

과 제 명: 고려홍삼추출물이 토끼의 음핵해면체와 질 평활근 이완에 미치는 효과

연 구 책 임 자: 전남의대 비뇨기과 교수 박광성

연구목적: 본 연구는 고려홍삼추출물이 여성의 성기관인 음핵과 질에 미치는 영향을 알아보고 자 암컷 토끼 모델에서 음핵 해면체와 질 평활근의 수축 및 이완반응과 그 기전에 대한 연구를 하고자 하였다.

재료 및 방법

1) 사용약물 및 인삼분획 성분

실험에 사용한 약물은 phenylephrine hydrochloride 등으로 Sigma Chemical Co (St. Louis, MO)에서 구입하였고, 홍삼추출물은 정관장 홍삼정분(6년근 홍삼)으로 한국인삼공사로부터 제공받았다. 본 실험에 사용한 실험조(Biancani's isolated muscle chamber)의 영양액의 조성(mM/L)은 NaCl 120, KCl 4.6, KH₂PO₄ 1.17, NaHCO₃ 23.8, CaCl₂ 1.8, MgSO₄ 1.2, Glucose 10 이었다.

2) Organ chambers를 이용한 조직장력 측정실험

New Zealand White 종 암컷토끼 60마리 (3.0~3.5kg)를 대상으로 ketamine hydrochloride (50mg/kg)와 xylazine (5mg/kg)의 혼합액을 근육주사하여 토끼를 희생시킨 후 질의 원위부 1/3을 떼어내 결체조직 및 지방조직을 제거하고 3×3×10mm 크기의 질 평활근 절편을 만들고 또한 음핵은 백막을 제거하여 평활근 절편을 만들었다. 평활근 절편은 종축 방향으로 양끝을 견사로 결찰하여 한쪽은 실험조의 하단에 고정하고 반대측은 실로 묶어 isometric force transducer (Grass FTO3)에 연결하여 그 장력변동을 polygraph (Powerlab/400, Australia)상에 기록하였다. 실험조의 이중벽 사이로 항온의 물을 순환시켜 실험조내 영양액의 온도를 37℃로 유지시키고, 95%산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체를 공급시켰다. 평활근 절편을 실험조에 매단 후 1 gm의 장력을 가하여 2시간 동안 평형시킨 후 50mM KCl을 2-3회 투여하여 그 수축반응이 일정할 때 실험을 하였다. 먼저 질 절편을 phenylephrine (5×10⁻⁶M)으로 수축시킨 후 장력이 평형 상태에 도달하였을 때 홍삼추출물 (1-20mg/ml)의 용량에 따른 이완반응, NOS 차단제인 N^o-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), vasoactive intestinal peptide(VIP) receptor antagonist 인 VIP fragment, K 의존적 수축에 대한 반응을 알아보기위해 KCl로 20분간 전처리한 후에 홍삼추출물의 이완 반응을 평가하였다.

3)계산 및 통계처리

평활근의 이완정도는 phenylephrine으로 수축된 정도에서 자극에 의해 이완 시 첫 하강기 점부터 처음 안정을 이루는 시점까지를 측정하여 백분율로 나타냈다. 반응을 비교할 때

unpaired t-test를 이용하였고, 통계학적 유의성은 $p < 0.05$ 일 때로 하였다.

결 과

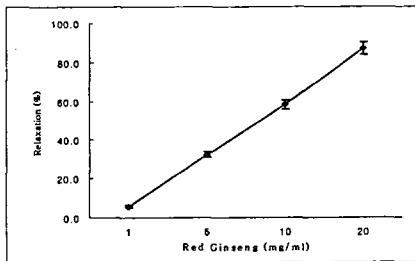
1) Phenylephrine 에 대한 용량반응곡선의 적절한 수축농도 결정

질 평활근 절편에 phenylephrine을 $3 \times 10^{-8}M$ 부터 $3 \times 10^{-4}M$ 까지 축적 농도로 투여했을 때 용량 의존 수축을 보였으며 최대수축 80%인 $5 \times 10^{-6}M$ 농도의 phenylephrine으로 수축시킨 후 그 장력이 일정해졌을 때 여러 가지 약물에 대한 반응을 관찰하였다.

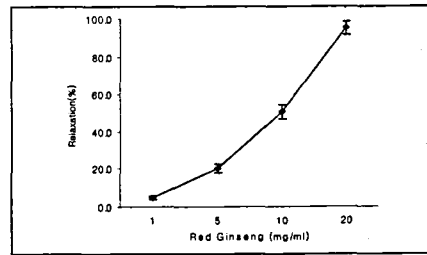
2) 홍삼 추출물의 용량에 따른 평활근 이완효과

질 평활근 절편을 phenylephrine ($5 \times 10^{-6}M$)으로 수축시킨 후 장력이 평형 상태에 도달하였을 때 홍삼추출물을 1, 5, 10, 20mg/ml로 용량을 변화시켰을 때 용량의존성 이완반응을 보였으며, 20mg/ml의 용량에서 약 85%의 이완율을 보였다.

음핵 평활근 절편은 20mg/ml의 용량에서 약 95%의 이완율을 보였다.



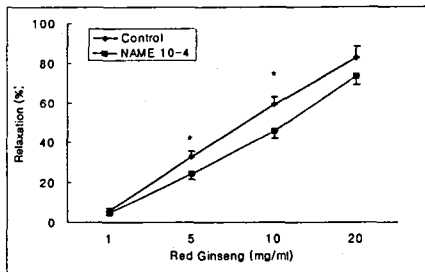
A. 질 평활근



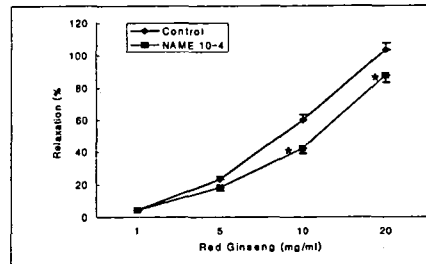
B. 음핵 해면체 평활근

3) 평활근의 이완반응에 미치는 NOS차단제의 영향

NOS inhibitors인 L-NAME($10^{-4}M$)로 20분간 전처리한 후에 홍삼추출물을 1, 5, 10, 20mg/ml투여했을 때 용량의존적인 이완반응을 나타냈으며, 대조군에 비해 평활근의 이완반응이 유의하게 억제되었다. 특히 음핵 해면체 평활근은 L-NAME($10^{-4}M$)로 20분간 전처리하는 동안 30.2% 수축반응을 보였다.



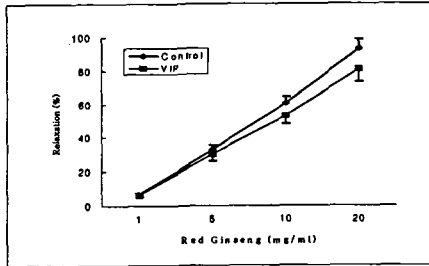
A. 질 평활근



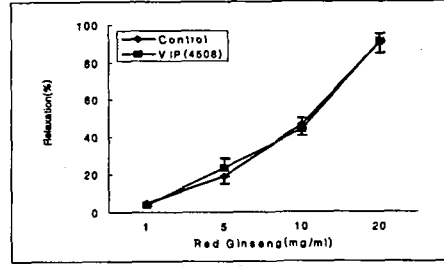
B. 음핵 해면체 평활근

4) 평활근의 이완반응에 미치는 VIP receptor antagonist의 영향

VIP receptor antagonist 인 VIP fragment ($10^{-6}M$)로 20분간 전처리한 후에 홍삼추출물을 1, 5, 10, 20mg/ml투여했을 때 용량의존적인 이완반응을 나타냈는데, 대조군과 유의한 차이를 보이지는 않았다.



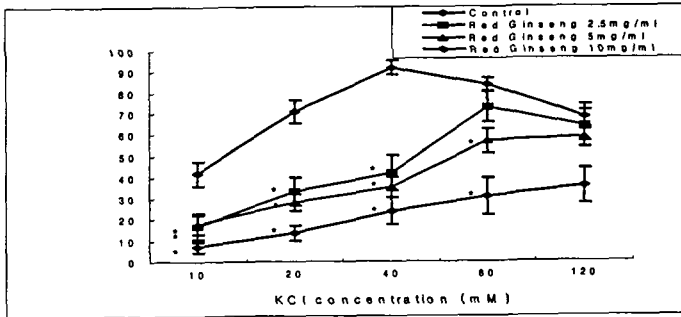
A. 질 평활근



B. 음핵 해면체 평활근

6) 질 평활근에서 KCl에 대한 영향

K⁺ 유도수축후 홍삼추출물이 질평활근 이완에 미치는 영향을 평가하였다. 홍삼추출물로 전처리하였을때 10, 20, 40, 80mM의 KCl 농도에서 depolarization으로 유도된 수축반응은 유의하게 억제되었다. 그러나 120mM의 KCl 고농도에서는 현저하게 억제되지 않았다.



결론

본 연구에서 고려홍삼추출물은 토끼의 음핵 및 질 평활근을 농도의존적으로 이완시켰으며 그 이완기전에 NO계가 관여하며 또한 potassium channel을 통한 과분극화가 관여할 가능성을 시사하였다. 향후 추가 연구를 통해 고려홍삼추출물의 음핵 및 질 평활근 이완기전 규명하고 고려홍삼추출물이 여성성기능장애를 개선시킬 수 있는지를 알기 위한 in vivo 동물 모델연구가 필요하다.

본 과제는 한국인삼공사에서 지원한 연구비와 시료에 의거 수행하였음.