



Original research article

국내 양봉농가에서 채취한 정제봉독(*Apis mellifera* L.)의 지방세포 분화 억제 효과

한상미*, 김효영, 우순옥, 김세건, 최홍민, 문효정

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부

Inhibitory Effect of Purified Bee Venom (*Apis mellifera* L.) on Adipogenesis in Korea

Sang Mi Han*, Hyo Young Kim, Soon Ok Woo, Se Gun Kim, Hong Min Choi and Hyo Jung Moon

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

Abstract

Bee (*Apis mellifera* L.) venom is used for the treatment of various human diseases due to its known anti-inflammatory and antibacterial properties. This study investigated the effect of purified bee venom (PBV) on adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. There was no cytotoxicity while cells were treated with PBV by various concentrations. In the PBV treated cells increases in fat storage were inhibited and also confirmed by oil red o staining. To understand the underlying mechanism at the molecular level were examined on the expression of the genes involved in adipogenesis by using real-time PCR. In this cell model, the mRNA level of adipogenic genes such as peroxisome-proliferator-activated receptors gamma (PPAR γ) and CAAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBP α) were decreased by PAE treatment, comparing with those of control group. Theses results suggest that PBV inhibits adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells and can be used as an efficient natural substance to manage anti-obesity.

Keywords

Apis mellifera, Purified bee venom, Adipocyte differentiation, Lypolysis

서론

비만은 정상인에 비해 당뇨, 고혈압, 심혈관계 질환, 골다공증 등 각종 대사성 질환 발생 위험 증가와 함께 각종 암을 유발하고 사망위험을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Bessesen and Van Gaal, 2018). 우리나라 성인 비만인구는 1998년도 26.0%에서 2018년도 34.8%로 10년 동안 지속적으로 증가되었다(Ministry of Health and Welfare, 2018). 특히 청소년 비만율은 26%로 OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) 평균인 25.6% 수준보다 높으며 체질량지수 30 이상인 고도 비

만율도 매년 증가하는 추세이다(Ministry of Health and Welfare, 2018). 아동 청소년기 비만은 대부분 성인 비만으로 이행되고 서구식 식생활이 만연되고 있는 상황에서 선제적인 대책이 필요하다. 비만으로 인한 사회경제적 비용도 4배 이상 급증하고 있으며 정부의 국민건강증진 종합계획에서는 2020년까지 비만인구수의 증가를 억제하는 것을 목표로 설정하고 있다(Ministry of Health and Welfare, 2015). 비만으로 인한 여러 질병에 대한 부담을 감소하기 위하여 항비만 연구가 활발하게 진행되고 있다.

비만은 비정상적인 지방세포 크기 (hypertrophy)와 숫

자의 증가가 지방 축적의 직접적인 원인으로 알려져 있다 (Peng *et al.*, 2014). 지방세포는 체내 대사에 있어 단순히 에너지 저장기관으로서 뿐만 아니라 여러 가지 호르몬을 분비하는 내분비기관으로서 생체에너지 항상성을 조절하는 중요한 대사기관이다 (Trujillo and Scherer, 2006; Peng *et al.*, 2014). 특히, 지방세포의 숫자가 증가하는 과다형성은 전지방세포가 지방세포로 분화되는 지방세포 분화 과정과 밀접한 관련이 있으며, 지방세포 분화는 특이적 전사인자의 발현에 의한 체계적 신호전달 과정을 통해 진행된다고 알려져 있다 (Peng *et al.*, 2014). 지방세포 분화 과정을 직간접적으로 조절하는 전사인자들이 여러 연구자들에 의해 보고되었는데 그중 대표적인 것이 CCAAT/enhancer binding protein family (C/EBPs)와 peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)가 있다. 일반적으로 C/EBP β 는 adipogenesis 과정 초기에 발현되어 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현을 유도함으로써 지방세포 분화 과정을 촉진하는 것으로 알려져 있다 (Rosen and Spiegelman, 2000; White and Stephens, 2010). 소아 및 청소년기는 특히 지방세포 크기 및 수가 함께 증가하고 관련기관들이 형성되는 시기로서 전 지방세포가 지방세포로 분화되는 지방세포 분화 과정의 조절은 비만예방 및 관리에 있어 중요한 요소이다 (Gregoire *et al.*, 1998). 따라서 지방세포의 기능 조절 실패와 관련 있는 질환 중의 하나가 비만이다.

항비만 약물 중 미국 식품의약국 (FDA, Food and Drug Administration)의 승인을 받아 사용되고 있는 약품은 펜터민 (phentermine), 시부트라민 (sibutramine) 등이 있지만 항정신성 비만치료제는 복용기간을 제한하며 판매가 중지된 제품도 있다 (Yoo, 2008; Lee *et al.*, 2019). 우리나라에서도 비만을 개선하기 위한 식욕 억제 효과를 나타내는 약물 시장이 크게 확대되고 있으나 이러한 약물은 의존성 및 오남용에 따른 안전성 문제가 제기되고 있다. 따라서 최근에는 천연물을 이용한 다양한 항비만 효능을 가진 소재들이 개발되고 있는 추세이며, 천연물질에서 추출한 카테킨과 같은 페놀산, 플라보노이드 리놀레산 등이 항비만 효능을 가진다고 보고되었다 (Jeong, 2013; Su *et al.*, 2016; Jo *et al.*, 2019).

따라서 본 연구는 국내 양봉농가에서 사육하고 있는 서양꿀벌 (*Apis mellifera* L.) 15일령 이상의 일벌에서 채취한 봉독을 정제하여 상용화한 정제봉독에 대한 항비만 효능을 구명하고자 3T3-L1 지방전구세포에서 지방세포 분

화가 억제되는지 평가하여 국산 정제봉독의 항비만 천연물 소재로의 산업화 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시 시료

봉독 시료는 봉독채집장치를 사용하여 서양꿀벌벌로부터 채취한 봉독을 ‘봉독의 간이정제방법’으로 (한 등, 2007) 정제한 정제봉독을 구입하여 사용하였다 (Chungjin Biotech, Korea). 구입한 정제봉독의 성분 확인을 위하여 4 mg/mL의 농도로 3차 증류수에 녹여 PTFE 0.2 μ m 필터 (Sigma-Aldrich, MO, USA)로 여과하여 UPLC (Ultra performance liquid chromatography, Waters, MA, USA)를 사용하여 분석하였다. 표준품인 apamin, mellitin 그리고 phospholipase A₂는 시그마사 (Sigma-Aldrich, MO, USA)로부터 구입하여 2 mg/mL로 만들어 시험봉독과 동일한 필터를 사용하여 여과하였다. 분석기기는 PDA (photo diode array, Waters, MA, USA) 검출기가 장착된 Acquity UPLC I-Class (Waters, MA, USA)를 사용하여, Table 1과 같은 컬럼 및 분석 조건으로 220 nm의 검출파장에서 분석하였다 (Han *et al.*, 2018). 정제봉독 내의 멜리틴, 아파민 그리고 포스포리파아제 A₂의 함량은 각각의 표준품 수용액 시료에 나타나는 피크와 비교하여 63.9%, 2.3% 그리고 10.9%로 확인하였다.

2. 지방전구세포 분화 유도 및 정제봉독 처리

지방세포 3T3-L1은 한국세포주은행 (Seoul, Korea)에

Table 1. Conditions for Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) analysis of purified bee venom

UPLC condition	
Column	Halo ES-18 (4.6 × 100 mm, 2.7 μ m)
Flow rate	1.5 mL/min
Injection volume	4 μ L
Column temperature	50°C
Sample temperature	5°C
Mobil phase	(A) 20 mM TFA/MeCN*, (B) 20 mM TFA/H ₂ O (A) 0~3 min, 10~31%; 3~5 min, 31~40%; 5~10 min, 40~45%

서 구입하여 사용하였다. 세포 배양 및 분화에 사용된 배지는 10% Fetal bovine serum (FBS, GenDEPOT, TX, USA) 과 Gibco (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)에서 구입한 penicillin (100 units/mL) 및 streptomycin (100 µg/mL)을 첨가한 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator (Sanyo, Japan)에서 배양하였다. 분화 유도 시 3 × 10⁵ cells/well의 밀도로 분주하고 100% confluent 상태가 되면 48시간 방치 후 DMEM에 10% FBS 23 mg/mL isobutylmethylxanthine (IBMX) (Sigma Chemical Co., MO, USA), 1 mM dexamethasone (Sigma-Aldrich, MO, USA), 5 mg/mL insulin이 첨가된 배지 MDI (Sigma-Aldrich, MO, USA) (M: IBMX, D: dexamethasone, I: insulin)를 처리하여 48시간 동안 분화를 유도한 후, 10% FBS DMEM 배지에 5 mg/mL의 insulin이 첨가된 배지로 이를 동안 배양하였다. 그 후 2일마다 4일 동안 10% FBS DMEM 배지로 교체하면서 지방세포를 분화시켰다. 정제봉독은 분화 유도 배지를 첨가할 때 함께 처리하였다.

3. 세포독성 측정

세포생존율은 EZ-Cytox cell viability assay kit (Dogen, Korea)를 사용하였다. 3T3-L1 세포를 96 well plate에 최종농도가 2 × 10⁵ cells/mL가 되도록 분주한 뒤 24시간 배양 후 농도별로 정제봉독을 처리하고 24시간 배양하였다. 그 후 EZ-Cytox 시약 10 µL를 처리하고 4시간 동안 배양 후 microplate reader (Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 480 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포생존율은 대조군에 대한 생존율로 나타내었다.

4. 지방전구세포 분화 억제 효과 측정

정제봉독의 지방세포 분화 억제 활성은 Oil-red-O staining을 실시하여 지방세포 내 중성지방 축적을 측정하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 8일 동안 분화시킨 후 배지를 제거하고 phosphate buffered saline (PBS)로 세척하여 10% formaldehyde 용액으로 세포를 고정시켰다. 1시간 이상 충분히 고정시킨 후 다시 PBS로 세척하고 Oil-red-O 염색시약 (Sigma-Aldrich, MO, USA)을 첨가하여 30분간 실온에서 염색하였다. Oil-red-O 시약을 제거한 후 증류수로 세척한 다음 위상차현미경을 이용하여 관찰하였다. 흡

광도 측정을 위해 100% isopropyl alcohol로 염색된 지방구를 용출시켜 microplate reader (Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. Total RNA 분리 및 RT-PCR 분석

3T3-L1 세포로부터 total RNA의 분리는 TRIzol Reagent (Thermo Fisher Scientific, CA, USA)에 넣고 균질화하여 15분 이상 상온에 반응시킨 후 상등액 800 µL에 chloroform (Sigma-Aldrich, MO, USA) 200 µL를 혼합하여 상온에서 5분간 반응시켜 원심분리(12000 g, 15분, 4°C)하였다. 상층액을 새로운 튜브에 옮겨 500 µL의 isopropanol (Sigma-Aldrich, MO, USA)과 상온에서 10분간 반응시켜 RNA를 침전시킨 뒤 원심분리(12000 g, 10분, 4°C)하였으며, 상등액 제거 후 80% 에탄올을 이용하여 washing 하였고 원심분리(12000 g, 5분, 4°C)한 침전물 (pellet)을 DEPC treated water (WeiGENE, Korea)에 녹여 약 1 µg/µL의 농도로 하여 실험에 사용하였다. AmfiRivert cDNA Synthesis Platinum Master Mix (GenDEPOT, Korea)를 사용하여 분리한 RNA의 1 µg을 cDNA로 합성한 후, Bioneer 사(Korea)의 AccuPower PCR Premix를 이용하여 20 µL 반응에서 cDNA 2 µL와 10 pmole의 primer가 첨가되도록 RT-PCR (TP3300, Takara, Japan)을 진행하였다. 증폭산물은 0.5 × TAE 용액을 이용한 1.2% Agarose gel에 100 V로 전기영동하였으며 Safe-Pinky DNA Gel Staining solution (GenDEPOT, Korea)를 사용하여 발현을 확인하였다. 사용된 primer의 sequence는 Table 2와 같다.

6. 통계처리

모든 데이터는 3회 반복 측정한 후 평균치 ± 표준편차로

Table 2. Oligonucleotide primers used in Real-time PCR

Gene		Sequence
GAPDH	Forward	CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTAT
	Reverse	AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC
PPAR γ	Forward	CGCTGATGCACTGCCTATGA
	Reverse	TGCGAGTGGTCTTCATCAC
C/EBP α	Forward	GTGTGCACGTCTATGCTAAACCA
	Reverse	GCCGTTAGTGAAGAGTCTCAGTTTG

나타내었으며, 대조군과 실험군 간의 통계적 유의성에 대한 검증은 R project (<https://www.R-project.org/>, Austria)를 이용하였다.

결과 및 고찰

정제봉독의 지방세포 분화 조절에 대한 실험을 위해 3T3-L1 지방전구세포에 다양한 농도의 정제봉독을 처리하고 48시간 동안 배양한 후 세포 독성을 측정하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 정제봉독의 처리 농도가 1 mg/mL까지는 세포 생존율이 98.3% 이상이었으나 5 mg/mL와 10 mg/mL 농도에서는 각각 78.3%, 62%로 유의적인 감소를 보였다. 지방세포 분화 조절 실험은 1 mg/mL 이하 정제봉독을 사용하였다.

정제봉독의 지방세포 분화 억제 활성 평가는 3T3-L1 세포 내 지방축적량을 Oil-red-O 염색을 통해 현미경 관찰과 정량분석하였다. 분화시키지 않은 3T3-L1 세포에서는 지방 축적이 일어나지 않았지만 분화를 유도한 대조군에서는 다량의 지방 축적이 관찰되었다(Fig. 2A). 그러나 정제

봉독을 처리한 시험군에서는 지방 축적이 현저히 감소하였으며 지방 축적 정도를 정량적으로 비교한 결과 정제봉독 처리 농도가 높을수록 감소율이 높은 것으로 나타났다(Fig. 2B).

지방세포 분화는 C/EBP α 및 PPAR γ 와 같은 특정 전사

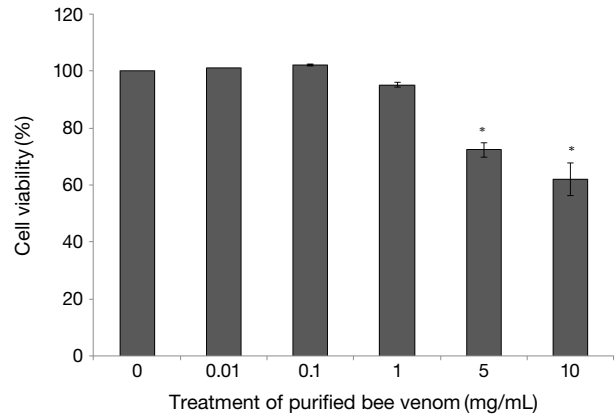


Fig. 1. Effect of purified bee venom (PBV) on viability in 3T3-L1 cells. Cells were treated with various concentration of PBV for 48 hours. Cell viability was measured by EZ-Cytox cell viability assay. Values are means \pm SD. The statistically significant differences were calculated by Student's t-test. * p < 0.05.

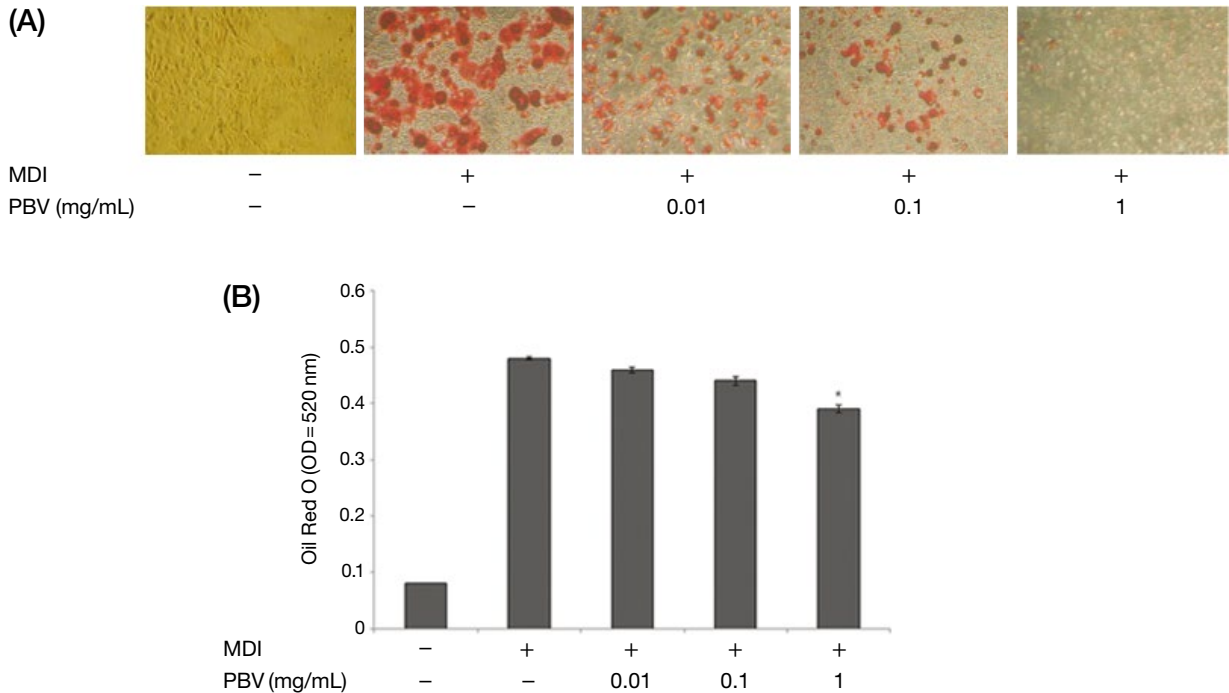


Fig. 2. Effects of purified bee venom (PBV) on lipid droplet accumulation of 3T3-L1 adipocytes. The cells were differentiated with MDI in the absence of presence of PBV for 5 days and then lipid contents were measure by Oil red O staining. Values are means \pm SD. The statistically significant differences were calculated by Student's t-test. * p < 0.05.

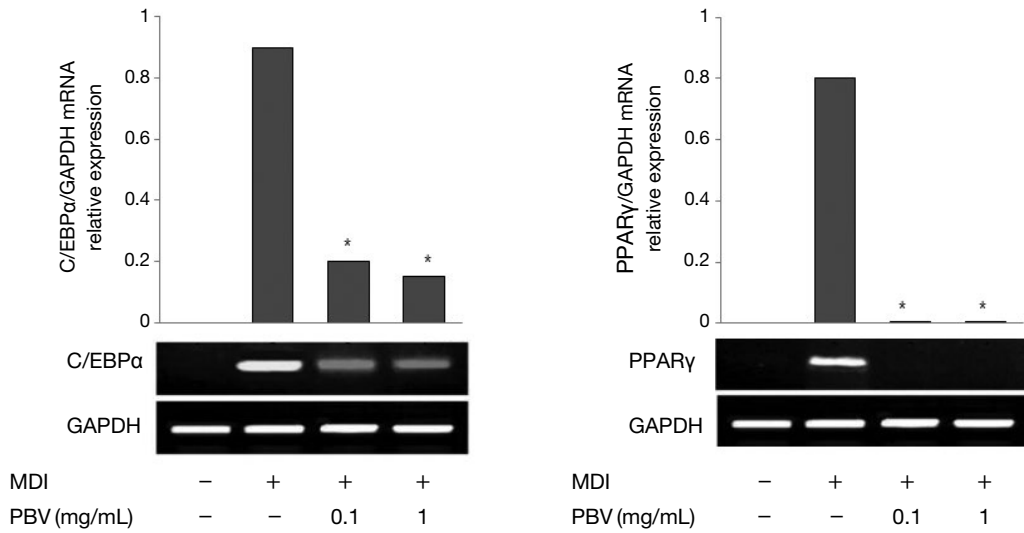


Fig. 3. Effects of purified bee venom (PBV) on C/EBPα and PPARγ in 3T3-L1 adipocytes. The cells were differentiated with MDI in the absence of presence of PBV for 5 days. C/EBPα and PPARγ mRNA expression levels were measured by RT-PCR analysis. The statistically significant differences were calculated by Student's t-test. * $p < 0.005$.

인자에 의해 조절되며 지방세포로 분화되고 있을 때 이들 인자의 발현이 증가하는 것으로 알려져 있다(White and Stephens, 2010; Gwon *et al.*, 2013). 정제봉독에 의한 3T3-L1 세포의 지방세포 분화 억제제가 C/EBPα와 PPARγ 발현 억제에 기인하는지를 알아보려고 RT-PCR을 수행하였다. 그 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 C/EBPα와 PPARγ의 발현이 정제봉독을 처리한 군에서 대조군에 비해 유의하게 억제되었다.

급격한 인구구조 변화 및 아동 청소년층 중심으로 서구 식 생활이 만연되고 있는 상황에서 비만 인구는 지속적으로 증가하고 있으며 이로 인한 사회경제적 손실 규모도 급격하게 증가하고 있다. 영·미 등 주요 선진국은 물론 우리나라에서도 국가 차원의 선제적인 비만 대책을 수립하고 있다.

최근에는 한의학 이론에 근거한 항비만 제제 개발을 위한 다양한 연구가 시도되고 있으며 봉침요법을 통해 지방 분해 임상사례 등이 보고된 바 있다(So *et al.*, 2005). 또한 시그마산 미국 봉독이 지방세포 3T3-L1에서의 지질 축적을 억제할 뿐만 아니라 비만 동물모델에 봉독을 주사할 경우 지방세포 분화에 관련된 전사인자 발현 감소를 통해 지방세포 분화를 억제하고 그 결과 체중 감소를 유도한다고 하였다(Cheon *et al.*, 2018). 그러나 시험에 사용한 봉독의 유래와 성분에 대해 언급되어 있지 않아 본 연구에서는 국내 양봉농가에서 채집하여 정제한 균일한 성분의 정

제봉독에 대한 항비만 효과를 알아보려고 하였다. 봉독은 벌목과(hymenoptera) 곤충의 일벌과 여왕벌의 독낭에 저장되어 있는 혼합물로 곤충 종(種)과 일령에 따라 봉독 성분은 물론 생리활성에 많은 차이를 나타낸다(Piek, 1986). 봉독에 대한 연구 및 산업화에 있어 가장 중요한 점은 균일한 봉독 사용이다.

본 연구에서는 15일령 이상의 63% 멜리틴 함량의 정제봉독을 이용하여 지방세포의 분화를 억제하는지를 알아보려고 하였다. 3T3-L1 세포는 비만 연구에 가장 널리 사용되는 지방전구세포로 지방세포로 전환되는 과정인 adipogenesis는 비만과 밀접한 관련이 있으며 이를 효과적으로 조절하는 것이 비만을 예방하는 데 있어 중요한 요인이다(Rosen and Spiegelman, 2000; Kim and Jang, 2014). 지방분화는 C/EBP 패밀리와 PPARγ와 같은 특이적 전사인자에 의해 조절되며 지방생성 단백질의 발현에 관여한다(Park and Kim, 2002). C/EBP 패밀리 중에서도 α와 PPARγ이 adipogenesis를 진행하는 데 있어 매우 중요하게 작용하는 전사인자이며 지방축적과 인슐린 감수성에 관여하는 많은 유전자들의 발현을 활성화시킨다(Rosen and Spiegelman, 2000; White and Stephens, 2010).

본 연구에서 정제봉독은 지방전구세포의 지방세포 분화에 의한 세포 내 지방축적을 감소시켰으며 지방축적에 관여하는 특이 전사인자인 C/EBPα와 PPARγ 유전자 발현을 억제하였다. 이 결과들은 정제봉독이 지방세포 분

화 과정에서 전사인자 발현을 억제함으로써 triglyceride 생성을 감소시키는 효과가 있는 것으로 사료된다. 항미만 소재로서 활용 가능성이 높은 정제봉독에 대한 동물 및 임상시험 등 후속연구가 필요하다.

적 요

본 연구에서는 서양종꿀벌 (*Apis mellifera* L.) 일벌에 시 봉독채집장치를 사용하여 채집한 후 정제한 정제봉독 (purified bee venom)의 항비만 효과를 검증하기 위하여 지방전구세포인 3T3-L1 세포에서 지방분화에 미치는 영향을 조사하였다. 정제봉독은 1 mg/mL 이하의 농도로 처리했을 경우에는 3T3-L1 세포에서 세포독성을 유발하지 않는 것으로 확인되었다. 정제봉독을 3T3-L1 세포에 처리한 후 지방분화를 Oil-red-O 염색약으로 염색하여 비교하여 보았을 때, 정제봉독은 무처리구에 비교하여 낮은 지방 축적률을 나타내어 지방세포 분화를 억제하는 것으로 확인되었다. 또한 정제봉독은 지방 분화 특이 전사인자인 C/EBP α 와 PPAR γ 유전자 발현을 억제시켰다. 이에 본 연구 결과를 바탕으로 정제봉독이 지방세포 분화 억제를 통한 항비만 소재로서 활용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ01316602)에 의하여 수행되었습니다.

인 용 문 헌

한상미, 이광길, 여주홍, 우순옥, 권해용. 2007. 봉독의 간이정제 방법. 대한민국특허 10-075881.

Bessesen, D. H. and L. F. Van Gaal. 2018. Progress and challenges in anti-obesity pharmacotherapy. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 6: 237-248.

Cheon, S. Y., K. S. Chung, S. S. Roh, Y. Y. Cha and H. J. An. 2018. Bee venom suppresses the differentiation of preadipocytes and high fat diet-Induced obesity by inhibiting adipogenesis. *Toxins.* 10(1): 9.

Gregoire, F. M., C. M. Smas and H. S. Sul. 1998. Understanding dipocyte differentiation. *Physiol Rev.* 78(3): 783-809.

Gwon, S. Y., J. Y. Ahn, C. H. Jung, B. K. Moon and T. Y. Ha. 2013. Shikonin suppresses ERK 1/2 phosphorylation during the early stages of adipocyte differentiation in

3T3-L1 cells, *BMC Complem Altern Med.* 13: 207.

Han, S. M., S. G. Kim, H. R. Jang, S. O. Woo and S. C. Pak. 2018. Anti-atopic dermatitis of purified bee venom on keratinocytes via suppression of PAR2, ICAM-1, and IL-6 expression. *J Apic Sci.* 62: 179-188.

Jeong, H. S. 2013. Efficacy of *Alismatis Orientale Rhizoma* on obesity induced by high fat diet. *Korea J Herbol.* 28(3): 95-106.

Jo, Y. S., S. M. Ju, K. H. Hwang, K. S. Kim, M. S. Kim and B. H. Jeon. 2019. Inhibitory effect of *Cymbopogon Citratus* ethanol extracts on adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Physiol & Pathol Korean Med.* 55(1): 17-24.

Kim, K. B. and S. H. Jang. 2014. Anti-obesity effect of EGCG and glucosamine-6-phosphate through decreased expression of genes related to adipogenesis and cell cycle arrest in 3T3-K1 adipocytes. *J Nutr Health.* 47(1): 1-11.

Lee, J. Y., J. Y. Park, H. D. Kim, S. E. Lee, J. H. Lee, Y. J. Lee and K. H. Seo. 2019. Anti-oxidant and anti-adipocyte differentiation of *Aster glehni* and *Aster yomena*. *J Nutr Health.* 52(3): 250-257.

Ministry of Health and Welfare. 2015. Korea Health Promotion Institution. The 4th National Health Promotion Plan (2016-2020). Sejong, Korea.

Ministry of Health and Welfare. 2018. Obesity prevalence trend. Sejong, Korea.

Park, J. Y. and J. B. Kim. 2002. Molecular Insights into Fat Cell Differentiation and Functional Roles of Adipocytokines. *Endocrinol Metab.* 17: 1-9.

Peng, Y., S. Yu, H. Li, H. Xiang, J. Peng and S. Jiang. 2014. MicroRNAs: emerging roles in adipogenesis and obesity. *Cell Signal.* 26(9): 1888-1896.

Piek, T. 1986. Venoms of the hymenoptera. London, Academic Press.

Rosen, E. D. and B. M. Spiegelman. 2000. Molecular regulation of adipogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 16: 145-171.

So, J. J., H. S. Woo and C. H. Kim. 2006. cDNA microarray gene expression profiling of melittin and mast cell degranulation peptide in human mast cell strain. *J Acupunct Res.* 22(3): 37-51

Su, H. L., Y. R. Lee, D. G. Ryu, H. R. Kim, M. S. Kim, B. S. Kim and K. B. Kwon. 2016. Inhibitory effects of *Albizia Cortex* extracts on adipocyte differentiation, *J Physiol & Pathol Korean Med.* 30(6): 447-451.

Trujillo, M. E. and P. E. Scherer. 2006. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr Rev.* 27(7): 762-778.

White, U. A. and J. M. Stephens. 2010. Transcriptional factors that promote formation of white adipose tissue. *Mol. Cell Endocrinol.* 318: 10-14.

Yoo, S. J. 2008. Pharmacological treatment of obesity. *J Korean Endocr Soc.* 23(4): 223-233.