

大營煎이 白鼠의 排卵과 卵巢에 미치는 影響

원광대학교 한의과대학 부인과학교실
이수정, 고정민, 최창민, 조한백

ABSTRACT

Effects of *Daeyeongjeon* on the Ovulation and Ovary in Rats

Su-Jung Lee, Jeong-Min Ko, Chang-Min Choe, Han-Baek Cho
Department of Gynecology, College of Oriental Medicine,
Wonkwang University

Purpose : Deoyeongjeon(DYJ : 大營煎) is used in female infertility, caused by ovulation disorder. so this study is to examine what are the effects of the Deoyeongjeon(DYJ) on the vulation and Ovary in Rats

Methods : 4weeks Female Sprague-Dawley 12 rats of weighting 160-180g, were divided into three groups including the DYJ oral administration(4ml/kg) groups(4heads) and DYJ oral administration(8ml/kg) groups(4heads). then we observed changes in the serum concentrations of FSH, LH, and estradiol(E2) and the histological changes of ovary and the immunohistochemical staining for progesterone receptor in ovary of rats.

Results :

1. Blood FSH level significantly increased in experimental group as compared with control group.
2. In blood LH level, experimental group showed no efficacy as compared with control group.
3. In blood estradiol(E2) level, experimental group showed no efficacy as compared with control group.
4. In histological observations of ovary, ovulation increased in experimental group as compared with control group, which showed no efficacy.
5. In observations of immunohistochemical staining for progesterone receptor in ovary, immunohistochemical staining score (ISS) of atretic follicles significantly showed a tendency to decrease in experimental group as compared with control group.

Conclusion : DYJ influences the pituitary gland and ovary to increase the ovulation of rats.

Key words : *Deoyeongjeon*(DYJ), progesterone receptor(PR), ovary, ovuration

이 논문은 2005년도 원광대학교 연구비지원에 의하여 연구됨

I. 緒 論

大營煎은 明代 張¹⁾의 《景岳全書》에 最初로 記載된 이래 여러 醫書²⁻¹¹⁾에서 精血不足으로 因한 月經不調, 不妊症, 産後諸症, 更年期障礙 등을 治療하기 위하여 臨床에서 널리 應用되어 왔다.

最近 韓醫學界에서는 排卵과 關聯된 實驗的 研究가 활발히 進行되어지고 있으나 卵巢에 存在하는 progesterone 受容體(progesterone receptor; PR)에 관한 研究는 없으며, 大營煎에 관한 實驗的 研究¹²⁻¹⁶⁾도 排卵과 關聯해서는 아직 報告된 바 없다.

이에 著者は 大營煎이 排卵과 卵巢에 미치는 影響에 관하여 實驗的으로 究明하고자 大營煎을 白鼠에 經口投與하여 排卵과 關聯된 卵胞刺戟호르몬(follicle stimulating hormone; FSH), 黃體形成호르몬(luteinizing hormone; LH), estradiol(E₂)의 血中 濃度を 測定하고, 卵巢를 摘出하여 組織學的 檢索을 통해 卵胞의 發達을 觀察하였으며, 또한 大營煎과 卵巢에 存在하는 PR과의 聯關性を 알아보고, 白鼠 卵巢에서 PR의 發現樣相을 알아보고자 免疫組織化學的 染色을 施行하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 動物

動物은 同一한 環境에서 飼育한 4週齡의 Sprague-Dawley系 雌性白鼠 12마리를 韓國化學研究所(Korea Research Institute of Chemical Technology)에서 購入하여 充分한 營養供給과 함께 1週日間 實驗室에 適應시킨 후, 體重 160~180g이 되었을 때 實驗에 利用하였다.

2) 藥物

本 實驗에 使用된 藥材들은 圓光大學校 韓醫科大學 附屬韓方病院에서 購入하여 良質의 것을 精選하여 使用하였으며, 處方構成은 張¹⁾의 《景岳全書》에 準하였다.

Prescription of Daeyeongjeon(DYJ)

藥物名	生藥名	重量(g)	備考
熟地黃	Rehmanniae Radix	12	
	Preparata		
當歸	Angelicae sinensis	8	
	Radix		
枸杞子	Lycii Fructus	8	
杜冲	Eucommiae Cortex	8	
牛膝	Achyranthis Radix	6	
肉桂	Cinnamomi Cortex	4	
甘草	Glycyrrhizae Radix	4	炙
Total amount		50	

2. 方法

1) 檢液의 製造

大營煎 10貼 分量인 500g을 환저플

라스크에 蒸溜水 4,000ml와 함께 넣은 다음, 2時間동안 電熱器로 煎湯시킨 후, 濾過하여 3,500ml를 얻어 3,000rpm으로 10分間 遠心分離하였다. 이 때에 上澄液 3,450ml를 얻어 30℃에서 減壓乾燥器로 24時間 乾燥시켜 600ml의 褐色濃縮液을 얻었다. 이것을 原液으로 삼아 4℃ 冷藏庫에 保管하여 實驗에 使用하였다.

2) 實驗群의 設定과 檢液의 投與

白鼠의 月經週期가 約 3~4日인 點을 勘案하여 檢液의 投與 始作 3日前에 estradiol(E₂) 1mg/kg을 臀部에 皮下注射하여 性週期를 一定하게 調節하고 實驗에 使用하였다.

各 1群마다 4마리씩 配定하여 實驗群과 對照群으로 나누었으며 實驗群은 estradiol(E₂) 投與 3日後부터 14日 동안 大營煎 4ml/kg를 존데를 통하여 每日 1回(10:00) 經口投與한 群과 每日 8ml/kg의 大營煎을 經口投與한 2개의 實驗群으로 定하였다. 對照群은 同一한 條件下에서 大營煎 대신 同量의 生理食鹽水를 經口投與하였다.

3) 採血

血液의 採取는 大營煎 投與 15日째 되는 날에 白鼠를 ether로 麻酔하고 胸腔과 腹腔을 切開한 뒤, 4ml 注射器를 利用하여 下大靜脈에서 全血을 採血하였다. 血液은 抗凝固劑가 含有된 tube에 넣은 후, 室溫에서 30分間 放置한 다음

에 3,000rpm으로 15分間 遠心分離하고 上層에 모아진 血清을 취하여 FSH, LH, estradiol(E₂)의 濃度를 測定하였다.

4) 血中 호르몬 含量의 測定

(1) FSH 含量

血中 FSH의 含量은 ¹²⁵I immunoradiometric assay法으로 測定하였다. 遠心分離하여 얻은 血清 200μl에 100μl의 ¹²⁵I FSH(DPC, USA)를 添加하여 rack shaker에서 60分間 反應시킨 후 2.0ml의 buffered wash solution으로 두 차례 水洗한 후 檢體 內의 放射能을 gamma counter(Packard, USA)에서 1分間 測定하였다.

(2) LH 含量

血中 LH의 含量은 ¹²⁵I immunoradiometric assay法으로 測定하였다. 遠心分離하여 얻은 血清 200μl에 100μl의 ¹²⁵I LH(DPC, USA)를 添加하여 rack shaker에서 60分間 反應시킨 후 2.0ml의 buffered wash solution으로 두 차례 水洗한 후 檢體 內의 放射能을 gamma counter (Packard, USA)에서 1分間 測定하였다.

(3) Estradiol(E₂) 含量

血中 E₂의 含量은 Estradiol Maia kit(Adaltis, Italy)를 使用한 ¹²⁵I radioimmunoassay法으로 測定하였다. 遠心分離하여 얻은 血清 50μl에 100μl의 [¹²⁵I]로 標識된 Estradiol Maia tracer와 100μl의 Estradiol Maia antiserum을 添加한 후 37℃ 恒溫 水槽 內에서 60分間 反應시켰다. 1.0ml의 Estradiol Maia separation

reagent를 添加한 후 室溫에서 10分間 放置시킨 후 上層液을 버리고 檢體 內의 放射能을 gamma counter(Packard, USA)에서 1分間 測定하였다.

5) 卵巢의 組織學的 檢索

大營煎 投與 15日째 되는 날에 實驗에 利用된 모든 白鼠에서 兩側 卵巢를 摘出した 후 兩側 卵巢를 10% 中性포르말린 溶液으로 12時間 동안 固定시킨 다음, 通常의인 方法으로 파라핀 블록을 만들고 4 μ m 두께로 切片하여 hematoxylin-eosin 染色을 施行하였다. 製作된 슬라이드는 光學顯微鏡으로 檢鏡하였으며 卵巢 內의 二次卵胞(secondary follicle)와 成熟卵胞(mature or graafian follicle) 및 黃體(corpus luteum)의 數를 세었다.

6) PR의 免疫組織化學的 染色

免疫組織化學的 染色은 파라핀 포매된 兩側 卵巢의 블록을 4 μ m 두께로 박절한 組織切片을 얻어 PR(Santa cruz Biotechnology, C-19, sc-538)에 대한 다클론항체를 免疫染色用 一次抗體로 使用하였다. 全 過程을 간단히 記述하면 probe on Plus Slide(Fisher Scientific, Pittsburgh, USA)에 4 μ m 두께의 組織切片을 58 $^{\circ}$ C 오븐에서 12時間 동안 부치시킨 후 Xylene과 Histoclear(National diagnostic; Manvill, NJ.)를 1:3의 比率로 混合한 溶液을 利用하여 5分씩 3차례 反復하여 탈파라핀 하였다. 室溫에서 100%, 95%,

80%, 70% 알코올로 차례대로 處理하여 脫水시킨 후 蒸溜水로 含水시켰다. 이후 組織切片을 전자렌지에서 5分間 끓인 후 常溫에서 20分間 식히고 TBST(Tris-buffered Saline with 0.1% Tween-20, DAKO)로 水洗하였다. 一次抗體의 非特異的 染色을 減少시키기 위하여 mouse & human 血清과 10分間 反應시킨 후 1:50으로 稀釋한 一次抗體를 室溫에서 2時間 동안 부치시킨 후 TBST로 水洗하였다. 비오틴이 附着된 二次抗體에 30分間 反應시키고 水洗한 후 스트렙타비딘 過酸化 酵素(oxidase-labelled streptavidin)에 30分間 反應시키고 TBST로 水洗하였다. Chromogen(concentrated 3-amino-9-ethylcarbazol)으로 15分間 發色시키고 Meyer's hematoxylin으로 對照 染色한 후 crystal mount(Biomed)로 封入한 후 檢鏡하였다.

7) 統計處理

實驗結果의 統計學的 檢證을 위해서 one-way ANOVA test를 使用하였고, 多重比較方法으로 Duncan's method를 使用하였으며, P value가 0.05 以下인 경우에 有意한 差로 判定하였다.

III. 實驗成績

1. 血中 호르몬 濃도에 미치는 影響

1) FSH 濃도에 미치는 影響

血中 FSH 濃도는 對照群에서는

0.262±0.155mIU/ml였고, 4ml/kg과 8ml/kg의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서는 各各 1.250±0.847mIU/ml와 0.410±0.177mIU/ml의 FSH 血中 濃度を 보였다. 對照群과 2개의 實驗群 사이에

서 血中 FSH 濃度は 統計學的으로 意味 있는 差異를 보였다(P=0.046), 특히 對照群에 비해 4ml/kg의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서 統計學的으로 意味 있는 增加를 나타냈다(P<0.05)(Table 1).

Table 1. Level of FSH in rats treated with DYJ

Groups	FSH (mIU/ml)	P value	Multiple comparison procedures [†]		
Control ¹ (n=4)	0.262±0.155	0.046	1	2	3
4ml/kg DYJ ² (n=4)	1.250±0.847				
8ml/kg DYJ ³ (n=4)	0.410±0.177				

Mean±SD

Control: Saline-treated group after pretreatment of estradiol

4ml/kg DYJ: 4ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

8ml/kg DYJ: 8ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

[†] ; by the one-way ANOVA and Duncan's method

2) LH 濃도에 미치는 影響

血中 LH 濃度は 對照群에서는 0.110±0.0535mIU/ml였고, 4ml/kg과 8ml/kg의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서는 各各 0.103±0.0727mIU/ml와 0.130±0.0327mIU/ml의 LH 血中 濃도를

보였다. 對照群과 4ml/kg과 8ml/kg의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群 사이에서 血中 LH 濃度에서는 統計學的으로 意味 있는 差異는 없었다(P=0.775)(Table 2).

Table 2. Level of LH in rats treated with DYJ

Groups	LH (mIU/ml)	P value
Control (n=4)	0.110±0.0535	0.775
4ml/kg DYJ (n=4)	0.103±0.0727	
8ml/kg DYJ (n=4)	0.130±0.0327	

Mean±SD

Control: Saline-treated group after pretreatment of estradiol

4ml/kg DYJ: 4ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

8ml/kg DYJ: 8ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

P value was evaluated by the one-way ANOVA.

3) Estradiol(E₂) 濃도에 미치는 影響

血中 E₂ 濃度は 對照群에서 16.200±8.354pg/ml였고 4ml/kg과 8ml/kg의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서는 各各 19.375±5.254pg/ml와

12.675±6.241pg/ml였으며, 對照群과 4ml/kg과 8ml/kg의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群 사이에서 血中 E₂ 濃度は 統計學的으로 意味 있는 差異는 없었다(P=0.409)(Table 3).

Table 3. Level of E₂ in rats treated with DYJ

Groups	E ₂ (pg/ml)	P value
Control (n=4)	16.200±8.354	0.409
4ml/kg DYJ (n=4)	19.375±5.254	
8ml/kg DYJ (n=4)	12.675±6.241	

Mean±SD

Control: Saline-treated group after pretreatment of estradiol
 4ml/kg DYJ: 4ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol
 8ml/kg DYJ: 8ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol
 P value was evaluated by the one-way ANOVA.

2. 卵巢에 미치는 影響

1) 卵巢의 組織所見

兩側 卵巢에서 二次卵胞(secocondary follicle)와 成熟卵胞(mature or graafian follicle) 및 黃體(corpus luteum)의 數를 세어 본 結果, 對照群에서는 37.8±10.7개 였고 4ml/kg과 8ml/kg의 大營煎을 14日

동안 投與한 實驗群에서는 各各 58.0±10.7개와 55.0±13.1개였다. 2개의 實驗群에서 卵巢 卵胞 數는 對照群에 比해 增加된 所見을 보였으나, 統計學的으로 意味있는 差異를 보이지는 않았다 (P=0.072)(Table 4)(Fig. 1).

Table 4. Number of secondary, mature follicles and corpus luteum in both ovary

Groups	Number of follicles	P value
Control (n=4)	37.8±10.7	0.072
4ml/kg DYJ (n=4)	58.0±10.7	
8ml/kg DYJ (n=4)	55.0±13.1	

Mean±SD

Control: Saline-treated group after pretreatment of estradiol
 4ml/kg DYJ: 4ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol
 8ml/kg DYJ: 8ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol
 P value was evaluated by the one-way ANOVA.



Fig. 1 More ovarian follicles and corpus luteum are identified in the ovary of the 4ml/kg of DYJ-treated rat for 14 days(B) than control(A).

2) PR의 免疫組織化學的 染色所見

免疫組織化學的 染色의 定度는 전혀 染色이 되지 않은 경우를 음성(-)으로 하였고, 染色의 強度에 따라 약양성(+), 중등도양성(++), 강양성(+++)으로 區分하였다. 對照群과 2개의 實驗群에서 免疫組織化學的 染色上 PR의 發現樣相은 二次卵胞와 成熟卵胞의 顆粒膜細胞

(granulosa cell) 와 卵母細胞(oocyte)에 서는 약양성에서 강양성의 程度로 發現되었고, 黃體와 卵胞膜細胞(theca cell)에 서는 약양성의 發現을 보였다. 또한 成熟卵胞에서는 少數의 閉鎖卵胞(atretic follicle) 및 卵管의 平滑筋(smooth muscle)에서 약양성에서 강양성의 程度로 發現되었으며, 以外の 卵巢 上皮細胞

(ovarian epithelial cell), 卵巢 機質細胞 및 卵管 上皮細胞에서는 PR의 發現이 없었다(Fig. 2, 3).

PR에 대한 免疫組織化學的 染色에 있어서 二次卵胞와 成熟卵胞 그리고 閉鎖卵胞에서 染色된 정도를 對照群과 2개의 實驗群 사이에서 比較하기 위하여 아래와 같이 計算하였다.

* 免疫染色指數(immunohistochemical staining score, ISS) = (약양성인 卵胞의 數 X 1) + (중등도양성인 卵胞의 數 X 2) + (강양성인 卵胞의 數 X 3)

二次卵胞와 成熟卵胞에서의 免疫染色指數는 對照群에서 3.250±2.630였고 4 ml/kg과 8ml/kg의 大營煎을 14日 동안

投與한 實驗群에서는 各各 3.000±0.816와 3.000±1.826였으며, 對照群과 2개의 實驗群 사이에서 統計學的으로 意味있는 差異는 없었다(P=0.977)(Table 5).

閉鎖卵胞에서의 免疫染色指數는 對照群에서 114.750±38.300였고 4ml/kg과 8 ml/kg의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서는 各各 39.750±9.912와 37.750±30.347였으며, 對照群에 비해서 2개의 實驗群에서 統計學的으로 意味있는 減少를 보였다(P=0.046)(Table 6).

또한 卵管의 平滑筋에서 PR의 發現을 살펴본 結果, 對照群에 비해서 大營煎을 投與한 實驗群에서 PR이 强하게 發現되는 傾向을 보였다(Table 7).

Table 5. Immunohistochemical staining score (ISS) for PR in the secondary and mature follicles of the ovary

Groups	ISS	P value
Control (n=4)	3.250±2.630	0.977
4ml/kg DYJ (n=4)	3.000±0.816	
8ml/kg DYJ (n=4)	3.000±1.826	

Mean±SD

Control: Saline-treated group after pretreatment of estradiol

4ml/kg DYJ: 4ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

8ml/kg DYJ: 8ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

P value was evaluated by the one-way ANOVA.

Table 6. Immunohistochemical staining score (ISS) for PR in the atretic follicles of the ovary

Groups	ISS	P value	Multiple comparison procedures [†]		
Control ¹ (n=4)	114.750±38.300	0.046	1	2	3
4ml/kg DYJ ² (n=4)	39.750±9.912				
8ml/kg DYJ ³ (n=4)	37.750±30.347				

Mean±SD

Control: Saline-treated group after pretreatment of estradiol

4ml/kg DYJ: 4ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

8ml/kg DYJ: 8ml/kg of DYJ-treated group after pretreatment of estradiol

[†] ; by the one-way ANOVA and Duncan's method

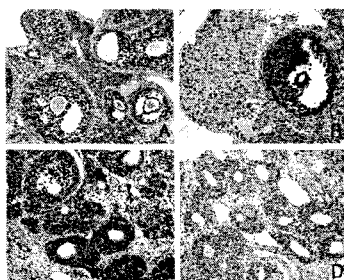


Fig. 2 A, B) Granulosa cells of the secondary and mature follicles show strong positive immunoreactivity for PR. Corpus luteum and theca cells show weakly positive reaction. (A: control, B: 4ml/kg of *DYJ*-treated rat) C) Atretic follicles of the control show strong positive immunoreactivity for PR. D) Otherwise, atretic follicles of the 8ml/kg of *DYJ*-treated rat show weakly positive reaction.

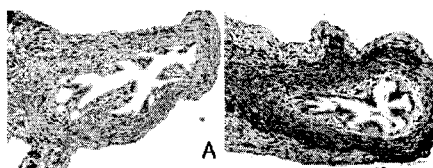


Fig. 3 A) Smooth muscle of the fallopian tube of the control shows weakly positive immunoreactivity for PR. B) Smooth muscle of the fallopian tube of the 8ml/kg of *DYJ*-treated rat shows strong positive immunoreactivity for PR.

Table 7. Immunohistochemical staining for PR in the smooth muscle of the fallopian tube (-; negative, +; weakly positive, ++; moderately positive, +++; strong positive)

Groups	Immunohistochemical staining intensity
Control 1	+
2	+
3	+
4	+
4ml/kg <i>DYJ</i> 1	++
2	++
3	++
4	++
8ml/kg <i>DYJ</i> 1	++
2	+++
3	+++
4	++

Mean±SD

Control: Saline-treated group after pretreatment of estradiol

4ml/kg *DYJ*: 4ml/kg of *DYJ*-treated group after pretreatment of estradiol

8ml/kg *DYJ*: 8ml/kg of *DYJ*-treated group after pretreatment of estradiol

IV. 考 察

大營煎은 明代 張¹⁾의 《景岳全書》에 最初로 收載되었으며, 그 主治는 “治眞陰 精血虧損 及婦人經遲血少 腰膝筋骨疼痛 或氣血虛寒 心腹疼痛等證”이라고 하여 精血不足으로 因한 月經不調, 不妊症, 産後諸症, 更年期障礙 등의 治療에 使用되어 온 處方이다¹⁻¹¹⁾.

景岳全書에 收載된 大營煎의 構成은 當歸 二·三錢 或五錢, 熟地 二·五·七錢, 枸杞 二錢, 炙甘草 一·二錢, 杜冲 二錢, 牛膝 一錢半, 肉桂 一·二錢으로 用量에 可變性이 있으나 本 實驗에서는 熟地黃 三錢, 當歸, 枸杞子, 杜冲 各二錢, 牛膝 一錢半, 肉桂, 炙甘草 各一錢으로 定하여 施行하였다.

大營煎을 方解하면 熟地黃을 重用하여 滋陰補血·填精生髓하고, 當歸는 補血和營·行滯調經하니, 두 약이 相須가 되어 固本養營하므로 君藥이 되고, 枸杞子를 配伍하여 補益肝腎·養血益精하고, 杜冲, 牛膝은 强筋骨·補腎壯腰하여 모두 臣藥이 된다. 補陰하는 藥物 中에 佐藥으로 溫陽하는 肉桂를 加하여 한 편으로는 陽生陰長케 하고 한 편으로는 溫通血脈케 한다. 炙甘草는 脾胃를 調和한다. 모든 藥物을 合用하면 陰血并補·陰陽兩調하여 養血和營·補腎調經하게 된다²⁾.

胞宮은 肝·脾·腎의 三臟과 서로 密接한 關係에 있다. 그렇기 때문에 經水는 血이 化生된 것으로, 五臟中의 肝藏血·脾統血이 또한 榮血의 生化之源이 되며, 腎은 精을 간직하고 髓를 主하므로 血은 精髓가 化生된 것이다. 이들은 모두 血液의 生化·貯藏·統攝·調節의 重要한 作用을 나누어 맡으므로 五臟이 安定되고 調和되

며, 더욱이 肝·脾·腎 三臟의 機能이 健康하고 旺盛하면 血脈이 流暢하고 血海가 充盈되어 비로서 月經과 胎孕의 正常的 機能이 이루어져 維持된다¹⁷⁾.

大營煎은 明代 張¹⁾의 《景岳全書》에 最初로 收載되었으며, 그 主治는 “治眞陰 精血虧損 及婦人經遲血少 腰膝筋骨疼痛 或氣血虛寒 心腹疼痛等證”이라고 하여 精血不足으로 因한 月經不調, 不妊症, 産後諸症, 更年期障礙 등의 治療에 使用되어 온 處方이다¹⁻¹¹⁾.

景岳全書에 收載된 大營煎의 構成은 當歸 二·三錢 或五錢, 熟地 二·五·七錢, 枸杞 二錢, 炙甘草 一·二錢, 杜冲 二錢, 牛膝 一錢半, 肉桂 一·二錢으로 用量에 可變性이 있으나 本 實驗에서는 熟地黃 三錢, 當歸, 枸杞子, 杜冲 各二錢, 牛膝 一錢半, 肉桂, 炙甘草 各一錢으로 定하여 施行하였다.

大營煎을 方解하면 熟地黃을 重用하여 滋陰補血·填精生髓하고, 當歸는 補血和營·行滯調經하니, 두 약이 相須가 되어 固本養營하므로 君藥이 되고, 枸杞子를 配伍하여 補益肝腎·養血益精하고, 杜冲, 牛膝은 强筋骨·補腎壯腰하여 모두 臣藥이 된다. 補陰하는 藥物 中에 佐藥으로 溫陽하는 肉桂를 加하여 한 편으로는 陽生陰長케 하고 한 편으로는 溫通血脈케 한다. 炙甘草는 脾胃를 調和한다. 모든 藥物을 合用하면 陰血并補·陰陽兩調하여 養血和營·補腎調經하게 된다²⁾.

胞宮은 肝·脾·腎의 三臟과 서로 密接한 關係에 있다. 그렇기 때문에 經水는 血이 化生된 것으로, 五臟中의 肝藏血·脾統血이 또한 榮血의 生化之源이 되며, 腎은 精을 간직하고 髓를 主하므로 血은 精髓가 化生된 것이다. 이들은 모두 血液의

生化·貯藏·統攝·調節의 重要な 作用을 나누어 맡으므로 五臟이 安定되고 調和되며, 더욱이 肝·脾·腎 三臟의 機能이 健康하고 旺盛하면 血脈이 流暢하고 血海가 充盈되어 비로서 月經과 胎孕의 正常的 機能이 이루어져 維持된다¹⁷⁾.

大營煎에 관한 韓醫學의 實驗研究는 洪¹²⁾이 貧血家兔의 造血作用에, 김¹³⁾이 白鼠의 甲狀腺機能低下症에, 金¹⁴⁾이 卵巢摘出로 誘發된 白鼠의 骨多孔症에, 張 등¹⁵⁾이 卵巢摘出 흰쥐의 性호르몬, 脂質 및 骨代謝에, 강¹⁶⁾이 酸素自由基로 損傷된 培養 骨芽細胞에 미치는 影響 등을 報告 하였으나, 大營煎이 白鼠의 排卵과 卵巢에 미치는 影響에 關聯하여서는 아직 報告된 바 없다.

따라서 本 實驗에서는 精血不足으로 因한 不妊症에 活用되고 있는 大營煎을 白鼠에 經口投與하고 卵胞成長過程 및 排卵과 關聯된 FSH, LH, E₂의 血中 濃度を 測定하여 그 作用機轉을 알아보고자 하였으며 또한 兩側 卵巢를 摘出した 後, 組織學的 檢索을 통해 이들 호르몬의 變化가 卵巢에 어떠한 影響을 미치는지 究明하고자 하였다.

本 實驗의 血中 FSH 濃度は 對照群에서는 $0.262 \pm 0.155 \text{ mIU/ml}$ 였고, 4 ml/kg 과 8 ml/kg 의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서는 各各 $1.250 \pm 0.847 \text{ mIU/ml}$ 와 $0.410 \pm 0.177 \text{ mIU/ml}$ 였다. 對照群과 2개의 實驗群 사이에서 血中 FSH 濃度は 統計學的으로 意味있는 差異를 보였고 ($P=0.046$), 특히 對照群에 비해 4 ml/kg 의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서 統計學的으로 意味있는 增加를 나타냈다 ($P<0.05$). 反面에 血中 LH와 E₂ 濃度は 對照群과 4 ml/kg 과 8 ml/kg 의 大營煎을

14日 동안 投與한 實驗群 사이에서 統計學的으로 意味있는 差異는 없었다.

本 實驗에서는 白鼠에 大營煎을 經口 投與한 後에 卵巢의 組織檢査를 통해 兩側 卵巢에서 二次卵胞(secondary follicle)와 成熟卵胞(mature or graafian follicle) 및 黃體(corpus luteum)의 數를 세어 본 結果, 對照群에서는 37.8 ± 10.7 개였고 4 ml/kg 과 8 ml/kg 의 大營煎을 14日 동안 投與한 實驗群에서는 各各 58.0 ± 10.7 개와 55.0 ± 13.1 개였다. 2개의 實驗群에서 卵巢 卵胞 數는 對照群에 비해 增加된 所見을 보였으나, 統計學的으로 意味있는 差異를 보이지는 않았다 ($P=0.072$).

本 研究結果에 의하면 大營煎을 投與한 群이 對照群에 비해서 FSH의 血中 濃도가 統計學的으로 意味있는 增加를 보이고 또한 組織學的으로 確認한 二次卵胞(secondary follicle)와 成熟卵胞(mature or graafian follicle) 및 黃體(corpus luteum)의 數가 統計學的으로 意味있는 差異를 보이지는 않았지만 增加하는 傾向을 보인 點에 비추어 보았을 때, 大營煎은 白鼠의 腦下垂體를 刺戟하여 卵巢에서 卵胞의 成長과 排卵을 促進할 것으로 思料된다.

Progesterone은 estrogen과 같이 卵巢 호르몬으로 哺乳類의 性週期 및 妊娠維持에 關係하는 스테로이드 호르몬이며 視床下部和 腦下垂體 前葉의 影響 하에 있다. estrogen은 卵胞에서 分泌되어 子宮, 膾, 乳腺 등의 生殖系統을 發達시키나, progesterone은 黃體에서 주로 分泌되고 그 外 胎盤, 副腎皮質에서도 分泌되며 그 機能은 受精卵의 着床, 子宮收縮의 抑制, 妊娠의 持續, 胎兒의 發達, 새로운

排卵의 抑制 및 乳腺發達 등에 作用한다.

호르몬이 어떤 器官에 作用하는 것은 그 器官의 細胞 中에 이들 호르몬을 받아들이는 receptor가 있기 때문이며 이들 receptor에서 호르몬의 刺戟을 받으면 細胞의 機能이 活成化되고, 특히 週期的 組織變化가 있는 生殖器 系統에서는 細胞의 肥大, 增殖이 일어나게 된다¹⁸⁾.

Progesterone이 作用을 나타내기 위해서는 標的細胞에 存在하는 受容體와 일단 結合하여야 生物學的 反應을 나타내게 되므로 이러한 호르몬의 特性과 作用을 理解하기 위해서는 호르몬의 濃度뿐만 아니라 受容體의 變化樣相을 觀察하는 것도 臨床的 意義가 크다고 하겠다. 호르몬 受容體의 有無를 알 수 있는 方法들은 生化學的分析法(cytosol assay), 免疫螢光法 및 免疫組織化學的 方法들이 代表的인 것이다. 生化學的分析法은 受容體의 起源 및 測定된 蛋白質의 起源을 糾明할 수 없다는 問題點이 있으며, 免疫螢光法을 利用하면 標本을 永久保存할 수 없으며 凍結切片을 利用해야만 하며 逆行的 研究(retrospective study)가 不可能하다는 短點이 惹起된다. 上記 記述한 두 가지 方法의 問題點들을 排除하고 좋은 結果를 얻을 수 있는 것이 免疫組織化學的 染色法이다¹⁹⁾.

本 實驗에서 살펴본 白鼠 卵巢에서 PR에 대한 免疫組織化學的 染色의 結果는 對照群에 비해서 大營煎을 投與한 實驗群에서 PR이 發現하는 閉鎖卵胞에 대한 免疫染色指數가 統計學的으로 意味있는 減少를 보였다($P=0.046$). 이는 大營煎이 卵胞의 發達과 成長 및 閉鎖의 過程에서 卵胞閉鎖를 抑制하는 役割을 하고 있을 可能性을 提示하고 있다. 以前의 研究結

果^{20,21)}에 의하면 progesterone이 卵巢細x胞의 枯死(apoptosis)에도 關與할 것으로 생각되어지고 있는데 本 研究結果에서도 PR은 다른 成長卵胞에서보다 閉鎖卵胞에서 均一하게 發現하는 傾向을 보였다. 이는 PR이 卵胞의 閉鎖過程에 參與할 수 있다는 點을 示唆하고 있으며 大營煎이 이를 抑制하고 있을 可能性이 있음을 示唆한다. 또한 以前의 研究結果²²⁾에 의하면 progesterone은 卵巢 上皮細胞의 枯死에 關與함으로써 卵巢 上皮腫瘍 發生을 抑制하는데 關與할 것으로 생각하였으나 本 研究에 의하면 卵巢 上皮細胞에서 PR의 發現은 전혀 觀察되지 않았다. 향후 보다 細密하고 持續的인 研究를 통하여 大營煎과 PR 發現과의 關係를 明確히 究明해야 할 것이며, PR의 卵巢 上皮細胞 枯死에 關聯해서^{zz}도 追加的인 研究가 必要할 것으로 思料된다.

V. 結 論

精血不足으로 因한 不妊症에 使用되는 大營煎의 效能을 알아보기 위해 大營煎을 正常 白鼠에 經口投與한 후, 血中 FSH, LH, estradiol(E_2) 濃度の 測定과 卵巢의 組織學的 檢索 및 PR의 免疫組織化學的 染色所見을 통해 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 血中 FSH 濃度は 對照群에 비해 實驗群에서 有意性있게 增加하였다.
2. 血中 LH 濃度は 對照群과 實驗群에서 有意性있는 差異를 보이지 않았다.
3. 血中 E_2 濃度は 對照群과 實驗群에서 有意性있는 差異를 보이지 않았다.

4. 卵巢의 組織所見은 對照群에 비해 實驗群에서 排卵이 增加한 所見을 보였으나, 統計學的인 有意性은 없었다.
5. 卵巢에서 PR의 免疫組織化學的 染色 所見은 對照群에 비해 實驗群에서 閉鎖卵胞에 대한 免疫染色指數가 有意性있게 減少하는 所見을 보였다.

以上の 結果로 보아, 大營煎은 白鼠의 腦下垂體 및 卵巢에 作用하여 排卵을 向上시키는 效果가 있으며, 卵巢에 存在하는 PR과 關聯하여서는 向後 持續的인 研究가 더 必要할 것으로 思料된다.

- 투 고 일 : 2005년 10월 28일
- 심 사 일 : 2005년 11월 01일
- 심사완료일 : 2005년 11월 08일

參考文獻

1. 張介賓. 景岳全書. 서울: 大星文化社. 1992; 421.
2. 大田大學校 第12期 卒業準備委員會. 婦人科方劑學. 서울: 木과 土. 2000; 45-46.
3. 尙志大學校 韓醫科大學 第2期 卒業準備委員會. 國譯 葉天士女科. 서울: 大星文化社. 1995; 317-320.
4. 李鍾華. 漢方婦人科 臨床診療. 서울: 癸丑文化社. 1982; 50, 61, 68, 138, 167, 260, 559, 615, 806.
5. 崔達永 등. 景岳全書 新方八陣의 새로운 이해. 서울: 法仁文化社. 2004; 103-105.
6. 尹吉榮. 東醫臨床方劑學. 서울: 明寶出版社. 1994; 542.
7. 肖淑春. 東醫臨床婦人科學. 서울: 法仁文化社. 1999; 66, 553-564.
8. 노영범. 臨床方劑學講座. 서울: 대성의 학사. 2000; 428.
9. 李相漸. 韓藥處方解說과 應用的 妙訣. 서울: 杏林出版社. 1982; 65-66.
10. 孟云 등. 婦女病의 中醫治療. 北京: 人民軍醫出版社. 1993; 61-63.
11. 韓醫婦人科學 編纂委員會. 韓醫婦人科學(上). 서울: 圖書出版 정담. 2001; 33-44, 177-182, 245-255.
12. 洪正杓. 大營煎煎湯液이 貧血家兔의 造血作用에 미치는 影響. 圓光大學校 大學院. 1986.
13. 金두희. 大營煎이 白鼠의 甲狀腺機能低下症에 미치는 影響. 大田大學校 大學院. 2001.
14. 金根祐. 大營煎이 卵巢摘出로 誘發된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響, 慶山大學校 大學院. 1998.
15. 張峻福 등. 大營煎이 卵巢摘出 흰쥐의 性호르몬, 脂質 및 骨代謝에 미치는 影響. 慶熙大論文集. 1996; 9(1); 35-56.
16. 강솔. 大營煎이 酸素自由基로 損傷된 培養 骨芽細胞에 미치는 影響. 圓光大學校 大學院. 2002.
17. 柳道坤. 東醫生理學. 圓光大學校 生理學教室. 1995; 101-104, 384-385, 418-419.
18. 박성식, 광수동. Progesterone이 rat 자궁과 난소의 증식세포 분포에 미치는 영향에 대한 면역조직화학적 연구. 大韓獸醫學會誌. 1995; 35(2): 217-228.
19. 성석용 등. 유선질환에서 Estrogen 및 Progesterone 수용체에 관한 면역조직화학적 연구. 外科學會誌. 1991; 41(1): 29-36.
20. Peluso JJ. et al. Expression pattern a

- nd role of a 60-kilodalton progesterone binding protein in regulating granulosa cell apoptosis: involvement of the mitogen-activated protein kinase cascade. *Biol Reprod.* 2003; 68: 122-128.
21. Chaffin CL, Stouffer RL. Local role of progesterone in the ovary during the periovulatory interval. *rev Endocr Metab Disord.* 2002; 3: 65-72.
22. Rodriguez GC, et al. Progestin-induced apoptosis in the macaque ovarian epithelium, differential regulation of transforming growth factor- β . *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 50-60.