

난소절제 흰쥐에서 Estrogen의 항비만 효과

정수연* · 유태무 · 양지선 · 류항목
식품의약품안전청 독성연구소 약리부 일반약리과
(Received November 26, 1998)

Antiobesity Effect of Estrogen on Ovariectomized Rat

Soo Youn Chung*, Tae Moo Yoo, Ji Sun Yang and Hang Mook Rhee
Department of Pharmacology, National Institute of Toxicological Research,
Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea

Abstract—Obesity is a chronic disease that is increasing in prevalence and that poses a serious risk for the hypertension, osteoporosis, heart disease, diabetes mellitus and certain forms of cancer. This study was performed to develop of obesity animal model and to assess the pharmacological assay for the rats of 8 weeks or 4 days after ovariectomization treated with estradiol for 8 weeks on the body weight, fat weight and food intake. The body weight, fat weight and food intake increased in the ovariectomized rats. In the rat of 8 weeks after ovariectomization treated with estradiol (250 mg/100 g) 8 weeks, the body weight decreased significantly ($p<0.05$). In the rats of 4 days after ovariectomization treated with estradiol 8 weeks, the body weight decreased significantly ($p<0.05$). These results suggest that estrogen plays a role in regulation body weight response to food intake and fat weight.

Keywords □ Obesity, estradiol, body weight, fat weight, food intake.

최근 급속한 산업화와 경제발전으로 인한 식생활 및 생활 습관이 서구화됨에 따라 비만증 및 심혈관계 질환이 증가하고 있다.¹⁾ 아직 국내에서 비만증환자가 얼마나 되는지는 정확히 알 수는 없지만 약 10% 정도로 추정하고 있다. 비만증의 원인은 아직도 확실치 밝혀져 있지 않으며 매우 다인적인 것으로, 유전적으로 비만증이 되기 쉬운 소질을 갖고 태어난 사람이 과식이나 운동량이 부족할 때 발생하는 원발성 비만증이 대부분이고 내분비질환에 의한 속발성비만증은 1% 미만으로 매우 드물다. 또한 비만증은 고혈압, 당뇨병, 동맥경화증, 통풍, 고지혈증 등을 동반하므로 비만증의 치료 및 예방은 매우 중요하다.²⁾

최근 연구자들은 식욕을 조절하는 유전자와 호르몬에 대한 연구로 이 가운데 가장 중요한 것이 leptin이다.³⁾ Leptin은 지방세포에서 분비되는 것으로 뇌에 충분한

지방이 축적되어 있다는 신호를 보내고 식욕을 억제하고 에너지 소비를 증가시킨다고 보고되었다.³⁾ 이와는 대조적으로 식욕을 자극하는 뇌내물질 neuropeptide Y에 대한 연구도 진행되고 있으며 neuropeptide Y의 신호에 반응하는 수용체를 뇌에서 발견했다.⁴⁾ Neuropeptide Y 수용체의 기능을 저지하는 것으로써 식욕을 억제할 가능성이 있다. 비만의 치료를 위하여는 기초대사율을 높이는 갑상선 호르몬 제제, 수분배설을 증가시키는 이뇨제, 식욕을 억제시키는 amphetamine, 지방세포에 축적된 지방의 저장을 감소시키는 효소적 지질 분해제, 다이어트 식품 등이 사용되고 있으며²⁾ 최근에는 leptin과 neuropeptide Y와 비만과의 관계가 밝혀지면서 이와 관련이 있는 물질의 개발이 진행되고 있다.

비만증의 원인중의 하나가 estrogen의 감소 또는 결핍에 의한 것에 의하여 일어나는 것으로 보고되고 있다.^{5,6)} 본 연구는 흰쥐의 양측 난소를 적출한 후 8주, 16주에서 체중, 지방무게 및 사료섭취량을 측정하여 비만동물이 발생하는지를 측정하였다. 또한 흰쥐의 양

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-380-1805 (팩스) 02-380-1806

측 난소를 적출한 후 8주 후에 estradiol을 8주간 투여하여 estradiol의 투여가 난소적출술에 의한 체중 증가에 대하여 치료하는지의 여부와 흰쥐의 양측 난소를 적출한 후 3일 후에 estradiol을 8주간 투여하여 estradiol의 투여가 난소적출술에 의한 체중 증가에 대하여 예방하는지의 여부를 체중 변화를 통하여 관찰하고자 한다.

실험방법

연구방법

연구과정은 크게 난소 절제술의 시행, 적출술후 일정 기간동안 estradiol을 투여하여 체중 변화, 지방무게 및 사료섭취량을 측정하였다.

실험동물

식품의약품안전청 실험동물자원실에서 생산된 5주령의 SD 랫드 암컷을 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 10\%$, 12시간 조명주기의 조건하에서 계속적으로 사용하여 사용하였으며, 물과 사료는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였다.

시험물질 구입 및 제조

Estradiol 구입 및 제조 - Estradiol은 Sigma(17α -estradiol, Lot 56H4036)에서 구입하였으며 corn oil에 녹여서 농도별로 주 5회씩 복강내 주사하였다.

난소절제수술

난소절제 수술 - 랫드를 ketamine(1 mg/Kg)을 근육주사하여 전신마취시킨 다음, 양측 복배부의 털을 제거한 뒤, 10% potadine 용액으로 수술부위를 소독한 뒤 무균조작 하에서 수술을 시행하였다. 후부 중양을 1 cm 정도 피부, 복근 및 복막을 절개하고 양측의 난소를 노출하여 절제하고, 복막, 복근 및 피부를 봉합하였다.

Sham 수술 - 복막 절개까지만 난소절제수술과 같은 방법으로 시행하고, 난소를 적출하지 않은 채로 다시 봉합하는 모의수술(sham operation)을 시행하여, 이들을 정상대조군으로 사용하였다.

군 분리

위와 같은 수술을 시행한 후, 이들은 다음과 같은 군으로 나누어 실험하였다.

난소절제술에 의한 체중증가, 지방무게, 사료섭취량 측정(수술후 8주, 16주에 측정) - 제1군: Sham 수술을 시행한 군(20마리), 제2군: 난소 절제 수술을 시행한 군(20마리)

난소절제술에 의한 체중증가에 대한 estradiol의 효과 - 제1군: Sham 수술을 시행한 군(10마리), 제2군: 난소 절제 수술 8주 후 estradiol(0, 2.5, 25, 250 mg/100 g)을 8주간 투여한 군(용량별 10마리)

난소절제술에 의한 체중증가 억제에 대한 estradiol의 효과 - 제1군: Sham 수술을 시행한 군(10마리), 제2군: 난소 절제 수술 4일 후 estradiol(0, 2.5, 25, 250 mg/100 g)을 8주간 투여한 군(용량별 10마리)

통계학적인 분석

모든 실험 결과는 Student's *t*-test로 통계처리하였으며 $p < 0.05$ 인 경우 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

난소절제수술에 의한 체중증가

SD 랫드 암컷을 난소절제수술후 8주 동안 체중변화, 지방무게 및 사료섭취량을 측정하였다. 8주동안 sham군에서는 31.0 g, 난소절제수술군에서는 109.3 g의 체중증가가 관찰되었고 지방무게는 sham군에서는 11.6 g, 난소절제수술군에서는 23.4 g이었고 사료섭취량은 sham군에서는 15.3 g, 난소절제수술군에서는 17.2 g이었다. 따라서 난소절제수술후 8주에 유의한 체중증가, 지방무게, 사료섭취량의 증가가 관찰되었다(Table 1). 또한 SD 랫드 암컷을 난소절제수술후 16주 동안 체중변화를 관찰하였다. 16주동안 sham군에서는 54 g, 난소절제수술군에서는 143.2 g의 체중증가가 관찰되었다. 따라서 난소절제수술후 2주부터 16주 까지 유의한 체중증가가 관찰되었다(Fig. 1).

Table 1—Change in body weight, fat weight and food intake in 8 weeks after ovariectomy (OXT)

| Group | Body weight gain for 8 weeks (g) | Fat weight (g) | Food intake (g) |
|-------|----------------------------------|----------------|-----------------|
| Sham | 31.0±9.8 | 11.6±0.9 | 15.3±0.2 |
| OXT | 109.3±26.3* | 23.4±1.9* | 17.2±0.3* |

Data are given as mean±standard error (n=10)

* $p < 0.05$ vs Sham Group.

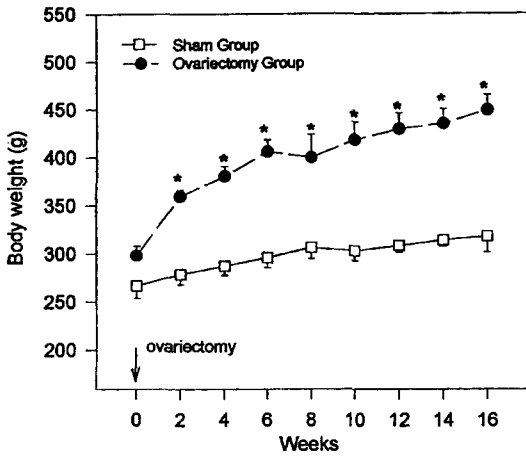


Fig. 1 — The change of the body weight in rats after ovariectomization.
*p<0.05 vs Sham Group

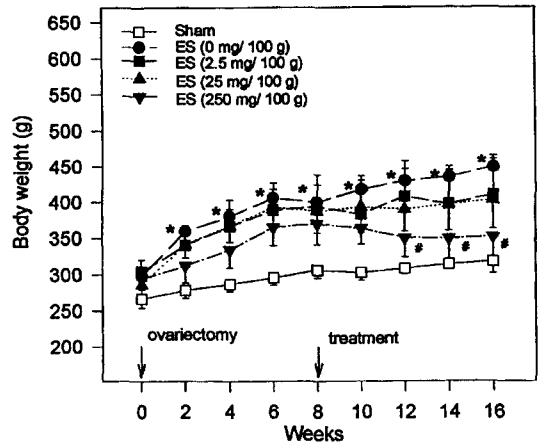


Fig. 2 — Effect of 8-weeks treatment with estradiol from 8-weeks after ovariectomization on the body weight.
*p<0.05 vs Sham Group
‡p<0.05 vs ES (0 mg/100 g) Group

난소절제술에 의한 체중증가에 대한 estradiol의 치료 효과

난소절제에 의한 체중 증가에 대한 estradiol의 치료 효과를 측정하기 위하여 SD 랫드 암컷을 난소절제 수술을 실시한 8주 후에 estradiol을 8주간 투여하여 체중변화를 관찰하였다. Sham군에 비하여 난소절제수술군에서는 유의한 체중증가가 관찰되었다. 난소절제 수술 8주 후 estradiol(250 mg/100 g) 투여 4주, 6주, 8주에서 유의성 있는 체중 변화가 있었다(Fig. 2). 또한 sham군에서는 난소절제수술 후 8주를 기준으로 하여 8주후에 12.0 g의 체중증가가 있었다. 난소절제 수술 8주후 estradiol을 투여하지 않은 군에서는 43.3 g, 8주간 estradiol(2.5 mg/100 g) 투여 군에서는 25.2 g, 8주간 estradiol(25 mg/100 g) 투여 군에서는 16.0 g의 체중증가가 있는 반면 8주간 estradiol(250 mg/100 g) 투

여 군에서는 5.3 g의 체중감소가 관찰되었다(Table 2).

난소절제술에 의한 체중증가에 대한 estradiol의 예방 효과

난소절제에 의한 체중 증가에 대한 estradiol의 효과를 측정하기 위하여 SD 랫드 암컷을 난소절제 수술 4일후 estradiol을 8주간 투여하여 체중의 변화를 관찰하였다. Sham군에서는 8주동안 31.0 g의 체중증가가 있었다. 난소절제 수술 4일 후 estradiol을 투여하지 않은 군에서는 109.3 g, 8주간 estradiol(2.5 mg/100 g) 투여 군에서는 111.2 g, 8주간 estradiol(25 mg/100 g) 투여 군에서는 125.5 g, 8주간 estradiol(250 mg/100 g) 투여 군에서는 38.8 g의 체중증가가 관찰되었다(Table 2). 난소절제 수술 4일후 estradiol(250 mg/100 g) 투여 4주, 6주 및 8주에서 난소절제수술후

Table II — Body weight change in 8 weeks treatment with estradiol from 8 weeks after ovariectomization (OXT)

| Group | Body weight gain (g) | | | |
|----------------------|------------------------|------------|------------|------------|
| | Estradiol treated week | | | |
| | 2 week | 4 week | 6 week | 8 week |
| Sham | -3.2±1.5 | 1.5±4.1 | 7.5±6.1 | 12.0±4.4 |
| OXT+ES(0 mg/100 g) | 17.6±17.1* | 29.8±20.9* | 29.3±25.5* | 43.3±22.9* |
| OXT+ES(2.5 mg/100 g) | -1.5±3.9 | 12.3±5.0 | 12.5±8.0 | 25.2±7.4 |
| OXT+ES(25 mg/100 g) | 6.2±3.1 | 2.8±0.7 | 10.5±2.5 | 16.0±3.9 |
| OXT+ES(250 mg/100 g) | -6.5±6.9 | -19.7±8.2‡ | -20.0±8.5‡ | -5.3±9.6‡ |

Data are given as mean±standard error (n=10)

*p<0.05 vs Sham Group

‡p<0.05 vs ES (0 mg/100 g) Group

Table III—Body weight change in 8 weeks treatment with estradiol from 4-days after ovariectomization (OXT)

| Group | Body weight gain (g) | | | |
|----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Estradiol treated week | | | |
| | 2 week | 4 week | 6 week | 8 week |
| Sham | 11.4±2.9 | 12.0±3.1 | 20.0±4.3 | 31.0±9.8 |
| OXT+ES(0 mg/100 g) | 28.6±5.7 | 69.4±8.4* | 90.0±7.9* | 109.3±26.3* |
| OXT+ES(2.5 mg/100 g) | 29.3±6.9 | 65.8±10.5 | 89.6±15.8 | 111.2±20.9 |
| OXT+ES(25 mg/100 g) | 17.5±12.9 | 50.6±16.5 | 97.4±13.4 | 125.5±21.0 |
| OXT+ES(250 mg/100 g) | -3.6±1.2 | 17.8±7.6 ^a | 24.5±9.0 ^a | 38.8±9.4 ^a |

Data are given as mean±standard error (n=10)

*p<0.05 vs Sham Group

^ap<0.05 vs ES (0 mg/100 g) Group

^ap<0.01 vs ES (0 mg/100 g) Group

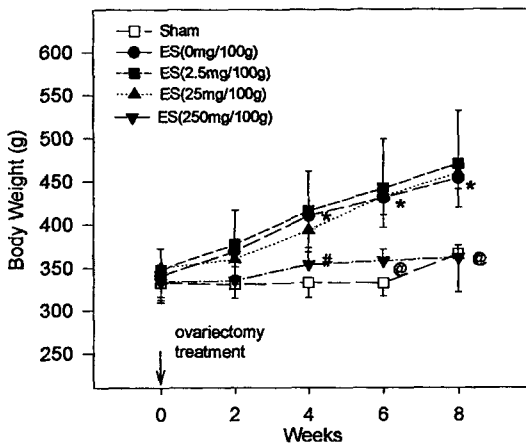


Fig. 3—Effect of 8-weeks treatment with estradiol from 4-days after ovariectomization on the body weight.

*p<0.05 vs Sham Group

^ap<0.05 vs ES (0 mg/100 g) Group

^ap<0.01 vs ES (0 mg/100 g) Group

estradiol을 투여하지 않은 군에 비하여 유의성 있는 체중 변화가 있었다(Table 3, Fig. 3).

고 찰

중년기이후 여성에서 비만의 주된 원인은 estrogen의 감소 또는 결핍에 의한 것으로 보고되고 있다.⁵⁾ 본 연구는 흰쥐의 양측 난소를 적출한 후 8주, 16주에서 체중, 지방무게 및 사료섭취량을 측정하여 비만동물이 발생하는지를 측정하였다. 또한 흰쥐의 양측 난소를 적출한 후 8주 후에 estradiol을 8주간 투여하여 estradiol의 투여가 난소적출술에 의한 체중 증가에 대하여 치료하는지의 여부와 흰쥐의 양측 난소를 적출한 후 4일 후에 estradiol을 8주간 투여하여 estradiol의 투여가 난

소적출술에 의한 체중 증가에 대한 예방하는지의 여부를 체중 변화를 통하여 관찰하였다. 일반적으로 estrogen이 결핍된 쥐에서 골형성의 감소, 골흡수의 증가, 골의 칼슘 및 hydroxyproline의 함량의 증가, 해면골과 피질골의 골량의 감소, 체중의 증가등이 나타난다고 하였다.^{7,8,9)}

본 실험에서는 흰쥐의 난소적출술군은 sham수술군에 비해 체중의 유의한 증가가 관찰되어 난소적출술에 의한 비만모델이 잘 확립된 것을 보여 주었다. 난소절제수술시 체중이 증가되는 기전에 대해서는 아직도 밝혀져 있지 않다. T. J. Wronski의 보고에 의하면 난소절제수술에 의한 골감소증에 대하여 부분적인 보호작용으로 체중이 증가할 것으로 보고했으며 이것은 폐경기 후 여성에서 골다공증이 발생하며 체중이 증가한다는 보고와도 일치하였다.¹⁰⁾ 폐경기 후의 여성에서 체중이 증가하고 심혈관계질환이 증가한다고 보고되고 있으며, 또한 설치류에 있어서 난소절제수술에 의한 체중의 증가가 일일사료섭취량의 증가와 활동성의 감소, 체지방의 증가에 의하여 일어난다고 보고했다.¹³⁾ 체지방은 지방세포와 생식기관에 주로 저장되고 생식능에 있어서 매우 중요한 역할을 하고 사람 난소의 비만유전자 발현에 영향을 미친다고 보고했다.¹¹⁾ 또 다른 보고에 의하면 비만유전자에서 생성되는 leptin의 농도는 비만한 사람에서 낮게 나타났다.¹²⁾ 난소절제수술에 의한 에스트로젠부족에 의하여 체지방이 지방세포와 생식기관에 주로 저장되어 비만유전자 발현에 영향을 미쳐 leptin 농도를 감소시켜 비만이 나타날 것으로 사료되나 직접적으로 이것을 증명하기 위해서는 난소절제수술군에서 비만유전자의 발현정도를 측정해서 직접적인 상관관계에 대한 추가실험으로 규명해야 할 것으로 사료된다.

또한 난소절제비만모델에 에스트로젠의 효과를 관찰

하였다. 난소절제수술 8주후에 에스트로젠 2.5 mg/100 g, 25 mg/100 g을 8주간 투여한 군에서는 에스트로젠을 투여하지 않은 군에 비하여 체중증가가 약간 감소하긴 했지만 유의성 있는 변화는 없었다. 그러나 에스트로젠 250 mg/100 g을 8주간 투여한 군에서는 에스트로젠을 투여하지 않은 군에 비하여 체중이 유의성 있게 감소하였다. 본 결과로서 에스트로젠 저농도에서는 난소절제수술에 의한 체중증가에 별 효과가 없으나 에스트로젠 고농도에서는 난소절제수술에 의한 체중증가에 있어서 유의성 있는 감소가 있었다. 에스트로젠은 시상하부의 ventromedial nucleus에 직접적으로 작용한다는 보고가 있으며,¹⁴⁾ *in vivo*에서 에스트로젠은 비만유전자의 발현을 증가시킨다는 보고가 있다.¹⁵⁾ Adipocyte에서 에스트라디올을 10시간 배양한 후 Ob mRNA가 증가되며 leptin은 생식기의 내분비계를 자극시키며 난소, 전립선 등에 높은 농도로 존재하고 있다.^{16,17)} 에스트로젠은 난소절제수술에 의한 음식섭취에 있어서 leptin의 증가와 anorexic effect가 있으며 또한 neuropeptide Y mRNA의 발현을 조절한다고 한다.¹⁸⁾

난소절제에 의한 비만동물 발생에 있어서 에스트로젠의 효과를 관찰하였다. 난소절제수술 4일 후에 에스트로젠 2.5 mg/100 g, 25 mg/100 g을 8주간 투여한 군에서는 에스트로젠을 투여하지 않은 군에 비하여 체중증가의 변화는 관찰되지 않았다. 그러나 에스트로젠 250 mg/100 g을 8주간 투여한 군에서는 에스트로젠을 투여하지 않은 군에 비하여 체중이 유의성 있게 감소하였고 체중증가의 양상이 sham군과 비슷한 양상을 보여 에스트로젠 고농도가 난소절제수술시의 체중증가를 억제하는 효과가 있었다. 본 결과로서 에스트로젠 저농도에서는 난소절제수술시 비만발생에 있어서 체중증가에 별 효과가 없으나 에스트로젠 고농도에서는 난소절제수술에 의한 체중증가에 있어서 유의성 있는 감소가 있었다.

따라서 본 연구를 통하여 난소절제수술에 의하여 비만이 발생하였으며 이는 사료섭취와 지방축적과 관련이 있는 것으로 사료되며 난소절제수술에 의한 체중증가의 치료와 예방에 고농도 에스트로젠이 효과가 있는 것으로 사료되며 leptin과의 상관관계에 대해서는 더 연구를 통하여 밝혀져야 할 것으로 사료된다.

결 론

1. 비만증동물모델을 확립하고자 흰쥐를 이용하여

난소절제수술 8주 및 16주후의 체중 변화, 지방무게 및 사료섭취량의 변화를 관찰한 결과 흰쥐의 난소절제수술군은 sham 수술군에 비해 체중, 지방무게 및 사료섭취량의 증가가 관찰되어 비만증의 모델이 잘 확립되었다.

2. Estradiol에 대한 비만증의 치료 효과를 검색하고자 흰쥐 암컷을 난소절제 8주 후부터 8주간 고농도 estradiol(250 mg/100 g)을 투여하여 체중 변화를 관찰한 결과 체중의 유의한 감소되는 소견을 보였으므로 estradiol이 비만증의 치료에 효과가 있음이 관찰되었다.

3. Estradiol에 대한 비만증의 예방 효과를 검색하고자 흰쥐 암컷을 난소절제 4일 후부터 8주간 고농도 estradiol(250 mg/100 g)을 투여하여 체중 변화를 관찰한 결과 체중의 유의한 감소되는 소견을 보였으므로 estradiol이 비만증의 예방에 효과가 있음이 관찰되었다.

문 헌

- 1) Kuczmarski R. J. : Increasing prevalence of overweight among US adult. *J. A. M. A.* **272**, 205 (1993).
- 2) Harrison T. R., Principles of internal medicine. *Mac Graw Hill* **14th**, 454 (1998).
- 3) Streamson C., Chua J., wendy K., Chung X., Sharon Wu-Peng : Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB(Leptin) Receptor. *Science* **271**, 994 (1996).
- 4) Stephens T. W., Basinski M., Bristiw P. K., Bue-Valleskey J. M., Burgett S. G., Craft L., Hals J., Hoffmann J., Halung H. M., Kriaucunus A., Mackellar W. : The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* **377**, 530 (1995).
- 5) Wronski T. J., Schenck P. A., Cintron M., Walsh C. C. : Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* **40**, 155 (1987).
- 6) Kiel D. P., Felson D. T., Anderson T. T., Wilson P. W. F., Moskowitz M. A. : Hip fracture and the use of estrogen in postmenopausal women the framingham study. *N Engl J Med.* **317**, 1169 (1987).
- 7) Urist M. R., Budy A. M., McLean F. C. : Species differences in the reaction of the mammalian skeleton to estrogens. *Proc Biol* **69**, 324 (1978).

- 8) Gurkan L., Ekland A., Gautvik K. M., Langeland N., Roenningen H., Solheim L. F. : Bone changes after castration in rats. *Acta Orthop-edica Scandinavica*, **57**, 67 (1986).
- 9) Faugere M. C., Okamoto S., Deluca H. F., Mal-luche H. H. : Calcitriol corrects bone loss induced by oophorectomy in rats. *Am. Physiological Society*, E35 (1986).
- 10) Wronski T. J., Schenck P. A., Cintron M., Walsh C. C. : Effect of body weight on osteopenia in o-variectomized rats. *Calci. Tissue Int* **40**, 155 (1987).
- 11) Karlsson C., Lindell K., Svensson E., Bergh C., Lind P., Billig H., Caelsson L. M., Carlsson B. : Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab. Int* **82**(12) 4144 (1997).
- 12) Considine R. V., Sinha M. K., Heiman M. L., Kriauciunas A., Stephens T. W., Nyce M. R. : Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* **334**, 292 (1996).
- 13) Shimomura Y., Shimizu Z. H., Kobayashi I., Ko-bayashi S. : Importance of feeding time in pair-fed, ovariectomized rats. *Physiology and Behavior* **45**, 1197 (1989).
- 14) Minami T., Oomura Y., Nabekura J., Fukuda A. : 17β -Estradiol depolarization of hypothalamic neurons is mediated by cyclic AMP. *Brain Research* **519**, 301 (1990).
- 15) Shimizu H., Shimomura Y., Nakanishi Y., Fu-tawatari T., Ohtani K., Sato N., Mori M. : Es-trogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J. Endocrinology* **154**, 285 (1997).
- 16) Murakami T., Iida M., Shima K. : Dexamethasone regulates obese expression in isolated rat adipocytes. *B. B. R. C.* **214**, 1260 (1995).
- 17) Barash I. A., Cheung C. C., Weigle D. S., Ren H., Kabigting E. B., Kuijper J. L., Clifton D. K., Steiner R. A. : Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* **137**, 3144 (1996).
- 18) Ohtani K., Shimizu H., Kato Y., Tanaka Y., Mori M., Shimomura Y. : Molecular aspect of o-variectomy-induced obesity. *Obesity Research* **3**(Suppl 3), 412 (1995).