

지역 특산 천연산물 전호, 파고지, 희침 및 산수유의 항비만효과 규명

신진혁¹ · 차구용² · 김희진² · 황재호² · 한경호² · 서효진¹ · 신태선^{3,5} · 오석중⁴ · 김종덕^{1,5*}

¹전남대학교 생명화학공학과 생명산업공학과, ²해양기술학부 양식생물학전공, ³영양식품학전공,
⁴(주) 이코바이오, ⁵전남대학교 항비만건강연구소

Exmiation of Anti-Obesity Effect of Regional Special Natural Products of *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen*, *Siegesbeckiae herba* and *Corni fructus*

Jin Hyuk Shin¹, Gu Yong Cha², Hui Jin Kim², Jae Ho Hwang², Kyeong Ho Han²,
Hyo Jin Seo¹, Tai Sun Shin^{3,5}, Suk Jung Oh⁴, and Jong Deog Kim^{1,5*}

¹Department of Biotechnology ²Department of Culture Biotechnology

³Food Science and Nutrition, Chonnam National University, San 96-1, Dun-Duk Dong, Yosu, Chonnam 550-749, Korea

⁴ECOBIO INC, TBI Center, Chonnam National University, Yongbong-dong, Puk-gu, Gwangju 500-757, Korea

⁵Research Center on Anti-Obesity and Health Care (RCAOHC), Chonnam National University, San 96-1,
Dun-Duk Dong, Yosu, Chonnam 550-749, Korea

Abstract 4 kinds of Regional Special Natural Products (RSNPs), such as *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen*, *Siegesbeckiae herba* and *Corni fructus* were examined to verify for anti-obesity effect. PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) from 3T3-L1 cell concerning adipocyte differentiation was suppressed by different concentration of 4 RSNPs with western blot, when treated RSNPs' extract and MDI (IBMX, Dexamethasone, Insulin) at the same time. Also, SREBP-1 (Sterol regulatory element binding protein) controlling lipogenesis and PPAR γ expression levels were reduced by these 4 RSNPs' extract, when these chemicals after differentiation of 3T3-L1 cell. And lipid droplets were reduced by 7.5%, 14.4%, 18.3% and 30% at different concentration of *Anthrisci radix* from Oil Red O staining. Also, it was reduced by 2%, 4.9%, 9.3% and 38% at different concentration of *Psoraleae semen*. For *Siegesbeckiae herba*, it was inhibited by 1.4%, 6.4%, 16.4% and 30.1%, respectively. And *Corni fructus* was also showed by 0.9%, 6.3%, 13.7% and 33% at same concentration of *Siegesbeckiae herba*. These 4 kinds of RSNPs were expected for a useful material for anti-obesity materials.

Keywords: anti-obesity, *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen*, *Siegesbeckiae herba*, *Corni fructus*

서 론

신생혈관형성 (Angiogenesis)에 의한 새로운 혈관형성은 기존의 혈관으로부터 내피세포의 전이 및 발아가 외막의 기질의 붕괴와 함께 결합함으로써 새로운 혈관이 생성되는

기작을 의미하며 [1,2], 분열된 내피세포들이 결합조직 내로 이동을 하게 되고, 이때 내피세포 주변의 결합조직 세포 또는 민무늬근육 세포로부터 분비된 신생혈관 형성인자 또는 세포 외막의 기질이 내피세포의 이동을 유도하게 된다 [3]. 혈관의 성장 메커니즘에는 다양한 분자들이 수반되며, 이러한 분자들 중에 VEGF 그룹과 Ang (angiopoietin) 그룹은 가장 뛰어난 역할을 가지고 있다. VEGF의 신생혈관 형성력은 유전자 사용량에 따라 엄격히 조절되며, 많은 신생혈관 저해인자를 포함한 몇몇의 분자들은 주로 암의 신생혈관형

*Corresponding author

Tel: +82-61-659-3305, Fax: +82-61-659-3305

e-mail: pasteur@chonnam.ac.kr

성에 밀접하게 관련되어 있다 [4,5]. 지난 10여 년간의 연구는 지방조직 및 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, Ang-1, Ang-2, PAI-1, TGF β , leptin 및 maspin 등을 포함한 *in vitro*에서 배양된 지방세포 등에 의해서 pro-/antiangiogenic 성장인자들이 발현됨을 밝혔다.

이런 인자들의 발현 및 활성 능력은 상호관계를 가지고 있다 [6]. 예를 들면, leptin은 Ang-2의 발현을 유도하고, VEGF가 신생혈관형성을 유도하는 것을 자극한다. Ang-2는 기존의 혈관을 불안정하게 하며, VEGF 및 다른 angiogenic 인자들의 존재 하에 신생혈관형성을 유도한다. 일반적으로 VEGF/VEGFR은 지방세포에서 대부분의 신생혈관형성 작용을 하며, 비만을 줄이는 타겟으로 매력적일 수 있다 [7,8]. 대부분의 지방조직에서 VEGF 발현 및 분비는 rat이나 mouse에서 adipocyte의 발전에 기여하며, insulin을 유도한다. 지방조직의 leptin과 VEGF 유전자 발현은 HIF-1 (hypoxia-induced factor-1)의 전사적 pathway에 의한 hypoxia에 의해 유도되며 [9], 몇몇의 다양한 증후는 혈관과 혈관발달이 지방세포 혹은 지방형성에 영향을 미친다는 것을 암시한다. 지방조직은 예부터 상처를 치유하고 심근과 관련된 허혈조직의 재혈관화를 촉진한다고 알려져 왔다 [10,11]. Hausman은 지방형성이 아지방세포에서 지방 세포로 분화하는 과정이라고 언급하였으며, MacDougald와 Mandrup 역시 다양한 성장인자, 사이토킨 그리고 호르몬 등에 의해서 분화가 조절됨을 언급하였다 [12,13]. 많은 연구에 의하면 지방조직은 지방세포 (adipocyte)와 혈관내피세포로 구성되어 있어 조직에 산소와 영양분을 공급하여 성장하게 된다. 지방조직의 맥관 구조는 신생혈관형성과 관련이 있는 것으로 나타났다. 따라서 암세포의 발달과 마찬가지로 지방세포도 비슷한 기작을 통해 발달하게 된다. 이러한 발견은 지방조직이 신생혈관 분자를 생산함을 제안한다. 지방조직의 비대는 심장혈관질환의 임상치료적 위험성을 동반하며, 다양한 체액성 인자를 생산하는 활동적인 내분비 기관으로, 아지방사이토킨으로 알려지고 있다 [14,15].

태아의 발달 동안에 세동맥 분화는 지방세포의 발달을 유도하고, 혈관 외막의 기질 분화는 지방세포의 외막의 분화를 유도한다. 신생혈관은 효과적인 아지방세포 분화를 위해 필요로 하며, 지방세포 분화 없이는 촉진되지 않는다 [16].

지방조직에서 신생혈관형성 중에 분비되는 대표적인 성장인자인 leptin은 음식섭취 및 에너지 항상성을 조절하는 아지방세포 유래 호르몬이다. leptin의 장애는 심각한 당뇨병, 불임 등을 야기하며, 혈관의 천공 및 투과성을 유도할 수 있다 [17]. 지방형성과 신생혈관형성의 동시 발생은 맥관구조의 타겟을 통해 비만의 치유가 가능함을 보인다. 신생혈관 억제자로 알려진 TNP-470 [18] 및 내성 단백질 억제인자, angiostatin 및 endostatin 등은 유전적으로 살찌거나 고칼로리로 식이된 동물에서 테스트되고 있으며 [19], 유전적으로 살찐 쥐나 고칼로리로 식이된 쥐에서 angiostatin, endostatin 및 TNP-470의 관리는 음식 섭취영향 없이 지방 조직이 감소했을 뿐만 아니라, 농도 의존적 및 가변적으로 무게가 감소

되는 결과를 보였다 [20]. 왜냐하면 angiostatin이나 endostatin 같은 신생혈관 억제인자들은 특이적으로 내피세포를 표적물로 삼지만, 다른 세포에는 그렇지 않기 때문이다.

따라서, 신생혈관형성억제 방법에 의한 비만의 치료는 아주 잠재성이 높은 방법이며, 영양학적관점에서 볼 때, 신생혈관형성의 저해는 지방조직과 아주 높은 선택성을 가지고 있으며, 실험동물에 의한 독성과 부작용이 적은 것으로 나타나 신생혈관형성 저해제제로 부터의 항비만 제제의 개발은 아주 혁명적이고, 매력적이고, 중요한 부분이라 할 수 있을 것이다. 최근에는 다양한 물질을 이용한 신생혈관형성 억제제들이 연구되고 있으며, 이러한 억제제들은 비만세포 억제뿐만 아니라, 암관련 세포 역시 억제됨이 밝혀지고 있다. 그 중에 천연자원을 이용한 연구들이 많이 진행되고 있으며, 특히 차의 카테킨은 3T3-L1세포에서 PPAR γ 와 C/EBP α 의 하위신호분자에 의해 지방세포의 분화를 억제하며, 콩의 이소플라빈인 genistein 역시 지방생성을 억제한다 [21]고 보고되었다. 이외에도 다양한 천연물질을 이용한 항비만의 기전이 보고되고 있으며, 치료 제제로써 연구되고 있다.

특히, 지역의 다양한 특산물을 신생혈관형성 억제작용에 이용한다면, 부작용이 적고, 원료구입의 용이함과 1차 산업생산물을 가공하여 부가 가치를 향상시킴으로써 지역경제의 활성화를 촉진할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 이러한 신생혈관형성 억제작용을 가지는 4가지 천연산물인 전호 (*Anthriscus radix*), 파고지 (*Psoraleae semen*), 희침 (*Siegesbeckiae herba*) 및 산수유 (*Corni fructus*)의 추출물을 이용하여 이 물질들의 작용기전을 규명하여 항비만제제로서의 가능성을 밝히고자 한다.

재료 및 방법

시료의 추출

4가지 지역 천연산물인 전호 (*Anthriscus radix*), 파고지 (*Psoraleae semen*), 희침 (*Siegesbeckiae herba*) 및 산수유 (*Corni fructus*)를 구매 후, 재료 600 g에 3000 mL의 70% ethyl alcohol로 5시간 동안 환류, 추출한 후 증발농축기에서 농축하여 동결건조 한 후 DMSO에 녹여 세포독성을 갖지 않는 범위 내에서 사용하였다.

세포의 배양

3T3-L1 cells (Mouse embryonic fibroblast-adipose like cell line)은 한국세포주은행에서 3~5세대의 세포를 분양받아 Oil Red O staining [22] 및 western blot을 위해 사용하였고, 세포의 성장을 위해 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에 NaHCO $_3$ (3.7 g/L), Penicillin G (63 mg/L), Streptomycin (100 mg/L)을 함유하고, preadipocyte 배양시에는 BS (Bovine Serum, Gibco)가 10% 되게 첨가하여 배

양하였으며, 배지의 교환은 이틀 간격으로 하였고, confluence에 도달하였을 때 본 실험에 사용하였다. Preadipocyte를 adipocyte로 분화 시에는 confluence된 3T3-L1 cells를 2일 더 배양한 후, DEEM/10% BBS 배지 및 분화유도 물질인 MAI (0.5 mb 3-isobuty-1-methyl-xanthine, 1 μ M dexamethasone 및 10 μ g/mL insulin)를 처리한 후, 이틀 후 DMEM/10% FBS 및 insulin 만을 함유한 배지로 교환하였다. 이후에는 DMEM/10% FBS 배지로 이틀 간격으로 교환해 주었다.

Oil Red O 염색 (22)

시료 처리에 의한 지방세포의 분화정도를 알아보기 위해 Oil Red O 염색을 실시하였다. 먼저 6 well plate (SPL)에 3T3-L1 preadipocyte를 9.6×10^4 cell/well 이 되게 분주한 다음, confluence가 되면 adipocyte로의 분화유도를 위해 이틀 더 배양한 후, 분화유도물질인 MDI 및 시료를 처리하고, 이틀 후 DMEM/10% FBS 및 Insulin 그리고 시료를 함유한 배지로 교환하였다. 이후에는 DMEM/10% FBS 배지로 1회 더 교환한 다음, 배지를 제거한 후 각 well 당 10% formalin 2.4 mL씩 투여 후 5분간 고정시켰다.

10% formalin 제거 후, 동량의 10% formalin을 첨가한 다음 1 h 더 고정시킨 후 formalin을 제거하였다. 그런 다음, 각 well에 60% isopropanol로 세척 후, well을 완전히 건조시켰다.

건조된 well에 Oil Red O working solution을 1 mL씩 첨가한 다음, 10분간 반응시킨 후, Oil Red O 용액 제거 후, 초순수 증류수로 비지방부분의 염색액을 well 당 4회 세척한 후 건조하였다. 건조가 완료되면, 각 well 당 100% isopropanol 3.6 mL씩 첨가한 후 10분간 반응시킨 후, 침출된 Oil Red O 용액을 96 well plate에 옮긴 다음 microplate reader 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3T3-L1 cells 분화 및 시료처리 (22,23)

3T3-L1 세포를 T-75 flask에 가득 차도록 전 배양 한 후, trypsinize하여 각 p100 dish에 1×10^5 의 cell을 분주한 후, BS (Bovine Serum, Gibco) 10%를 함유한 DMEM을 첨가하여 총 용량을 10 mL로 한 다음 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하였다. 세포가 가득 배양되면 이틀 더 배양한 후, 첫 번째 그룹은 분화유도물질인 MDI와 sample을 동시에 처리하고 이틀 뒤에 배지를 제거한 다음 DMEM/10% FBS, Insulin 및 시료를 함유하는 배지로 교환하였다. 다시 이틀 뒤에 DMEM/10% FBS와 시료만을 함유한 배지로 교환해 주었다.

두 번째 그룹은 3T3-L1 preadipocyte에서 adipocyte로 완전히 분화시킨 후, 이틀 간격으로 chemical을 농도별로 총 3회 처리하였다.

단백질 추출 및 정량 (23)

3T3-L1 세포의 단백질을 얻기 위해서 배지를 제거한 다음

cold PBS (1 mM vanadate 첨가)로 2회 세척 후 RIPA Lysis Buffer (SC-24948) 600 μ L/dish 투여한 다음 4°C에서 10분간 진탕 배양하였다. 그런 다음 12,000 rpm, 4°C에서 20분간 원심분리 후, 투명한 부분의 상층 액만을 취한 후 effendorf tube에 담아 -80°C에 보관하였다.

단백질의 농도는 BCA reagent를 이용하여 정량하였고, 흡광도의 따른 농도를 계산하여 각 농도별로 1 \times Laemmli Sample Buffer를 처리하여 hot block을 이용하여 95°C, 10 min 조건에서 끓인 후, -80°C에 보관하였다.

3T3-L1 cells의 western blotting (23,24)

천연산물 추출물의 adipogenesis 및 lipogenesis 제어정도를 protein level에서 확인하기 위해 western blot을 분화물질과 시료를 동시에 투여한 군과, 분화유도 후에 시료 투여 군으로 나누어서 western blot를 실시하였다. 정량된 단백질을 이용하여 전기영동 및 membrane transfer를 실시하였으며, 3T3-L1 adipocyte 단백질의 특이적 발현 패턴을 확인하기 위해 adipogenesis와 관련이 있는 signal molecules인 C/EBP α , SREBP-1, PPAR γ 의 3가지 antibody를 5% NFD, 실온조건에서 1시간 반응 후, 1% NFD에 1:1000의 비율로 희석하여 4°C에서 overnight하였다. 반응완료 후, 1 \times TBST로 4회 세척한 다음 2차 항체를 실온에서 1시간 반응한 다음, 1 \times TBST로 4회 세척 후, BCL reagent로 5분 반응 후 암실에서 film 현상하였다.

결과 및 고찰

Oil Red O 염색결과

Oil Red O 염색을 통한 4가지 지역특산물의 Anti-obesity 효과를 측정된 결과 *Anthriscus radix*의 경우 0.1, 0.25, 0.3, 0.5 mg/L에서 7.5%, 14.4%, 18.3%, 30%의 저해율을 보였으며, *Psoralea semen*의 경우 10, 25, 50, 100 mg/L에서 각각 2%, 4.9%, 9.3%, 38%의 저해율을 보였다. *Siegesbeckia herba* 10, 25, 50, 100 mg/L 처리 시 1.4%, 6.4%, 16.4%, 30.1%의 저해효과를 보였으며, 같은 농도의 *Corni fructus* 처리 시 0.9%, 6.3%, 13.7%, 33%의 비슷한 저해효과를 나타내었다. 4가지의 천연산물은 모두 유효량에서 30% 정도의 지방형성을 저해하는 것으로 나타났다 (Fig. 1). Lee [25]등은 isorhamnetin이 사람의 양막장간막줄기세포 (human amniotic mesenchymal stem cell : hAMSC)세포에 adipocyte억제한다는 보고를 한바가 있는데 본 연구팀보다 장시간 (25일) 투여하여 Oil Red O staining을 하였는데 본 연구자와 비슷한 효과를 나타내고 있음을 보았다. 그러나, 본 연구팀과는 사용한 세포가 달라 직접적인 비교는 어려움이 있었으나, 파고지의 38% 정도의 저해율은 상당히 높은 제어율로 사료된다.

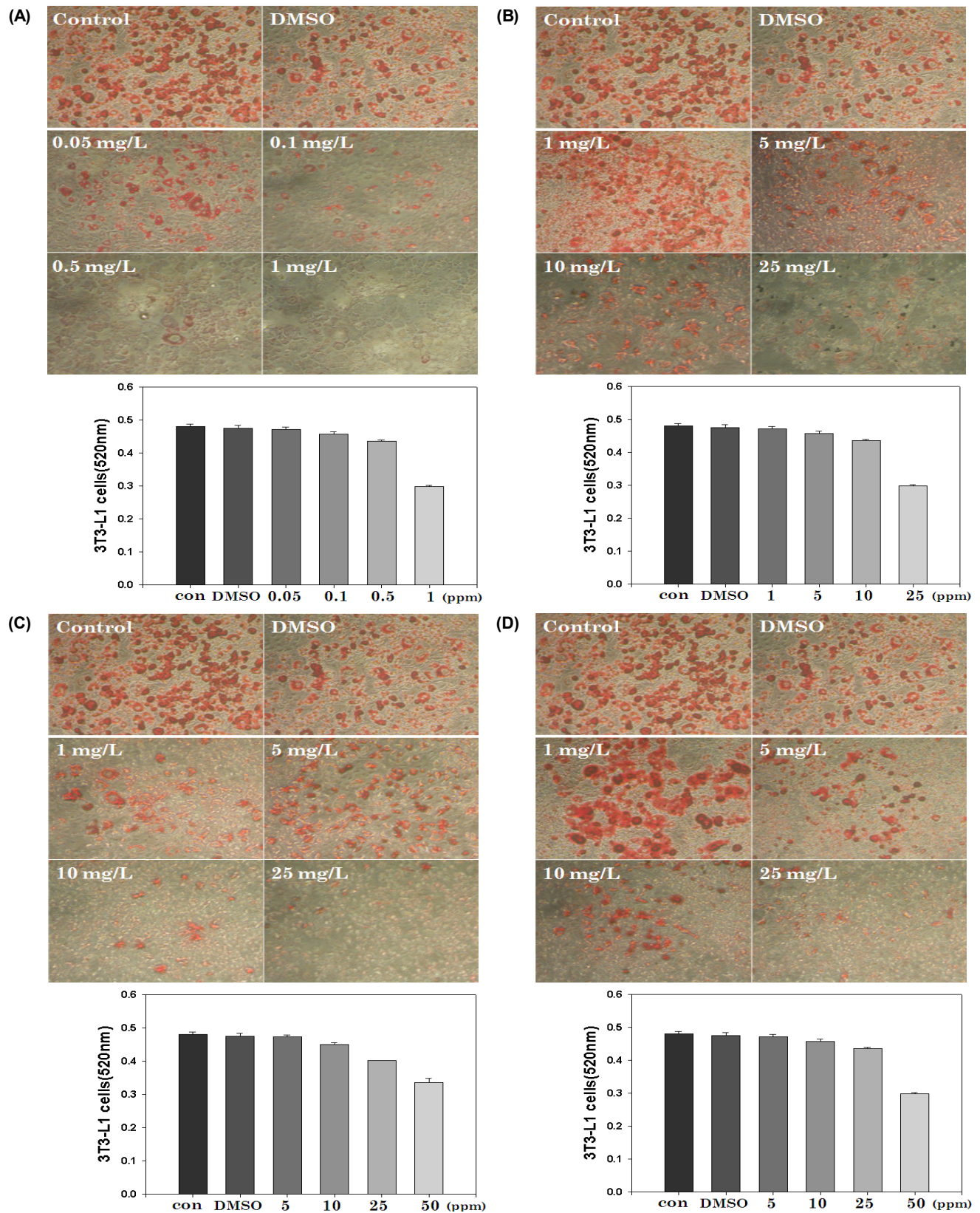


Fig. 1. Oil Red O staining of 3T3-L1 cell treated with *Anthrisc radix* (A), *Psoraleae semen* (B), *Siegesbechiae herba* (C) and *Corni fructus* (D) after differentiation.

Western blotting

분화유도물질 및 천연산물 추출물을 동시에 처리

3T3-L1 cells를 분화 유도물질과 함께 *Anthrisci radix* 0.05, 0.1, 0.25 mg/L의 각각 다른 농도로 세포에 처리 시 adipogenesis을 매개하는 PPAR γ 의 단백질 레벨이 농도 의존적으로 감소함을 보였다. *Psoraleae semen*, *Siegesbeckiae herba*, *Corni fructus*를 각각 1, 5, 10 mg/L 처리한 후, PPAR γ 의 레벨을 확인한 결과 역시 농도 의존적으로 감소함을 보였다. 이것은 지역 특산물이 지방세포의 분화를 억제하는 것을 의미한다 (Fig. 2). Rania [26]등도 PPAR γ 의 감소가 adipogenesis에 중요한 역할을 하며 western blot으로 부터 그 결과를 제시하여 본 연구와 같은 주장을 하였다.

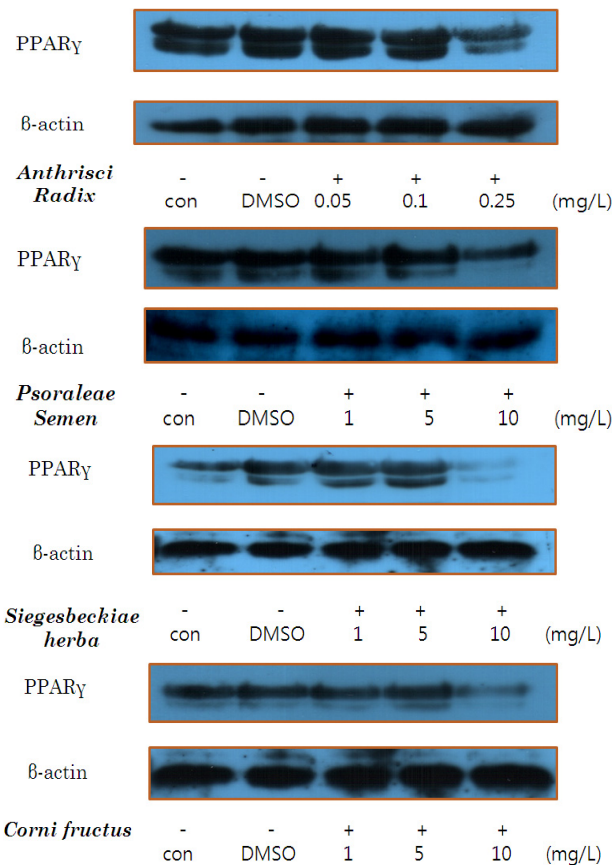


Fig. 2. Suppressing effect of PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) with different concentration of 4 RSNPs (Regional Special Natural Products)s with adding MDI (IBMX, Dexamethasone, Insulin) and RSNPs at the same time.

분화유도 후 시료 처리

3T3-L1 cells를 분화 유도 후, 천연산물 추출물을 처리한 군의 단백질 발현을 확인한 결과, *Anthrisci radix* 0.1, 0.5, 1 mg/L 처리 시 lipogenesis 및 adipogenesis의 매개분자인 SREBP-1, 그리고 PPAR γ 에서 농도 의존적으로 감소함을

보였다. *Psoraleae semen* 5, 10, 25 mg/L, *Siegesbeckiae herba* 및 *Corni fructus* 10, 25, 50 mg/L에서 역시 단백질 발현 레벨이 감소함을 나타내었다 (Fig. 3). 이것은 Fig. 4에서 보듯이 SREBP-1 분자는 지방의 형성을 제어하며, C/EBP α 및 PPAR γ 는 지방세포의 분화를 제어한다. 따라서, 이 분자들의 발현 억제는 지방세포의 분화 및 지방의 형성을 억제하는 것을 의미한다 (Fig. 4).

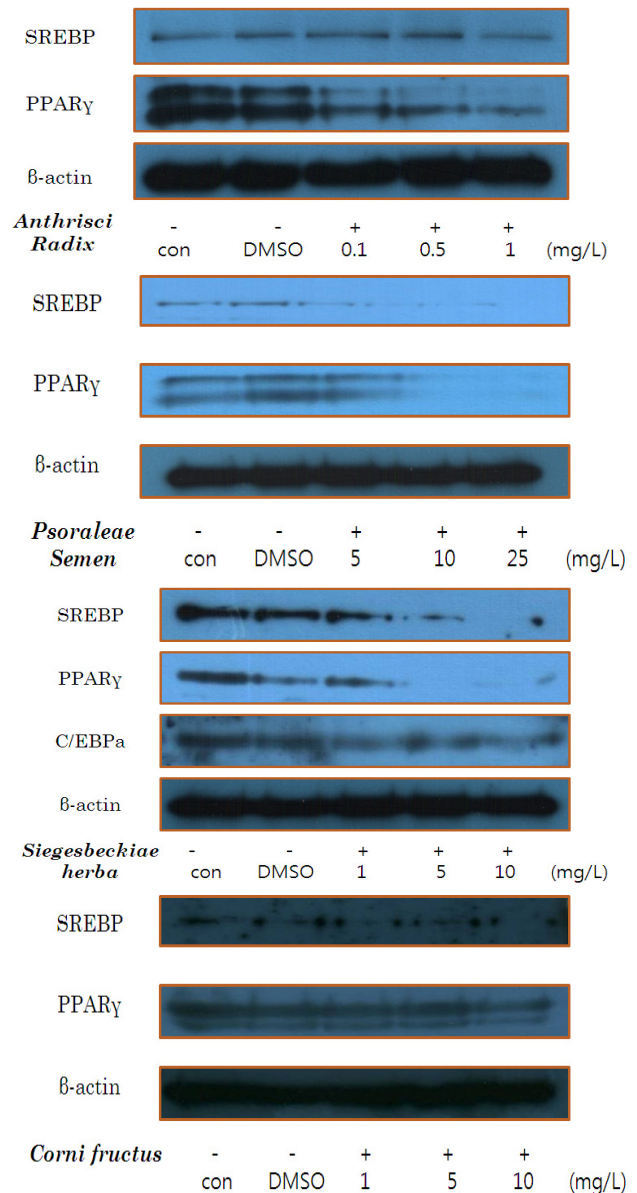


Fig. 3. Suppressing effect of PPAR γ and SREBP-1 (Sterol regulatory element binding protein-1) with different concentration of 4 RSNPs with adding RSNPs after differentiation.

따라서, 지역 특산물인 전호, 파고지, 회침 및 산수유는 지방세포의 분화억제 및 지방세포의 형성을 억제함으로써 비만을 치료할 수 있는 중요한 물질로 사용될 수 있음을 말한다.

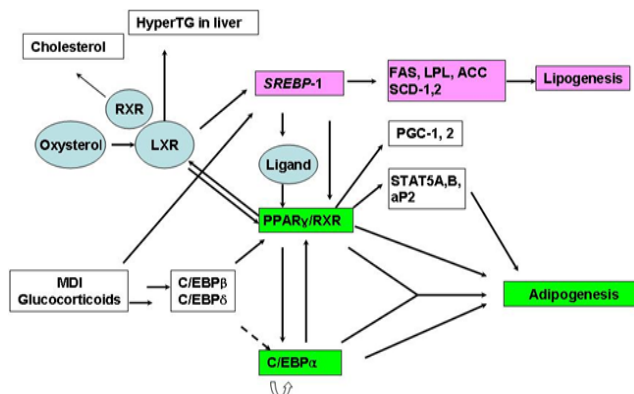


Fig. 4. Regulation of adipogenesis and lipogenesis with various factors.

요 약

본 연구에서는 신생혈관형성 제어에 바탕을 둔 비만세포 제어 정도를 확인하기 위하여 4가지 지역 천연산물인 전호 (*Anthrisci radix*), 파고지 (*Psoraleae semen*), 희침 (*Siegesbeckiae herba*) 및 산수유 (*Corni fructus*)를 이용한 지방 축적물 변화 및 기전을 확인하기 위해 3T3-L1 adipocyte를 이용한 Oil Red O 염색 및 western blot을 실시하였다. 그 결과 전호, 파고지, 희침, 산수유의 세포 독성 이내의 농도 증가에 따라 지방 축적물이 감소됨을 보였다. 또한 western blot을 위해 lipogenesis와 관련된 SREBP-1 및 adipogenesis와 관련된 PPAR γ 와 C/EBP α 의 신호전달 정도를 확인한 결과 4가지 지역 천연산물의 농도 증가에 따라 단백질의 발현양이 감소됨을 확인하였다. 이는 4가지 지역 천연산물 추출물이 지방 분화와 관련된 신호분자를 차단함으로써 지방형성이 억제되었음을 보였다. 따라서 4가지 지역 천연산물인 전호, 파고지, 희침 및 산수유는 신생혈관형성 억제에 따른 항비만제제로서의 이용 가능성을 시사하였다.

사 사

이 연구는 지역혁신인력양성사업 (20080702132119)의 결과의 일부로써 이에 감사합니다.

접수 : 2009년 12월 1일, 게재승인 : 2009년 12월 25일

REFERENCES

- Italiano, J., J. L. Richardson, J. Folkman, and G. Klement (2008) Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and anti-angiogenic proteins are organized into separate platelet α -granules and differentially released. *Blood*. 111: 1227-1233.
- Folkman, J. (2007) Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 6: 273-286.
- Caplan, B. A. and C. J. Schwartz (1973) Increased endothelial cell turnover in areas of in vivo Evans Blue uptake in the pig aorta. *Atherosclerosis* 17: 401-407.
- Patan, S., L. L. Munn, and R. K. Jain (1996) Intussusceptive microvascular growth in a human colon adenocarcinoma xenograft: a novel mechanism of tumor angiogenesis. *Microvasc. Res.* 51: 260-272.
- Peter, C., F. Valérie, B. Georg, P. Saskia, K. Lena, G. Marina, F. Michaela, V. Ann, H. Kendraprasad, E. Carmen, D. Cathérine, P. Judy, M. Lieve, C. Désiré, R. Werner, and N. Andras (1996) Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single vascular endothelial growth factor allele. *Nature* 380: 435-439.
- Soukas, A., P. Cohen, N. D. Socci, and J. M. Friedman (2000) Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes Dev.* 14: 963-980.
- Fukumura, D., A. Ushiyama, D. G. Duda, L. Xu, J. Tam, and V. Krishna (2003) Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte differentiation during *in vivo* adipogenesis. *Circ. Res.* 93: e88-e97.
- Hausman, G. J. and R. L. Richardson (2004) Adipose tissue angiogenesis. *J. Anim. Sci.* 82: 925-934.
- Lijnen, H. R. (2007) Angiogenesis and obesity. *Cardiovasc Res.* 10: 1093.
- Beck, C. S. (1935) Revascularization of the heart by vein graft from aorta to coronary sinus. *Ann. Surg.* 102: 801-813.
- Vineberg, A. M. (1965) Myocardial revascularization by omental graft without pedicle: experimental background and report on 25 cases followed 6 to 16 months. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 49: 103-129.
- Hausman, D. B., M. DiGirolamo, T. J. Bartness, G. J. Hausman, and R. J. Martin (2001) The biology of white adipocyte proliferation. *Obes. Rev.* 2: 239-254.
- MacDougald, O. A. and S. Mandrup (2002) Adipogenesis: forces that tip the scales. *Trends Endocrinol. Metab.* 13: 5-11.
- Matsuzawa, Y. (2006) Therapy Insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 3: 35-42.
- Koerner, A., J. Kratzsch, W. Kiess (2005) Adipocytokines: leptin-the classical, resistin-the controversial, adiponectin-the promising, and more to come. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 19: 525-546.
- Hausman, G. J. and R. L. Richardson (2004) Adipose tissue angiogenesis. *J. Anim. Sci.* 82: 925-934.
- Yihai, C. (2007) Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. *Science in medicine* 117: 9.

18. Wang, J., P. Lou, and J. Henkin (2000) Selective inhibition of endothelial cell proliferation by fumagillin is not due to differential expression of methionine aminopeptidases. *J. cell. Biochem.* 77: 465-473.
19. Nader, R. (2000) Vascular endothelial growth factor receptors: Molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. *Exp. Eye. Res.* 83: 1005-1016.
20. Sybille, E., G. Maria, M. C. Lampugnani, D. Elisabetta, and R. Werner (1998) Vascular endothelial growth factor induces VE-cadherin tyrosine phos-phorylation in endothelial cells. *J. Cell Sci.* 111: 1853-1865.
21. Harmon, A. W. and J. B. Harp (2001) Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 280: C807-13.
22. Yoko, M., K. Junji, N. Atsushi, A. Akimichi, Y. Naoto, S. Kaoru, S. Hiroshi, and M. Hiroshi (2006) Raloxifene promotes adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells. *Eur. J. Pharmacol.* 538: 1-4.
23. Kim, I. H. and T. J. Nam (2004) The Effects of Polymannuronates on Leptin in 3T3-L1 Adipocytes. *J. Kor. Fish. Soc.* 37: 372-379.
24. Chin, L. H. and G. C. Yen (2007) Effects of capsaicin on induction of apoptosis and inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J. Agric. food Chem.* 55: 1730-1736.
25. Lee, J. S., J. N. Lee, E. S. Jung, W. T. Hwang, Y. S. Kim, and D. H. Park (2010) Isorhamnetin-induced anti-adipogenesis is mediated by stabilization of beta-catenin protein. *Life Sci.* 86: 11-12.
26. Rania, N., J. Clark, J. Corinaldi, G. Paris, P. Miura, B. J. Jasmin, and R. L. Hebert (2010) Thiazolidinediones alter growth and epithelial cell integrity, independent of PPAR γ and MAPK activation, in mouse M1 Cortical Collecting Duct Cells. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* (February 17, 2010). doi:10.1152/ajprenal.00735.2009.