대한한방부인과학회지
THE JOURNAL OF ORIENTAL OBSTETRICS & GYNECOLOGY
VOL.20. No.1 : 099-113 (2007)

定經湯이 Estradiol Valerate로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소에 미치는 영향

세명대학교 한의과대학 부인과학교실
남은정, 이동녕, 서일복, 김형준

ABSTRACT

Effects of *Jeongkyeong-Tang* on the Estradiol Valerate-induced Polycystic Ovary in Rats

Eun-Jung Nam, Dong-Nyung Lee, Il-Bock Seo, Hyung-Jun Kim
Dept. of Oriental Gynecology, College of Oriental Medicine,
Se-Myung University

Purpose: This study was designed to investigate the effects of *Jeongkyeong-Tang*(JKT) on the polycystic ovary(PCO) induced by estradiol valerate(EV) in rats.

Methods: PCO was induced by single intramuscular injection with EV(4㎎) in female rats. Normal group(n=8) were injected with sesame oil and orally administrated distilled water for sixty days. PCO control group(n=8) were injected with EV and orally administrated distilled water for sixty days. JKT treated group(n=8) were injected with EV and orally administrated JKT for sixty days. Then we measured weights of body, ovaries and adrenal glands, and measured content of serum estrogen. The histomorphometrical changes of ovaries were also evaluated. The expressions of nerve growth factor(NGF) were analyzed in the central nervous system, adrenal glands and ovaries by immunohistochemistry.

Results:
- The weights(㎎) of ovaries in JKT treated group(69.7±6.7) were significantly increased($p < 0.001$) compared with PCO control group(46.7±12.2).
- The numbers of secondary follicles in JKT treated group(4.00±1.31) were significantly increased($p < 0.05$) compared with PCO control group(2.25±1.39).
- The numbers of mature follicles in JKT treated group(5.50±1.51) were significantly increased($p < 0.01$) compared with PCO control group(2.88±1.13).
- The numbers of atretic follicles in JKT treated group(2.75±1.16) were significantly decreased($p < 0.001$) compared with PCO control group(6.88±2.03).
- The numbers of corpora lutea in JKT treated group(4.13±1.46) were significantly increased($p < 0.05$) compared with PCO control group(2.13±1.46).
- The contents(pg/㎖) of serum estrogen in JKT treated group(115.18±18.29) were significantly decreased($p < 0.01$) compared with PCO control group(153.06±29.47).
- The expressions of NGF-immunoreactive cells in the ovarian granulosa cells in JKT treated group were lesser observed than PCO control group.

Conclusion: From the above results, we concluded that *Jeongkyeong-Tang* has inhibitory effect on the development of EV-induced polycystic ovary. And it's effect may be related with decreased NGF activities in the ovary.

Key Words: polycystic ovary, *Jeongkyeong-Tang*, estradiol valerate, nerve growth factor

교신저자(김형준) : 충북 제천시 신월동 세명대학교 부속 한방병원 부인과
전화 : 043-649-1906 이메일 : khjoongy@hanmail.net

Ⅰ. 緖 論

다낭성 난소 증후군(polycystic ovarian syndrome, PCOS)은 시상하부-뇌하수체-난소축 및 부신의 기능적 이상으로 난소에 다양한 크기의 낭포가 다발성으로 형성되어 희발월경 또는 무월경, 불임, 남성형 다모증, 비만 등의 증상을 초래하는 증후군이다[1,2]. 다낭성 난소 증후군의 발병률은 청소년 및 성인에서 각각 5% 내외로 추정되고 있으나 근래에 들어 식생활과 생활 환경 등의 변화로 증가되고 있는 추세이다[1].

다낭성 난소 증후군의 원인으로는 부신 피질과 난소에서 효소계의 기능장애, 고인슐린혈증, 비만, 시상하부 기능부전 등의 학설이 있으며, 최근에는 성장호르몬과 인슐린양 성장인자-1의 이상조절 등이 거론되고 있지만 아직 정확한 병리기전은 밝혀지지 못하고 있다[1].

한의학 문헌에서는 다낭성 난소 증후군과 일치되는 병명을 찾아볼 수는 없지만 이 증후군에 의해 나타나는 증상에 따라 經閉, 月經不調, 無子, 肥胖 등의 범주에 속한다고 볼 수 있으며 주로 腎虛, 痰濕阻滯, 肝鬱化火, 氣滯血瘀, 陰虛內熱 등으로 辨證하여 韓藥, 鍼灸治療 및 週期療法 등을 이용하여 치료하고 있다[3-6].

定經湯은 腎虛肝鬱하여 발생하는 月經失調, 月經過多 등의 病症을 치료하는 방제로서 補腎養血, 疏肝調經하는 效能이 있어[7] 이상에서 말한 다낭성 난소 질환의 한의학적 병리이론과 부합하므로 치료에 효과가 있을 것으로 사료되었다.

이에 본 연구에서 흰쥐에 Estradiol Valerate(EV)로 유발된 다낭성 난소 모델을 만들고 定經湯 투여를 통한 난소와 부신의 무게, 난소의 육안 및 병리조직학적 소견, 혈청 estrogen 함량, 그리고 난소, 부신, 뇌하수체 및 해마체에서의 신경성장인자(nerve growth factor, NGF) 발현의 차이를 관찰하여 그 효과를 실험적으로 규명하고자 하였다.

Ⅱ. 材料 및 方法

1. 실험동물

체중 180 g 내외의 암컷 Sprague-Dawley Rat(샘타코, 한국)를 구입하여 온도 23±1℃, 습도 55±5%로 조정된 항온항습사육장치(대종기기상사, 한국)내에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 모든 실험기간동안 사료(제일제당, 한국)와 물은 자유롭게 섭취케 하였다.

2. 다낭성 난소의 유발

다낭성 난소(polycytic ovary, PCO)는 Brawer 등[8]의 방법에 준하여 유발하였다. Estradiol valerate(EV)(Sigma,USA)를 소량의 benzyl alcohol(Sigma, USA)에 용해시킨 후 sesame oil(Sigma, USA)에 20 ㎎/㎖의 농도로 혼합하고 이 용액 0.2 ㎖을 1회 근육주사하여 PCO를 유발시켰다.

3. 검액의 제조

실험에 사용한 定經湯은 《傅靑主女科》[9]에 의거하였으며, 약재는 세명대학교 한방병원에서 구입한 후 엄선하여 사용하였다. 처방의 내용과 분량은 Table 1과 같다.

定經湯 4첩 분량(376 g)을 2,000 ㎖의

증류수에 1시간 동안 침지 시킨 후, 2시간 30분간 전탕하였다. 전탕액을 원심하여 침천된 성분을 제거한 후 감압농축기(EYELA, NE-1001, Japan)로 100 ㎖로 농축시켰다. 이 농축액 1 ㎖을 흰쥐 마리당 1일 투여량으로 하였다. 이 용량은 체중 비례로 환산하여 60 ㎏ 성인의 1일 복용량에 5배에 해당되는 용량이다.

Table 1. Prescription of *Jeongkyeong-Tang* Per Pack

Name of Herbs	Pharmacognostic Name	Weight (g)
菟絲子	*Cuscutae Semen*	20
白芍藥	*Paeoniae Radix Alba*	20
當　歸	*Angelicae Gigantis Radix*	20
熟地黃	*Rehmanniae Radix Preparat*	10
山　藥	*Dioscoreae Rhizoma*	10
白茯苓	*Poria*	6
柴　胡	*Bupleuri Radix*	4
荊　芥	*Schizonepetae Herba*	4
Total		94

4. 실험군의 분류

실험개시일에 체중을 측정하여 각 군당 체중이 고르게 8마리씩을 배정한 후 아래와 같은 처치를 하였다.

정상군(Normal Group) : Sesame oil 0.2 ㎖만을 1회 근육주사하고 60일간 증류수 1 ㎖을 경구투여한 군

대조군(Control Group) : EV를 1회 근육주사하고 60일간 증류수 1 ㎖을 경구투여한 PCO 유발군

처치군(Treated Group) : EV를 1회 근육주사하고 60일간 定經湯 1 ㎖을 경구투여한 처치군

5. 검사 항목 및 방법

1) 체중의 측정

실험개시일, 실험 후 20일, 40일, 50일 및 60일에 체중을 측정하였다.

2) 난소 및 부신의 무게 측정

EV 주사 60일 후에 ether로 마취시킨 상태에서 전혈을 심장을 통해 채혈하고 4% paraformaldehyde 액으로 관류고정한 후에 양측 난소 및 부신을 적출하여 무게를 측정하였다.

3) 난소의 육안관찰

부검하여 적출된 양측 난소의 육안소견을 관찰하였다.

4) 난소의 병리조직학적 및 형태계측학적 관찰

개체 당 한 쪽 난소를 일반적인 조직처리 과정을 거쳐서 파라핀 포매하고 5 ㎛의 박절편을 만들어 Hematoxylin-Eosin(H&E) 염색하여 광학현미경하에서 일반적인 병리조직학적 소견을 관찰하였다. 또한 각 난소조직에서의 난포 수 및 황체의 수를 계수하였다. 난포의 수는 난자세포가 관찰되는 난포만을 대상으로 하였으며, 난포막이 형성되고 과립막세포가 2층 이상으로 증식된 2차 난포, 난포동이 형성된 성숙난포 및 폐쇄 난포로 구분하여 계수 하였다. 난자세포의 변성 또는 과립막 세포층의 고사(apoptosis)가 관찰되는 난포를 폐쇄 난포로 간주하였다. 황체는 외난포막으로 뚜렷하게 둘러싸인 것만을 계수 하였으며, 황체의 경계가 불분명한 퇴화 중인 것은 계수에서 제외하였다.

5) 혈청 estrogen 함량 측정

채혈된 혈액을 원심하여 혈청을 분리하였으며 혈청 total estrogen 함량은 radioimmunoassay(RIA)법으로 gamma counter(Packard, COBRA-II, USA)를

이용하여 측정하였다. 측정용 시약은 Total-Estrogens Kit(MP. Biomedicals. Belgium)를 사용하였다.

6) Nerve Growth Factor(NGF) 면역조직화학적 검사

뇌, 뇌하수체, 부신 및 난소를 적출하여 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하고 각 조직을 5 ㎛ 두께의 박절편을 제작하였다. 탈파라핀 및 함수과정을 거친 조직을 citrate buffer(pH 6.0)에 넣어 500W 출력의 microwave로 5분간 3회 처리하여 항원성을 부활시키고, 1% H_2O_2 용액에 30분간 처리하여 내인성 과산화 반응을 억제한 후 ABC kit(Vector Lab., USA)를 이용하여 NGF 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 일차항체인 rabbit anti-mouse nerve growth factor (Chemicon International Inc., USA)를 1:1,000배 희석하여 4℃에서 24시간 반응시키고, 상온에서 biotin이 부착된 2차 항체를 30분간 반응시킨 후, ABC reagent를 1시간 반응시켰다. 각 반응 사이에는 0.05M PBS butter(pH 7.5)로 10분씩 3회 세척하였다. 반응이 종료된 절편을 DAB(Roche, Germany)로 5분간 발색시키고 hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 NGF 양성반응의 정도를 확인하였다.

NGF 양성반응의 정도는 NGF에 염색된 세포의 수 및 염색강도를 기준으로 하였으며, 양성반응이 관찰되지 않을 경우를 —, 미약한 양성 반응을 +, 중정도의 양성반응을 ++, 강한 양성반응을 +++로 표시하였다.

7) 통계처리

측정된 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(SPSS 10.0 for Windows, USA)를 이용하여 student's t-test를 실시하여 검증하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 체 중

대조군과 처치군 모두 정상군에 비해서 실험 20일부터 유의성 있는 체중의 감소를 보였다. 처치군은 대조군에 비해서 유의성은 없었으나 체중이 증가하는 경향을 보였다(Table 2).

Table 2. Effects of *Jeongkyeong-Tang* on the Body Weights of Estradiol Valerate(EV)-induced Polycystic Ovary in Rats

Group	Body Weights(g)				
	0	20	40	50	60 days
Normal(n=8)	191±5[a)]	238±5	263±7	278±11	286±15
Control(n=8)	191±5	217±9***	232±12***	236±13***	242±15***
Treated(n=8)	192±4	221±5***	235±11**	244±12***	253±10**

a) : data expressed as Mean±S.D.
Normal : sesame oil injected and treated with distilled water
Control : EV injected and treated with distilled water
Treated : EV injected and treated with *Jeongkyeong-Tang*
* : Statistically significant compared with normal group(**:p<0.01, ***:p<0.001)

2. 난소 및 부신의 무게

난소의 무게는 대조군 및 처치군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 감소하였으며, 처치군은 대조군에 비해서 유의성

있게 증가되었다(Table 3).

부신의 무게는 대조군이 정상군 및 처치군에 비해서 다소 증가되어 있었으며, 처치군은 대조군에 비해서 다소 감소되어 있었다. 그러나 모든 군간에 유의성 있는 차이는 없었다(Table 3).

Table 3. Effects of *Jeongkyeong-Tang* on the Weights of Paired Ovaries and adrenal glands of Estradiol Valerate(EV)-induced Polycystic Ovary in Rats

Group	Weight(mg)	
	Paired Ovaries	Paired Adrenal Glands
Normal (n=8)	96.0±9.4[a)]	73.2±8.1
Control (n=8)	46.7±12.2***	76.9±9.3
Treated (n=8)	69.7±6.7**,###	74.4±8.2

a) : data expressed as Mean±S.D.
Normal : sesame oil injected and treated with distilled water
Control : EV injected and treated with distilled water
Treated : EV injected and treated with *Jeongkyeong-Tang*
* : Statistically significant compared with normal group(**:p<0.01, ***:p<0.001)
# : Statistically significant compared with control group(###:p<0.001)

3. 난소의 육안 소견

육안적으로 정상군의 난소는 다양한 크기의 난포 및 황체가 잘 발달되어 일반적인 크기를 유지하고 있었다(Fig. 1). 대조군의 8예 중 7예의 난소는 크기가 현저히 위축되어 있었고, 1예는 맑은 액을 함유한 다양한 크기의 낭포가 표면으로 돌출되어 있었다. 위축된 7예도 얇은 벽을 지닌 조그만 낭포가 여러 개 형성되어 있었다(Fig. 2). 처치군은 대조군에 비해서 난소의 크기가 증가되었으며, 다양한 크기의 난포 및 황체가 발달되어 있었고, 맑은 액을 함유한 낭포는 드물게 관찰되었다(Fig. 3).

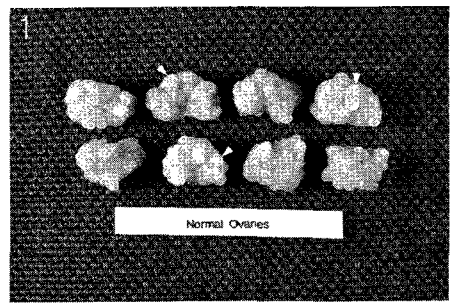

Fig. 1. Gross structure of ovaries of normal group. Note well developed follicles and corpora lutea(arrow heads).

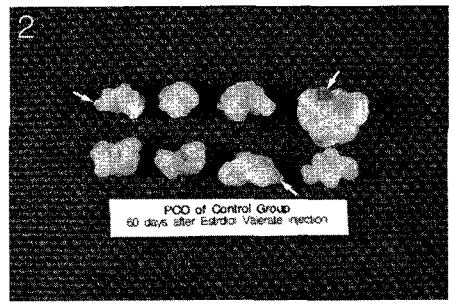

Fig. 2. Gross structure of ovaries of control group. Generally the sizes are decreased. Note variable sizes of cystic follicles(arrows).

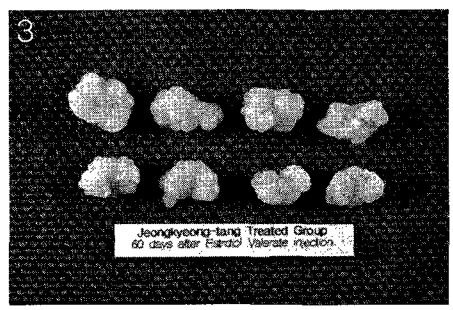

Fig. 3. Gross structure of ovaries of treated group. Generally the sizes are increased than those of control group. Compare with Fig. 2.

4. 난소의 병리조직학적 및 형태계측학적 소견

정상군에서는 다양한 크기의 1차 난포, 2차 난포 및 성숙 난포가 다수 관찰되었고 많은 수의 황체가 형성되어 있었으며(Fig. 4) 낭성 난포 및 폐쇄 난포는 매우 드물게 관찰되었다. 대조군에서는 장액을 함유한 다양한 크기의 낭포가 형성되어 있었으며 성숙 난포의 수는 현저히 감소되었고 황체는 매우 드물게 형성되어 있었다(Fig. 5). 액을 함유한 낭포의 벽은 1층 또는 2층의 얇은 세포로 둘러싸여 있었으며 강내에 변성된 탈락세포들이 산재해 있었고 기저막과 분리된 부위도 자주 관찰되었다. 또한 난포 과립막 세포의 고사(apoptosis)가 진행되는 폐쇄 난포의 소견이 빈번하게 관찰되었다(Fig. 6). 처치군에서는 대조군에 비해서 성숙 난포 및 황체가 보다 많이 형성되어 있었다(Fig. 7).

각 군에서 관찰되는 난포 및 황체의 수는 Table 4와 같다.

대조군은 정상군에 비해서 2차 난포, 성숙 난포 및 황체 수가 유의성 있게 감소되었으며, 폐쇄 난포 및 낭성 난포는 유의성 있게 증가되었다. 처치군에서는 정상군에 비해서 황체 수에서만 유의성 있는 감소가 있었다. 처치군은 대조군에 비해서 2차 난포, 성숙 난포 및 황체 수가 유의성 있게 증가되었으며, 폐쇄 난포 수는 유의성 있게 감소되었다. 처치군의 낭성 난포 수는 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성은 없었다.

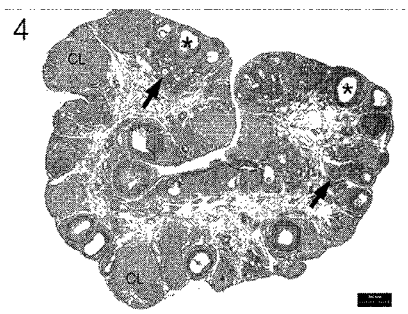

Fig. 4. Microscopic structure of ovary of normal group. Note well developed 2nd follicles(arrows), matured follicles(asterisks) and corpora lutea(CL). H&E stain. bar = 0.5㎜

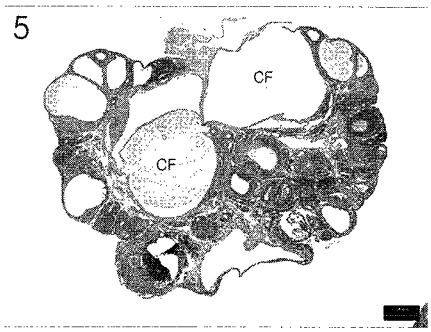

Fig. 5. Microscopic structure of ovary of control group. Variable sizes of fluid-filled cystic follicles(CF) are developed. A few of health follicles and one corpus luteum(CL) are shown. H&E stain. bar = 0.5㎜

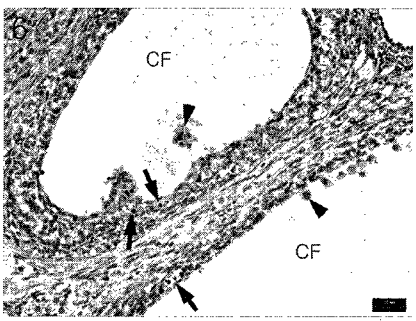

Fig. 6. Higher magnification of Fig. 5. Note thin layer of the cystic follicular walls, desquamated granular cells(arrow heads) in cystic follicles(CF), and apoptotic bodies (arrows). H&E stain. bar = 30㎛

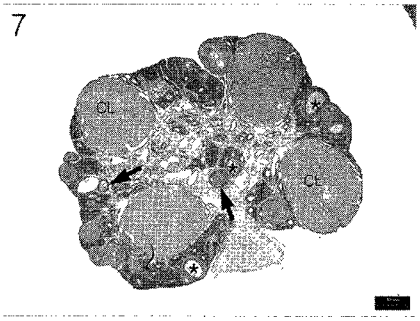

Fig. 7. Microscopic structure of ovary of treated group. Note well developed 2nd follicles(arrows), matured follicels(asterisks) and corpora lutea(CL). Compared with Fig. 5. H&E stain. bar = 0.5㎜

Table 4. Effects of *Jeongkyeong-Tang* on the Ovarian Morphometry of Estradiol Valerate(EV)-induced Polycystic Ovary in Rats

Group	Secondary Follicle	Mature Follicle	Atretic Follicle	Cystic Follicle	Corpus luteum
Normal (n=8)	5.63±2.39[a)]	6.25±1.58	1.50±0.93	0.25±0.46	12.50±4.31
Control (n=8)	2.25±1.39**	2.88±1.13***	6.88±2.03***	3.88±3.36**	2.13±1.46***
Treated (n=8)	4.00±1.31$^{\#}$	5.50±1.51$^{\#\#}$	2.75±1.16$^{*.\#\#\#}$	2.38±1.51***	4.13±1.46$^{**.\#}$

a) : data expressed as Mean±S.D., and numeric means the numbers of it,s structure observed in median section of ovary
Normal : sesame oil injected and treated with distilled water
Control : EV injected and treated with distilled water
Treated : EV injected and treated with *Jeongkyeong-Tang*
* : Statistically significant compared with normal group(*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001)
# : Statistically significant compared with control group(#:p<0.05, ##:p<0.01, ###:p<0.001)

5. 혈청 estrogen 함량

혈중 total estrogen 함량은 대조군 및 처치군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며 처치군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Table 5).

Table 5. Effects of *Jeongkyeong-Tang* on the Serum Total Estrogen Contents of Estradiol Valerate(EV)-induced Polycystic Ovary in Rats

Group	Total Estrogen(pg/ml)
Normal(n=8)	76.76±25.67[a)]
Control(n=8)	153.06±29.47***
Treated(n=8)	115.18±18.29$^{***.\#\#}$

a) : data expressed as Mean±S.D.
Normal : sesame oil injected and treated with distilled water
Control : EV injected and treated with distilled water
Treated : EV injected and treated with *Jeongkyeong-Tang*
* : Statistically significant compared with normal group(***:p<0.001)
# : Statistically significant compared with control group(##:p<0.01)

6. 난소 조직내 Nerve Growth Factor (NGF) 발현

난소 조직내 NGF 양성 반응은 간질세포(Fig. 8), 난포막세포, 과립막세포 및 황체세포에서 확인되었다. 각 세포에서의 NGF 양성반응의 정도는 Table 6과 같다.

정상군에서는 모든 예에서 간질세포에서 미약한 양성반응이 확인되었고, 기타 세포에서는 미약한 양성 또는 음성 반응이 확인되었다. 대조군에서의 양성 반응은 정상군에 비해서 강하게 나타났으며, 특히 과립막세포에서의 양성반응(Fig. 9)이 정상군과 뚜렷한 차이를 나타내었다. 처치군은 대조군과 유사한 정도의 반응을 보였으나 과립막세포에서의 양성반응은 대조군에 비해서 약하게 나타났다.

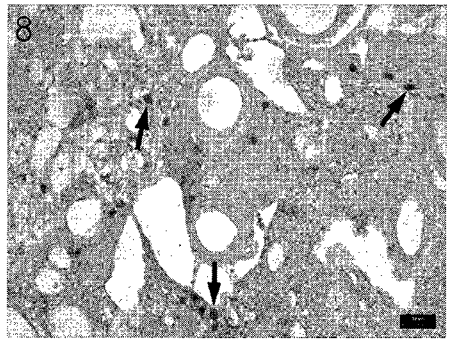

Fig. 8. Nerve growth factor(NGF) positive reaction in ovarian stromal cells(arrows) from control group. ABC immuno- histochemical stain. bar = 30㎛

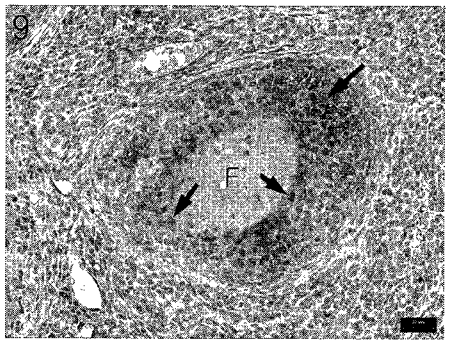

Fig. 9. Nerve growth factor(NGF) positive reaction in granular cell layers(arrows) from control group. F; follicles. ABC immuno-histochemical stain. bar = 30㎛

Table 6. Effects of *Jeongkyeong-Tang* on the Nerve Growth Factor(NGF) Expression in Ovaries of Estradiol Valerate(EV)- induced Polycystic Ovary in Rats

Group-Individial No.	Stromal Cells	Theca Cells	Granulosa Cells	Luteal Cells
Normal-1	+	+	+	−
Normal-2	+	+	+	+
Normal-3	+ +	+	+	−
Normal-4	+	−	+	−
Normal-5	+	−	−	−
Normal-6	+	+	−	+
Normal-7	+	+	+	+
Normal-8	+	+	+	−
Control-1	+	+	+ + +	+
Control-2	+	+	+ +	−
Control-3	+	+ +	+ + +	−
Control-4	+ +	+	+ +	−
Control-5	+ +	+	+ +	+
Control-6	+	+	+	+
Control-7	+ +	+ +	+ +	+
Control-8	+	+	+	−
Treated-1	+	+	+	+
Treated-2	+ +	+	+ + +	—
Treated-3	+	+	+	+
Treated-4	+	+	+	+
Treated-5	+	+ +	+	+
Treated-6	+	+	+	—
Treated-7	+	+	+	—
Treated-8	+ +	+ +	+ +	+

Normal : sesame oil injected and treated with distilled water
Control : EV injected and treated with distilled water
Treated : EV injected and treated with *Jeongkyeong-Tang*
− : negative , + : mild positive, + + : moderate positive, + + + : strong postive

7. 뇌, 뇌하수체 및 부신 조직내 NGF의 발현

뇌, 뇌하수체, 부신 피질 및 수질에서의 NGF 양성 반응의 정도는 Table 7과 같다. 대조군 및 처치군의 부신 수질에서의 양성반응이 정상군에 비해서 약하게 나타난 것을 제외하고는 각 군에서의 양성반응의 정도는 모두 유사하게 관찰되었다.

Table 7. Effects of *Jeongkyeong-Tang* on the Nerve Growth Factor (NGF) Expression in Adrenal gland, Hypophysis and Hippocampus of Estradiol Valerate(EV)-induced Polycystic Ovary in Rats

Group	Adrenal gland		Hypophysis	Hippocampus
	Cortex	Medulla		
Normal-1	+	+ +	+	+
Normal-2	−	+ +	+	+
Normal-3	+	+	+	+
Normal-4	+	+ +	+ +	+
Normal-5	+	+ +	+	+
Normal-6	+	+ +	−	−
Normal-7	+	+ +	−	+
Normal-8	+	+	+	+
Control-1	+ +	+	+ +	+
Control-2	+	+	+	+
Control-3	+	+	−	+
Control-4	+	+	+	+
Control-5	+	+	+	+
Control-6	−	+	+	+
Control-7	+	+	+	−
Control-8	+	+ +	+ +	−
Treated-1	+	+	+	+
Treated-2	+	+ +	+ +	−
Treated-3	+	+	−	+
Treated-4	+	+	+	+
Treated-5	+	+	+	+
Treated-6	−	+	+	+
Treated-7	+	+ +	+ +	+
Treated-8	+	+	+	+

Normal : sesame oil injected and treated with distilled water
Control : EV injected and treated with distilled water
Treated : EV injected and treated with *Jeongkyeong-Tang*
− : negative , + : mild positive, + + : moderate positive

Ⅳ. 考 察

다낭성 난소 증후군은 가임여성의 5-10%에서 발생하는 흔한 내분비 질환으로[10] 내분비적 특징은 LH가 증가하고 FSH는 감소 또는 정상으로 나타나며 안드로겐수치는 증가되어 나타나는 것이다[2]. 그 병인은 아직 정확하게 밝혀지지 않았지만 많은 연구자들이 고인슐린혈증과 고안드로겐혈증을 지목하고 있으며[11-14], 근래에는 비만이 일차적인 원인이라는 주장도 제기되고 있다[15]. 그러나 어떤 원인이든 무배란이 만성적으로 지

속되면 다낭성 난소 증후군에서 볼 수 있는 모든 증상을 볼 수 있으므로 최근에는 만성 무배란과 고안드로겐혈증만 갖추면 다낭성 증후군으로 정의한다[16].

다낭성 난소 증후군의 치료 방침은 우선 환자의 주소에 초점을 맞추어야 하며, 세 가지 주요 증상인 생리불순, 남성형 다모증, 불임증에 대하여 각각 분리하여 접근하는 것이 바람직하다[2]. 서양의학에서는 다낭성 난소 증후군 환자들에게 항에스트로겐의 대표적인 약물인 clomiphene을 사용하는 치료방법이 일반적으로 이용되고 있는데 이는 80~85%의 배란율과 40%의 임신율로 우수한 효과가 있으나 부작용으로 구역질, 다태임신, 난소과다자극증후군 등이 문제가 되고 있다[1,17,18].

한의학에서는 다낭성 난소 증후군이라는 병명을 찾아 볼 수 없지만 이 질환에서 나타나는 특징적인 증상들로 미루어 보아 月經失調, 多毛, 肥胖, 不孕 등의 범주에 속하는 것으로 인식하고 있으며 주로 腎虛, 肝鬱化火, 痰濕阻滯, 氣滯血瘀, 陰虛內熱 등으로 辨證하여 그 원인에 따라 치료를 하고 있다[6,19,20].

다낭성 난소 증후군에 관한 연구로는 김 등[21]의 다낭성 난소 증후군에 관한 문헌적 고찰과 윤 등[22]의 다낭성 난소 증후군 환자의 한방 치료에 대한 임상적 고찰, 양 등[23]의 蒼附導痰湯이 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향에 대한 연구, 권 등[24]의 전침 자극이 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향에 대한 연구, Stener 등[25]의 다낭성 난소에 대한 전침의 효과에 대한 연구가 있었다.

定經湯은 《傅靑主女科》에 처음 收錄된 處方으로 經水先後無定期를 치료하였으며[9] 최근에는 補腎養血, 疏肝調經하는 效能으로 腎虛肝鬱하여 발생하는 月經失調, 月經過多 등의 病症을 치료하고 있다[7].

定經湯의 構成藥物인 菟絲子는 補肝腎, 白芍藥은 養血柔肝, 當歸는 補血和血, 熟地黃은 滋陰補血, 白茯笭은 利水滲濕, 山藥은 健脾·補肺·固腎, 荊芥는 發表散風, 柴胡는 疏肝解鬱 등의 작용이 있다[26]. 그러므로 定經湯은 補腎養血, 疏肝調經하는 효능이 있으며[7], 이것은 다낭성 난소 증후군에도 활용할 수 있는 변증 원인이다.

이에 본 연구에서는 EV로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소 모델을 이용하여 定經湯의 효과를 실험적으로 규명하고자 하였다.

동물모델로 인간의 질병을 정확하게 재현해 낼 수 없지만 EV를 백서에 주사함으로써 인간의 다낭성 난소 증후군과 여러 특징들을 공유하는 무배란 증후군을 유발시킬 수 있다[27,28].

본 연구에서 EV 주사 후 60일에 측정된 대조군의 난소의 무게가 정상군에 비해서 유의성 있게 감소하였는데, 이는 다른 연구 보고들[8,23,25]에서 추론한 것과 같이 이차 난포와 황체의 수적 감소가 난소의 무게를 감소시킨 것으로 생각되어진다. 그러나 처치군의 난소의 무게가 비록 정상군에 비해 감소하였지만 대조군에 비해서 유의성 있게 증가한 것은 처치군의 이차난포와 황체의 수가 증가한 결과로 볼 수 있다.

또한 육안적으로 대조군의 난소는 크기가 현저히 위축되어 있었고, 얇은 벽을 지닌 조그만 낭포가 여러개 형성된 것을 확인할 수 있었으며, 처치군은 대

조군에 비해서 난소의 크기가 증가되었고 다양한 크기의 난포 및 황체가 발달되었으며 낭포의 수는 현저히 감소된 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 대조군에서 EV 근육 주사로 인한 다낭성 난소의 유발이 성공적으로 수행되었으며, 定經湯이 난소의 성장발달에 긍정적 영향을 미친 것으로 보인다.

그리고 난소에 대한 병리조직학적 소견에서 대조군의 난소는 다양한 크기의 낭성 난포 형성, 성숙 난포수의 감소, 황체의 소실 및 폐쇄 난포수의 증가와 같은 다낭성 난소의 전형적인 소견들이 관찰되었다. 그러나 定經湯을 투여한 처치군에서는 대조군에 비해서 성숙 난포 및 황체가 보다 많이 형성되어 있는 것을 관찰할 수 있어 定經湯이 다낭성 난소의 발달을 억제하는 효과가 있음을 조직학적으로도 확인할 수 있었다.

다낭성 난소 증후군에서는 혈중 LH가 증가되어 있으며 LH가 난소의 난포막세포를 자극하여 androstenedion과 testosteron과 같은 남성호르몬의 분비를 촉진한다[10]. 난소에서 과잉으로 생성된 androstenedion과 testosteron은 난포의 성숙을 억제하거나 혹은 시상하부에서 GnRH 분비를 억제하여 배란을 방해한다[10]. 한편 증가된 androgen은 난소의 과립막세포에서 estrogen으로 전환되어 결과적으로 체내에 estrogen 과잉상태가 된다[10].

본 연구에서 실험 종료후 혈청 estrogen 함량을 측정하였는데 대조군 및 처치군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며 처치군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다. 이는 定經湯 투여가 다낭성 난소의 회복에 유의성이 있음을 보여준 것으로 생각된다.

다낭성 난소 증후군의 중심 기관인 난소는 형태학적및 기능적인 발달에 여러 가지 내분비가 관여하고 있으며 교감신경에 의해서 조절되고 있다. 난소의 교감신경 분포는 난소의 분비기능에 영향을 줄 뿐 아니라 난포의 발달에도 역할을 담당하고 있는데[27] 이는 신생 백서에 NGF 항체를 형성시켜 난소 신경의 발달을 방해했을 때 난포의 발달 장애, 성성숙 지연, estrone 분비 저하, 배란주기의 뚜렷한 불규칙성이 발생하는 결과를 보였다는 것으로 알 수 있다[28].

난소 교감 신경분포의 발달과 기능은 난포벽 세포에서 합성되는 NGF와 관련이 있다[29,30]. 그러나 NGF의 과도한 활성은 난소의 androgen을 직간접적으로 증가시키는데, 직접적으로는 난포막 세포로부터 androgen 생산을 증가시키고 간접적으로는 norepinephrine의 작용을 통해 난소의 androgen 분비를 자극하는 것이다. 난소에서 androgen인androstenedione과 testosteron이 과다생성 되면 estrone으로 전환되어 estrone이 과다분비 되고 이는 시상하부와 뇌하수체에 되먹임 기전을 통해서 LH를 증가시키고 FSH는 감소시켜서 결과적으로 estrogen과 androgen 과다 분비의 악순환을 일으키게 된다. Androgen이 과다 분비되면 난포 성장이 억제되어 무배란이 유발되고 다모증 역시 androgen 과잉에 의해 발생하게 되며, estrogen이 과다분비 되면 월경 불순이 유발되어 다낭성 난소 증후군의 주된 증상들이 발생하게 된다[1,31-34].

본 연구에서는 교감신경계의 neurotrophin으로서의 NGF의 역할을 알아보기 위하여 定經湯을 투여한 후 난소, 뇌, 뇌하수

체, 부신 조직에서의 NGF 발현을 면역조직화학적으로 확인하였다.

정상군의 난소 조직내 NGF 양성 반응은 간질세포, 난포막세포, 과립막세포 및 황체세포에서 확인되었다. 그리고 대조군에서의 양성 반응은 정상군에 비해서 강하게 나타났으며, 특히 과립막세포에서의 양성반응이 정상군에 비해 뚜렷하게 상승했다. 이는 다낭성 난소가 유발된 백서에서 난소의 NGF 농도가 증가되었다는 다른 연구자들의 결과와도 일치되는 소견이다[25,35]. EV로 야기된 NGF의 과잉생산은 난소의 교감신경계의 항진과 밀접하게 관련되어 있으며 이와같은 NGF와 교감신경의 동반항진은 EV가 난소에 간접적인 영향을 끼쳐 결과적으로 배란을 방해하게 됨을 시사한다. 처치군은 대조군과 유사한 정도의 반응을 보였으나 과립막세포에서의 양성반응은 대조군에 비해서 약하게 나타났다. 이러한 결과는 난소에서의 NGF 발현이 定經湯에 의해 억제되어질 수 있다는 것을 보여준다.

난소에 도달하는 교감신경은 superior ovarian nerve(SON)을 경유하며 EV를 주사하여 다낭성 난소를 유발한 백서에서 SON을 절단했을 때 배란주기와 배란능력이 회복되었다는 보고가 있었다[36]. 따라서 定經湯은 난소와 관련된 교감신경의 활성을 조절하는 작용이 있는 것으로 생각된다.

뇌, 뇌하수체 및 부신 조직내 NGF 발현의 변화를 관찰한 결과는 대조군 및 처치군의 부신 수질에서의 양성반응이 정상군에 비해서 약하게 나타난 것을 제외하고는 각 군에서 양성반응의 정도는 모두 유사하게 관찰되었다. 그러므로 定經湯을 투여한 처치군의 경우 난소에서 NGF의 발현이 감소한다는 것을 보여주었지만, 뇌하수체와 해마체 같은 뇌쪽은 定經湯의 투여에 영향을 받지 않았다. 이러한 결과는 定經湯의 NGF 발현조절에 있어서 작용지점이 뇌하수체나 해마체와 같은 중추부위라기 보다는 난소와 직접 연결된 신경계 부위인 말초영역이라는 것을 시사한다.

이상의 결과로 종합해 보면 다낭성 난소 증후군 환자에게 定經湯을 투여하면 배란 능력을 도와주어 다난성 난소 증후군의 치료에 유의한 효과가 있을 것으로 생각된다.

V. 結 論

定經湯이 흰쥐의 다낭성 난소(polycystic ovary, PCO)에 미치는 영향을 확인하기 위해서 체중 180 g 내외의 암컷 흰쥐에 4 ㎎의 estradiol valerate(EV)를 근육주사한 대조군, EV 주사와 더불어 定經湯 농축액을 60일간 경구 투여한 처치군으로 분류하였다. EV 주사 60일 후에 부검하여 난소 및 부신의 중량 측정, 난소의 육안 및 병리조직학적 검사, 혈청 estrogen 함량 측정, nerve growth factor(NGF) 면역조직화학적 검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 난소무게(㎎)는 처치군(69.7±6.7)이 대조군(46.7±12.2)보다 유의성($p<0.001$) 있게 증가되었다.

- 이차 난포 수는 처치군(4.00±1.31)이 대조군(2.25±1.39)보다 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

- 성숙 난포 수는 처치군(5.50±1.51)이 대조군(2.88±1.13)보다 유의성($p<0.01$) 있게 증가되었다.

- 폐쇄 난포 수는 처치군(2.75±1.16)이 대조군(6.88±2.03)보다 유의성($p<0.001$) 있게 감소되었다.

- 황체 수는 처치군(4.13±1.46)이 대조군(2.13±1.46)보다 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

- 혈중 estrogen 함량(pg/ml)은 처치군(115.18±18.29)이 대조군(153.06± 29.47)보다 유의성($p<0.01$) 있게 감소되었다.

- 난포의 과립막세포에서의 NGF 양성반응은 처치군이 대조군에 비해서 감소되어 나타났다.

이상의 성적을 토대로 할 때 定經湯은 EV로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소에서 난포의 성숙을 유도하여 정상 배란을 촉진하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

□ 투 고 일 : 2007년 01월 26일
□ 심 사 일 : 2007년 02월 01일
□ 심사완료일 : 2007년 02월 06일

參考文獻

1. 최영길. 내분비학. 서울: 의학출판사. 1994: 563-571
2. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학. 서울: 칼빈서적. 1997: 519-525
3. 陳貴廷, 楊思澍. 實用中西醫結合診斷治療學. 北京: 中國醫學科技出版社. 1991: 1004-1009
4. 張鳳嬋, 薛耀. 中醫藥治療多囊卵巢綜合症方法初探. 新中醫. 1991: 1: 14-16
5. 周羽珍. 蔡小蓀治療婦科痼疾驗方拾萃. 江蘇中醫. 1996; 17(1): 9-10
6. 吳桂芳, 李祥云. 中醫藥治療多囊卵巢綜合症研究概況. 河南中醫. 1994; 14(2): 123-125
7. 夏桂成. 實用婦科方劑學. 北京: 人民衛生出版社. 1997; 70-72
8. Brawer JR, Munoz M, Farookhi R. Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat. Biol Reprod. 1986; 35(3): 647-655
9. 謝孟志.《傅靑主女科》發揮. 北京: 中國中醫藥出版社. 1994: 37-39
10. Diamanti-Kandarakis E et al. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. J Clin Endocrinol Metab. 1999; 84(11): 4006-4011
11. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. J Clin Endocrinol Metab. 1980; 50(1): 113-116
12. Barbieri RL, Ryan KJ. Hyperandrogenism, insulin resistance, and acanthosis nigricans syndrome: a common endocrinopathy with distinct pathophysiologic features. Am J Obstet Gynecol. 1983; 147(1): 90- 101
13. Barbieri RL, Makris A, Ryan KJ. Effects of insulin on steroidogenesis in cultured porcine ovarian theca. Fertil Steril. 1983; 40(2): 237-241
14. Lanzone A et al. Insulin secretion

in polycystic ovarian disease: effect of ovarian suppression by GnRH agonist. Hum Reprod. 1990; 5(2): 143-149
15. Steroff L, Glass RH, Kase NG. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 5th Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland. 1994; 463
16. 강길전. 여성생식의학. 서울: 대관출판사. 1998; 219-226
17. Nestler JE et al. Strategies for the use of insulin-sensitizing drugs to treat infertility in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 2002; 77(2): 209-215
18. Kousta E, White DM, Franks S. Modern use of clomiphene citrate in induction of ovulation. Hum Reprod Update. 1997; 3(4): 359-365
19. 金維信. 不孕症的診斷與中醫治療. 北京:北京科學出版社. 1992; 172- 177
20. 羅元愷. 實用中醫婦科學. 上海: 上海科學技術出版社. 1994; 271-275
21. 김동일, 윤종원, 이태균. 다낭성 난소증후군에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지. 1997; 10(1): 73-91
22. 윤소영, 강명자. 다낭성 난소증후군 환자의 한방 치료에 대한 임상적 고찰. 대한한방부인과학회지. 2000; 13(2): 437-451
23. 양승정 등. 蒼附導痰湯이 estradiol valerate로 유발된 백서의 다낭성 난소에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2002; 15(2): 1-11
24. 권세라 등. 三陰交·子宮穴 전침 자극이 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2003; 16(2): 76-86
25. Stener-Victorin E et al. Effects of electro-acupuncture on nerve growth factor and ovarian morphology in rats with experimentally induced polycystic ovaries. Biol Reprod. 2000; 63(5): 1497-1503
26. 全國韓醫科大學 本草學教室. 本草學. 서울: 永林社. 2000; 127, 150, 303, 538, 569, 579, 580, 582
27. Lara HE et al. Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. Endocrinology. 1993; 133(6): 2690-2695
28. Lara HE, McDonald JK, Ojeda SR. Involvement of nerve growth factor in female sexual development. Endocrinology. 1990; 126(1): 364-375
29. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. Science. 1987; 237(4819): 1154-1162
30. Dissen GA et al. A role for trkA nerve growth factor receptors in mammalian ovulation. Endocrinology. 1996; 137(1): 198-209
31. Dissen GA et al. Intraovarian excess of nerve growth factor increase androgen secretion and disrupts estrous cyclicity in the rat. Endocrinology. 2000; 141(3): 1073-1081
32. Aguado LI, Petrovic SL, Ojeda SR. Ovarian β-adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution, and coupling to steroidogenic responses. Endocrinology. 1982;

110(4): 1124-1132
33. Dyer CA, Erickson GF. Norepinephrine amplifies human chorionic gonadotropin-stimulated androgen biosynthesis by ovarian theca-intestitial cells. Endocrinology. 1985; 116(4): 1645-1652
34. 대한내분비학회. 내분비학. 서울: 고려의학. 1999; 622-623
35. Lara HE et al. An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat. Endocrinology. 2000; 141(3): 1059-1072
36. Barria A et al. Ovarian steroidal response to gonadotropins and beta-adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovarian syndrome: role of the sympathetic innervation. Endocrinology. 1993; 133(6): 2696-2703