

난소절제에 의해 유발된 과식현상이 소장적응변화에 미치는 영향

윤정한·이상선*

미국 네브라스카 의과대학
한양대학교 식품영양학과*

Effect of Ovariectomy Induced Hyperphagia on the Intestinal Adaptation

Jung-Han Yoon · Sang-Sun Lee*

Dept. of Pediatrics, University of Nebraska Medical Center
Dept. of Food & Nutrition, Hanyang University*

=ABSTRACT=

Ovariectomy induced hyperphagia was reported in various animal models. It was postulated that hyperphagia resulted in intestinal hypertrophy and hyperplasia. Therefore, this study was performed to compare the food intake and intestinal changes between ovariectomized rats(OVX) and sham operated rats(Sham).

Results of this study showed that the food intake and body weight gain of OVX animal was significantly higher than those of Sham animal. This result confirmed the effect of ovarian hormone on the food intake regulation.

Hyperphagia induced by ovariectomy influence the intestinal cell growth and showed hyperplasia determined by protein/DNA ratio. Maltase and alkaline phosphatase activity suggested that the intestinal cell was fully matured in both groups.

There were no difference in weight of other organs, such as liver, heart and kidney between two groups.

서 론

난소홀몬이 동물의 식이섭취와 체중조절에 큰 영향을 미친다는 사실은 많은 연구에서 밝혀졌다

¹⁻³⁾. 난소절제로 gonadal steroids hormone을 제거하면 식이섭취량이 증가되고 비만이 초래되는 것이 동물실험에서 관찰되었고⁴⁻⁶⁾ 이런 변화는 estrogen을 주면 회복되어 식이섭취량이 줄어들고 체중이 정상으로 감소되는 것을 볼 수 있다⁷⁻⁹⁾. Estradiol

benzoate를 ventromedial hypothalamus(VMH) area에 투입하면 식이섭취량이 저하되고¹⁰⁻¹²⁾ VMH area에 estradiol의 농도가 높은 세포가 집중되어 있는 것으로¹³⁾ 미루어보아 VMH area가 난소흘몬에 의해 식이섭취조절이 이루어지는 곳으로 추측되고 있다. 그러나 VMH와 gonadal 효과가 서로 독립적이라고 주장하는 연구도 있으므로¹⁴⁾¹⁵⁾ 아직까지 난소흘몬이 어떤 기전에 의해 식이섭취량과 체중조절에 관여하는지는 확실히 밝혀지지 못하고 있다.

난소절제로 인한 과식현상과 비슷한 증세가 다른 여러가지 경우에도 유발되었는데 그 예로는 gold thioglucose를 주사하여 항당기적(glucostatic) 식이섭취 조절에 관여하는 세포를 파괴하면 과식현상과 함께 비만증이 초래되고¹⁶⁾, protamine zinc insulin을 주사하면 저혈당이 되면서 식이섭취량이 증가되고 그 결과로 비만증이 유발되는 것을 볼 수 있다⁸⁾.

Jacobs 등은¹⁷⁾ cold stress에 의해 과식을 유도한 결과 소장의 mucosa의 무게와 DNA가 증가하는 hyperplasia를 관찰하였고 Campbell 등은¹⁸⁾ 수유하는 동안에 동물의 식이섭취량이 증가되면서 소장벽의 점막세포에 hypertrophy 현상이 나타나는 것을 관찰하였다. 수유기동안에 나타나는 소장의 hypertrophy는 영양요구량의 증가에 따른 소화기관의 효율을 증대시키기 위한 적응현상이라는 가설 하에 수유기의 hypertrophy된 소장과 대조군의 정상적인 소장을 비교한 결과 소화율에 차이가 없었다. 또한 lactogenic hormone의 효과를 알아보기 위해 정상적인 mice에게 흘몬을 투여하였으나 수유기동안의 mice와 같은 소장점막세포의 hypertrophy 현상이 나타나지 않았다. 그리고 수유기의 동물에게 정상적인 동물과 같은량의 식이섭취를 유지시켰을 때 소장의 hypertrophy 현상이 없어졌다. 그러므로 소화기관의 hypertrophy는 식이섭취량의 증가에 따른 소화기관 벽세포의 자극에 의한 비대현상으로 생각되고 있다.

지금까지 살펴본 바에 의하면 난소절제를 하면 과식현상이 나타나고 식이섭취량이 증가될 경우 소화기관벽 점막세포의 hyperplasia와 hypertrophy가 일어날 수 있다고 생각된다. 그러므로 본 연구에서는 ovariectomy한 쥐와 대조군사이의 식

이섭취량과 체중변화를 조사하고 소장점막에 나타나는 변화를 연구하고자 한다.

2. 실험방법

2.1 실험동물

6개월된 Sprague-Dawley종의 암쥐 20마리를 구입해서 wire mesh bottom stainless steel hanging cage에 한마리씩 넣어 실험실 환경에 3일간 적응시켰다. 동물사육실의 온도는 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 습도는 65±2%, 채광시간은 오전 6시부터 오후 6시까지로 조절하였다. 적응기간동안의 시판 고형사료와 수도물을 제한없이 공급하였고 적응기간 후에는 동물을 무작위로 선택하여 두군으로 나누었다. 실험군은 sodium pentobarbital(30-40mg/kg body weight)로 마취한 후 난소절제수술을 하였고(ovarectomy) 대조군은 실험군과 같은 수술과정을 실시하였으나 난소를 절제하지 않았다(sham operation). 수술에서 회복된 후 6개월동안 고형사료와 수도물을 제한없이 공급하였다.

2.2 Sampling

6개월 후에 ether로 마취한 후 동물을 죽여 간, 심장, 신장을 절제하여 무게를 측정하였다. 소장은 길이가 늘어나지 않도록 조심스럽게 다루면서 ligament of Treitz부터 ileocecal junction까지 절제하여 생리식염수로 장내용물을 씻어낸 후 무게와 길이를 측정하고 유리봉을 이용하여 소장을 뒤집은 후 microscope glass slide를 사용하여 소장점막을 긁어모아 소장점막의 무게를 측정하였다. 소장의 sampling과정은 4°C 에서 진행하였다.

2.3 생화학적 분석

소장점막의 단백질 함량은 Lowry 등의¹⁹⁾ 방법으로 측정하였고 DNA는 Munro와 Fleck의²⁰⁾ 방법으로 추출한 후 Giles와 Myers의²¹⁾ 방법으로 정량하였다. Maltase는 Dahlqvist의²²⁾ 방법으로 측정하여 효소활성은 소장 cm당 또한 소장점막 단백질 g 당 매분 생산되는 포도당의 micromoles로 표시하였다. Alkaline phosphatase는 p-nitrophenyl phosphate를 substrate로 사용하여 Sommer의²³⁾ 방법으로 측정하였다.

- 난소절제에 의해 유발된 과식현상이 소장적응변화에 미치는 영향 -

2.4 통계적 분석

두군사이의 통계적인 유의성 검증은 student's t-test를 이용하였으며 $p < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의한 차이를 인정하였다²⁴⁾.

3. 실험결과 및 고찰

3.1 체중과 식이섭취량

난소절제를 한 실험군이 대조군에 비해 체중과 식이섭취량이 현저하게 높은 것을 Table 1에서 관찰할 수 있다. 이 결과는 다른 실험들의^{4,6)} 결과와 일치하였다. 아직까지 그 기전에 대해서는 확실하게 밝혀지지 않았지만 estrogen을 주면 과식현상과 비만증이 회복되는 것으로 보아^{7,9)} 난소절제로 인한 홀몬분비의 변화때문이라고 생각되고 있다.

3.2 소장의 변화

난소절제로 인해 식이섭취량이 증가하는데 따른 소장의 변화를 살펴본 바 Table 2와 같다. 소장의 길이는 두군사이에 차이가 없었는데 소장의 무게와 mucosa무게는 실험군에서 현저하게 증가된 것을

관찰하였다. Mucosa의 단백질과 DNA함량이 동시에 증가되므로 단백질/DNA의 비율에는 변화가 없었다. 이 결과를 볼 때 소장점막의 무게증가는 점막세포의 hypertrophy가 아닌 hyperplasia에 의한 것으로 추정된다.

Campbell등은¹⁸⁾ 과식에 의해 소장 점막의 hypertrophy가 일어난다고 발표하였으나 그들의 실험에서는 소장의 총질소함량만을 측정하였으므로 총질소함량의 증가가 hypertrophy에 의한 것인지 hyperplasia에 의한 것인지는 구별할 수 없었다. Jacobs등은¹⁷⁾ 과식에 의해 소장점막의 단백질함량이 증가됨과 동시에 DNA함량이 증가되는 hyperplasia현상을 관찰하였는데 본 연구결과도 이에 일치한다.

장내에 존재하는 음식물 자체가 장점막의 세포성장에 필수적이라는 것은 단식이나 parenteral nutrition을 하는 경우 장점막세포의 hypoplasia가 일어나는 것을 볼 때 증명되고 있다^{25,27)}. 영양물질의 장점막 성장촉진효과는 아마도 영양물질이 장점막에 접촉할 때 장점막에서 여러가지 홀몬들이 분비

Table 1. Body weight and food intake of rats with ovariectomy and sham operation

Time (month)	Body weight(g)		Food intake(g/day)	
	OVX	Sham	OVX	Sham
Initial	321±12	318±12	14.4±0.4	14.6±0.6
2nd mo	384±15*	334±12	16.8±0.7*	14.1±0.8
4th mo	400±16*	348±17	19.5±0.8*	16.8±0.5
6th mo	429±16*	339±16	21.0±0.9*	18.7±1.0

Values are Mean±SEM

* : Significant at $p < 0.05$ by student's t-test

Table 2. Intestinal parameters of rats with ovariectomy and sham operation

Parameters	OVX	Sham
Intestinal length(cm)	127.7±4.1	129.9±2.6
Intestinal weight(mg/cm)	147±7*	120±2
Mucosal weight(mg/cm)	57±2*	36±2
Mucosal protein(mg/cm)	6.4±0.2*	3.8±0.2
Mucosal DNA(μg /cm)	188.1±11.1*	113.4±3.8
protein/DNA ratio	32.74±1.37	33.90±0.81

Values are Mean±SEM

* : Significant at $p < 0.05$ by student's t-test

Table 3. The activities of maltase and alkaline phosphatase in jejunal mucosa of rats with ovariectomy and sham operation

Enzyme	OVX	Sham
Maltase		
μmol/min/cm bowel	3.25±0.22*	1.88±0.08
μmol/min/g protein	503.07±27.72	491.33±21.33
Alkaline phosphatase		
μmol/min/cm bowel	2.47±0.18*	1.41±0.15
μmol/min/g protein	383.56±26.32	366.33±30.77

Values are Mean±SEM

* : Significant at p<0.05 by student's t-test

되어 나타나는 효과라고 생각되고 있다. Tropic hormone인 enteroglucagon이나 antitropic hormone인 secretin에 의해 장점막 성장이 변경되는 것이 알려져 있다²⁸⁾. 또한 소장으로 분비되는 헤액이나 담즙이 소장점막의 성장을 촉진하는 역할을 한다는 보고도 있다²⁹⁾³⁰⁾.

3.3 소장점막세포의 성숙도

증가된 점막세포의 성숙도를 측정하기 위해 소장의 성숙된 villi tip쪽에 주로 존재하는 효소중 maltase와 alkaline phosphatase를 선택하여 그들의 활성을 조사하였다. Table 3에서 보는 바와 같이 효소 활성을 μ mol/min/cm bowel로 표시하였을 때에는 실험군이 대조군에 비해 현저하게 높은 것을 알 수 있으나 specific activity(μmol/min/g protein)를 비교해 볼 때에는 두군사이에 유의적인 차이가 없었으므로 난소절제에 의해 유발된 석이설취량의 증가는 소장점막세포의 hyperplasia를 초래하고 이 경우의 세포증가는 성숙된 상태의 세포임을 알 수 있었다. 반면에 소장을 일부 절제한 후에도(small intestinal resection) 소장점막세포의 hyperplasia현상이 일어나는데 이 경우에는 증가된 세포에서 maltase나 alkaline phosphatase의 활성이 증가되지 않는 것으로 미루어보아 점막세포가 아직 미숙한 상태라고 생각되고 있다³¹⁾³²⁾.

3.4 다른기관들

난소절제한 실험군과 대조군사이에 간, 심장, 신

Table 4. Weights of liver, heart and kidney of rats with ovariectomy and sham operation

Organ	OVX	Sham
Liver(g) (% body weight)	13.35±0.91 3.11±0.16	11.05±0.48 3.26±0.12
Heart(g) (% body weight)	1.16±0.03 0.27±0.02	1.04±0.04 0.27±0.04
Kidney(g) (% body weight)	1.29±0.08 0.30±0.01	1.24±0.03 0.37±0.01

Values are Mean±SEM

장의 무게를 비교한 결과 별로 큰 차이가 없었음을 Table 4에서 볼 수 있다. 간, 심장, 신장이 실험군에서 약간 크게 나타났지만 통계적으로 유의성이 없었고 체중 100g 당으로 계산해 볼 때에는 오히려 약간 적어지는 경향마저 보였다. 그러므로 간, 심장, 신장은 난소절제에 의해 별로 영향을 받지 않았음을 알 수 있었다.

결 론

본 실험에서는 6개월된 성숙한 암쥐를 이용하여 난소절제를 한 경우 과식현상을 유발시킬 수 있었고 그 결과 비만이 초래되었다. 그러므로 난소절제는 석이설취조절과 체중조절에 미치는 영향을 확인할 수 있었다. 난소절제로 인한 과식현상에 따른 소장의 적응변화를 관찰한 결과 과식으로 인해 소장

- 난소절제에 의해 유발된 과식현상이 소장적응변화에 미치는 영향 -

첨막세포에 과잉성장이 이루어져 hyperplasia를 초래하는 것을 알 수 있었다. 그러나 intestinal resection에 의한 소장첨막의 hyperplasia에서 관찰되는 미숙한 세포와는 달리 ovariectomy에 의한 소장첨막의 hyperplasia는 세포가 성숙된 상태임이 밝혀졌다. Ovariectomy에 의해 유발된 과식현상으로 말미암아 비만해진 동물에서 간, 심장, 신장등에 무게에는 별로 큰 변화가 없었다.

REFERENCES

- 1) Wade GN. Gonadal hormones and behavioral regulation of body weight. *Physiol Behav* 8 : 523-534, 1972
- 2) Wade GN. Sex hormones, regulatory behaviors and body weight. In : Rosenblatt JS, Hinde RA, Shaw E, Boer CG, eds. *Advances in the study of behavior*. New York Academic Press, 201-279, 1976
- 3) Tarteletin MF, Gorski RA. Variations in food and water intake in the normal and acyclic female rat. *Physiol Behav* 7 : 847-852, 1971
- 4) Mook DG, Kenney NJ, Roberts S, Nussbaum AI, Rodier WI. Ovarian-adrenal interactions in regulation of body weight by female rats. *J Comp Physiol Psychol* 81 : 198-211, 1972
- 5) Kakolewski JW, Cox VC, Valenstein ES. Sex differences in body-weight change following gonadectomy of rats. *Psychol Reports* 22 : 547-554, 1968
- 6) Blaustein JD, Wade GN. Ovarian influences on the meal patterns of female rats. *Physiol Behav* 17 : 201-208, 1976
- 7) Tarteletin MF, Gorski RA. The effects of ovarian steroids on food and water intake and body weight in the female rat. *Acta Endocr* 72 : 551-568, 1973
- 8) Schemmel RA, Teague RJ, Bray GA. Obesity in Osborne-Mendel and S5B/P1 rats : effects of sucrose solutions, castration, and treatment with estradiol or insulin. *Am J Physiol* 243 : R347-R353, 1982
- 9) Blaustein JD, Gentry RT, Roy EJ, Wade GN. Effects of ovariectomy and estradiol on body weight and food intake in gold thioglucose-treated mice. *Physiol Behav* 17 : 1027-1030, 1976
- 10) Beatty WW, O'Briant DA, Vilberg TR. Effects of ovariectomy and estradiol injection on food intake and body weight in rats with ventromedial hypothalamic lesions. *Pharmac biochem Behav* 3 : 539-544, 1975
- 11) Jankowiak R, Stern JJ. Food intake and body weight modifications following medial hypothalamic hormone implants in female rats. *Physiol Behav* 12 : 875-879, 1974
- 12) Wade GN, Zucker I. Modulation of food intake and locomotor activity in female rats by diencephalic hormone implants. *J Comp Physiol Psychol* 72 : 328-336, 1970
- 13) Pfaff D, Keiner M. Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. *J Comp Neurol* 151 : 121-157, 1973
- 14) King JM, Cox VC. The effects of estrogens on food intake and body weight following ventromedial hypothalamic lesions. *Physiol Psychol* 1 : 261-264, 1973
- 15) Valenstein ES, Cox VC, Kakolewski JW. Sex differences in hyperphagia and body weight following hypothalamic damage. *Ann N Y Acad Sci* 157 : 1030-1048, 1969
- 16) Wright P, Turner C. Sex differences in body weight following gonadectomy and gold thioglucose injections in mice. *Physiol Behav* 11 : 155-159, 1972
- 17) Jacobs LR, Dowling RH. Relative roles of luminal nutrition and pancreatico biliary secretions in regulating intestinal growth and function in the cold-acclimated rat. In : Robinson JW, Dowling RH, Riecken EO eds. *Mechanisms of intestinal adaptation*. MTP Press, Lancaster, Boston 433-434, 1981
- 18) Campbell RM, Fell BF. Gastro-intestinal hypertrophy in the lactating rat and its relation to food intake. *J Physiol* 171 : 90-97, 1964
- 19) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall

- RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 20) Munro HN, Fleck A. the determination of nucleic acids. In : Glick D ed. *Methods of biochemical analysis. Interscience and Wylie, New York*, 14 : 113-176, 1966
- 21) Giles KW, Myers A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature* 206 : 93, 1965
- 22) Dahlqvist A. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal Biochem* 7 : 18-25, 1964
- 23) Sommer AJ. The determination of acid and alkaline phosphatase using nitrophenyl phosphate as substrate. *Am J Med Technol* 20 : 244-253, 1954
- 24) Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical method. The Iowa State Univ Press*, 91-119, 1978
- 25) Williamson RCN. *Intestinal adaptation. 1. Structural, functional and cytokinetic aspects. N Engl J Med* 298 : 1393-1443, 1978
- 26) Feldman EJ, Dowling RH, McNaughton J, Peters TJ. Effects of oral versus intravenous nutrition on intestinal adaptation after small bowel resection in the dog. *Gastroenterolgy* 70 : 712-719, 1976
- 27) Levine GM, Deren JJ, Yezdimir E. Small-bowel resection : oral intake is the stimulus for hyperplasia. *Am J Dig* 21 : 542-546, 1976
- 28) Williamson RCN. *Intestinal adaptation. 2. Mechanisms of control. N Engl J Med* 298 : 1444-1450, 1978
- 29) Weser E, Heller R, Tawil T. Stimulation of mucosal growth in the rat ileum by bile and pancreatic secretions after jejunal resection. *Gastroenterolgy* 73 : 524-529, 1977
- 30) Williamson RCN, Bauer FLR, Ross JS, Malt RA. Contributions of bile and of pancreatic juice to cell proliferation in ileal mucosa. *Surgery* 83 : 570-576, 1978
- 31) Dowling RH, Booth CC. Structural and functional changes following small intestinal resection in the rat. *Clin Sci* 32 : 139-149, 1967
- 32) McCarthy DM, Kim YS. Changes in sucrase, enterokinase, and peptide hydrolase after intestinal resection : the association of cellular hyperplasia and adaptation. *J Clin Invest* 52 : 942-951, 1973