

심근세포에서 苦蔘 유기용매 추출물의 항독성 효과

권강범 · 김은경 · 임양의¹ · 송용선¹ · 박종하¹ · 문형철² · 류도곤*

원광대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 원광대학교 한의과대학 재활의학교실, 2: 원광대학교 한의과대학 침구학교실

Cytoprotective Effect of Organic Solvents Extracts of *Sophorae Radix* in H9c2 Cells

Kang Beom Kwon, Eun Kyung Kim, Yang Eui Lim¹, Jong Ha Park¹, Yung Sun Song¹, Hyung Cheal Moon², Do Gon Ryu*

Department of Physiology, 1: Department of Oriental Rehabilitation Medicine, 2: Department of Acupuncture & Moxibustion, School of Oriental Medicine, Wonkwang University

To test the cytoprotective effect of sophorae radix (SR) against hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced cytotoxicity, we investigated the cell viability using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay in the presence of methylene chloride, n-butanol, ethyl acetate and water soluble fraction of SR water extracts in H9c2 cells. These results were obtained as followed ; H₂O₂ decreased the cell viability of H9c2 cells in a dose dependent manner. Cells pretreated with SR water extracts were protected the H₂O₂-induced decrease of viability in H9c2 cells. Among organic solvents fractions of SR water extracts, ethyl acetate soluble fractions of SR protected the decrease of viability induced by H₂O₂ in H9c2 cells. These results suggest that ethyl acetate soluble fractions of SR water extracts is effective in the prevention of H₂O₂-induced cytotoxicity.

Key words : *Sophorae Radix*, Hydrogen Peroxide, H9c2 Cells, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide

서 론

苦蔘(*Sophorae Radix*)은 豆科에 속한 도둑놈의 지팡이 (*Sophora flavescens* Ait.)의 根으로서 최초로 《神農本草經》¹⁾에 “主心腹結氣, 癥瘕, 積聚...”라고 기재되어있으며, 味苦, 性寒하고 歸經은 心, 肝, 胃, 大腸, 膀胱 등이라고 하였다²⁻²⁴⁾. 효능은 清熱燥濕, 利尿, 健腸胃, 祛風殺蟲 등이며, 濕熱下利, 黃疸, 赤白帶下, 陰部癢, 疥癩頑癬 등에 사용한다²⁻²⁴⁾. 성분은 matrine, oxymatrine이 주요alkaloid이며 그 외에 sophocarpine, sophoranol, allomatrine, cytisine, methylcystine 등이 포함되어 있다^{2,5,14,18-20,23)}. 실험적으로 강심, 건위, 자궁수축, 살충 등의 작용이 있다는 연구보고^{3-5,14,23)}가 있으며, 특히 순환기계에도 강심, 부정맥과 빈맥을 억제하는 효과^{2-6,23)}가 있다고 하였으며, 동물실험상 관상동맥을 확장

하여 관상동맥혈류를 증가시킬 수 있다고 하였다⁶⁾. 苦蔘 추출물은 adriamycin에 의하여 유도된 배양 심근세포 독성에 대하여 방어효과를 나타냈으며^{25,26)} 특히 서 등은 苦蔘의 ethyl acetate와 n-butanol 추출물에서 방어효과를 나타낸다고 보고하였다²⁶⁾.

이에 저자는 苦蔘 물 추출물에서 methylene chloride, ethyl acetate, n-butanol, H₂O 수용성 추출물을 획득한 후 활성산소 중의 하나인 hydrogen peroxide(H₂O₂)에 의한 심근세포 독성에 대한 방어효과를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

추출 및 분획용 용매는 EP급 용매를 사용하였고, column용 용매는 EP급 용매를 재증류하여 사용하였다. 세포 배양은 CO₂ incubator (Optima, USA)를 이용하였고, 세포수의 계산은 Hemocytometer를 사용하였으며 현미경은 도립현미경(Inverted Microscope, Olympus IX-71, JAPAN)을 사용하였다. 세포 생존율

* 교신저자 : 류도곤, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학

· E-mail : tkryu@wonkwang.ac.kr · Tel : 063-850-6846

· 접수 : 2004/03/29 · 수정 : 2004/04/19 · 채택 : 2004/05/20

의 측정은 ELISA(E-max, Molecular Device, USA)를 사용하였다.

2. H9c2 심근 세포주 배양

Embryonic rat 심장에서 유래한 세포주인 H9c2(ATCC, CRL1446)²⁷⁾는 CO₂ 세포배양기에서(37°C, 5% CO₂) 10% 우태아 혈청이 포함된 DMEM에서 배양하였다. 48시간 주기로 0.05% Trypsin-EDTA를 사용하여 계대 배양하였으며, 분주 12시간 후에 약재를 처리하여 세포 생존율을 측정하였다.

3. 苦蔘 전탕액 및 용매 추출

苦蔘 200g에 3차 증류수 1.8 l를 각각 환저플라스크에 넣고 냉각기를 부착하여 2시간동안 전열기로 전탕한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하고 진공 농축기로 감압농축한 후 동결건조기에서 24시간 동결건조하여 57.0g의 분말 시료를 얻었다. 위의 과정을 2회 반복하여 모든 苦蔘 전탕액을 한 등의 방법²⁸⁾에 따라 계통분획을 하였다. 계통분획방법은 위에서 얻은 물 가용부 28.5g을 methylene chloride, ethyl acetate, n-butanol 및 H₂O 가용부로 분획하여 각각 1.98g, 4.6g, 33.07g, 35.33g을 얻었다.

4. Hydrogen peroxide 및 苦蔘 추출물의 처리

본 실험에 사용한 시약으로는 hydrogen peroxide(H₂O₂, Sigma)로 1, 0.5, 0.25mM의 저장액을 만들어 -4°C에 보관한 후 실험당일 50, 100, 250, 500 μM의 농도로 희석하여 사용하였다. 또한 苦蔘 물 추출물은 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)으로 100mg/ml의 농도로 저장액을 만들어 -20°C에 보관한 후 실험당일 적당한 농도로 희석하여 사용하였으며 유기용매 추출물은 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma)에 녹여 -20°C에 보관한 후 적당한 양으로 희석 사용하거나 필요한 양을 직접 배양액에 첨가하여 사용하였다.

5. 세포 생존율 측정

세포 생존율은 세포 배양판(24-well plate)에 세포(1×10⁵ cells/ml)를 1ml씩 분주하여 12시간 이상 CO₂ 세포 배양기 안에서 안정시킨 후, 실험에 필요한 시약을 처리한 후, 배양액 최종 부피의 1/10 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Sigma)을 첨가하여 4시간 반응하였다. 생존 세포에 의해 형성된 보라색 formazan은 DMSA를 첨가하여 용해시킨 다음 분광광도계(ELISA reader, E-max, Molecular Devices, USA)를 이용하여 570nm 파장에서 흡광도(absorbance)를 측정하였다.

6. 통계처리

실험결과에 대한 유의성의 검정은 ANOVA one-way test(Microcal Origin, ver. 6.0, IBM, USA)에 의하였으며 p값이 0.05, 0.01, 0.001 이하인 것을 유의한 것으로 하였다.

실험성적

1. H₂O₂가 생존율에 미치는 영향

H₂O₂가 심근세포주인 H9c2의 생존율에 미치는 영향을 조사

하기 위하여 50-500 μM H₂O₂를 24시간 동안 세포에 처리한 후 MTT 정량법을 이용하여 생존율을 측정하였다. 그 결과 250 μM H₂O₂를 처리한 군의 생존율은 58.0%로 나타나 대조군에 비하여 42%의 생존율 감소 효과를 나타냈으며 500 μM H₂O₂를 처리한 군은 41.5%로 나타나 대조군에 비하여 58.5%의 생존율 감소효과를 나타냈다(Fig. 1). 이후 苦蔘 추출물의 방어효과를 조사하기 위한 실험에서 250 μM H₂O₂를 사용하였다.

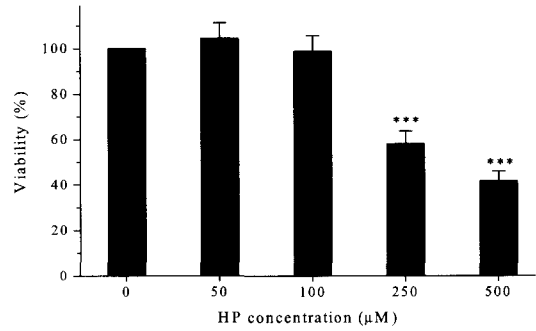


Fig. 1. Effects of hydrogen peroxide(HP) on viability in H9c2 cells. Cells were exposed to 50, 100, 250, 500 μM HP for 24 hours. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate the mean±SE for 3 experiments. Significant differences from the control group are marked with asterisk. ***p<0.001.

2. 苦蔘 물 추출물의 영향

1) 苦蔘 물 추출물이 세포 생존율에 미치는 영향

苦蔘 물 추출물이 심근 세포주인 H9c2의 생존율에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 0.5, 1.0, 2.0mg/ml의 농도로 24시간 동안 세포에 노출시킨 후 세포 생존율을 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 흡광도의 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2).

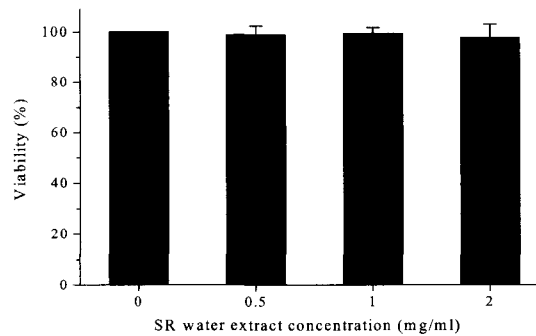


Fig. 2. Effects of Sophorae radix(SR) water extract on viability in H9c2 cells. Cells were exposed to 0.5, 1.0, 2.0 mg/ml SR water extract for 24 hours. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate the mean±SE for 3 experiments.

2) 苦蔘 물 추출물의 방어효과

苦蔘 물 추출물이 H₂O₂에 의한 세포 H9c2 생존율의 감소에 대한 방어효과를 조사하기 위하여 250 μM H₂O₂에 노출시키기 3시간 전에 苦蔘 물 추출물을 0.5, 1.0, 2.0mg/ml의 농도로 처리한 후 세포 생존율을 MTT 정량법에 의하여 조사하였다. 그 결과 전 처리한 0.5mg/ml 苦蔘 물 추출물을 처리한 군은 세포 생존율이 66.9%로 나타나 H₂O₂만 처리한 군의 세포 생존율 54.4%에 비하여 유의한 증가(p<0.01)를 나타냈으며 1.0, 2.0mg/ml의 농도로

처리한 군에서도 각각 73.4, 76.3%로 나타나 유의한 증가 ($p < 0.001$, $p < 0.001$)를 나타냈다(Fig. 3).

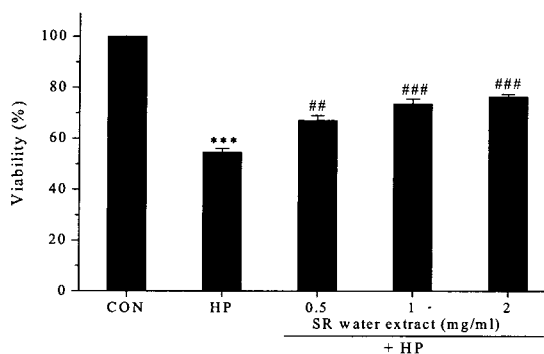


Fig. 3. A protective effects of Sophorae radix(SR) water extract in hydrogen peroxide(HP)-treated H9c2 cells. Cells were treated with 0.5, 1.0, 2.0mg/ml SR water extracts for 3 hours, and then exposed to 250 μ M HP for 24 hours. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate the mean \pm SE for 4 experiments. Significant differences from the control group and HP treated group are marked with asterisk. *** $p < 0.001$ vs CON; ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs HP.

3. 苦蔘 유기용매 분획물의 영향

1) 苦蔘 methylene chloride(MC) 분획물의 영향

苦蔘 유기용매 분획물 중 MC에 용해되는 추출물이 hydrogen peroxide(H_2O_2)에 의해 감소하는 H9c2 세포 생존율에 대한 방어효과를 관찰하기 위하여 250 μ M H_2O_2 에 노출시키기 3 시간 전에 苦蔘 MC 분획물을 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml의 농도로 처리한 후 세포 생존율을 MTT 정량법에 의하여 조사하였다. 그 결과 苦蔘 MC 분획물을 전 처리한 군의 세포 생존율은 각각 62.3, 62.7, 64.1, 63.7%로 나타나 H_2O_2 만 처리한 군의 세포 생존율 57.4%에 비하여 유의한 변화를 나타내지 않았다(Fig. 4).

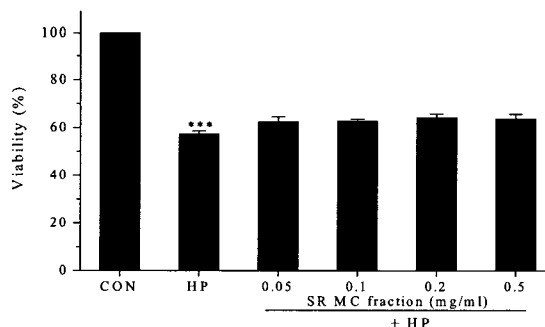


Fig. 4. A protective effects of Sophorae radix(SR) methylene chloride(MC) fractions in hydrogen peroxide(HP)-treated H9c2 cells. Cells were treated with 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml SR MC fractions for 3 hours, and then exposed to 250 μ M HP for 24 hours. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate the mean \pm SE for 4 experiments. Significant differences from the control group and HP treated group are marked with asterisk. *** $p < 0.001$.

2) 苦蔘 n-butanol(Bu-OH) 분획물의 영향

苦蔘 유기용매 분획물 중 Bu-OH에 용해되는 추출물이 hydrogen peroxide(H_2O_2)에 의해 감소하는 H9c2 세포 생존율에 대한 방어효과를 관찰하기 위하여 250 μ M H_2O_2 에 노출시키기 3 시간 전에 苦蔘 Bu-OH 분획물을 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml의 농도로 처리한 후 세포 생존율을 MTT 정량법에 의하여 조사하였다. 그 결과 苦蔘 Bu-OH 분획물을 전 처리한 군의 세포 생존율은 각

각 55.6, 58.6, 58.1, 59.0%로 나타나 H_2O_2 만 처리한 군의 세포 생존율 58.6%에 비하여 유의한 변화를 나타내지 않았다(Fig. 5).

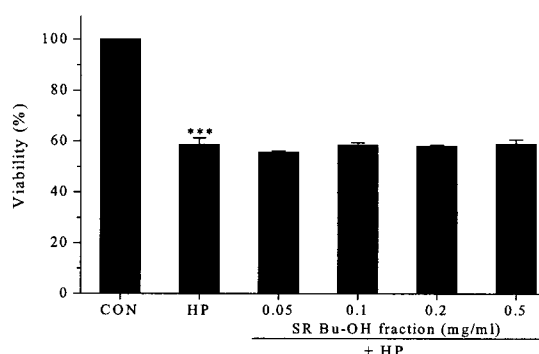


Fig. 5. A protective effects of Sophorae radix(SR) n-butanol(Bu-OH) fractions in hydrogen peroxide(HP)-treated H9c2 cells. Cells were treated with 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml SR Bu-OH fractions for 3 hours, and then exposed to 250 μ M HP for 24 hours. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate the mean \pm SE for 4 experiments. Significant differences from the control group are marked with asterisk. *** $p < 0.001$.

3) 苦蔘 ethyl acetate(EA) 분획물의 영향

苦蔘 유기용매 분획물 중 EA에 용해되는 추출물이 hydrogen peroxide(H_2O_2)에 의해 감소하는 H9c2 세포 생존율에 대한 방어효과를 관찰하기 위하여 250 μ M H_2O_2 에 노출시키기 3 시간 전에 苦蔘 EA 분획물을 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml의 농도로 처리한 후 세포 생존율을 MTT 정량법에 의하여 조사하였다. 그 결과 苦蔘 EA 분획물을 전 처리한 군의 세포 생존율은 각각 62.0($p < 0.01$), 74.6($p < 0.001$), 83.1($p < 0.001$), 82.5%($p < 0.001$)로 나타나 H_2O_2 만 처리한 군의 세포 생존율 55.8%에 비하여 유의한 증가를 나타내지 않았다(Fig. 6).

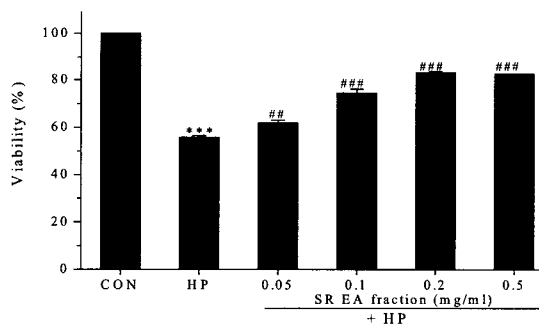


Fig. 6. A protective effects of Sophorae radix(SR) ethyl acetate(EA) fractions in hydrogen peroxide(HP)-treated H9c2 cells. Cells were treated with 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml SR EA fractions for 3 hours, and then exposed to 250 μ M HP for 24 hours. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate the mean \pm SE for 4 experiments. Significant differences from the control group and HP treated group are marked with asterisk. *** $p < 0.001$ vs CON; ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs HP.

4) 苦蔘 물 분획물의 영향

苦蔘 분획물 유기용매에 용해되고 나머지 잔사 증인 물 분획물이 hydrogen peroxide(H_2O_2)에 의해 감소하는 H9c2 세포 생존율에 대한 방어효과를 관찰하기 위하여 250 μ M H_2O_2 에 노출시키기 3시간 전에 苦蔘 물 분획물을 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml의 농도로 처리한 후 세포 생존율을 MTT 정량법에 의하여 조사하였다. 그 결과 苦蔘 물 분획물을 전 처리한 군의 세포 생존율은

각각 55.8, 58.4, 53.4, 53.4%로 나타나 H₂O₂만 처리한 군의 세포 생존율 55.0%에 비하여 유의한 변화를 나타내지 않았다(Fig. 7).

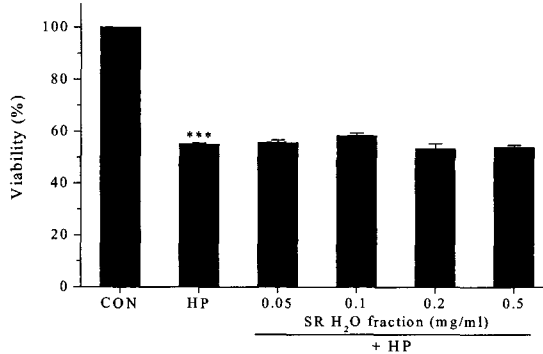


Fig. 7. A protective effects of Sophorae radix(SR) water fractions in hydrogen peroxide(HP)-treated H9c2 cells. Cells were treated with 0.05, 0.1, 0.2, 0.5mg/ml SR water fractions for 3 hours, and then exposed to 250 μ M H₂O₂ for 24 hours. Cell viability was measured by MTT assay and determined as % of control. The results indicate the mean \pm SE for 4 experiments. Significant differences from the control group are marked with asterisk. ***p<0.001.

고찰

苦蔘은 豆科에 속한 도둑놈의 지팡이의 根으로서 순환기계에 감심, 부정맥과 빈맥을 억제하는 효과^{2,6,23})가 있다고 하였으며, 동물실험상 관장동맥을 확장하여 관상동맥혈류를 증가시킬 수 있다고 하였다⁶). 김 등²⁵)은 苦蔘 물 추출물이 심근세포에서 adriamycin에 의해 유도되는 latate dehydrogenase의 누출증가와 심근세포 박동수의 감소에 대하여 방어 효과가 있다고 보고 하였으며 서 등²⁶) 苦蔘 유기 용매 분획층 중 ethyl acetate 층과 butanol 층이 adriamycin에 의한 독성을 방어한다고 보고하였다. 본 논문은 김 등²⁸), 서 등²⁶)과 Okawa 등²⁹)의 논문을 토대로 苦蔘 추출물의 심근 세포주인 H9c2 세포에서 활성산소종의 하나인³⁰) 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂)에 의해 유도된 세포 독성에 대한 방어효과를 조사하였다.

실험에서 과산화수소는 H9c2 세포에 처리한 농도에 의존적으로 생존율을 감소시켜 독성을 나타냈으며(Fig. 1) 이러한 결과는 김 등²⁵)과 서 등²⁶)의 보고와 일치하였다. 苦蔘 물 추출물이 H9c2 세포에 독성을 나타내는지 조사하고자 0.5, 1.0, 2.0mg/ml의 농도로 처리한 후 세포 생존율을 조사한 결과 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 5). H9c2 세포에 독성을 나타내지 않은 苦蔘 물 추출물 0.5, 1.0, 2.0mg/ml의 농도에서 과산화수소의 독성에 대한 방어효과를 조사한 결과 처리한 농도에 의존적으로 세포 생존율의 감소를 억제하였으며(Fig. 3) 이러한 결과는 김 등²⁵)과 서 등²⁶)이 보고한 결과와 일치하였다.

다음으로 苦蔘 물 추출물에 계통분획법²⁸)을 이용하여 유기 용매인 methylene chloride(MC), ethyl acetate(EA), n-butanol (Bu-OH) 분획층을 획득하여(Fig. 1) 어느 유기용매 층에서 방어 효과를 나타내는지 조사하였다. Fig.6에서 나타났듯이 苦蔘 EA 분획층에서 유의한 방어효과를 나타냈다(Fig. 6). 특히 0.1, 0.2, 0.5mg/ml의 농도로 처리한 군은 과산화수소에 의한 생존율의 감소를 대조군과 비슷한 수준으로 억제하였다. 그러나 다른 유기

용매 분획층에서는 과산화수소에 의한 생존율의 감소를 억제하지 못하였다(Fig. 4, 5, 7). 이러한 결과는 서 등이 보고한 EA 분획층의 adriamycin의 독성에 대한 방어효과²⁶)와 일치하였다.

이상의 결과를 종합해보면 苦蔘 물 추출물은 심근 세포주인 H9c2 세포의 과산화수소에 의한 독성에 대하여 방어효과를 나타냈으며 이러한 방어효과는 유기 용매 분획층 중 EA 분획층에서 효과가 가장 뛰어난 것으로 나타났다.

결론

苦蔘 물 추출물과 유기용매 추출물의 과산화수소에 의한 H9c2 심근 세포주 독성에 대한 방어효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 과산화수소는 H9c2 세포의 생존율을 농도 의존적으로 감소시켰다. 苦蔘 물 추출물은 과산화수소에 의한 H9c2세포 독성을 유의하게 억제하였다. 苦蔘 ethyl acetate 추출물은 과산화수소에 의한 H9c2세포 독성을 유의하게 억제하였다. 이상의 결과에서 과산화수소는 H9c2 심근 세포주에 독성을 나타냈으며 苦蔘 추출물은 과산화수소에 의한 독성을 방어하였다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한방치료기술개발사업의 지원(00-PJ9-PG1-CO03-0001)에 의하여 이루어진 것임.

참고문헌

1. 吳 普 : 神農本草經, 서울, 醫聖堂, p.7, 1994.
2. 李承武 外 : 急性附子草烏中毒에서 甘豆湯과 苦蔘의 應用, 大韓韓醫學會誌, 14(2) : 399-405, 1993.
3. 孟憲紘 : 中成藥分析, 北京, 人民衛生出版社, pp.297-298, 1990.
4. 李廣勛 : 中藥藥理毒理與臨床, 河北, 天津科技翻譯出版公司出版, pp. 63-64, 1992.
5. 董黎明 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp. 62-65, 82-83, 330, 451-458, 1986.
6. 張寶鳳 外 : 苦蔘總鹽抗實驗性心律失常作用的研究, 中藥通報, 10(5):37-38, 1985.
7. 黃宮綉 : 本草求真, 서울, 醫聖堂, p.145, 1997.
8. 王好古 : 湯液本草, 서울, 醫聖堂, p.111-112, 1994.
9. 唐慎微 : 重修政和經史證類備急本草, 北京, 人民衛生出版社, p.198, 1982.
10. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 常務印書館香港分館, p.205-206, 1983.
11. 汪 昂 : 本草備要解析, 新竹, 國興出版社, p.186-187, 1985.
12. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, p.798-802, 1995.
13. 吳儀洛 : 本草從新, 서울, 행림출판, p.20, 1989.
14. 문관심 : 약초의 성분과 이용, 서울, 일월서각, p.342-344, 1991.
15. 陳嘉謨 : 本草蒙筌, 北京, 人民衛生出版社, p.162, 1988.
16. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, p.314-315, 1986.
17. 中華人民共和國衛生部藥典委員會 : 中華人民共和國藥典, 北

- 京, 人民衛生出版社, p.174, 1985.
18. 江蘇新醫學院: 新編中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, p.1368-1370, 1982.
19. 申佶球: 申氏本草學, 서울, 壽文社, p.658-661, 1979.
20. 李尙仁 外: 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.137-138, 1990.
21. 동의학연구소: 本草學, 서울 여강출판사, p.127-128, 1994.
22. 鄒 澍: 本經疏證, 上海, 上海科學技術出版社, pp. 148-149, 1991.
23. 차진현: 실용동약학, 서울, 일월서각, p.513-515, 1990.
24. 陳 言: 陳無擇三因方, 臺北, 臺聯國風出版社, p.22, 1978.
25. 金賢奎 外: 苦蔘 煎湯液이 培養心筋細胞에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 20(1):142-150, 1999.
26. 서재영, 권강범, 조현익, 이호섭, 서은아, 김인숙, 류도곤: 苦蔘 煎탕액 분획물이 배양 심근세포에 미치는 영향. 동의생리학회지 15(1):149-155, 2000.
27. Kimes BW, Brandt BL. Properties of a clonal muscle cell line from rat heart. *Exp Cell Res* 98:367-81, 1976.
28. 한두석 외 5인: 한국산 생약으로부터 항암물질의 개발(제 6 부); 금은화 · Ethyl Acetate 가용성 분획의 인체 구강유상피암 종세포에 미치는 독성작용, 한국생약학회지, 29(1):22-27, 1998.
29. Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol Pharm Bull* 24:1202-52001, .
30. Maestro R. F., Thaw H. H., Bjo가 J., Planker M., Arfors K. E. : Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 492:43-57, 1980.