고지방 식이로 비만이 유도된 C5BL/6 마우스에서 익이인 물 추출물의 항비만 효과

송미영 · 정효원¹ · 박용기¹

동국대학교 한의과대학 한방재활의학교실, ¹본초학교실

Antiobesity Effect of Water Extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* in High Fat Fed C5BL/6 Mice

Mi-Young Song, Hyo Won Jung¹, Yong-Ki Park¹

Departments of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine and ¹Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University

Received: May 20, 2016
Revised: June 7, 2016
Accepted: June 9, 2016

Correspondence to: Yong-Ki Park
Department of Herbology, College of
Korean Medicine, Dongguk University,
123 Dongdae-ro, Gyeongju 38066,
Korea
Tel: +82-54-770-2647
Fax: +82-54-770-2001
E-mail: yongki@dongguk.ac.kr
Copyright © 2016 by The Society of Korean
Medicine for Obesity Research

Objectives: This study investigated the effects of water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* on obesity and its associated factors in high fat diet (HFD) induced obese mice.

Methods: Male C5BL/6 mice were randomly assigned to 4 groups, normal group (chow diet), a HFD, HFD with water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* 100 mg/kg (W-Coix), and HFD with phentermine 5 mg/kg (Phen) as positive control. Body weight, food intake, fasting blood glucose were checked every week and then organs, blood serums were collected after 16 weeks of treatment.

Results: Body weight and adipocyte size were significantly lesser in W-Coix than in HFD group; however energy efficiency in W-Coix were not different with HFD. The oral glucose tolerance test, serum glucose and insulin were significantly decreased in W-Coix, also lipid accumulations in liver tissue and lipid levels (total cholesterol, high density lipoprotein-cholesterol) were improved with W-Coix treatment. However skeletal muscle loss with HFD was not changed in W-Coix compared with HFD group.

Conclusions: The W-Coix treatment decreased body weight, adipocyte size and it is associated with improved glucose and lipid metabolism. Further studies are needed to know the mechanism of antiobesity in W-Coix.

Key Words: *Coix lacrymajobi* var. *mayuen*, C5BL/6 mouse, Obesity, Glucose, Lipid, Liver

서론

비만은 체지방이 과잉 축적된 상태로써, 2형 당뇨, 고지혈증, 고혈압 등의 대사증후군과 직접적으로 연결된다¹⁾. 전 세계적으로 유병률이 크게 증가하여 2014년 기준 1980년 보다 비만 인구가 2배 이상 증가하여, 전 세계 성인 인구 중 19억 명 이상이 과체중 이상이며, 그 중 6억 명 이상이 비만인 것으로 나타났다²⁾. 국내에서도 비만 유병률이 성인 인구의 32.9%에 해당하고 있는 상황이다³⁾.

한의학에서는 비만의 원인을 주로脾虛, 痰飲, 陽虛, 肝

鬱, 瘀血, 食積 등으로 구분하여 치료하고 있다. 특히脾虛하여 비장의 運化기능이 저하되어 濕痰, 痰飲으로 생기고 이로 인해 비만해지는 경우에는 補氣健脾, 祛濕化痰의 처방을 사용할 수 있다⁴⁾. 익이인(*Coix lacrymajobi* var. *mayuen*)은 벼과에 속하는 일년생 초본인 율무의 성숙한 종인을 건조한 것으로 性은 涼하고 味는 甘淡하다. 健脾滲濕, 除痺止瀉, 清熱排膿 등의 효능⁵⁾이 있어 특히脾虛를 동반한 痰飲型的 비만에 사용할 수 있는 약물로 한의 임상에서 비만 치료에 다용되고 있는 약물 중 하나이다.

익이인에 대한 실험적 연구로는 염증성 질환^{6,7)}, 고지혈

중⁸⁾, 항산화작용⁹⁾, 항당뇨작용¹⁰⁾ 등에 대한 연구들이 보고되어 있다. 한편, 의이인의 항비만 작용과 관련하여 식이로 유도된 비만형 동물모델에서 의이인 물 추출물을 투여한 결과 섭식 관련 신경내분비계에 작용하여 섭식을 조절하는 것으로 나타났다¹¹⁾. 또한 비만형 동물 모델을 사용한 다른 또 다른 연구에서는 의이인 에탄올 추출물이 혈당강하, 인슐린 저항성 개선 및 염증 관련 사이토카인을 억제시킨 것으로 보고된 바 있다¹²⁾.

한편, 펜터민은 1959년 미국 식품의약국의 승인을 받은 이후 50년 이상 사용되고 있는데 대표적인 항비만 약물로 중추신경계에 작용하여 식욕을 억제하여 체중 감량 효과를 나타낸다. 중추신경계 작용으로 인한 부작용 및 장기 사용 부적합 등의 문제점이 있지만^{13,14)}, 식욕 억제 효과, 저렴한 약가 등의 장점으로 다빈도로 처방되고 있는 항비만 약물이 다¹⁵⁾. 본 연구에는 대표적인 항비만 약물인 펜터민을 양성 대조군을 사용하여 실험 약물인 의이인의 항비만 효능 분석을 보다 엄격히 평가하고자 하였다.

이에 본 연구에서는 한의 임상에서 사용하는 물 추출물 방식을 통해 제조된 의이인을 고지방 식이로 유도된 비만형 동물모델에 투여하여 의이인의 항비만 효과를 보다 구체적으로 평가하였다. 그 결과 체중감소, 간의 지질 침착 개선, 인슐린 저항성 개선 및 혈중지질 개선 등에 유의한 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 약재

의이인은 껍질을 포함한 현미 의이인(한국)을 (주)광명당 제약(Ulsan, Korea)으로부터 구입하였다. 시료의 조제는 약재 200 g에 증류수 10배량을 가하여 2시간 동안 환류추출(100°C)하고, 전액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 후 잔류물에 동량의 물을 첨가하여 동일방법으로 2차 추출하였다. 모든 추출액을 합하여 감압농축(Buchi Rotavapor R-114 system) 후 동결건조(Freeze Dryer FD5508A; Ilsin Lab., Yangju, Korea)함으로써 물추출물 건조분말을 제조하였다(51.3%). 추출물은 밀폐 용기에 넣어 냉동보관하고 실험 직전에 생리식염수에 적정 농도로 녹여 시험약물로 사용하였다.

2. 실험동물 및 모델 제작

실험동물은 5주령 C57BL/6 수컷 마우스를 (주)샘타코바 이오코리아(Samtako Bio Korea, Osan, Korea)로부터 구입하였다. 모든 실험동물은 동물보호법 13조 규정에 따라 관리하였으며, 실험기간 동안 항온, 항습이 가능한 사육장에서 실내온도 $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\% \pm 5\%$, 명암 12시간(day light 06:00~18:00)을 주기로 실험종료 시까지 일정한 사육조건 환경을 유지하였다. 구입 후 1주 동안 적응기간을 주었으며 일반적인 행동 이상 여부를 관찰하여 이상이 관찰되는 동물은 실험에 사용하지 않았다. 실험군은 각 10마리씩, 정상식이군(normal), 고지방식이군(high fat dieth, HFD), 의이인 투여군(W-Coix) 및 양성 대조군인 펜터민 투여군(Phen)으로 나누었다. 정상식이군을 제외한 나머지 3개의 군들은 고지방 식이를 약물 투여 없이 1주간 섭취시켰다. 이를 통해 정상식이군에 비해 10% 이상의 체중 증가가 유도된 것을 확인한 후, 고지방 식이를 지속하면서 HFD에는 생리식염수, 의이인 투여군에는 의이인 물 추출물 100 mg/kg 및 펜터민 투여군에는 펜터민 5 mg/kg을 각 16주간 경구 투여하였다. 정상식이 사료는 엔비고사(Envigo, Alconbury Huntingdon, UK)의 2018S 사료를 사용하였고, 고지방식이 사료는 60 kcal%의 지방을 함유하는 Research diets사(New Brunswick, NJ, USA)의 D12492를 사용하였다(Table 1).

3. 체중, 음수량, 섭식량 변화 및 혈당 측정

체중은 실험기간 동안 매주 1회 측정하였고, 또한 실험기간 동안 3일 간격으로 음수량과 섭식량을 측정하였다. 혈당은 매주 1회 12시간 이상 절식시킨 후 모든 동물의 꼬리정맥으로부터 혈액(fasting blood glucose)을 수집하여 혈당 측정검사지(Accu-Check)를 이용하여 측정하였다.

Table 1. Composition of Normal (Chow) Diet and High Fat Diet

Ingredient	ND (%)	HFD (kcal%)
Fat	18	60
Protein	24	20
Carbohydrate	58	20
Total	100	100

ND: normal diet, HFD: high fat diet.

4. 경구내당능 측정

경구내당능검사(oral glucose tolerance test, OGTT)는 약물투여 마지막 날 12시간 이상 모든 동물을 금식시키고 실시하였다. 포도당 용액을 체중(kg)당 2 g씩 경구 투여한 다음 0, 30, 60, 90, 120분에 각각 실험동물의 꼬리정맥으로부터 혈액을 수집하고 혈당측정기를 이용하여 혈당변화를 측정하였다.

5. 혈중 인슐린, 지질 및 간 수치 변화 측정

약물투여 종료 후 최소 12시간 이상 절식 시킨 후 모든 동물을 희생시키고 복대정맥으로부터 혈액을 수집하였다. 수집된 혈액은 6,000 rpm에 15분간 원심 분리함으로써 혈청을 분리하였으며, -80°C 에 보관하면서 혈액마커 측정을 위한 시료로 사용하였다.

인슐린의 농도는 mouse insulin ELISA kit (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA)를 사용하여 측정하였으며, 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), 고밀도 지질단백질(high-density lipoprotein, HDL), 저밀도 지질단백질(low density lipoprotein, LDL), 중성지방(triglyceride, TG)의 농도를 각 측정용 키트(AM 202-K, AM 203-KTC, AM 157S-K; HBi Bio. Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. 혈청 간 수치의 변화를 확인하기 위해 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)와 glutamate pyruvate transaminase (GPT)의 활성을 각각의 측정용 키트(Asan Pharm. Co., Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다. 혈청 내 GOT와 GPT의 농도는 키트 내 표준액의 검량곡선을 기준으로 산출하였으며, 혈청 1 ml당 Karmen unit ($\text{Karmen Unit} = \text{IU/L} \times 2.10$)으로 나타내었다.

6. Hematoxylin & eosin 염색

모든 실험동물을 희생시키고 심장에서부터 생리식염수를 관류하여 혈액을 제거한 후 부고환지방, 간, 췌장 및 하퇴후부 골격근을 적출하였다. 적출한 조직은 생리식염수로 세척한 다음 여과지로 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다. 이어서 4%의 paraformaldehyde에 24시간 담가 고정하고, 파라핀 포매 과정을 거친 후 조직 절편기(microtome)를 이용하여 3 μm 두께로 박절하여 조직슬라이드를 제작하였다. 각 조직 슬라이드를 헤마톡실린(hematoxylin)과 에오

신(eosin)으로 염색하였으며, 광학현미경(Leica DM 500; Leica, Wetzlar, Germany)을 통해 조직학적 변화를 관찰하였다. 지방 조직의 크기는 ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)의 자동 측정 프로그램을 이용하여 측정하였다.

7. Oil red O 염색

간조직을 절취하여 20% sucrose가 포함된 Bouin's solution으로 고정한 다음 phosphate-buffered saline solution에 수세한 후 물기를 제거하고 동결조직 포매제인 optical cutting temperature compound (Sakura Finetek USA Inc., Torrance, CA, USA)에 고정시켜 동결조직 block을 만들고 조직 절편기로 절단하였다. 간조직 절편은 free floating method를 이용하여 Oil red O 염색을 시행하여 광학현미경(Leica DM 500; Leica)으로 관찰한 후 촬영하였다.

8. 통계분석

각 실험 모든 측정값은 평균 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ standard deviation)로 표시하였고 통계적 분석은 GraphPad Prism program ver 5.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA)을 이용하여 ANOVA test로 각 군 간의 차이를 분석하였으며, P값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 체중

실험 종료 시 체중은 정상식이군 31.1 ± 2.4 g, HFD 46.5 ± 2.2 g, 의이인군 42.8 ± 2.2 g 및 양성대조군인 펜터민군이 42.8 ± 2.7 g으로, 의이인군과 펜터민군이 HFD에 비해서 체중이 유의하게 감소하였다($P < 0.05$). 실험 기간 동안의 총 섭취 칼로리는 HFD ($1,887.9 \pm 50.4$ kcal)에 비해서 의이인군($1,566.3 \pm 87.0$ kcal)과 펜터민군($1,552.0 \pm 92.6$ kcal)이 유의하게 낮았으며($P < 0.05$), 총 섭취 칼로리를 체중 증가량으로 나누어 계산한 에너지 효율이 HFD와 의이인 및 펜터민군 간 차이가 없는 것으로 나타났다.

기존 연구에서도 비만형 동물모델에서 의이인 물 추출물

이 고지방 식이 대조군에 비해 섭취량이 유의하게 감소한 것으로 나타났는데(Fig. 1), 의이인 투여 시 neuropeptide Y와 leptin receptor가 유의하게 감소하였으며, 이는 의이인이 시상하부 섭식 조절 중추에 작용하여 식이조절 효능을 가지는 것으로 추측되는 결과이다¹¹⁾. 따라서 본 연구 및 위의 기존 연구 결과를 통해 의이인은 에너지 섭취 감소와 에너지 소비 증가라는 비만 억제에 위한 두 가지 작용 중 에너지

지 섭취 감소를 통한 체중 감량 효과와 더욱 관련 있을 것으로 생각되었다.

2. 백색지방조직

백색지방 조직에서 지방세포의 크기 변화를 평가하기 위해 부고환 조직을 채취하여 슬라이드를 제작한 후, H&E 염색 후 지방세포의 모양을 관찰하였다. 비만도가 증가할수록

Fig. 1. Effect of W-Coix on body weight in high fat induced obese mice. (A) Body weight, (B) Food intake for total experimental periods, (C) Energy efficiency. Values are represented as mean $\pm$ standard deviation ($n=10$). Nor: normal diet, HFD: high fat diet, W-Coix: high fat diet with water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* 100 mg/kg, Phen: phentermine 5 mg/kg. *** $P < 0.001$ vs. normal group or ### $P < 0.01$ and #### $P < 0.001$ vs. high fat diet control group.

Fig. 2. Effects of W-Coix on histology of epididymal adipose tissue in high fat induced obese mice. (A) Morphological change of H&E stained epididymal tissue ($\times 100$ magnification), (B) Adipocyte size. Values are represented as mean $\pm$ standard deviation ($n=10$). Nor: normal diet, HFD: high fat diet, W-Coix: high fat diet with water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* 100 mg/kg, Phen: phentermine 5 mg/kg. * $P < 0.05$ vs. normal group or # $P < 0.05$ vs. high fat diet control group.

지방조직이 비대되어 면적이 증가하게 된다¹⁶⁾. 정상식이군에 비해서 HFD에서 뚜렷한 지방세포의 비대를 관찰할 수 있었으며, HFD에 비해서 의이인군에서 지방세포 크기의 감소를 확인할 수 있었으며, 양성대조군인 펜터민과 유사하게 보였다. 지방세포 면적을 분석한 결과 정상식이군에 비해서 HFD에서 지방세포 평균 면적이 83.2% 유의하게 증가하였으며($P<0.05$), 의이인군에서는 HFD에 비해서 29.0% 유의하게 감소하였다($P<0.05$). 또한 양성대조군인 펜터민군에서는 HFD에 비해서 34.9% 유의하게 감소한 것으로 나타났다($P<0.05$). 이를 통해 의이인의 항비만 효과를 지방세포의 크기 감소(Fig. 2)를 통해서도 재차 확인할 수 있었다.

3. 간조직 및 혈중 간기능마커

간조직의 지질 축적 상태를 Oil red O 및 H&E 염색법을 통해 각각 평가하였다. Oil red O 염색에 의하여 지질은 붉은색으로 염색되는데¹⁷⁾, HFD에 비해서 의이인군 및 펜터

민군 모두 지질 축적이 감소된 것으로 나타났다. 또한 H&E 염색으로 간조직을 관찰한 결과, 정상식이군과 HFD에서는 지방구의 크기 및 개수가 현저하게 증가하여, 비만으로 유도된 지방간의 형태가 나타났으며, 의이인 투여군과 펜터민 투여군에서 간의 지질 축적 양상이 두 군 간 유사한 정도로 HFD에 비해서 개선된 것을 확인하였다. 이상과 같이 Oil red O와 H&E 염색 조직 모두에서 의이인의 간 조직내 지질 축적 감소 효과를 확인할 수 있었다(Fig. 3A, B). 또한 일반적으로 비만으로 간조직의 지방축적이 증가하면서 간의 무게가 증가한 것으로 알려져 있다¹⁸⁾. 간조직의 무게를 측정한 결과 정상식이군(1.56 ± 0.14 g)보다 고지방 식이군(2.18 ± 0.81 g)에서 유의하게 증가하였으며($P<0.001$), 의이인 투여군 및 펜터민 투여군이 각각 1.81 ± 0.37 g, 1.69 ± 0.41 g으로 HFD보다 유의하게 감소하였다($P<0.05$).

비만으로 인한 간손상 및 약물의 간기능 보호효과를 평가하기 위하여 가장 일반적인 간기능 평가 항목인 GOT, GPT의 혈청 농도를 측정하였다(Fig. 3C). 정상식이군에 비

Fig. 3. Effect of W-Coix on morphology and function of liver in high fat induced obese mice. H&E staining of liver tissue ($\times 100$ magnification) (A), Oil red O staining of liver tissue ($\times 200$ magnification) (B), liver weight (C) and serum GPT and GOT levels (D). Values are represented as mean $\pm$ standard deviation ($n=10$). Nor: normal diet, HFD: high fat diet, W-Coix: high fat diet with water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* 100 mg/kg, Phen: phentermine 5 mg/kg, GPT: glutamate pyruvate transaminase, GOT: glutamate oxaloacetate transaminase. *** $P<0.001$ vs. normal group or # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$ vs. high fat diet control group.

해서 HFD에서 GOT, GPT의 상승이 나타났으며($P < 0.001$), 의이인 투여군에서 고지방 식이군에 비해 유의하게 GOT 및 GPT가 감소하였다($P < 0.05$). 이와 같은 결과를 통해 의이인이 비만으로 야기된 간의 지질 축적을 개선시키고, 간기능 보호 작용을 나타냄을 확인할 수 있었다(Fig. 3D).

4. 혈당 및 내당능장애

비만도가 증가할수록 인슐린저항성으로 인해 내당능 장애가 생기고, 고인슐린혈증, 고혈당증이 나타나는 것으로 알려져 있다¹⁹⁾. 내당능 장애를 OGTT를 통해 측정하였으며, 그 결과 HFD에서 정상식이군에 비해서 곡선하면적(area under the curve)이 32.9% 증가하였으며, 의이인군과 펜터민군은 HFD에 비해서 각각 20.2% 및 17.1% 감소한 것으로 나타났다. 또한 고혈당 상태를 평가한 결과, 공복 혈당의 변화가 OGTT의 변화 양상과 비슷하게 나타났다(Fig. 4A). HFD (191.9 ± 8.6 mg/dl)가 정상식이군(121.0 ± 12.4 mg/dl)보다 58.6% 유의하게 상승하였으며($P < 0.001$), 의이인군(149.3 ± 13.7 mg/dl)에서는 HFD보다 28.6% 유

의하게 감소하였으며($P < 0.001$), 펜터민군(151.5 ± 29.9 mg/dl)에서도 26.7% 유의하게 감소하였다($P < 0.001$). 고인슐린혈증을 평가하기 위하여 혈중 인슐린 농도를 측정된 결과, HFD (2.69 ± 0.69 ng/ml)보다 의이인군(2.12 ± 0.15 ng/ml)에서 유의하게 혈중 인슐린이 감소하였으나($P < 0.001$), 펜터민군은 유의성이 나타나지 않았다(Fig. 4B).

또한 췌장 조직을 H&E 염색하여 랑게르한스섬을 중심으로 췌장의 조직학적인 변화를 관찰하였다(Fig. 4C). 정상식이군에서는 선세포(acini cell)가 모여 공 모양을 이루는 랑게르한스섬(islet of Langerhans)의 전형적인 형태가 관찰되었다. 그러나 HFD에서는 랑게르한스섬의 위축이 관찰되었고²⁰⁾, 의이인 및 펜터민군에서는 위축이 줄어든 양상을 나타내었다. 이와 같이 의이인이 비만으로 인한 내당능 장애, 고혈당증, 고인슐린혈증 및 췌장 랑게르한스섬의 보호작용 등을 통해 항당뇨 효능을 동시에 나타냄을 확인할 수 있었다(Fig. 4D). 기존연구에서도 의이인의 항당뇨 작용과 관련하여서 당뇨병 동물모델에서 유의한 혈당 강하효과를 나타내었으나, 당 조절 기전에 대해서는 구체적으로 밝혀진 바가 없었다. 체중 감량 효과가 의이인과 펜터민이 유사함

Fig. 4. Effect of W-Coix on glucose metabolism in high fat induced obese mice. (A) Oral glucose tolerance test, (B) Serum glucose, (C) Serum insulin, (D) Histological changes in H&E stained pancreas tissue ($\times 200$ magnification). Values are represented as mean $\pm$ standard deviation ($n=10$). Nor: normal diet, HFD: high fat diet, W-Coix: high fat diet with water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* 100 mg/kg, Phen: phentermine 5 mg/kg. *** $P < 0.001$ vs, normal group or # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ vs, high fat diet control group.

에도 불구하고, 항당뇨 효능은 OGTT 및 serum insulin 측정에서는 의이인이 보다 우수한 것으로 나타났는데, 의이인의 항당뇨 효능에 대한 기전 연구가 보다 필요할 것으로 생각된다.

5. 혈중지질

혈중 지질 개선과 관련하여 TC, TG 및 HDL-콜레스테롤의 수치를 측정하였다. TC는 HFD (240.7 ± 11.6 mg/dl)에서 비해서 의이인군(107.7 ± 19.7 mg/dl)과 펜터민군(88.5 ± 2.9 mg/dl) 모두 유의하게 감소한 것으로 나타났다($P < 0.001$). HDL-콜레스테롤 역시 유사한 양상으로 HFD보다 의이인군에서 유의한 개선 효과를 나타내었는데(Fig.

5A), HFD 53.1 ± 12.9 mg/dl, 의이인군 75.7 ± 5.8 mg/dl로 의이인군에서 유의하게 HDL-콜레스테롤이 상승하였다($P < 0.001$) (Fig. 5B). 그러나 TG는 정상식이군, HFD, 약물 실험군 모두에서 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 5C).

6. 골격근 조직

골격근은 에너지 대사의 중요한 부분을 차지하며, 비만도가 증가할수록 골격근 비율이 감소하며, 이는 신체 운동 기능 감소, 인슐린저항성 증가, 에너지대사율 감소 등과 연관된 것으로 알려져 있다²¹⁻²³. 골격근 조직을 횡단면으로 절편하여 H&E 염색 후 근섬유의 형태를 조직학적으로 관

Fig. 5. Effect of W-Coix on serum lipid levels, (A) Total cholesterol, (B) HDL-cholesterol, (C) Triglyceride. Values are represented as mean $\pm$ standard deviation ($n=10$). Nor: normal diet, HFD: high fat diet, W-Coix: high fat diet with water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* 100 mg/kg, Phen: phentermine 5 mg/kg, HDL: high density lipoprotein, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs. normal group or ### $P < 0.001$ vs. high fat diet control group.

Fig. 6. Effect of W-Coix on skeletal muscle in high fat induced obese mice. (A) Histological changes in H&E stained skeletal muscle ($\times 200$ magnification). (B) Cross section area of skeletal muscle, (C) Muscle weight (MW) to body weight (BW) ratio. Values are represented as mean $\pm$ standard deviation ($n=10$). Nor: normal diet, HFD: high fat diet, W-Coix: high fat diet with water extract of *Coix lacrymajobi* var. *mayuen* 100 mg/kg, Phen: phentermine 5 mg/kg, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$ vs. normal group.

찰하였다. 근섬유의 단면적을 측정된 결과, 정상식이군보다 HFD에서 유의하게 감소하였으며($P<0.05$) (Fig. 6A), 의이 인군과 펜터민군 모두 HFD과 비교 시 차이가 없는 것으로 측정되었다. 또한 Aguiar 등²³⁾의 방법을 따라 체중 중 골격근의 비율을 측정된 결과(Fig. 6B), 정상식이군보다 HFD에서 유의하게 감소하였으며($P<0.001$), 앞선 근육 조직의 단면적 측정 결과와 유사하게, 의이인군과 펜터민군 모두 HFD과 비교 시 뚜렷한 차이가 없는 것으로 나타났다. 이에 의이인은 비만으로 인한 골격근량의 감소 및 근육 위축의 개선에는 뚜렷한 효과가 없는 것으로 확인되었다(Fig. 6C).

결론

고지방 식이로 유도된 C57BL/6 마우스 비만형 동물모델에 의이인 물 추출물(100 mg/kg)을 16주간 투여한 결과, 식이억제작용과 관련된 것으로 예상되는 체중 감소가 나타났다. 지방세포 크기 감소, 간조직내 지질침착 감소 및 간 기능 개선 효과를 확인할 수 있었다. 또한 고혈당증, 고인슐린혈증, 내당능 상태가 개선되었으며, 혈중 지질 개선 효능 역시 확인할 수 있었다. 그러나 비만으로 인한 골격근 감소 개선에는 뚜렷한 효과가 없는 것으로 확인되었다. 이상과 같은 의이인 물 추출물의 항비만 효능을 확인할 수 있었으며, 의이인의 항비만 작용 기전에 대해서 추후 연구가 필요 하겠다.

감사의 글

이 논문은 동국대학교 교내연구비 지원을 받아 수행된 연구임.

References

- Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet*. 2005 ; 366(9442) : 1197-209.
- World Health Organization (WHO). Obesity and overweight [Internet]. Geneva: WHO; [cited 2016 May 18]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
- Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea National Health and Nutrition Examination Survey [Internet]. Cheongju: Korea Centers for Disease Control and Prevention; [cited 2016 May 18]. Available from: <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/index.do>.
- The Society of Korean Medicine Rehabilitation. Korean Rehabilitation Medicine. 4th ed. Seoul : Koonja. 2015 : 299-300.
- The Korean Compilation Committee of Herbology. Herbology. Seoul : Younglimsa. 2012 : 350.
- Yun HJ, Lee YJ, Kang MS, Baek JH. Inhibitory effect of coicis semen extract (CSE) on pro-inflammatory mediatory. *J Korean Orient Pediatr*. 2009 ; 23(1) : 159-71.
- Woo YE, Kim HK, Song BK, Lee EJ. Effects of coicis semen on the immune responses in the mouse. *Korean J Orient Med*. 1996 ; 2(1) : 269-88.
- Lee YJ, Sohn YJ, Lim DB, Lee ES, Park JS, Kim SK. Effects of coicis semen on the hyperlipidemia induced by fructose-rich chow in rat. *Korean J Herbol*. 2006 ; 20(1) : 85-92.
- Park YK, Kang BS. Studies on the effects of coicis semen and Sophorae radix on antioxidation. *Korean J Herbol*. 2000 ; 15(2) : 57-67.
- Yeh PH, Chiang W, Chiang MT. Effects of dehulled adlay on plasma glucose and lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats fed a diet enriched in cholesterol. *Int J Vitam Nutr Res*. 2006 ; 76(5) : 299-305.
- Kim SO, Yun SJ, Lee EH. The water extract of adlay seed (*Coix lachrymajobi* var. *mayuen*) exhibits anti-obesity effects through neuroendocrine modulation. *Am J Chin Med*. 2007 ; 35(2) : 297-308.
- Oh JS. The effects in insulin resistance and inflammation of *Coix lachrymajobi* var. *mayuen* on obese mouse. Master's thesis. Naju: Dongshin University. 2016 : 1-61.
- Samanin R, Garattini S. Neurochemical mechanism of action of anorectic drugs. *Pharmacol Toxicol*. 1993 ; 73(2) : 63-8.
- Roth JD, Rowland NE. Efficacy of administration of dexfenfluramine and phentermine, alone and in combination, on ingestive behavior and body weight in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1998 ; 137(1) : 99-106.
- Dailypharm [Internet]. Seoul: Dailypharm; [cited 2016 May 18]. Available from: <http://www.dailypharm.com/News/195442>.
- Jo J, Gavrilova O, Pack S, Jou W, Mullen S, Sumner AE, et al. Hypertrophy and/or hyperplasia: dynamics of adipose tissue growth. *PLoS Comput Biol*. 2009 ; 5(3) : e1000324.
- Mehlem A, Hagberg CE, Muhl L, Eriksson U, Falkevall A. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. *Nat Protoc*. 2013 ; 8(6) : 1149-54.
- Han CT, Lee SH, Lim SB, Kong HS, Kim SH, Lee SK, et al. Studies on production of high fat diet induced obesity C57BL/6NCRjBgi mice. *Lab Anim Res*. 2006 ; 22(3) : 221-6.
- Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000 ; 106(4) : 473-81.

20. Jones HB, Bigley AL, Pemberton J, Randall KJ. Quantitative Histopathological assessment of retardation of islets of langerhans degeneration in rosiglitazone-dosed obese ZDF rats using combined insulin and collagens (I and III) immunohistochemistry with automated image analysis and statistical modeling. *Toxicol Pathol.* 2013 ; 41(3) : 425-44.
21. Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, du Toit EF, Engelbrecht AM. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Exp Physiol.* 2011 ; 96(2) : 179-93.
22. Pompeani N, Rybalka E, Latchman H, Murphy RM, Croft K, Hayes A. Skeletal muscle atrophy in sedentary Zucker obese rats is not caused by calpain-mediated muscle damage or lipid peroxidation induced by oxidative stress. *J Negat Results Biomed.* 2014 ; 13 : 19.
23. Aguiar AF, de Souza RW, Aguiar DH, Aguiar RC, Vechetti IJ Jr, Dal-Pai-Silva M. Creatine does not promote hypertrophy in skeletal muscle in supplemented compared with nonsupplemented rats subjected to a similar workload. *Nutr Res.* 2011 ; 31(8) : 652-7.