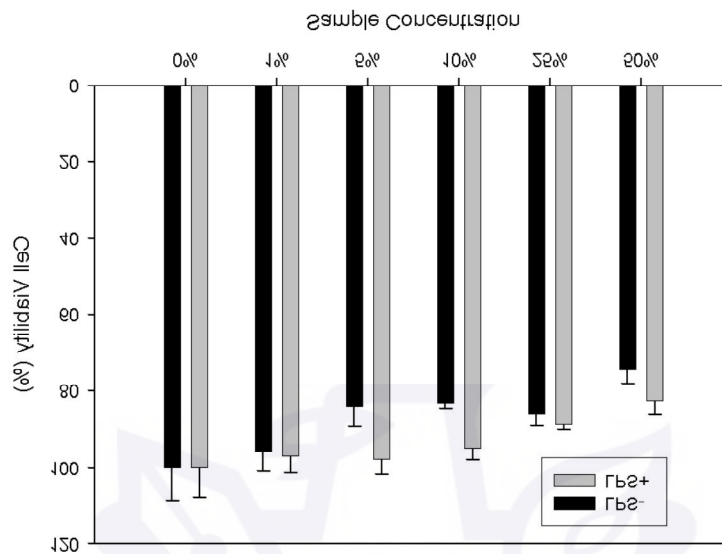


### Ⅲ. 연구결과

#### 1. 세포실험

##### 1) 세포독성

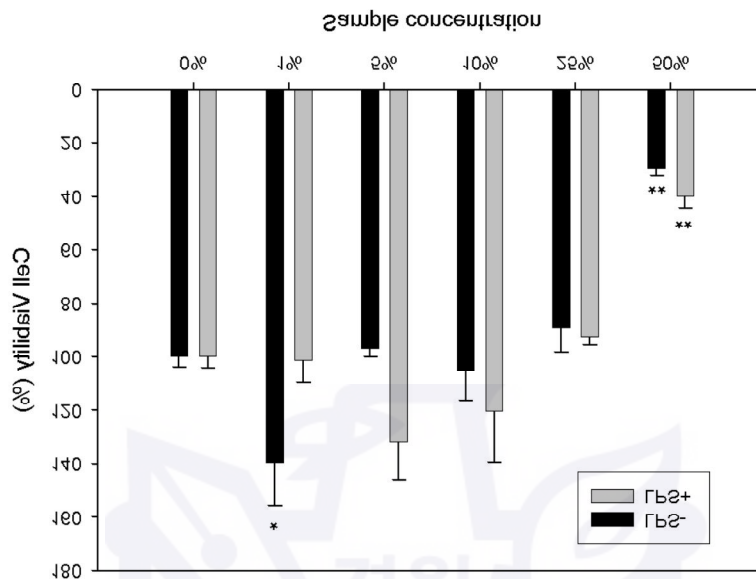
약침원액을 0, 1, 5, 10, 25, 50% (v/v) 농도별로 세포 독성을 확인한 결과 50%의 농도를 제외하고 3T3-L1과 Macrophage cell 모두에서 세포독성이 없는 것으로 확인 되었다(Fig. 2, 3).



**Fig. 2.** Effect of wild ginseng complex pharmacopuncture on cell viability in NIH/3T3 mouse fibroblast.

Cell viability was measured by MTT assay.

Statistical analysis with one-way ANOVA and LSD test were performed.



**Fig. 3. Effect of wild ginseng complex pharmacopuncture on cell viability in Raw264.7 mouse macrophage.**

Statistical analysis with one-way ANOVA and LSD test were performed.

\* represent statistically significant as  $p < 0.05$  compared with control group

\*\* represent statistically significant as  $p < 0.01$  compared with control group

## 2) NO 분비

3T3-L1과 Macrophage cell에 대해 LPS를 처리하여 자극을 준 후 세포에서 방출되는 일산화질소(NO)의 생성을 얼마나 억제하는지에 대한 실험을 실시하였다. 실험에 사용된 산삼복합약침액의 농도는 0, 1, 5, 10, 25, 50% (v/v)을 사용하였다. 전지방 세포인 3T3-L1의 경우 농도 의존적으로 NO 생성량이 증가하는 현상이 확인 되었으며, 이것은 전 지방세포인 3T3-L1의 apoptosis를 유발시켜 지방세포로의 분화를 억제시키는 것으로 보여진다(Fig. 4).

그러나 대식 세포인 Macrophage cell의 경우, 농도 의존적으로 NO 생성을 억제하는 것으로 나타나, 염증을 억제 시키는 것으로 확인되었다(Fig. 5).

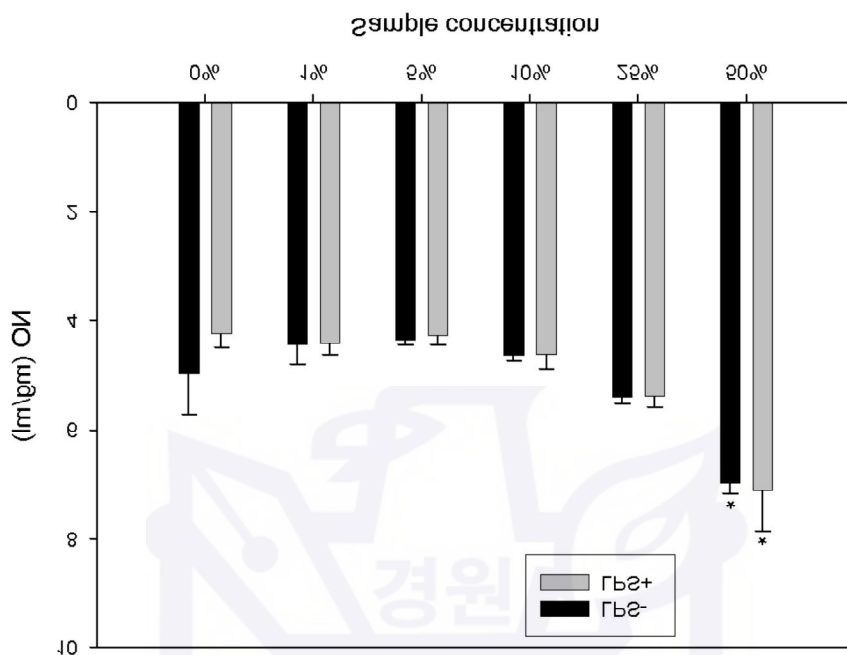


Fig. 4. Effect of wild ginseng complex pharmacopuncture on NO production and inflammatory mediator production in LPS stimulated NIH/3T3 mouse fibroblast cells.

NO formation was measured by the Griess reaction.

Data represent the mean  $\pm$  SD with four separate experiments.

Statistical analysis with one-way ANOVA and LSD test were performed.

\* represent statistically significant as  $p < 0.05$  compared with control group

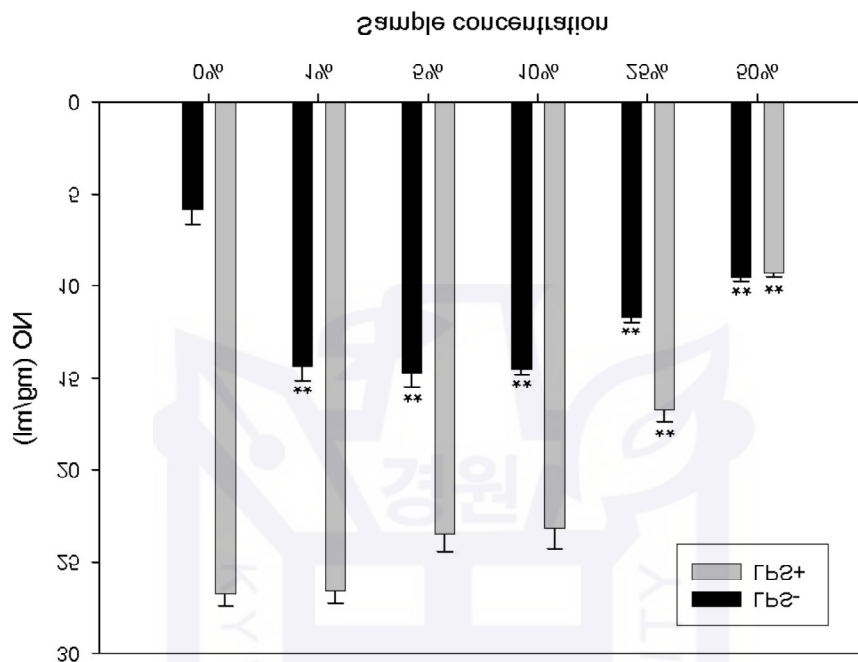


Fig. 5. Effect of Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture on NO production and inflammatory mediator production in LPS stimulated Raw264.7 mouse macrophage cells.

NO formation was measured by the Griess reaction.

Data represent the mean $\pm$ SD with four separate experiments.

Statistical analysis with one-way ANOVA and LSD test were performed.

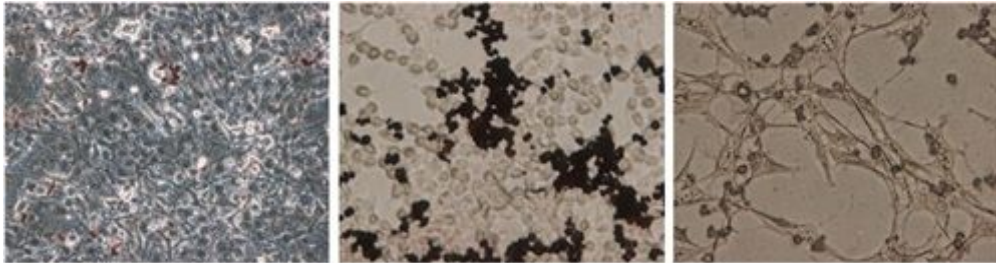
\*\* represent statistically significant as  $p < 0.01$  compared with control group



### 3) 3T3-L1의 분화 억제

산삼복합약침에 대한 지방세포 분화 억제효과를 확인하기 위하여 Oil Red O반응 실험을 통하여 지방의 축적율을 확인하였다. 샘플 농도는 일반적인 cell실험에서 세포에 damage를 주지 않는 농도인 100  $\mu$ g/ml로 하였으며, 본 실험에서는 20% 산삼복합약침액을 3T3-L1에 처리하였다. 그 결과 지방 축적율이 현저히 감소함을 확인 할 수 있었다(Fig. 6)





Pre-adipocyte

Adipocyte

Treated 20% WGC

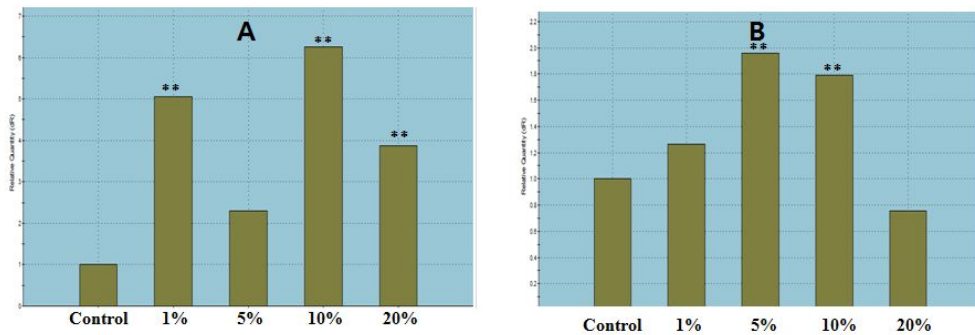
Fig. 6. On Post-MDI 8 days, cultures were fixed and stained for triacylglycerol with Oil Red O (Original magnification  $\times 20$ ).



#### 4) 3T3-L1에서 Adiponectin, PPAR- $\gamma$ 발현

항비만 유전자인 Adiponectin과 PPAR- $\gamma$  유전자 발현에 대하여 산삼 복합약침 1, 5, 10, 20%의 농도를 사용하여 실험하였다. Adiponectin의 발현 경우 농도 의존적이지는 않지만 10% 약침을 사용할 경우 발현량이 증가되는 것으로 확인하였다(Fig. 7-A). 그리고 PPAR- $\gamma$  발현의 경우 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보이다가 20%에서 급격히 효과가 감소되는 것으로 확인하였다(Fig. 7-B).





**Fig. 7. Wild ginseng complex pharmacopuncture's anti-obesity gene expression analysis in 3T3-L1.**

A : Adiponectin. B : PPAR- $\gamma$

Statistical analysis with one-way ANOVA and LSD test were performed.

\*\* represent statistically significant as  $p < 0.01$  compared with control group

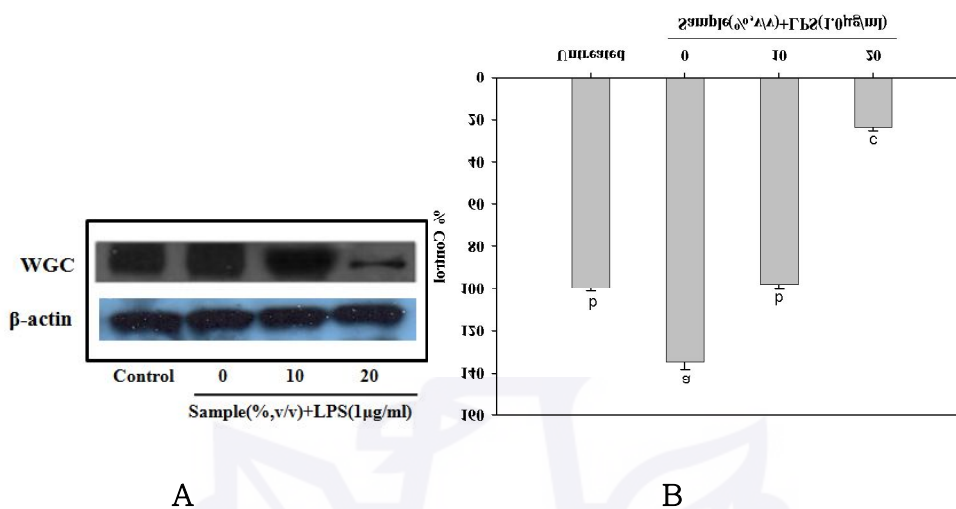
## 5) Macrophage cell의 항염증 효과

### (1) iNOS발현과 COX-2

산삼 추출물이 LPS로 유도된 iNOS와 COX-2 발현을 억제시키는지 측정하기 위해 western blot 분석을 실시하였고 결과는 다음과 같다.

iNOS와 COX-2 발현 수준은 untreated 세포보다 LPS를 처리한 세포에서 높게 나타났으며, 상승된 iNOS와 COX-2 발현이 10%, 20% 약침 처리 후 감소하였다(Fig. 8, 9).





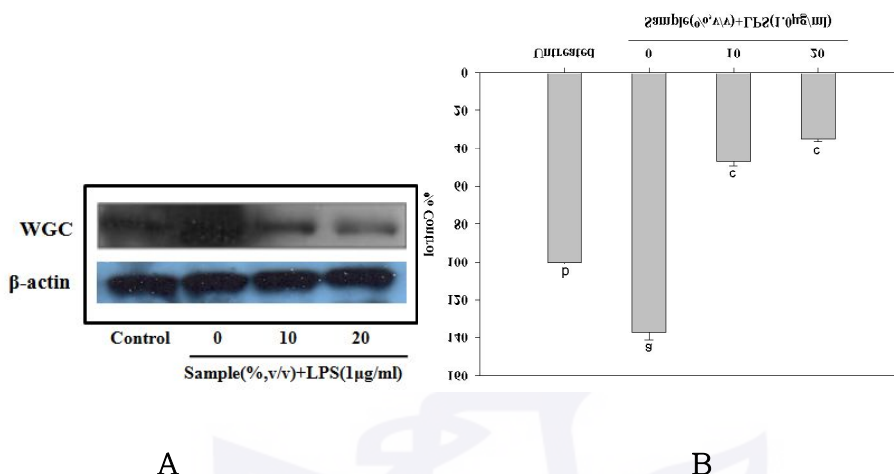
**Fig. 8.** Effects of sample on iNOS expression in LPS-treated Raw 264.7 cells.

Equal amounts of cell lysates (30 μg) were subjected to electrophoresis and analyzed for iNOS expressions by Western blotting.

A : The relative levels of protein bands were measured by scanning densitometry. B : Actin was used as a loading control.

Each value is expressed as mean ± SD of triple determinations.

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$ .



**Fig. 9. Effects of sample on COX-2 expression in LPS-treated Raw 264.7 cells.**

Equal amounts of cell lysates (30  $\mu$ g) were subjected to electrophoresis and analyzed for COX-2 expressions by Western blotting.

A : The relative levels of protein bands were measured by scanning densitometry. B : Actin was used as a loading control.

Each value is expressed as mean $\pm$ SD of triple determinations.

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$ .

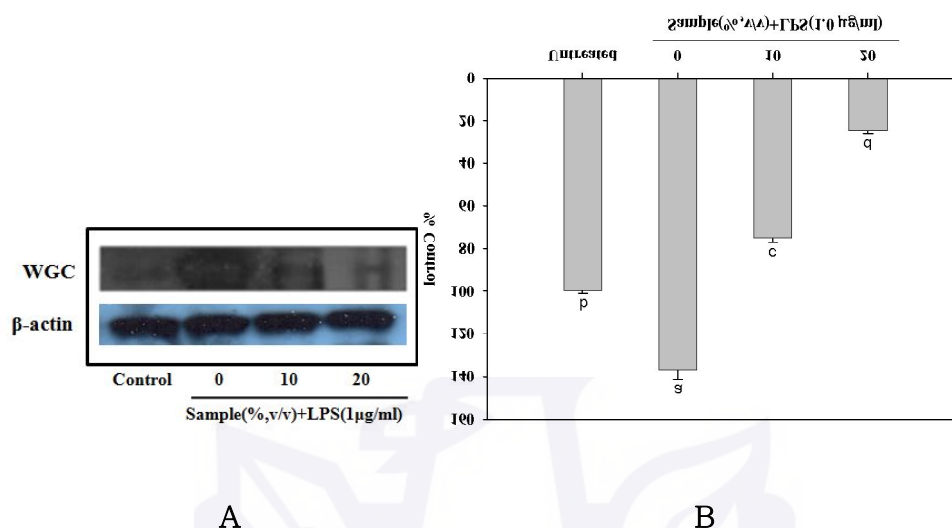
## (2) NF- $\kappa$ B

LPS로 인해 활성화된 NF- $\kappa$ B 발현의 저해효과를 측정하기 위해 western blot 분석을 실시하였고 결과는 다음과 같다.

NF- $\kappa$ B 발현 수준은 untreated 세포보다 LPS로 처리된 세포에서 높게 나타났으며, 상승된 NF- $\kappa$ B 발현이 10%, 20% 약침 처리 후 감소하였다(Fig. 10).







**Fig. 10. Effects of sample on NF- $\kappa$ B expression in LPS-treated Raw 264.7 cells.**

Equal amounts of cell lysates (30  $\mu$ g) were subjected to electrophoresis and analyzed for NF- $\kappa$ B expressions by Western blotting.

A : The relative levels of protein bands were measured by scanning densitometry. B : Actin was used as a loading control. Each value is expressed as mean  $\pm$  SD of triple determinations. Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$ .

## 2. 동물 실험

### 1) 체중의 변화

ND군은  $6.28 \pm 1.38$  g/week, HFD군은  $18.00 \pm 1.73$  g/week, WGC군은  $9.59 \pm 1.17$  g/week의 체중증가가 나타났다. 산삼복합약침 시술군에서 HFD군에 비해 통계적으로 유의한 체중 증가 억제가 확인되었다 (Table 3).

식이 섭취량은 각 군 간에 유의한 차이가 없었다.



Table 3. Changes in food intake, body weight gain and food efficiency ratio of the mice fed a high fat diet treated wild ginseng complex pharmacopuncture for 10 weeks.

Groups	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Gained body weight (g/week)	Food intake (g/day)
ND	17.56±1.68	23.84±1.08	6.28±1.38 <sup>c</sup>	2.51±0.26 <sup>a</sup>
HFD	15.74±1.32	33.74±2.13	18.00±1.73 <sup>a</sup>	2.64±0.77 <sup>a</sup>
WGC	17.67±0.65	27.26±1.69	9.59±1.17 <sup>b</sup>	2.47±0.49 <sup>a</sup>

ND ; normal diet, HFD ; high fat diet, WGC ; HFD+Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture.

Values are mean±SD (n=7)

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at p<0.05.

## 2) 간, 신장 무게 및 부고환 주위 지방량

간의 무게는 ND군에서  $1.06 \pm 0.12$  g, HFD군에서  $1.36 \pm 0.12$  g, WGC군에서  $1.25 \pm 0.09$  g으로 나타나, 산삼복합약침 시술군에서 HFD군에 비해 유의한 장기 무게 증가 억제 효과가 나타난 것으로 확인되었다.

신장의 무게는 ND군에서  $0.20 \pm 0.02$  g, HFD군에서  $0.23 \pm 0.01$  g, WGC군에서  $0.20 \pm 0.02$  g으로 나타나, 산삼복합약침 시술군에서 HFD군에 비해 유의한 장기 무게 증가 억제 효과가 나타난 것으로 확인되었다.

부고환 주위 지방량 측정 결과는 ND군에서  $0.58 \pm 0.09$  g, HFD군에서  $2.14 \pm 0.95$  g, WGC군에서  $0.87 \pm 0.15$  g으로 나타나, 산삼복합약침 시술군에서 HFD군에 비해 유의한 지방 축적 억제 효과가 나타난 것으로 확인되었다(Table 4).

Table 4. Changes in liver, kidney and epididymal adipose tissue weights of mice fed a high fat diet treated wild ginseng complex pharmacopuncture for 6 weeks(g/100g body weight)

Groups	Liver	Kidney	Epididymal AT
ND	1.06±0.12 <sup>b</sup>	0.20±0.02 <sup>a</sup>	0.58±0.09 <sup>b</sup>
HFD	1.36±0.12 <sup>a</sup>	0.23±0.01 <sup>a</sup>	2.14±0.95 <sup>a</sup>
WGC	1.25±0.09 <sup>ab</sup>	0.20±0.02 <sup>a</sup>	0.87±0.15 <sup>b</sup>

AT : adipose tissue

ND ; normal diet, HFD ; high fat diet, WGC ; HFD+Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture.

Values are mean±SD (n=7)

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at p<0.05.

### 3) AST, ALT, $\gamma$ -GTP 및 BUN 농도

혈청 분석결과 ALT 농도는 ND군에서  $4.10 \pm 0.96$  unit, HFD군에서  $6.99 \pm 0.95$  unit, WGC군에서  $5.83 \pm 0.69$  unit으로 나타났고, AST는 ND군에서  $3.24 \pm 0.53$  unit, HFD군에서  $3.49 \pm 0.35$  unit, WGC군에서  $1.68 \pm 0.90$  unit으로 나타났고,  $\gamma$ -GTP는 ND군에서  $38.10 \pm 11.45$  mU/mL, HFD군에서  $66.82 \pm 8.75$  mU/mL, WGC군에서  $38.41 \pm 10.26$  mU/mL으로 나타나, ALT, AST,  $\gamma$ -GTP 농도 모두 HFD군에서 증가되었던 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 감소된 것으로 확인되었다.

간에서 채취한 혈액을 분석한 결과 ALT는 ND군에서  $7.60 \pm 0.63$  unit, HFD군에서  $8.11 \pm 0.52$  unit, WGC군에서  $7.37 \pm 0.82$  unit로 나타났고, AST는 ND군에서  $3.01 \pm 0.39$  unit, HFD군에서  $10.07 \pm 0.61$  unit, WGC군에서  $7.90 \pm 0.58$  unit으로 나타났고,  $\gamma$ -GTP는 ND군에서  $39.51 \pm 9.01$  mU/ml, HFD군에서  $83.90 \pm 15.16$  mU/ml, WGC군에서  $50.16 \pm 7.88$  mU/ml로 나타나, ALT, AST,  $\gamma$ -GTP 모두 HFD군에서 증가되었던 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 감소된 것으로 확인되었다.

혈장 BUN 농도는 ND군에서  $7.12 \pm 1.74$  mg/dl, HFD군에서  $21.38 \pm 2.94$  mg/dl, WGC군에서  $7.62 \pm 1.94$  mg/dl로 나타났으며, 간에서 채취한 혈액의 BUN 농도는 ND군에서  $18.96 \pm 4.6$  mg/dl, HFD군에서  $27.51 \pm 4.67$  mg/dl, WGC군에서  $17.25 \pm 2.54$  mg/dl로 나타났다. 혈장 및 간에서 채취한 혈액 분석 결과 모두 HFD군에서 증가되었던 BUN 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 감소된 것으로 확인되었다 (Table 5).

Table 5. Activities of AST, ALT, BUN and glucose contents in body of mice fed a high fat diet containing injection wild ginseng complex pharmacopuncture for 10 weeks.

Group	ND	HFD	WGC
<b>Serum</b>			
AST(karmen unit)	4.10±0.96 <sup>b</sup>	6.99±0.95 <sup>a</sup>	5.83±0.69 <sup>ab</sup>
ALT(karmen unit)	3.24±0.53 <sup>a</sup>	3.49±0.35 <sup>a</sup>	1.68±0.90 <sup>b</sup>
γ-GTP(mU/ml)	38.10±11.45 <sup>b</sup>	66.82±8.75 <sup>a</sup>	38.41±10.26 <sup>b</sup>
BUN(mg/dl)	7.12±1.74 <sup>b</sup>	21.38±2.94 <sup>a</sup>	7.62±1.94 <sup>b</sup>
<b>Liver</b>			
AST(karmen unit)	7.60±0.63 <sup>a</sup>	8.11±0.52 <sup>a</sup>	7.37±0.82 <sup>a</sup>
ALT(karmen unit)	3.01±0.39 <sup>c</sup>	10.07±0.61 <sup>a</sup>	7.90±0.58 <sup>b</sup>
γ-GTP(mU/ml)	39.51±9.01 <sup>b</sup>	83.90±15.16 <sup>a</sup>	50.16±7.88 <sup>b</sup>
BUN(mg/dl)	18.96±4.6 <sup>b</sup>	27.51±4.67 <sup>a</sup>	17.25±2.54 <sup>b</sup>

ND ; normal diet, HFD ; high fat diet, WGC ; HFD+Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture.

Values are mean±SD (n=7)

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at p<0.05.

#### 4) 지질농도

혈청 내 혈중 지질농도를 분석한 결과 total cholesterol 양은 ND군에서  $132.41 \pm 39.82$  mg/dL, HFD군에서  $252.61 \pm 34.99$  mg/dL, WGC군에서  $196.99 \pm 13.75$  mg/dL로 나타났고, HDL은 ND군에서  $64.76 \pm 13.23$  mg/dL, HFD군에서  $28.40 \pm 6.44$  mg/dL, WGC군에서  $73.69 \pm 6.26$  mg/dL로 나타났으며, LDL은 ND군  $48.06 \pm 22.14$  mg/dL, HFD군  $182.78 \pm 22.28$  mg/dL, WGC군  $100.37 \pm 11.84$  mg/dL로 나타났다. Triglyceride는 ND군  $97.93 \pm 22.28$  mg/dL, HFD군  $207.14 \pm 31.39$  mg/dL, WGC군  $114.65 \pm 13.29$  mg/dL로 분석되었다.

간에서 채취한 혈액 분석 결과 total cholesterol 양은 ND군에서  $128.92 \pm 65.06$  mg/dL, HFD군에서  $230.87 \pm 74.03$  mg/dL, WGC군에서  $176.20 \pm 17.89$  mg/dL로 나타났고, HDL은 ND군에서  $80.53 \pm 2.79$  mg/dL, HFD군에서  $20.69 \pm 4.31$  mg/dL, WGC군에서  $53.43 \pm 3.35$  mg/dL로 나타났으며, LDL은 ND군  $26.80 \pm 11.59$  mg/dL, HFD군  $157.13 \pm 52.15$  mg/dL, WGC군  $84.21 \pm 14.54$  mg/dL로 나타났다. Triglyceride는 ND군  $107.93 \pm 21.53$  mg/dL, HFD군  $265.25 \pm 87.81$  mg/dL, WGC군  $192.79 \pm 31.55$  mg/dL로 분석되었다(Table 6).

total cholesterol, LDL, Triglyceride는 혈청 및 간에서 채취한 혈액에서 모두 HFD군에서 증가되었던 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 감소 되었으며, HDL은 혈장 및 간에서 채취한 혈액에서 모두 HFD군에서 감소되었던 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 증가된 것으로 확인되었다.



**Table 6. Effects of Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture in the body lipid and glucose levels in high fat diet–induced obese mice.**

Group	ND	HFD	WGC
<b>Serum</b>			
Total cholesterol (mg/dL)	132.41±39.82 <sup>b</sup>	252.61±34.99 <sup>a</sup>	196.99±13.75 <sup>ab</sup>
HDL cholesterol (mg/dL)	64.76±13.23 <sup>b</sup>	28.40±6.44 <sup>a</sup>	73.69±6.26 <sup>b</sup>
LDL cholesterol (mg/dL)	48.06±22.14 <sup>c</sup>	182.78±22.28 <sup>a</sup>	100.37±11.84 <sup>b</sup>
Triglyceride (mg/dL)	97.93±22.28 <sup>b</sup>	207.14±31.39 <sup>a</sup>	114.65±13.29 <sup>b</sup>
<b>Liver</b>			
Total cholesterol (mg/dL)	128.92±65.06 <sup>a</sup>	230.87±74.03 <sup>a</sup>	176.20±17.89 <sup>a</sup>
HDL cholesterol (mg/dL)	80.53±2.79 <sup>c</sup>	20.69±4.31 <sup>a</sup>	53.43±3.35 <sup>b</sup>
LDL cholesterol (mg/dL)	26.80±11.59 <sup>b</sup>	157.13±52.15 <sup>a</sup>	84.21±14.54 <sup>b</sup>
Triglyceride (mg/dL)	107.93±21.53 <sup>b</sup>	265.25±87.81 <sup>a</sup>	192.79±31.55 <sup>ab</sup>

ND ; normal diet, HFD ; high fat diet, WGC ; HFD+Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture.

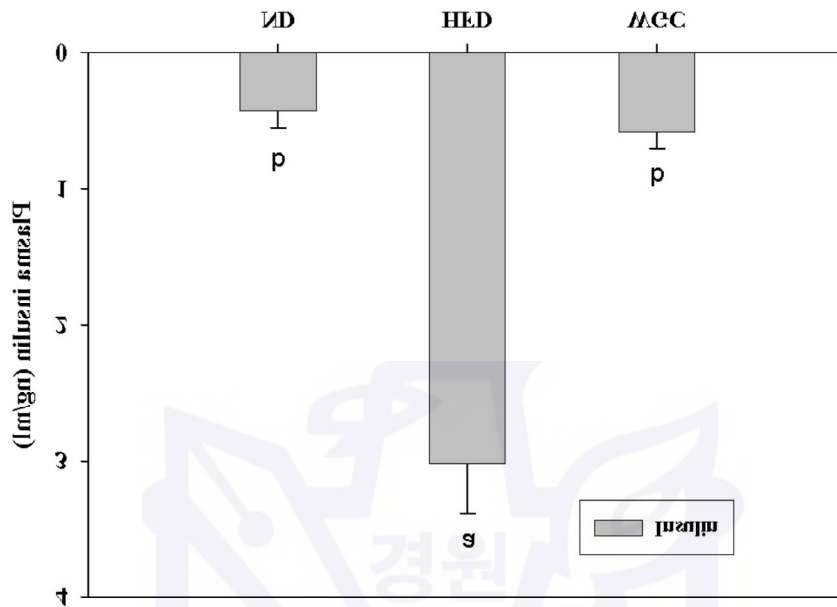
Values are mean±SD (n=7)

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at p<0.05.

#### 5) 혈중 인슐린농도

혈중 인슐린농도는 ND군에서  $0.43 \pm 0.13$  ng/ml, HFD군에서  $3.02 \pm 0.36$  ng/ml, WGC군에서  $0.59 \pm 0.12$  ng/ml로 나타나, HFD군에서 증가되었던 혈중 인슐린 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 감소되었다(Fig. 11).





**Fig. 11. Insulin levels in plasma.**

ND ; normal diet, HFD ; high fat diet, WGC ; HFD+Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture.

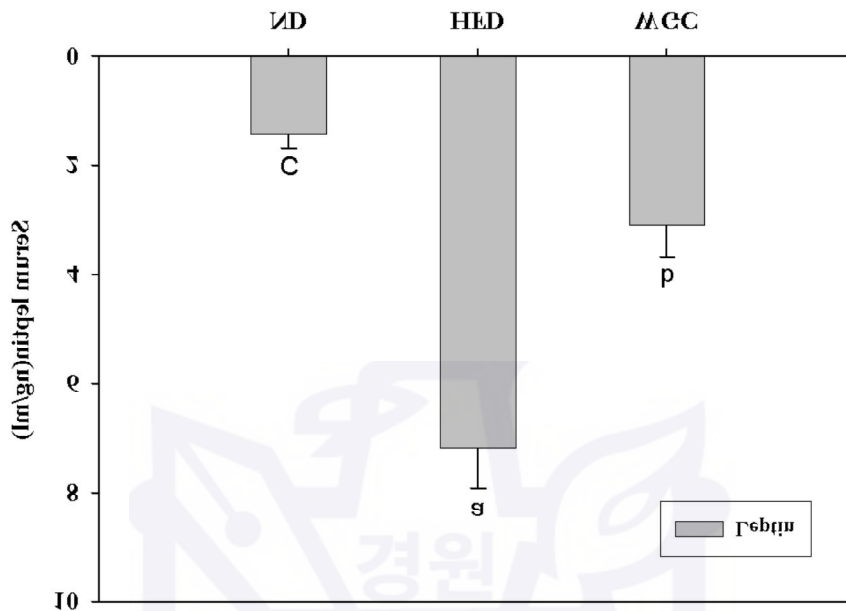
Values are mean $\pm$ SD (n=7)

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p<0.05$ .

#### 6) 혈중 leptin농도

혈중 leptin농도는 ND군에서  $1.44 \pm 0.25$ , HFD군에서  $7.19 \pm 0.73$ , WGC군에서  $3.10 \pm 0.58$ 로 나타나, HFD군에서 증가되었던 leptin 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 감소되었다(Fig. 12).





**Fig. 12. Leptin levels in serum.**

ND ; normal diet, HFD ; high fat diet, WGC ; HFD+Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture.

Values are mean $\pm$ SD (n=7)

Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$ .

## IV. 고찰

비만은 현대 사회가 극복해야 할 가장 심각한 질병 중의 하나로, 세계 보건 기구는 1997년 “비만은 장기적인 투병이 필요한 질병이다.” 라고 정의하여, 이에 대한 적극적인 대처를 권고하고 있다. 비만이 고혈압 발생의 중요한 요인임은 이미 밝혀진 바 있고<sup>4)</sup>, 또 미국 당뇨병 학회 (American Diabetic Association)에서는 체질량 지수가  $25 \text{ kg/m}^2$  이상인 경우를 제 2형 당뇨병의 위험인자로 규정하였다<sup>5)</sup>. 그 외에도 고지혈증, 심장질환, 관절염, 호흡기 질환, 성기능 장애, 암 발생 등 각종 성인병 및 만성 질환의 원인일 뿐 아니라 사망의 직접적인 원인이 될 수 있으며<sup>6-8)</sup>, 비만의 정도가 심해질수록 더욱 많은 질병을 앓게 되는 것으로 밝혀졌다<sup>25)</sup>.

이러한 심각성에도 불구하고 비만 인구는 점차 증가하고 있어 2007년 발표 된 WHO 집계에 따르면 전 세계 65억 인구 가운데 4억 명이 비만으로 분류되었고, 우리나라의 비만인구도 2007년도 국민건강영양조사에서 20세 이상 성인의 비만 유병률이 31.5%(남자: 35.1%, 여자: 28.0%), 복부비만 유병률은 24% (남자: 24.6%, 여성: 23.4%)로 조사되었으며, 이를 2007년도 인구 추정할 때 복부비만 인구가 무려 858만여 명에 달한다<sup>9)</sup>. 비만의 증가는 사회 경제적으로도 큰 손실을 끼치게 되어, 국내 연구에 따르면 2003년을 기준으로 암을 비롯한 당뇨병, 고혈압, 심혈관계 질환 등 비만관련 질환의 직접의료비는 18.715억원이며, 이 가운데 비만으로 인한 직접비용은 6.212억원(간접비용 포함 14.161억원)으로 추산된다. 이는 2003년 총 진료비 20.7조원의 5.8~8.8%에 해당되며, 직접비만 고려하면 총 진료비의 2.6~3.9%에 해당되는 규모이다<sup>26)</sup>.

비만 치료 시장의 거대화 속에서 현재 치료적 접근으로는 약물요법, 식이 및 운동요법, 행동수정요법 등 뿐만 아니라<sup>10)</sup>, 저주파 전침자극<sup>11)</sup>, 초음파<sup>12)</sup>, 고주파<sup>13)</sup> 등의 국소 부위 지방 침착에 대한 치료가 이루어지고 있으며, 최근에는 새로운 시도로써 약침요법에 대한 관심이 증가하고 있다. 비만에 있어 약침요법은 직접적인 주사요법을 사용함으로써 국소적인 셀룰라이트의 제거 및 전신적인 증상에 대한 내과적인 치료를 함께 할 수 있는 방법이다. 이는 약리이론과 경락이론의 병행이라는 장점을 갖고 있어 일관된 병리에 따른 치료지침을 제공할 수 있을 뿐 아니라 內服만으로 치료해 오던 약물치료의 단순함을 극복하고 또 內服이 어려운 환자들에게 까지 응용할 수 있어서 비만의 한의학적 치료방법을 다양화시킬 수 있을 것으로 생각되고 있다<sup>27)</sup>.

2011년 발표된 비만에 관한 약침 연구의 실험실적 및 임상 연구 동향을 연구한 김 등<sup>14)</sup>의 논문을 살펴보면, 기존에 연구된 약재로 熊膽, 牛黃, 山蔘, 山養山蔘, 麻黃, 浮萍草, 黃芩, 蒼朮, 薏苡仁, 麻黃, 山查, 菁蒿, 蚯蚓, 當歸, 黃芪, 鬱金, 附子, 蘿藦子, 烏木, 茵陳, 赤小豆, 상황버섯, 夏枯草, 甘菊, 葛根, 白芥子, 枳殼, 大黃, 大豆黃卷, 麥芽, 大腹皮, 茶葉 등이 있었고, 太陰調胃湯과 三黃瀉心湯, 傷食 1호, 脾氣虛藥鍼 등의 처방 및 Sweet Bee Venom 등도 연구되었다. 연구 형태는 동물실험이 세포실험과 임상실험에 비해 많았는데, 실험방법으로 세포실험은 rat의 지방세포, 돼지의 복부 지방조직, 3T3-L1 등에 약침액을 처치해 지방세포 분화 억제와 지방세포의 분해를 보았고, 동물실험은 쥐의 足三里, 中脘, 肝膽 등에 약침을 주입해 혈중 지질조성, 체중, 식이효율, 지방 분화 관련 유전자 등을 보았으며, 임상연구는 약침을 복부나 허벅지 등의 지방이 많이 축적된 부분에 주입해 체중, 체지방량, 복부지방율, 복부둘레, 복부 지방 두께, 비만도, BMI, 근육량 등을 관찰하였다.

각각의 논문에서 약침을 이용한 비만 개선 연구는 대부분 유의한 효과를 얻었다. 하지만 단편적인 연구가 많은 것이 아쉬웠는데, 현재 마황 한 가지 약제만 세포실험, 동물실험, 임상연구가 모두 이루어져있어 임상에 사용하기 위한 전 단계로써 체계적으로 연구된 약제는 부족한 상황이었다. 또 세포독성에 관한 안정성 및 간, 신장 등의 안전성에 관한 연구도 부족하였다. 이에 저자는 비만 치료제로써 약침연구를 기존의 연구방법과 유사하게 진행하였지만 하나의 약침제제로 세포실험에서 동물실험으로 연계되는 실험을 진행하였고, 또 세포단위에서 독성실험과 동물실험에서 간 및 신장 등의 안전성 실험을 진행하여 전 임상적 연구로써 임상에서 비만 개선에 사용될 수 있는 약침 제제에 관한 기본적인 연구를 진행하였다.

이번 실험에서 사용한 약침은 산삼복합약침으로 산삼, 우황, 웅담, 사향으로 구성되어 있다. 먼저 각 약제들의 현재까지 연구방향 및 연구성과에 대해 살펴보면 다음과 같다. 산삼은 최근까지 항암제로써의 능력 및 기존 항암제와 함께 사용할 경우 부작용을 줄여주는 능력에 관한 연구가 가장 활발하게 이루어지고 있고<sup>28-31)</sup>, 그 외 비만 개선 효과<sup>32)</sup>, 면역계에 미치는 영향<sup>33)</sup>, 항산화 효과<sup>34)</sup>, 당뇨병 개선 효과<sup>35)</sup>, 인체 혈장 단백질에 미치는 영향<sup>36)</sup>, 혈압 강하 효과<sup>37)</sup>, 항우울 효과<sup>38)</sup>, 탈모 개선 효과<sup>39)</sup>, 자궁 내막증 치료 효과<sup>40)</sup> 등에 관한 연구가 이루어지고 있다. 그 중에서도 비만 개선에 관한 연구들로는 경구투여를 통해 혈중 지질 수치의 감소 및 전신 비만 개선 효과를 연구한 논문<sup>35)</sup> 외에도, 약침 제제로 추출하여 동물의 혈자리<sup>32,41)</sup> 혹은 정맥에 주입한 연구<sup>42)</sup>들도 발표된 적이 있었고, 각 논문들에서 산삼은 경구 투여 뿐 아니라 약침 제제로 주입한 경우에도 유의성 있게 혈중 지질 감소와 지방세포 분화 억제 및 파괴의 효능이 있음을 밝혔다.

우황은 관절염 치료<sup>43)</sup>, 관절염 치료<sup>44)</sup>, 안 점막에 미치는 영향<sup>45)</sup>, 비만



개선 효과<sup>46)</sup>, 고지혈증의 개선<sup>47)</sup>, 면역계에 미치는 영향<sup>48)</sup>, 항암 효과<sup>49)</sup>, 심박 변이도에 미치는 영향<sup>50)</sup>, 항산화 효과<sup>51)</sup>, 요통 개선 효과<sup>52)</sup>, 혈압 강하 효과<sup>53)</sup> 등에 관한 연구가 이루어지고 있다. 우황을 이용한 비만 연구는 웅담과 함께 약침 제제로 사용<sup>46)</sup>해 지방세포의 분화 억제 및 성숙 지방세포의 분해 효과를 관찰해 국소부위 약침 주입을 통한 국소 비만치료제로의 가능성을 보았다.

웅담 또한 간질환 치료<sup>54)</sup>, 관절염 치료<sup>55)</sup>, 안 점막에 미치는 영향<sup>56)</sup>, 면역계에 미치는 영향<sup>57)</sup>, 비만 개선 효과<sup>58)</sup>, 소화기 질환 개선 효과<sup>59)</sup>, 요통 개선 효과<sup>52)</sup>, 심박변이도에 미치는 영향<sup>60)</sup>, 항암 효과<sup>61)</sup>, 항산화 효과<sup>62)</sup>, 피부 질환 개선 효과<sup>63)</sup> 등에 관한 연구가 진행되었다. 웅담의 비만 치료제로써의 연구는 우황과 함께 약침 제제로써 비만 치료에 사용된 연구<sup>46)</sup> 외에, 웅담 추출물을 단독으로 쥐에게 경구투여 하여 혈중 지질 수준 및 체중 변화 등을 관찰한 연구<sup>58)</sup>도 있었다.

사향은 우황, 웅담 등의 제제와 함께 약침 주입을 통해 간 손상에 미치는 영향을 연구한 논문이 다수 있으며<sup>64)</sup>, 중추신경계 손상의 회복 효과<sup>65)</sup>, 관절 질환에 미치는 영향<sup>66)</sup>, 염증 반응에 미치는 영향<sup>67)</sup>, 안 점막에 미치는 영향<sup>68)</sup>, 고지혈증의 개선<sup>47)</sup>, 항암 효과<sup>69)</sup>, 항산화 효과<sup>51)</sup>, 혈압강하 및 심장질환에 미치는 영향<sup>70)</sup>, 요통 개선 효과 등에 관한 연구<sup>52)</sup>가 진행되었다. 사향을 이용한 비만 연구는 없었지만 우황, 삼칠근 등과 함께 경구투여를 통해 고지혈증의 개선<sup>47)</sup>을 본 논문은 있었다.

이와 같이 산삼복합약침의 구성 약재 중 산삼은 이미 약침 액으로써 비만 치료에 활용된 논문들이 다수 존재해 세포실험 및 동물실험을 통해 그 가치를 인정받았고, 우황, 웅담복합약침 또한 세포실험을 통해 지방세포의 분화 억제 및 성숙지방세포의 분해 효과가 있음을 인정받았다. 사향은 비만 치료제로써의 활용에 관한 연구는 아직 부족하지만 우황, 웅담

등과 함께 현재 임상에서 약침 제제로 여러 질환에 함께 사용되고 있다. 이에 저자는 우황, 웅담, 사향 약침과 산삼 추출액을 혼합한 산삼복합약침이 비만에 효과가 있을 것이라 생각하여 세포실험 및 동물실험을 진행하였다.

산삼복합약침은 10% 산삼 증류 추출 약침액 20 ml에 사향, 웅담, 우황으로 구성된 복합약침을 녹여 제조하였다. 세포실험은 3T3-L1 및 Macrophage cell을 구입하여 사용하였고 동물실험은 4주령의 C57BL/6J 계의 수컷 생쥐를 공급받아 1주간 적응 시킨 후 실험을 진행하였다.

먼저 세포독성을 측정하기 위해 MTT assay로 세포 생존율을 측정하였다. 세포의 증식 또는 살아있는 세포를 정확하게 측정할 수 있는 기법 중 많이 사용되고 있는 MTT assay는 항암제의 감수성에 대한 1차 선별검사의 목적으로 많이 사용되지만, 성장인자에 대한 세포의 감수성 실험 등에도 대단히 유용하게 사용될 수 있는 방법이다. 본 연구에서는 약침원액을 0, 1, 5, 10, 25, 50%(v/v) 농도별로 3T3-L1 및 Macrophage cell에 처치해 MTT assay로 측정한 결과 50%의 농도를 제외하고 두 개의 cell 모두에서 세포독성이 없는 것으로 확인되었다. 50% 농도에서는 각 cell이 성장할 배지가 부족해 세포 생존율이 낮아진 것으로 생각된다.

비만과 관련하여 생체는 과도한 열량섭취에 대해 수 시간 내에 분자수준에서 염증반응과 산화적 스트레스 반응을 보이며, 음식에 의해 산화적 스트레스는 감소한다고 알려져 있다<sup>71,72)</sup>. 염증성 cytokine에 의해 조절되는 생체인자 중에서 nitric oxide(NO)는 다양한 생리기능을 나타내는 대표적인 분자로, NO는 면역계 (inducible NO synthase; iNOS), 신경계 (neuronal NO synthase; nNOS) 및 혈관계 (endothelial NO

synthase; eNOS)에서 L-arginine으로부터 생성되어 다양한 병태생리학적 기능을 담당하고 있다. 최근 연구에 따르면 실험동물에서 비만이 유도되었을 경우<sup>73)</sup>, 또는 비만인 사람에서<sup>74)</sup> 혈중 NO의 농도가 정상의 경우보다 높게 측정됨을 보고하였다. 일부의 보고에서는 비만인 사람에서 eNOS의 기능이 비정상적으로 억제되어 NO의 생체이용률은 감소함으로써 고혈압 등의 심혈관질환의 위험이 증가한다고 주장하고 있다<sup>75,76)</sup>. 즉, 비만이 유도되면 전신적인 염증반응이 유발되고 혈중의 염증성 NO는 증가하고 생리적 활성을 갖는 NO는 감소하는 현상이 유발된다고 추정할 수 있다. 이에 3T3-L1과 Macrophage cell에 대해 LPS를 처리하여 자극을 준 후 세포에서 방출되는 NO생성을 얼마나 억제하는지에 대한 실험을 실시하였다.

0, 1, 5, 10, 25, 50% (v/v) 농도의 산삼복합약침액을 전지방 세포인 3T3-L1에 처치한 결과 10% 이상의 농도에서 NO 생성량이 점차 증가하는 현상이 확인 되었으며, 이는 전 지방세포인 3T3-L1의 apoptosis를 유발시켜 지방세포로 분화를 저해하는 것으로 보여진다. 그러나 대식세포인 Macrophage cell에 처치한 경우 농도 의존적으로 NO 생성이 억제되는 것으로 확인되어 염증 반응은 억제하는 것으로 확인되었다. 즉, 산삼복합약침이 세포에 따라 각기 다른 반응을 나타내었고 지방세포의 분화는 억제해 비만 개선 효과가 있었지만 염증 반응 자체는 억제시키는 효과가 있는 것으로 보여진다.

또 Oil Red O반응 실험을 통하여 지방의 축적율을 확인하였다. 본 실험에서는 cell이 안정적으로 자라기 위한 배지농도를 감안해 20% 산삼복합약침액을 3T3-L1에 처리하였다. 샘플 농도는 일반적인 cell실험에서 세포에 damage를 주지 않는 농도인 100  $\mu$ g/ml로 하였다. 그 결과 대조군에 비해 산삼복합약침액을 처치한 배지의 지방 축적율이 현저히 감소함

을 확인 할 수 있었다.

Adiponectin은 지방세포에서 특이적으로 발현되고 분비되는 단백질 중 하나로 ACRP30, apM1, AdipoQ 등으로 알려져 있다. Adiponectin은 혈액 내에 풍부하게 존재하며, 비만 및 인슐린 저항성과 깊은 관련이 있어 비만 환자와 당뇨병 환자에서 Adiponectins의 혈중 농도가 감소되어 있음이 보고되었다<sup>77,78)</sup>. 본 실험에서 1%, 5%, 10%, 20% 농도의 산삼복합약침액을 처리하여 Adiponectin 발현을 관찰한 결과 농도 의존적이지는 않지만 모든 농도에서 대조군에 비해 높은 발현량이 나타났고, 특히 10% 약침을 사용할 경우 발현량이 가장 증가되는 것으로 확인되었다.

Peroxisome proliferator-activated receptors(PPAR)은 핵 내에 존재하는 호르몬 수용체에 속한다. PPAR에는 PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta/\delta$ , PPAR- $\gamma$ 의 3개의 이성체가 밝혀져 있으며, 이들은 서로 다른 유전자를 발현시키지만 아미노산의 구성, 라이간드와 결합형태 및 DNA 결합영역은 서로 비슷하다<sup>79)</sup>. 지방세포에서 특이적으로 많은 발현을 보이는 PPAR- $\gamma$ 의 주요 기능은 지방대사, 당대사, 지방세포의 분화를 조절하며, 그 밖에 2형 당뇨병을 비롯하여 염증성 질환에 관련이 있다<sup>80)</sup>. 본 실험에서도 항비만 유전자로써 PPAR- $\gamma$ 를 선택해 발현을 측정하였다. 산삼복합약침 1%, 5%, 10%, 20%의 농도를 사용하여 실험하였고 PPAR- $\gamma$  발현이 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보이다가 20%에서 급격히 효과가 감소되는 것으로 확인하였다. 따라서 Adiponectin과 PPAR- $\gamma$ 를 통한 항비만 효능에서는 10%의 약침을 사용할 경우 항비만 효과가 최적인 것으로 확인 되었다.

염증반응이 유발되었을 경우 증가하는 단백질 중에서 세포 자멸사 및 암 발생과 관련이 있는 것으로 알려진 단백질로서 cyclooxygenase-2(COX-2)가 있다. COX는 거의 모든 세포에서 발현하고 있는

constitutive form인 COX-1과 다양한 자극에 의해 발현이 유도되는 inducible form인 COX-2가 있다. Raju<sup>81)</sup> 등은 유전자조작으로 유도한 비만동물모델인 Zucker rat에서 azoxymethane에 의해 유도되는 대장암 발생에서 식이제한을 할 경우 Zucker (fa/fa) rat에서 COX-2의 발현이 감소하고 대장암의 전단계인 Atypical crypt foci(ACF)가 감소함을 보고하였다. 즉, 비만의 개선과 COX-2 발현의 저해는 밀접한 관련이 있고, 그로 인해 염증 반응이나 암 세포의 활성화 등도 저해되는 것을 알 수 있다.

본 실험에서는 산삼복합약침이 LPS로 유도된 iNOS (inducible nitric oxide synthase)와 COX-2 (cyclooxygenase-2) 발현을 억제시키는지 측정하기 위해 western blot 분석을 실시하였다. 실험 결과 iNOS와 COX-2 발현 수준은 untreated 세포보다 LPS를 처리한 세포에서 높게 나타났으며, 상승된 iNOS와 COX-2 발현이 10%, 20%의 산삼복합약침을 처리한 후 감소하였다. 위의 결과로 산삼복합약침이 iNOS와 COX-2 발현을 저해하여 산화스트레스와 관련된 염증촉진효소의 발현 억제효과가 있을 것으로 사료되고, 기존의 실험들에 비취 비만의 개선에도 효과가 있을 것으로 생각된다.

NF- $\kappa$ B(nuclear factor)는 염증 및 면역질환에 관여하는 cytokine의 합성에 중요한 역할을 한다는 것이 이미 보고되어있다. 염증반응 시 많은 양의 cytokine이 검출되고 있으며, 이들은 활액막 세포의 NF- $\kappa$ B를 활성화시킴으로써 염증반응을 진행, 증폭시키는 역할을 한다. 따라서 이러한 전 염증성 cytokine의 활성을 억제함으로써 과도하게 일어나는 염증을 치료하고자하는 시도가 이루어지고 있고 더 나아가 cytokine을 제어하는 항체나 재조합 단백질을 이용한 연구가 이루어지고 있다<sup>82)</sup>.

산삼복합약침이 LPS로 인해 활성화된 NF- $\kappa$ B의 발현을 저해하는 효

과가 있는지 측정하기 위해 western blot 분석을 실시하였다. 실험 결과 NF- $\kappa$ B 발현 수준은 untreated 세포보다 LPS로 처리된 세포에서 높게 나타났으며, 상승된 NF- $\kappa$ B 발현이 10% 20% 약침 처리 후 감소하였다. 즉 산삼복합약침이 NF- $\kappa$ B의 활성화를 저해하여 염증반응의 진행을 억제시킨 것으로 보인다.

동물실험은 4주령의 생쥐를 1주간 적응 시킨 후 ND군, HFD군, WGC군으로 나누어 실험을 진행하였다. WGC군은 비만 유도를 위해 45%Kcal Fat 사료를 공급하여 4주간 비만을 유도한 후 6주간 인체의 脾俞(BL20)와 상응하는 부위에 산삼복합약침을 0.2ml 씩 1일 1회 좌우 번갈아 가며 시술하였다. HFD군은 비만 유도 후 생리식염수를 동일한 방법으로 시술하였다.

동물실험 결과 체중 변화는 ND군에 비해 HFD군이 3배 가량 높은 체중 증가량이 나타났고, 산삼복합약침을 처리한 결과 WGC군에서 유의성 있는 체중 증가 억제가 나타났다. 간의 무게, 신장의 무게, 부고환 주위 지방량 무게 측정에서도 산삼복합약침 시술군에서 HFD군에 비해 유의한 장기 무게 증가 억제가 나타난 것으로 확인되었다.

AST, ALT,  $\gamma$ -GTP는 간이 손상 받으면 활성화 되는 효소로 그 양을 측정하면 간의 손상 정도를 수치로 표현 할 수 있다. 본 실험에서는 산삼복합약침 주입의 안전성 검사 목적 뿐 아니라, 간 손상 치료에 산삼복합약침이 효과가 있는지를 보고자 ALT, AST,  $\gamma$ -GTP를 측정하였다. 혈청 및 간에서 채취한 혈액을 분석한 결과 ALT, AST,  $\gamma$ -GTP 농도 모두 HFD군에서 증가되었던 농도가 산삼복합약침 시술군에서 유의하게 감소된 것으로 확인되었다. 특히 혈청 분석에서는 WGC군의 ALT, AST,  $\gamma$ -GTP의 농도가 ND군에 가깝게 낮아졌는데, 이를 보아 산삼복합약침이 간 손상의 회복에도 효과가 있는 것으로 생각된다.



BUN은 혈중 요소의 농도를 측정하는 것으로 신기능의 지표가 된다. 혈장과 간에서 채취한 혈액의 BUN 농도 모두 HFD군에서 증가되었던 BUN농도가 WGC군에서 유의하게 감소된 것으로 확인되었다. 따라서 산삼복합약침을 처치한 경우 신기능의 손상을 유발하지 않을 뿐 아니라 신기능이 손상된 경우 회복하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

total cholesterol, LDL, Triglyceride는 혈청 및 간에서 채취한 혈액 모두 HFD군에서 증가되었던 농도가 WGC군에서 유의하게 감소 되었으며, HDL은 HFD군에서 감소되었던 농도가 산삼복합약침 시술 군에서 유의하게 증가된 것으로 확인되었다. 즉 산삼복합약침은 혈중 total cholesterol, LDL, Triglyceride 등의 농도를 낮추고 HDL의 농도를 높여 전신 비만 치료에 도움을 줄 것으로 생각된다.

혈중 인슐린농도 또한 HFD군에서 증가되었던 농도가 산삼복합약침 시술 군에서 유의하게 감소 되었다. 이는 HFD군에서 비만으로 인한 당뇨가 나타나기 시작했다고 분석할 수 있으며, 산삼복합약침군은 normal diet군과 비슷한 양상을 보여 혈당 조절에도 영향을 미침을 확인 할 수 있다.

Leptin은 지방조직에서 분비되어 시상하부에 작용하여 식이조절 및 에너지 대사에 영향을 미치는 대표적인 cytokine<sup>83)</sup>으로 지방조직의 양과 비례하며 비만한 사람에게 있어 혈중 농도는 정상 체중인 사람에 비하여 높게 나타난다<sup>84)</sup>. Konukoglu 등<sup>85)</sup>은 식이와 운동을 병행한 결과 leptin 농도가 감소하였다고 하였으며, 장지선 등<sup>86)</sup>은 12주간 복합운동 후 leptin 농도가 유의하게 감소하였다고 하였다. Leptin은 또 cytokine receptor family인 leptin receptor에 작용하는 cytokine이므로 NO 생성을 비롯한 다양한 면역반응에도 관여하고 있다<sup>87)</sup>.

혈중 leptin농도 또한 HFD군에서 증가되었던 leptin농도가 산삼복합약침 시술 군에서 유의하게 감소되었다. 즉 산삼복합약침 처치가 체내 지방

축적 억제를 감소시켜 leptin의 분비량이 줄어든 것으로 생각된다.

이상을 종합해 보면, 산삼복합약침을 처치하였을 때 전지방세포의 분화 억제, 지방세포의 분해 촉진, adiponectin 및 PPAR- $\gamma$  발현 촉진, 체중 증가량 감소, 지질농도 감소, 비만관련 cytokine 발현 감소 등의 결과를 얻어 산삼복합약침을 비만치료제로써 응용 가능할 것으로 사료되며, 세포 독성이 없고 간 및 신장 기능을 손상시키지 않는 결과를 보아 안전한 치료제로 생각된다. 또한 Macrophage cell, COX-2, NF- $\kappa$ B 등을 이용한 실험에서 염증반응을 억제하는 효과가 있는 것으로 관찰되었고, 손상된 간 및 신기능을 회복시키는 효과가 있는 것으로 생각되어 향후 이 부분에 관한 보다 심도 있는 실험이 필요할 것으로 사료된다.



## V. 결론

산삼복합약침이 비만세포 및 고지방식으로 비만이 유도된 C57BL\_6J mice에 미치는 항비만, 항염증 효과에 대해 알아본 결과는 다음과 같다.

1. MTT assay 원리를 이용하여 산삼복합약침액을 3T3-L1, Macrophage cell에 처리한 결과 약침원액 50% 농도를 제외한 나머지 실험에서 세포 독성이 없었다.

2. 3T3-L1에 산삼복합약침액을 처리했을 때 농도 의존적으로 NO 생성량이 증가한 것을 보아 전지방 세포의 apoptosis가 유발된 것을 알 수 있었고, Macrophage cell에 산삼복합약침액을 처리한 경우 농도 의존적으로 NO 생성량이 억제된 것으로 나타나 염증반응이 억제됨을 알 수 있었다.

3. 3T3-L1에 20% 산삼복합약침액을 처리한 결과 지방 축적율이 현저히 감소하였다.

4. Adiponectin은 10% 약침액을 처리 하였을 때 발현이 증가되었으며, PPAR- $\gamma$ 는 1%, 5%, 10%의 산삼복합약침액을 처리하였을 때 농도 의존적으로 발현이 증가되었다.

5. iNOS와 COX-2는 산삼복합약침 처리 후 발현이 억제되었고, NF- $\kappa$ B는 산삼복합약침 처리 후 활성화가 억제되었다.

6. HFD군에서 증가된 체중이 WGC군에서 유의하게 감소되었고, 간, 신장의 무게 및 부고환 주위 지방량 또한 WGC군에서 유의하게 감소되었다.

7. 혈청 및 간에서 채취한 혈액을 분석한 결과, HFD군에서 증가된 AST, ALT,  $\gamma$ -GTP, BUN 농도는 WGC군에서 유의하게 감소되었다.

8. 혈청 및 간에서 채취한 혈액을 분석한 결과, HFD군에서 증가된 Total cholesterol, LDL, triglyceride은 WGC군에서 유의하게 감소되었으며, HFD군에서 감소된 HDL은 WGC군에서 유의하게 증가되었다.

9. HFD군에서 증가된 혈중 인슐린농도 및 혈중 leptin농도는 WGC군에서 유의하게 감소되었다.

이상의 결과를 살펴보아 산삼복합약침은 비만 치료제로써 유의한 효과가 있으며 항염증 효과도 기대해 볼 수 있는 안전한 치료제로 사료된다. 향후 이에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Nielsen S., Jensen MD. Obesity and cardiovascular disease is body structure a factor. *Curr. Opin. Lipidol.* 1997;8(4):200-4.
2. Lee KU, Lee HK, Koh CS, Min HK. Artificial induction of intravascular lipolysis by lipid-heparin infusion leads to insulin resistance in man. *Diabetologia.* 1988;31(5):285-90.
3. Kissebah AH., Alfarsi S., Adams PW., Wynn V., Role of insulin resistance in adipose tissue and liver in the pathogenesis of endogenous hypertriglyceridaemia in man. *Diabetologia.* 1976;12(6):563-71.
4. Mertens IL, Van Gaal I.F., Overweight, obesity, and blood pressure: the effects of modest weight reduction. *Obes Res* 2000;8:270-8.3-2.
5. American Diabetes Association. Clinical practice recommendations. *Diabetes Care* 2003;26:S21-24.
6. Must A., Spadano J., Coakley EH., Field AE., Colditz G., Dietz W. The Disease Burden Associated With Overweight and Obesity. *JAMA.* 1999;282:1523-9.
7. Ro Y. M. Metabolic syndrome and cardiovascular disease. *J. of KAHP.* 2004;2:72-7.
8. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature.* 2000;404:635-43.
9. 배남규, 권인선, 조영채. 한국인의 10년간 비만수준의 변화양상, 대한 비만학회지. 2009;18(1):24-30.

10. 한방재활의학과학회. 한방재활의학. 서울:군자. 2006:390-6.
11. 황덕상. 저주파 전침 자극이 허벅지 둘레에 미치는 영향. 대한한방비만학회지. 2006;5(1):1-8.
12. Miwa H, Kino M, Han LK, Takaoka K, Tsujita T, Furuhashi H, Sugiyama M, Seno H, Morita Y, Kimura Y, Okuda H. Effect of ultrasound application on fat mobilization. Pathophysiology. 2002;9(1):13-9.
13. Alster TS, Tanzi EL. Cellulite treatment using a novel combination radiofrequency, infrared light and mechanical tissue manipulation device. J Cosmet Laser Ther. 2005;7(2):81-5.
14. 김민우, 송윤경, 임형호. 약침을 활용한 비만연구의 실험실적 및 임상적 연구동향 고찰. 한방비만학회지. 2011;11(1):47-60.
15. Susumu Kohno, Tomiyasu Murata, Ayumi Sugiura, Chihiro Ito, Mehrdad Iranshahi, Kiyomi Hikita, Norio Kaneda. Methyl galbanate, a novel inhibitor of nitric oxide production in mouse macrophage RAW264.7 cells. Journal of natural medicines. 2011;65(2):353-9.
16. E. Kurulgan Demirci, T. Demirci, J. Trzewik, P. Linder, G. Karakulah, G. M. Artmann, M. Sak ı z l ı , A. Temiz Artmann. Genome-Wide Gene Expression Analysis of NIH 3T3 Cell Line Under Mechanical Stimulation. Cellular and Molecular Bioengineering. 2010;4(1):46-55.
17. Sankar Ghosh & David Baltimore. Activation in vitro of NF- $\kappa$ B" by phosphorylation of its inhibitor I $\kappa$ B". Nature.

1990;344:678 - 82.

18. Antonella Franchini, Evelina Bertolotti. Tail regenerative capacity and iNOS immunolocalization in *Xenopus laevis* tadpoles. *Cell and Tissue Research*. 2011;344(2):261-9.
19. N. B. Thu, T. N. Trung, D. T. Ha, N. M. Khoi, N. V. Than, T. Soulinho, N. H. Nam, T. T. Phuong, K.H. Bae, T. N. Trung. *Zanthoxylum rhetsa* stem bark extract inhibits LPS-induced COX-2 and iNOS expression in RAW 264.7 cells via the NF- $\kappa$ B inactivation. *Natural product sciences*. 2010;16(4):265-70.
20. Li-na L., Sheng-hua Z., Dong-ping H., Detection of an angiotensin converting enzyme inhibitory peptide from peanut protein isolate and peanut polypeptides by western blot and dot blot hybridization, *European Food Research and Technology*. 2009;230(1):89-94.
21. 강수우, 위통순, 윤대환. 비유(脾俞)에 대한 내복자 약침(藥鍼)이 고지방 식이로 유발된 비만(肥滿) 백서(白鼠)에 미치는 영향. *대한침구학회지*. 2007;24(5):113-26.
22. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC : Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*. 1974;20:470-5.
23. McGowan M.W., Artiss J.D., Strandbergh D.R., Zak B: A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Chin Chem*. 1983;29:538-542.
24. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS : Estimation of the

- concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem. 1972;18:499-502.
25. Sjostrom CD, Lissner L, Sjostrom L. Relationships between changes in body composition and changes in cardiovascular risk factors: the SOS Intervention Study. Obes Res. 1997;141:1128-41.
  26. 안병철, 정효지. 과체중-비만의 사회경제적 비용 추계. 한국영양학회지. 2005;38(9):786-92.
  27. 주집성, 채우석, 신미숙, 나창수. 비만 치료를 위한 경혈 및 약물에 관한 고찰. 대한경락경혈학회지. 2003;20(3):147-62.
  28. 권기록. NCI-H460 비소세포폐암 세포로 유도된 폐암 누드마우스에 산삼 약침의 항암 효과. 대한약침학회지. 2010;13(1):5-14.
  29. Jang SB, Lim CS, Jang JH, Kwon KR. Anti-metastatic mechanism of mountain cultivated wild ginseng in human cancer cell line. 대한약침학회지. 2010;13(1):37-43.
  30. 이명선. 인체 결장암세포에서 항암제와 산삼배양근에 의한 p53 유전자 발현. 산업과학연구. 2010;27(2):25-32.
  31. 이명자. 인체 자궁암세포에서 cisplatin과 산삼배양근추출물에 의한 apoptosis유도. 한국전자현미경학회지. 2010;40(3):133-8.
  - 32.. 이상훈, 이향숙, 이준무. 간유(肝俞)(BL18) 및 곡지(曲池)(LI11) 산삼약침 처치가 비만쥐의 지질구성, cytokine, 간장기능, 항산화능에 미치는 영향. 경락경혈학회지. 2007;24(4):181-200.
  33. 신흥묵. 산삼(Wild Panax Ginseng)과 Red-Mold Rice 혼합물의 메토트렉세이트로 처리된 RAW 264.7 세포 내에서 세포 퇴화와 시

- 토킨 발현의 보호를 통한 대식세포 활성화 연구. 대한한의학회지. 2009;30(6):69-79.
34. 김형석, 박희수, 권기록. HepG2 세포의 산화적 손상에 대한 산삼 추출물의 보호효과 - DNA chip을 이용하여-. 대한약침학회지. 2007;10(1):121-35.
35. Yun Se-Na, Moon Sang-Jung, Ko Sung-Kwon, Im Byung-Ok, Chung Sung-Hyun. Wild ginseng prevents the onset of high-fat diet induced hyperglycemia and obesity in ICR mice. Arch Pharm Res. 2004;27(7):790-6.
36. 이동희, 권기록. 산양산삼 증류약침의 혈맥주입 후 나타나는 혈장의 Proteom 분석. 대한약침학회지. 2006;9(2):17-37.
37. 홍민희, 임희경, 박지은, 전능재, 이영재, 조문제, 김소미. 산삼 배양근 추출물의 혈압강하 및 혈관이완 효과. 한국응용생명화학회지. 2008;51(2):102-7.
38. 권선오, 최수민, 김명환, 이봄비, 박무원, 이혜정, 박히준, 함대현. 산삼과 인삼 메탄올 추출물 아만성 복용의 Mice Tail Suspension Test에서의 항우울 효과에 대한 비교연구. 대한침구학회지. 2009;26(4):99-106.
39. 안규성, 황인철. 산삼배양근을 함유한 생약추출물이 탈모방지 및 육모 촉진에 관한 실험적 연구. 한국인체예술학회지. 2009;10(4):221-6.
40. 김성혜, 권기록, 박희수. 산삼약침이 자궁내막증 유발 흰쥐에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006;23(5):55-67.
41. 최은주, 이준무, 원승환, 권기록. 산양산삼약침의 지질강하 및 항산화 효과에 대한 생화학적 및 분자생물학적 검토. 대한약침학회지.

2006;9(1):5-20.

42. 박원필, 이은, 권기록. 산양산삼약침이 고지방식이에 의한 당뇨병 유발 흰쥐에 미치는 영향. 대한약침학회지. 2005;8(2):97-108.
43. 나창수, 홍석, 김희철, 금희철. 麝香·牛黃·熊膽 藥鍼이 肝損傷에 미치는 影響에 관한 研究. 대한한의학회지. 1996;17(2):251-63.
44. 정경연, 김갑성, 금갑성. 사향 우황 웅담 복합제제(OK)약침이 백서의 류마티스 관절염증 혈액학적인 변화 및 Collagen 의 분포변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999;16(3):255-68.
45. 서형식. 점안용 우황약침액의 안전성 및 유효성 평가. 대한약침학회지. 2009;12(3):61-72.
46. 조희철, 이시형, 신조영, 김강산, 조남근, 권기록, 임태진. 웅담과 우황약침이 지방세포 대사에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007;24(4):125-42.
47. 박중양, 김병탁. 사향, 우황, 삼칠근 복합방이 고지혈증 및 뇌손상에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1999;8(1):425-49.
48. 나창수, 김정상, 박근형. 약침에 사용되는 우황, 웅담과 저담의 항미생물 활성에 관한 연구. 대한침구학회지. 1997;14(1):420-6.
49. 은재순, 강성영, 한종현. 암세포주에 대한 우황 50% MeOH 엑스와 함암제의 병용효과. 우석대학교 논문집. 1994;16:31-52.
50. 이휘용, 이진복, 조이현, 송범용, 육태한. 녹용약침과 웅담,우황(BU)약침이 정상인의 심박변이도(HRV)에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2010;27(1):65-74.
51. 유은주, 김종인, 고희균. 웅담(熊膽).우황(牛黃).사향(麝香) 약침액(藥鍼液)이 Nitric Oxide 소거(消去)에 미치는 영향(影響). 대한침구학회지. 2006;23(4):115-21.



52. 정시영, 박재우, 신정미, 김지영, 윤인애. 급성기 요통에 대한 침치료와 우황,웅담 사향약침 병행치료의 효과 비교연구. 대한침구학회지. 2011;28(4):105-10.
53. 윤대환. 우황(牛黃) 및 Pear Phenolic compound가 백서(白鼠)의 혈압(血壓) 변화(變化), 혈장(血漿) Renin, ANP에 미치는 영향(影響). 대한본초학회지. 2006;21(2):143-50.
54. 나창수, 김정상, 김희철, 김병수, 황우준. 웅담 · 우황 약침의 효능 관찰을 위한 미세구조적 연구. 대한한의학회지. 1997;18(1):430-45.
55. 위통순, 나창수, 윤여충. 자침과 우황 · 웅담 약침이 백서의 Adjuvant Arthritis에 미치는 영향에 대한 비교 연구. 대한침구학회지. 2002;19(2):164-76.
56. 윤성식, 서형식. 웅담약침액이 다종의 각막염 유발균에 미치는 항균력에 대한 실험. 대한약침학회지. 2010;13(1):45-52.
57. 연광해, 최윤희, 채옥희, 송창호. Compound 48-80에 의한 비만세포 활성화와 IgE에 의한 혈관투과성 증가에 대한 웅담의 억제효과. 대한체질인류학회지. 2009;22(1):71-83.
58. 한충택, 박대훈, 김남호, 황지윤, 서홍덕, 위명복, 정배동, 권명상. 웅담의 투여가 고 콜레스테롤 섭취 흰쥐의 체내 콜레스테롤 축적에 미치는 영향. 한국실험동물학회지. 2003;19(1):52-60.
59. Jeong Sook PARK, Dong Ho YOO, In Jeong LEE, Eunmiri ROH, Youngsoo KIM, Kun HAN. Therapeutic Effect of Whole Bear Bile and Its Components against Croton Oil-Induced Rectal Inflammation in Rats. Biomolecules & Therapeutics. 2010;18(1):83-91.

60. 이진복, 송범용, 육태한. 홍화자약침과 웅담.우황약침이 심박변이도 (HRV)에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2010;27(2):11-21.
61. 김옥, 문용석, 정효순, 최인장. 암세포주의 p53 단백질 발현에 대한 웅담의 영향. 대한해부학회지. 2005;38(1):49-54.
62. 주성수, 김성근, 유영민, 류인왕, 김경훈, 이도익. 생쥐 뇌소교세포주에서 웅담추출활성성분(우르소데옥시콜린산)의 항산화 및 세포보호효과. 한국식품과학회지. 2006;38(3):452-5.
63. 박정훈, 최인화. 족삼리(足三里)에 시술한 웅담 약침이 아토피 피부염을 유발한 동물 모델의 각질층 기능회복에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2005;26(3):13-26.
64. 나창수, 홍석, 김희철, 금희철. 麝香·牛黃·熊膽 藥鍼이 肝損傷에 미치는 影響에 관한 研究. 대한한의학회지. 1996;17(2):251-63.
65. 최은옥, 이장현, 신상덕, 마웅천. Mongolian Gerbil 의 뇌허혈 유발에 따른 뇌조직 손상에 있어서 사향 함유 우황청심원액과 영묘향 함유 우황청심원액의 조직학적 효능 비교. 응용약물학회지. 2000;8:255-61.
66. 도원석, 김경호, 김갑성. 榆白皮, 桂枝, 牛膝, 蜂毒 및 牛黃 . 熊膽 . 麝香복합제제 藥鍼이 mouse의 LPS誘發 關節炎의 血液學的 變化에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2001;18(1):157-69.
67. 임석린. 사향(麝香)의 수용성분(水溶性分)이 생쥐 복강내(腹腔內) 거식세포(巨食細胞)의 활성(活性)에 미치는 영향(影響). 대한예방한의학회지. 2002;6(2):147-55.
68. 서형식. 점안용 웅담.우황.사향약침액의 유효성 평가. 대한약침학회지. 2009;12(3):41-7.
69. 은재순, 김대근, 송정모. 사향과 항암제 Mitomycin C의 병용효과. 동

의생리병리학회지. 2003;17(6):1404-8.

70. 최은욱, 조명행, 신상덕, 마웅천. 사향함유 우황청심원액과 영모향함유 우황청심원액의 혈압강하 작용 및 적출심장에 미치는 효과에 대한 약리효능 비교. 생약학회지. 2000;31(3):310-9.
71. Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, Aljada A, Browne R, Hamouda W, Prabhala A, Afzal A, Garg R. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:355-62.
72. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, Quagliaro L, Ceriello A, Giugliano D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 2002;106:2067-72.
73. Choi JY, Jang EH, Park CS, Kang JH. Enhanced susceptibility to MPTP neurotoxicity in high-fat diet-induced obesity. *Free Rad Biol Med.* 2005;38:806-16.
74. Choi JW, Pai SH, Kim SK, Park CS, Cha YN. Increases in nitric oxide concentrations correlate strongly with body fat in obese humans. *Clin Chem.* 2001;47:1106-9.
75. Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension.* 2004;44:248-52.
76. Fortuno A, Olivan S, Beloqui O, San Jose G, Moreno MU, Diez

- J, Zalba G. Association of increased phagocytic NADPH oxidase-dependent superoxide production with diminished nitric oxide generation in essential hypertension. 2004;22:2169–75.
77. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79–83.
  78. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1595–9.
  79. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. The peroxisome proliferator activated receptors (PPARS) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1302:93–109.
  80. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR- $\gamma$  agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*. 1998;391:79–82.
  81. Raju J, Bird RP. Energy restriction reduces the number of

- advanced aberrant crypt foci and attenuates the expression of colonic transforming growth factor beta and cyclooxygenase isoforms in Zucker obese (fa/fa) rats. *Cancer Res.* 2003;63:6595-601.
82. Hide I, Toriu N, Nuibe T, Inoue A, Hide M, Yamamoto S, et al. Suppression of TNF- $\alpha$  secretion by azelastine in a rat mast (RBL-2H3) cell line: evidence for differential regulation of TNF- $\alpha$  release, transcription, and degranulation. *J Immunol.* 1997;159:2932-40.
83. Watson AM, Poloyac SM, Howard G, Blouin RA. Effect of leptin on cytochrome P-450, conjugation, and antioxidant enzymes in the ob/ob mouse. *Drug Metabolism Disposition.* 1999;27(6):695-700.
84. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 1996;334(5):292-5.
85. Konukoglu D, Turhan MS, Ercan M, Serin O. Relationship between plasma leptin and zinc levels and the effect of insulin and oxidative stress on leptin levels in obese diabetic patients. *J Nutr Biochem.* 2004;15(12):757-60.
86. 장지선, 홍창배, 이지은, 김홍수, 박주식, 김기진. 12주간 복합운동이 비만 및 당뇨병을 가진 중년여성의 신체구성 및 동맥경화지표에 미치는 영향. *운동과학.* 2006;15(1):105-16.
87. Siegmund B, Sennello JA, Jones-Carson J,

Gamboni-Robertson F, Lehr HA, Batra A, Fedke I, Zeitz M, Fantuzzi G. Leptin receptor expression on T lymphocytes modulates chronic intestinal inflammation in mice. Gut. 2004;53:965-72.



## Abstract

### Anti-Obesity Effect of Wild Ginseng Complex Pharmacopuncture on Adipocyte and High Fat Diet-Induced Obese C57BL/6J mice

Min-Woo Kim

Supervised by Prof. Yun-Kyung Song,  
O.M.D., Ph.D.

Dept. of Oriental Medicine  
Graduate School of  
KyungWon University

The study was designed to experiment the anti-obesity and anti-inflammatory effects of wild ginseng complex pharmacopuncture which was made with mixture of *Wild ginseng*, *Bovis Calculus*, *Ursi Fel* and *Moschus* to the adipocyte and C57BL/6J mice which was induced obesity with high-fat diet.

As a result of treating wild ginseng complex pharmacopuncture to NIH/3T3 mouse fibroblast(3T3-L1) and Raw264.7 mouse

macrophage(macrophage cell), using MTT assay principles, there was no cytotoxicity except 50% concentration.

When wild ginseng complex pharmacopuncture was treated to 3T3-L1 which is preadipocyte, NO production was increased. In Oil Red O experiment, accumulation of fat was significantly reduced. In case of treating 10% of wild ginseng complex pharmacopuncture, adiponectin and PPAR- $\gamma$  was expressed 최대로. So wild ginseng complex pharmacopuncture has an anti-obese effect.

In case of treating wild ginseng complex pharmacopuncture to macrophage cell, NO production was restrained. And iNOS, COX-2 and NF- $\kappa$ B revelation was reduced. So we could identify effects of hinderance of inflammation.

After injecting wild ginseng complex pharmacopuncture in corresponding part of 脾俞(BL23) for 6 weeks' mice, it was identified that it has an efficacy of restraining a body weight gain. After 6 weeks, as a result of measuring the weight of mice's liver, kidney and epididymis, the weight reduced comparing with high fat diet group, so it came out that it has prevention effect in accumulation of fats.

The AST, ALT,  $\gamma$ -GTP, BUN level were lower in group of wild ginseng complex pharmacopuncture than the group of high fat diet.

After measuring blood lipids, total cholesterol and LDL-cholesterol level were normal in group of wild ginseng



complex pharmacopuncture and HDL cholesterol level were higher than the group of high fat diet. Concentrations of Plasma insulin and blood leptin were lower in group of wild ginseng complex pharmacopuncture than the group of high fat diet.

From all these results, the wild ginseng complex pharmacopuncture showed the significant efficacy as a obesity treatment and it is thought as a safe treatment that could expect even the efficacy of anti-inflammatory.

Keywords: Wild ginseng complex pharmacopuncture, Obesity, Anti-obesity, Anti-inflammation, Adipocyte.