

補中益氣湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 子宮內膜症 발달에 미치는 영향

세명대학교 한의과대학 한방부인과교실
이정구, 이동녕, 서일복, 김형준

ABSTRACT

Effects of *Bojungikgi-Tang* on the Development of Experimentally-induced Endometriosis in the Rats

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

Purpose: This study was performed to investigate the effects of *Bojungikgi-Tang* on the development of experimentally-induced endometriosis in rats.

Methods: Endometriosis was induced in rats by autotransplanting uterine tissue to the peritoneum and we divided the rats into three groups: (1) sham-operated group (n=8), (2) surgically induced endometriosis and untreated control group(n=8), (3) surgically induced endometriosis and *Bojungikgi-Tang* treated group. *Bojungikgi-Tang* was orally administrated for 15 days after operation. Then we measured the body weight, the volume of endometriotic implants, the weight of uterus and ovary, and analysed the concentration of cytokines(MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6) in peritoneal fluids. Histopathology, immunohistochemistry for COX-2 and VEGF, and histochemistry for mast cell in transplanted uterine tissue were also performed.

Results:

1. The volume(mm³) of endometriotic implants in *Bojungikgi-Tang* treated group(129 \pm 39) was significantly decreased(p<0.05) compared with control group(222 \pm 109).
2. The concentration(pg/ml) of MCP-1 in peritoneal fluids in *Bojungikgi-Tang* treated group(1012 \pm 248) was significantly decreased(p<0.05) compared with control group(1413 \pm 346).
3. The concentration(pg/ml) of TNF- α in peritoneal fluids in *Bojungikgi-Tang* treated group(887 \pm 196) was significantly decreased(p<0.05) compared with control group(1126 \pm 140).
4. Histopathologically, proliferation of endometriotic epithelia, infiltration of inflammatory cells and angiogenesis in transplanted uterine tissue of *Bojungikgi-Tang* treated group were weakly observed than those of control group.
5. The percentage of positive epithelial layers for COX-2 in *Bojungikgi-Tang* treated group(56 \pm 17) was significantly decreased(p<0.05) compared with control group(75 \pm 16).
6. The VEGF expression of endometriotic epithelia, neovascular endothelia and stromal cells in transplanted uterine tissue of *Bojungikgi-Tang* treated group were weakly observed than those of control group.

Conclusion: On the basis of these results, we concluded that *Bojungikgi-Tang* has inhibiting effects on the development of transplanted uterine tissue. And these effects may be related with decreased production of MCP-1, TNF- α , and decreased expression of COX-2 and VEGF infiltration by administration of *Bojungikgi-Tang*.

Key words: *Bojungikgi-Tang*, Endometriosis, MCP-1, TNF- α , COX-2, VEGF

I. 緒 論

子宮內膜症은 자궁내막조직이 자궁 밖에 존재하여 증식하는 질환으로 월경통, 만성 골반통, 성교통, 불임과 같은 다양한 증상을 보인다¹⁻³⁾. 이 질환은 가임기 여성인구의 6-20%에서 발견되고^{1,4)}, 子宮內膜症을 갖고 있는 여성의 불임은 10-30%까지 다양하게 보고되고 있다^{5,6)}.

子宮內膜症의 정확한 원인과 병태생리는 밝혀지지 않았지만 유전적 요인, 호르몬적 요인, 환경적 요인 등⁷⁾과 함께 면역학적 요인^{8,9)}이 중요한 병인으로 제시되고 있다. 치료는 약물요법, 수술요법 또는 이를 병행하는 방법 등이 있으며 증상이나 진행도가 미약한 경우에는 기대요법을 실시할 수도 있다¹⁰⁾. 약물 치료는 progesterone, danazol 등과 같은 항에스트로겐 작용을 지닌 약물들과 일시적인 가폐경 상태를 만드는 GnRH agonist 같은 약물들 및 가임신 상태를 만드는 경구 피임제 등이 사용되어 왔다¹¹⁾. 최근에는 aromatase inhibitor가 치료 약물로 선택되고 있으나^{12,13)} 체중증가, 유방축소, 다모증, 위축성 질염, 질 출혈, 질 건조증, 안면홍조, 여드름, 골다공증, 우울증, 피로 등의 부작용이 보고되고 있다^{14,15)}. 수술적 치료의 제한성 및 약물 치료에 따른 부작용 등으로 한의학적 치료에 대한 관심이 높아지고 있다¹⁶⁻¹⁸⁾.

韓醫學에서는 子宮內膜症이라는 병명은 없으나, 子宮內膜症은 그 주요 증상을 고려해 볼 때 痛經, 月經不調, 崩漏, 不妊, 癥瘕, 血癥, 少腹痛, 經行吐衄, 經行血咳 등의 범주에 속한다고 볼 수 있다^{3,17,19)}. 또한 주요 병기를 瘀血로 인식하고 구체적으로 寒凝血瘀, 氣滯血瘀, 氣

虛血瘀, 熱鬱瘀阻, 腎虛血瘀 등으로 辨證하고^{3,17,19)} 치료에 있어서도 活血化瘀하는 약물이나 처방에 대한 연구가 많이 이루어져 왔다²⁰⁻³²⁾. 한편 子宮內膜症을 골반복막의 지속적인 자극 등과 같은 일련의 염증성 진행과정으로 보고 清熱解毒 하는 약물을 사용한 연구도 진행되어 왔으며^{33,34)}, 최근에는 子宮內膜症 발생이 개인의 면역학적 반응 상태와 밀접한 관계가 있음^{8,9)}에 착안하여 正氣를 補益시키는 약물과 처방에 대한 연구가 이루어지고 있다^{18,35-39)}.

補中益氣湯은 李杲의 《東垣十種醫書》中 《脾胃論》⁴⁰⁾에 처음 收錄된 處方으로 黃芪, 人蔘, 白朮, 甘草, 當歸, 陳皮, 升麻, 柴胡로 구성되어 있으며 補中益氣 升陽 舉陷하는 효능이 있어 氣虛를 동반한 다양한 질환에 사용되어 왔다⁴¹⁾. 婦人科의 임상에서는 脾虛를 중심으로 虛症에 의한 증상의 개선에 두루 활용 되었으며 이에 대한 연구도 진행되어 왔다⁴²⁻⁴⁷⁾.

이상으로 볼 때 補中益氣湯은 면역기능 저하와 관련성이 있는 子宮內膜症에 유의한 효과가 있을 것으로 기대되어 子宮內膜症 모델 동물에게 補中益氣湯을 투여한 후, 형태계측학적·병리조직학적·면역조직화학적(COX-2, VEGF) 및 조직화학적 검사와 cytokine 분석(MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6)을 통해서 그 효능을 검증하고자 하였다.

II. 材料 및 方法

1. 실험동물

체중 200 g 내외의 암컷 Sparque-Dawley Rat(샘타코, 한국)를 구입하여 세명대학

교 한의과대학내 청정동물사육실(온도 23±1℃, 습도 55±5%)에서 일주일간 환경에 적응시킨 후 실험에 이용하였다. 전 실험기간동안 사료(제일제당, 한국)와 물은 충분한 양을 제공하였다.

2. 처방 및 검액의 제조

실험에 사용한 補中益氣湯 처방은 《東醫寶鑑》⁴⁸⁾에 의거하였으며, 약재는 세명대학교 한방병원에서 구입한 후 엄선하여 사용하였다. 처방의 내용과 분량은 Table 1과 같다. 補中益氣湯 4첩(98 g)을 2,000 ml의 증류수에 3시간 동안 침지시킨 후 2시간 30분간 전탕하였다. 전탕액을 3,000 rpm에서 5분간 원심하여 부유 입자를 제거하고 감압농축기(EYELA, NE-1001, Japan)로 100 ml로 농축시켰다. 체중 비례로 환산하여 60 kg 성인의 1일 복용량의 5배에 해당되는 용량인 농축액 1 ml를 흰쥐 마리 당 1일 투여량으로 하였다.

Table 1. Prescription of *Bojungikgi-Tang* per Pack

Name of Herbs	Pharmacognostic Name	Weight (g)
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	6
人參	<i>Ginseng Radix</i>	4
	<i>Atractylodis</i>	
白朮	<i>Macrocephalae Rhizoma</i>	4
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	2
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	2
升麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	1.25
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	1.25
	Total	24.5

3. 子宮內膜症의 유발

흰쥐의 子宮內膜症은 Vernon and Wilson의 방법⁴⁹⁾에 준하여 자궁의 자가이식법으로 유발하였다. 자궁 자가이식수술은 발정전기에 있는 개체를 선별하였으며, 질 도말표본(vaginal smear)을 Giemsa 염색하여 유희상피세포가 주된 세포인 경우를 발정전기로 판단하였다(Fig. 1). 흰쥐를 100 mg/kg 농도의 pentobarbital sodium(Sigma, USA)을 복강주사하여 마취시킨 후 개복수술하고 우측 자궁을 고리모양으로 결찰한 후(Fig. 2) 자궁의 일부를 적출하였다. 적출된 자궁조직을 37℃ Creb 용액에 담근 상태에서 길이방향으로 절개하고 4×4 mm 크기의 절편을 만들었다. 절편의 자궁내막층이 복강으로 향하도록 좌측복벽에 catgut (B.Braun Surgical Sdn. Bhd., Malaysia)으로 자궁조직의 중앙부위를 1회 결찰하여(Fig. 3) 子宮內膜症을 유발하였다.

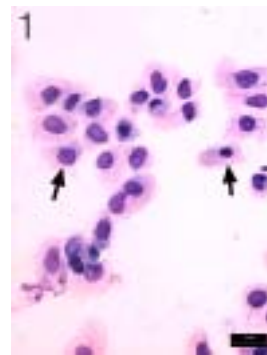


Fig. 1. Cytology of vaginal smear of rat. Most of exfoliated cells are nucleated epithelia (arrows) at proestrus stage. Giemsa's stain, bar=20 μm.



Fig. 2. Surgical procedure of partial right uterectomy. Right uterine horn(R) was ligated and taken out.



Fig. 3. Surgical procedure of auto-transplantation of uterus. Fragment(4x4 mm) of ectomized right uterus (arrow) was transplanted to left abdominal wall by single tie of catgut suture.

4. 실험군의 분류

아래와 같이 실험군을 분류하고 각 군당 8마리의 흰쥐를 배정하였다. 음성군 및 대조군에는 증류수 1 ml을, 처치군에는 補中益氣湯 감압농축액 1 ml을 1일 1회 15일간 경구투여하였다.

1) 음성군(sham group) : 우측 자궁의 일부를 적출하고, 이식술은 실시하지 않은 군

2) 대조군(control group) : 자궁의 자가이식술을 실시하여 子宮內膜症을 유발한 군

3) 처치군(treated group) : 자궁의 자가이식술을 실시하고 補中益氣湯 감압농축액을 경구투여한 군

5. 체중의 측정

모든 개체에 대해서 실험 개시일(0일), 5일, 10일, 종료일(15일)에 체중을 측정하였다.

6. 이식자궁조직의 체적(volume) 측정

실험 종료일에 모든 개체를 부검하여 이식자궁조직 및 조직 주변의 복벽을 넓게 적출하여 이식자궁조직의 크기를 digital calipper(Mitutoyo, CD-15CP, Japan)로 장경 및 단경을 측정하고 아래와 같은 공식으로 그 체적을 구하였다.

$$\text{체적(volume)} = \frac{\text{장경} \times \text{단경} \times \text{단경}}{2}$$

7. 자궁 및 난소 무게의 측정

수술하지 않은 좌측 자궁 및 양측 난소를 적출하고 주변 결합조직을 세밀하게 분리한 후 무게를 측정하였다.

8. 복강 세척액내 cytokine 함량 측정

실험 종료일에 흰쥐를 가볍게 에테르로 마취시키고 심장을 통해서 전혈을 채취하였다. 전혈을 채취한 후 복강 내로 생리식염수 1 ml을 주입하고 복강을 노출시켰다. 멸균된 막대봉으로 복강이 충분히 세척되도록 복강장기를 저은 다음 흡입관을 이용하여 복강 세척액을 회수하였다. 회수된 복강 세척액은 검사 전까지 -70℃에 보관하였다.

1) Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) 함량 측정

복강 세척액내 MCP-1 함량은 Enzyme-

Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA) kit (Endogen, Rat MCP-1, USA)로 측정하였다. 표준액 및 검액은 1시간, biotinylated antibody reagent는 1시간, streptavidin-HRP solution은 30분간 반응시키고, TMB substrate solution을 30분간 반응시켜 발색시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시켰다. ELISA 판독기 (Molecular Devices, E10514, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8단계의 MCP-1 표준액(1500, 750, 375, 187, 94, 47, 24, 0 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 다음과 같은 4-parameter 방정식이 구해졌으며, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 MCP-1의 함량을 구하였다.

$$\text{MCP-1 함량} = ((A-D)/(1+(\text{흡광도}/C)^B)) + D$$

(A:40.03, B:1.695, C:43.069, D:244444.7)

2) Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) 함량 측정

복강 세척액내 TNF- α 함량은 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA) kit(Endogen, USA)로 측정하였다. 표준액 및 검액은 1시간, biotinylated antibody reagent는 1시간, streptavidin-HRP solution은 30분간 반응시키고, TMB substrate solution을 30분간 반응시켜 발색시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA 판독기(Molecular Devices, E10514, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8단계의 TNF- α 표준액(2500, 833, 416, 208, 104, 52, 26, 0 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 다음과 같은 직선회귀방정식이 구해졌으며, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 TNF- α 의 함량을 구하였다.

$$[\text{TNF-}\alpha \text{ 함량} = (1675 \times \text{흡광도}) - 3]$$

3) Interleukin-1 β (IL-1 β) 함량 측정

복강 세척액 내 IL-1 β 함량은 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) kit(Endogen, USA)로 측정하였다. 표준액 및 검액은 2시간, biotinylated antibody reagent는 30분간, streptavidin-HRP solution은 30분간 반응시키고, TMB substrate solution을 30분간 반응시켜 발색시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA 판독기(Molecular Devices, E10514, USA)로 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

7단계의 IL-1 β 표준액(2500, 1000, 400, 160, 26, 10.4, 0 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 아래의 4-parameter 방정식이 구해졌으며, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 IL-1 β 의 함량을 구하였다.

$$\text{IL-1}\beta \text{ 함량} = ((A-D)/(1+(\text{흡광도}/C)^B)) + D$$

(A:22.394, B:1.511, C:6.148, D:39646.82)

4) Interleukin-6(IL-6) 함량 측정

복강 세척액내 IL-6 함량은 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) kit(Endogen, USA)로 측정하였다. 표준액 및 검액은 2시간, biotinylated antibody reagent는 30분간, streptavidin-HRP solution은 30분간 반응시키고, TMB substrate solution을 30분간 반응시켜 발색시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA 판독기(Molecular Devices, E10514, USA)로 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

8단계의 IL-1 β 표준액(2000, 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 0 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 다음과 같은 직선회귀방정식이 구해졌으며, 검액의 흡광도를

이 방정식에 적용하여 IL-6의 함량을 구하였다.

$$[\text{IL-6 함량} = (2385 \times \text{흡광도}) + 77]$$

9. 병리조직학적 검사

실험 종료일에 모든 개체를 부검하여 얻은 이식자궁조직, 좌측 자궁 및 난소를 10% 중성 포르말린액에 2일간 고정하였다. 고정된 조직을 일반적인 조직처리과정을 거쳐서 파라핀 포매하고 5 μm 의 박절편을 제작하였다. 제작된 박절편을 Hematoxylin-Eosin 염색하여 광학현미경으로 병리조직학적 소견을 관찰하였다.

10. Cyclooxygenase(COX)-2 면역조직화학적 검사

이식자궁조직의 박절편을 poly-L-lysine (Sigma, USA)으로 처리된 슬라이드에 부착하여 ABC 법으로 COX-2 면역조직화학적 염색을 다음과 같이 실시하였다.

탈파리핀과 함수과정을 거친 이식자궁조직 절편을 0.1 M sodium citrate buffer (pH 6.0)에 담가 700 W 출력의 초단파로 5분간 처리하고 상온에서 식힌 후 다시 280 W 출력의 초단파로 10분간 처리하여 조직 내 항원을 부활시켰다. 내인성 과산화 반응을 억제하기 위해서 3% H_2O_2 용액에 30분간 처리한 후 0.5 M PBS(pH 7.5)로 3회 세척하였다. 비특이 반응을 억제하기 위해서 0.3% Triton-X100, 1% BSA 및 3% normal goat serum이 함유된 PBS로 30분간 처리한 후 1:300으로 희석된 polyclonal anti-COX-2 (Cayman Chemical, USA)를 냉장상태에서 12시간 반응시켰다. 조직을 PBS로 3회 수세 후 biotinylated anti-rabbit antibody

및 avidin-biotin peroxidase complex(Vector Laboratories, USA)를 각각 차례로 1시간씩 반응시킨 후 diaminobenzidine(Sigma, USA)으로 발색시켜 광학현미경으로 관찰하였다.

COX-2에 염색된 자궁점막상피세포의 비율은 표면 자궁점막 상피세포층만을 대상으로 하였으며 자궁선을 구성하는 상피세포층은 평가에서 제외하였다. 또한 대조군에서 비교적 고르게 강한 양성 반응을 나타내는 부위의 발색강도를 100%로 하여 발색강도가 50%이하로 측정되는 부위는 음성반응으로 평가하였다. 자궁점막상피세포에서의 COX-2 양성반응은 전체 표면 상피세포층 중 COX-2 양성반응이 나타난 상피세포층의 비율로 평가하였다. COX-2 양성반응의 발색강도 및 양성 상피세포층의 비율은 칼라영상분석기(Media Cybernetics, Image-Pro Plus, USA)를 이용하여 측정하였다.

11. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

면역조직화학적 검사

이식자궁조직의 박절편을 poly-L-lysine (Sigma, USA)으로 처리된 슬라이드에 부착하여 ABC 법으로 VEGF 면역조직화학적 염색을 다음과 같이 실시하였다.

탈파리핀과 함수과정을 거친 이식자궁조직 절편을 protease K(Roche, Germany) 용액으로 20분간을 처리하여 조직 내 항원을 부활시켰다. 내인성 과산화 반응을 억제하기 위해서 3% H_2O_2 용액에 30분간 처리한 후 0.5 M PBS(pH 7.5)로 3회 세척하였다. 비특이 반응을 억제하기 위해서 0.3% Triton-X100, 1% BSA 및 3% normal horse serum이 함유된 PBS

로 30분간 처리한 후 1:200으로 희석된 monoclonal anti-VEGF (SantaCruz, USA) 를 냉장상태에서 24시간 반응시켰다. 조직을 PBS로 3회 수세 후 biotinylated anti-mouse antibody 및 avidin-biotin peroxidase complex(Vector Laboratories, USA)를 각 각 차례로 1시간씩 반응시킨 후 diaminobenzidine(Sigma, USA)으로 발색시켜 광학현미경으로 관찰하였다.

12. 비만세포 수의 측정

탈파리핀과 함수과정을 거친 이식자궁 조직 절편을 Toluidine Blue 염색법으로 비만세포를 표지하고 이식자궁조직에 침윤된 비만세포 수를 모두 계수하였다.

13. 통계처리

측정된 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(SPSS 10.1 for Windows, USA)를 이용하여 Student's t-test를 실시하여 검증하였다.

III. 結 果

1. 체중의 차이

음성군, 대조군 및 처치군 모두에서 실험 개시일부터 실험 종료일까지 완만한 체중의 증가가 있었으나, 모든 군간에 유의성 있는 차이는 없었다(Table 2).

Table 2. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the Body Weight of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	Body Weight(g)			
	0	5	10	15 days
Sham (n=8)	224.5 ±6.0 ^{a)}	234.6 ±3.5	251.5 ±9.5	259.5 ±7.1
Control (n=8)	224.5 ±5.1	233.5 ±8.3	254.0 ±10.6	258.0 ±11.2
Treated (n=8)	222.8 ±5.6	231.5 ±3.0	249.84 ±8.3	256.8 ±7.1

a) : data expressed as Mean±S.D.

Sham : right partial uterectomy and treated with distilled water

Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water

Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*

2. 이식자궁조직의 육안 소견

대조군 및 처치군의 모든 예에서 육안적으로 확인할 수 있는 다양한 크기의 이식자궁조직이 복벽에 형성되어 있었다. 대조군의 8예 중 6예는 맑은 장액성 물질이 차 있는 여러 개의 낭포상 구조를 하고 있었으며, 1예는 암갈색의 액이 강내에 저류된 낭포상 구조를 하고 있었고, 1예는 비교적 치밀한 형태의 원형으로 증식되어 있었다(Fig. 4a, 4b). 처치군의 이식자궁조직은 대조군에 비해서 현저히 작게 관찰되었으며(Fig. 5a), 8예 중 2예는 맑은 장액이 차 있는 낭포상 구조로, 6예는 치밀한 형태의 원형으로 증식되어 있었다(Fig. 5b).



Fig. 4. Gross structure of transplanted uterine tissue of control group.
(4a) : Presentative case, (4b) : All cases (formalin fixed) of control group. Note cystic development of the implanted tissues. bar=1 cm



Fig. 5. Gross structure of transplanted uterine tissue of *Bojungikgi-Tang* treated group.
(5a) : Presentative case, (5b) : All cases (formalin fixed) of control group. Compare the size of Fig. 4b. bar=1 cm

3. 이식자궁조직 체적(volume)의 차이

실험 종료일에 측정된 이식자궁조직의 체적은 처치군이 대조군에 비해서 유의

성 있게 감소되었다(Table 3).

Table 3. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the Volume of Transplanted Uterine Tissue in Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	Volume of Transplanted Uterine Tissue(mm ³)
Control(n=8)	222±109 ^{a)}
Treated(n=8)	129±39 [#]

a) : data expressed as Mean±S.D.

Control : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water

Treated : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*

: Statistically significant compared with control group(# : p<0.05)

4. 자궁 및 난소 중량의 차이

좌측 자궁 중량은 음성군, 대조군 및 처치군 간에 차이가 없었다.

좌측 난소 중량은 모든 군 간에 유의성 있는 차이가 없었으나, 우측 난소 및 평균 난소 중량은 처치군이 음성군에 비해서 유의성 있게 감소되었으나, 처치군과 대조군간에는 유의성 있는 차이는 없었다(Table 4).

5. MCP-1 함량의 차이

실험 종료일에 측정된 복강세척액내 MCP-1의 함량은 대조군 및 처치군 모두 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며, 처치군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Table 5).

Table 4. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the Weight of Left Uterus and Ovaries in Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	Left Uterus(mg)	Ovary(mg)		
		Right	Left	Mean
Sham (n=8)	163±43 ^{a)}	52±8	48±10	50±8
Control (n=8)	164±20	45±6	49±6	47±3
Treated (n=8)	163±26	42±6*	45±4	43±5*

a) : data expressed as Mean±S.D.
 Sham : right partial uterectomy and treated with distilled water
 Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*
 * : Statistically significant compared with sham group(* : p<0.05)

Table 5. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the MCP-1 Values in Peritoneal Fluids of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	MCP-1(pg/ml)
Sham(n=8)	79±14
Control(n=8)	1413±346***
Treated(n=8)	1012±248***, #

a) : data expressed as Mean±S.D.
 Sham : right partial uterectomy and treated with distilled water
 Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*
 * : Statistically significant compared with sham group(*** : p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(# : p<0.05)

6. TNF-α 함량의 차이

실험 종료일에 측정된 복강세척액내

TNF-α의 함량은 대조군 및 처치군 모두 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며, 처치군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Table 6).

Table 6. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the TNF-α Values in Peritoneal Fluids of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	TNF-α (pg/ml)
Sham(n=8)	79±14
Control(n=8)	1126±140***
Treated(n=8)	887±196***, #

a) : data expressed as Mean±S.D.
 Sham : right partial uterectomy and treated with distilled water
 Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*
 * : Statistically significant compared with sham group(*** : p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(# : p<0.05)

7. IL-1β 함량의 차이

실험 종료일에 측정된 복강세척액내 IL-1β의 함량은 대조군 및 처치군 모두 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었다. 처치군은 대조군에 비해서 상당히 감소되었으나 유의성은 없었다(Table 7).

8. IL-6 함량의 차이

실험 종료일에 측정된 복강세척액내 IL-6의 함량은 대조군이 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며, 처치군은 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성은 없었다(Table 8).

Table 7. Effects of Bojungikgi-Tang Treatment on the IL-1 β Values in Peritoneal Fluids of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	IL-1 β (pg/ml)
Sham(n=8)	45 \pm 5
Control(n=8)	105 \pm 18***
Treated(n=8)	86 \pm 25***

a) : data expressed as Mean \pm S.D.
 Sham : right partial uterectomy and treated with distilled water
 Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*
 * : Statistically significant compared with sham group(*** : p<0.001)

Table 8. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the IL-6 Values in Peritoneal Fluids of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	IL-6 (pg/ml)
Sham(n=8)	94 \pm 12
Control(n=8)	123 \pm 19**
Treated(n=8)	101 \pm 29

a) : data expressed as Mean \pm S.D.
 Sham : right partial uterectomy and treated with distilled water
 Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*
 * : Statistically significant compared with sham group(** : p<0.01)

9. 병리조직학적 소견

1) 이식자궁조직

대조군의 모든 예에서 이식자궁조직은 자궁내막, 자궁중막 및 자궁외막의 모든 구조가 유지된 낭(cyst)의 형태로 증식되어 있었다. 이식자궁조직의 점막상피

는 단층 또는 중층으로 구성되어 있었으며, 부위에 따라서는 낭내로 유두상으로 돌출되어 있었다(Fig. 6a). 때때로 낭내에는 탈락 점막상피세포 및 호중구가 차 있었다. 대조군 8예 중 5예에서는 내막의 기질내에 자궁선이 증식되어 있었다. 이식자궁조직과 복벽사이의 유착부위는 많은 결합조직세포의 증식과 신생모세혈관의 증식이 두드러지게 관찰되었으며, 이 부위에는 다량의 대식세포, 림프구 및 형질세포가 침윤되었다(Fig. 6b). 대조군 8예 중 4예에서는 이식자궁조직이 복벽의 근층까지 침윤 증식되어 있었다.

처치군에서도 이식자궁조직은 대조군에서와 같이 내막 및 중막의 구조를 모두 유지하고 있었으나 대조군에 비해서 자궁 점막상피세포 및 자궁선의 발달은 미약하였다(Fig. 7a). 대조군에 비해서 내막의 기질에는 기질세포의 증식이 미약한 반면 세포외물질(extracellular matrix)이 풍부한 상태로 관찰되었으며, 많은 부위에서 점막상피층이 변성 또는 괴사된 소견이 관찰되었다. 이식자궁조직과 복벽이 유착된 부위에서의 신생모세혈관 증식과 대식세포, 림프구 및 형질세포의 침윤 등은 대조군에 비해서 미약하게 관찰되었다(Fig. 7b).

대조군 및 처치군의 각 예에서 관찰된 주요 병리조직학적 소견의 정도를 Table 9에 요약하였다. 처치군은 대조군에 비해서 자궁선의 발달, 신생혈관의 증식 및 복벽근층 침윤 등의 소견이 완화되어 관찰되었으며, 이식자궁조직의 괴사 소견은 처치군에서 보다 자주 관찰되었다.

2) 자궁 및 난소

음성군, 대조군 및 처치군의 모든 예에서 좌측 자궁은 정상범위의 소견을 나

타내었으며, 난소도 모든 군에서 다양한 단계의 난포 및 황체가 발달되고 있는 정상범위의 소견만이 관찰되었다.

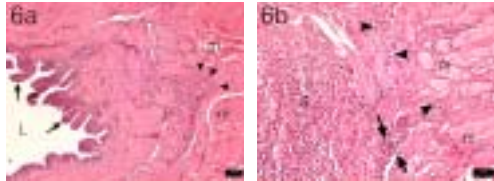


Fig. 6. Histological structure of transplanted uterine tissue of control group.
 (6a) : Papillary proliferation of endometrial epithelia(arrows), stromal hyperplasia and ingrowing of connective tissue(arrow heads) into abdominal muscle layer(m) were prominent. L : lumen of transplanted uterine tissue. bar=100 μ m
 (6b) : Higher magnification of Fig. 6a. Note high cellular proliferation of connective tissue(s) and infiltration of inflammatory cells(arrows) and angiogenesis (arrow heads). m : abdominal

muscle layer. bar=50 μ m

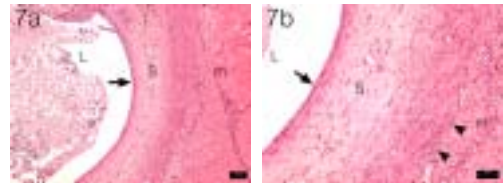


Fig. 7. Histological structure of transplanted uterine tissue of treated group.
 (7a) : The endometrial epithelia(arrow) of transplanted uterine tissue were poorly developed. Stroma(s) was poorly developed, and poorly proliferated connective tissue at the adherent region of abdominal wall(m) was noticed. L : lumen of transplanted uterine tissue. bar=100 μ m
 (7b) : Higher magnification of Fig. 7a. Proliferation of stromal connective tissue(s), and infiltration of inflammatory cells(arrow heads) were not prominent. m : abdominal muscle layer. L : lumen of transplanted uterine tissue. bar=50 μ m

Table 9. Histopathological Lesions of Transplanted Uterine Tissues of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	Identification Number	Development of Uterine Gland	Necrotic Area of Uterine Tissue	Angiogenesis	Ingrowing into Abdominal Muscle Wall
Control	C1	+	-	+	+++
	C2	++	-	+++	++
	C3	-	-	+	-
	C4	-	+	+	-
	C5	-	-	+	-
	C6	++	-	+++	++
	C7	+	-	++	-
	C8	+	-	++	+++
Treated	T1	-	+	+	-
	T2	+	-	+	+
	T3	+	+	+	-
	T4	-	+	+	-
	T5	-	+	+	+
	T6	-	++	+	-
	T7	-	++	+++	+++
	T8	-	-	+	-

-: No, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe

Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*

10. COX-2 발현의 양상

대조군의 이식자궁조직에서 COX-2 양성반응은 점막상피세포층 대부분과 낭내에 산재된 탈락상피세포 및 호중구의 세포질에서 강하게 나타났으며(Fig. 8), 기질내 침윤된 대식세포 및 형질세포의 세포질에서도 강하게 관찰되었다. 처치군에서의 COX-2 양성반응은 대조군에서 관찰된 곳과 동일한 부위에서 확인되었으나, 양성반응의 정도는 미약하게 관찰되었다(Fig. 9).



Fig. 8. COX-2 immunohistochemistry in control group.

Strong positive reactions of COX-2 were expressed in cytoplasm of transplanted endometrial epithelia (arrows) and desquamated epithelia (arrow heads). ABC immunohistochemical stain, bar=30 μ m

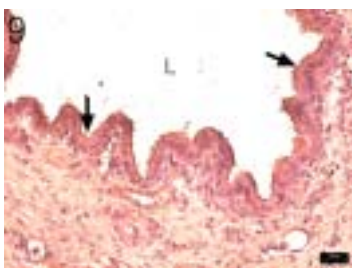


Fig. 9. COX-2 immunohistochemistry in treated group.

Activities and incidence of positive reactions of COX-2 in cytoplasm of transplanted endometrial epithelia (arrows) were decreased. Compare with Fig. 8. L : lumen of transplanted uterine tissue. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μ m

11. COX-2 발현 비율의 차이

이식자궁조직의 점막상피세포층에서의 COX-2 양성 반응 비율은 처치군에서 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Table 10).

Table 10. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the Percentage of Positive Epithelial Layers for COX-2 in Transplanted uterine Tissue in Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	Positive Epithelial Layers for COX-2(%)
Control(n=8)	75±16 ^{a)}
Treated(n=8)	56±17 [#]

a) : data expressed as Mean±S.D.

Control : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water

Treated : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*

: Statistically significant compared with control group(# : p<0.05)

12. VEGF 발현의 양상

대조군의 이식자궁조직에서 VEGF 양성반응은 점막상피세포, 간질세포 및 혈관내피세포에서 확인되었다. 점막상피세포에서는 상피세포층에 고르게 양성반응이 나타난 것이 아니라 상피세포 사이사이에 국소적으로 강한 양성반응이 확인되었다(Fig. 10a). 간질에서는 섬유아세포 또는 간질에 침윤된 염증세포에서 강한 양성반응이 확인되었다(Fig. 10b). 처치군에서의 VEGF 양성반응은 대조군에서 관찰된 곳과 동일한 부위에서 확인되었으나, 양성반응의 정도는 미약하게 관찰되었다(Fig. 11a & Fig. 11b).

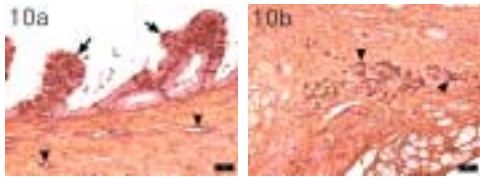


Fig. 10. VEGF immunohistochemistry in control group.

(10a) : Strong positive reactions of VEGF were expressed in cytoplasm of transplanted endometrial epithelia(arrows) and capillary endothelia(arrow heads). L : lumen of transplanted uterine tissue. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μ m
 (10b) : Strong positive reactions of VEGF were expressed in cytoplasm of fibroblast-like cells and inflammatory cells(arrow heads). ABC immunohistochemical stain, bar=30 μ m

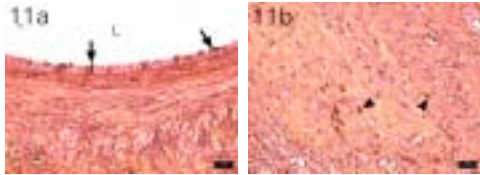


Fig. 11. VEGF immunohistochemistry in treated group.

(11a) : Positive reactions of VEGF were expressed in cytoplasm of transplanted uterine epithelia(arrows), but the intensity and distribution of reactive cells were decreased. L : lumen of transplanted uterine tissue. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μ m
 (11b) : Positive reactions of VEGF were expressed in cytoplasm of infiltrated inflammatory cells(arrow heads), but the intensity of reaction was weak. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μ m

13. VEGF 발현 정도의 차이

대조군 및 처치군의 각 예에서 관찰된 부위별 VEGF 양성반응의 정도를 Table 11에 요약하였다. 처치군은 대조군에 비해서 자궁점막상피세포, 간질세포 및 혈관내피세포에서의 양성반응이 미약하게 관찰되었다.

Table 11. Activities of VEGF Expression in Transplanted Uterine Tissues of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	Identification Number	Uterine Mucosal Epithelia	Cells in Stroma	Vascular Endothelia
Control	C1	++	++	+
	C2	+	-	++
	C3	++	++	+++
	C4	+	+	+
	C5	+	++	+
	C6	+++	+++	++
	C7	++	++	+
	C8	+++	++	++
Treated	T1	++	-	+
	T2	++	+	+
	T3	+	+	+
	T4	+	+	++
	T5	+	-	+
	T6	-	++	+
	T7	-	-	+
	T8	++	-	+

-: No, +: Mild, ++: Moderate, +++: Strong

Control : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water

Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*

14. 비만세포 수의 차이

대조군 및 처치군의 이식자궁조직내에서 비만세포는 자궁내막의 기질 및 자궁외막의 결합조직에서 주로 관찰되었다 (Fig. 12 & Fig. 13). 이식자궁조직에 침윤된 비만세포 수는 처치군이 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성은 없었다 (Table 12).

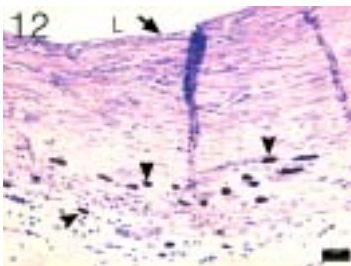


Fig. 12. Mast cells in transplanted uterine tissue of control group. Mast cells(arrows heads) observed abundantly in adjacent tissue of transplanted uterine tissue. L; lumen of uterine tissue. arrow : endometrial epithelia. Toluidine blue stain. bar=30 μ m

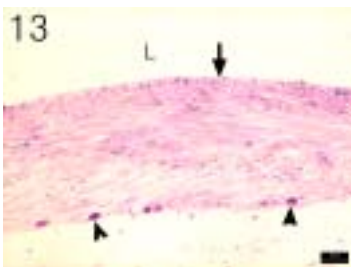


Fig. 13. Mast cells in transplanted uterine tissue of treated group. A few number of mast cells(arrow heads) observed in adjacent tissue of transplanted uterine tissue. Compare with Fig. 12. arrow; endometrial epithelia, L ; lumen of uterine tissue. Toluidine blue stain. bar=30 μ m

Table 12. Effects of *Bojungikgi-Tang* Treatment on the Infiltration of Mast Cells in Transplanted Uterine Tissue of Rats with Experimentally-induced Endometriosis

Group	No. of Mast Cells
Control(n=8)	91 \pm 28 ^{a)}
Treated(n=8)	66 \pm 21

a) : data expressed as Mean \pm S.D.
Control : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
Treated : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Bojungikgi-Tang*

IV. 考 察

子宮內膜症은 자궁 이외의 다른 조직, 특히 복막, 난소, 직장질 중격, 자궁 인대, 골반강, 방광, 요관 등에 분비선과 기질을 포함한 기능성 자궁내막조직이 존재하는 질환을 말하며¹⁻⁴⁾, 가임기 여성의 사회생활 및 성생활, 임신 등에 영향을 미치고 있다⁵⁰⁾. 이 질환은 1860년에 Rokitansky에 의해 최초로 제기되었고⁵¹⁾, 1899년에 Russell이 문헌적으로 보고하였으며, 1921년 Sampson에 의해 발생기전의 제시와 endometriosis란 병명이 명명되었다¹⁷⁾.

子宮內膜症의 발생에는 개인의 유전적 감수성이 관련된다고 알려졌으며^{52,53)}, 최근 유전학과 분자생물학 분야의 괄목할 성장과 인간 게놈 지도의 완성으로 안하여 子宮內膜症의 병태생리와 관련된 유전자들에 대한 단일 염기다형성 관련 연구들이 활발히 진행되고 있으나 子宮內膜症의 발생과 진행에 관여하는 유전자들은 아직 확인되지 못하고 있다⁵⁴⁾.

子宮內膜症의 병인을 설명하는 가설에는 월경 시에 월경혈과 자궁내막조직의 일부가 난관을 통하여 골반강이나 복강

내로 역류되어 자궁내막세포가 직접 착상되어 성장한다는 착상설(Sampson's direct implantation theory), 미립자궁내막이 배상피세포 및 체강상피에서 기원하는 골반복막 일부의 이상분화의 결과로 발생한다는 체강화생설(coelomic metaplasia theory), 월경 시 자궁내막세포가 자궁의 혈관계 및 림프계를 통하여 원격 장기로 전이 된다는 혈행성 파종설(vascular dissemination theory)^{2,19)} 이외에도 유전적, 호르몬적, 환경학적, 면역학적 요인설 등이 제시되어 왔다⁷⁻⁹⁾. 그러나 이런 가설들은 어느 한 가지도 자궁내막증의 다양한 임상 양상이나 불임증과의 연관성 등을 충분히 설명하지 못하였다. 또한 월경을 하는 대부분의 여성에서 난관 내 역류나 혈액과종이 일어나지만 이들 중 소수의 여성에서만 이 질환이 발생되기 때문에 세포 및 체액성 면역의 결함이 자궁내막증을 유발한다는 면역학적인 가설이 대두 되었다^{8,9,55)}.

韓醫學에서는 자궁내막증을 그 주된 증상으로 미루어 痛經, 月經不調, 崩漏, 不妊, 癥瘕, 血癥, 少腹痛, 經行吐衄, 經行血咳 등의 범주에 속한다고 여겨지고 있다^{17,19)}.

子宮內膜症의 병인을 肝鬱, 腎虛로 보기도 하나 대개 瘀血을 가장 중요한 병인으로 인식하여¹⁹⁾ 血府逐瘀湯^{20,21)}, 內膜 I 號丸²²⁾, 內膜 II 號丸²³⁾, 蟠蔥散 및 桂朴湯²⁴⁾, 加味歸朮破癥湯²⁵⁾, 溫經湯²⁶⁾, 少腹逐瘀湯²⁷⁾, 挑紅四物湯²⁸⁾, 加味紅藤湯²⁹⁾, 膈下逐瘀湯³⁰⁾, 丹蔘³¹⁾, 瘀血藥鍼³²⁾ 등의 처방으로 연구하였다. 또 子宮內膜症을 역류된 월경혈에 의한 골반복막의 지속적인 자극 등과 같은 일련의 염증성 진행과정으로 보고 清熱解毒 하는 蒲公英

³³⁾, 黃芩³⁴⁾ 등의 약물을 사용한 연구도 있다.

그러나 최근에는 생리혈 역류로 이식된 자궁내막조직이 잘 착상하고 성장하는 것은 면역기능과 연관된다고 주장되고 있다⁵⁶⁾. 즉, 면역감시 기능이 활성화된 경우에는 역류된 자궁내막조직이 제거되지만, 그렇지 못한 경우에는 子宮內膜症으로 발전한다는 것이다. 이것은 正虛하여 병이 발생한다는 한방적 기전과 매우 유사하다고 할 수 있으며^{17,35)}, 이미 扶正法을 이용한 연구로 八珍湯³⁵⁾, 芎歸調血飲¹⁸⁾, 補陽還伍湯³⁶⁾, 當歸芍藥散³⁷⁾, 黃芪³⁸⁾, 山蔘藥鍼³⁹⁾ 등이 진행되어 왔다.

《素問·刺法論》⁵⁷⁾에서는 “正氣存內 邪不可干”라 하고, 《素問·評熱病論》⁵⁷⁾에서는 “邪之所湊 其氣必虛”라 하고, 《靈樞·口問》⁵⁸⁾에서는 “邪之所在 皆爲不足”라고 하여 疾病의 發生 및 進展을 인체의 正氣와 邪氣의 抗爭 및 消長進退의 과정으로 보고, 正氣와 邪氣의 強弱에 의해 疾病이 發生, 轉歸, 治療된다고 하였다. 이러한 正邪의 개념은 면역반응과 유사하게 인식되고 있다^{17,35,59)}.

補中益氣湯은 黃芪, 人蔘, 白朮, 甘草, 當歸, 陳皮, 升麻, 柴胡로 구성되어 있다. 黃芪를 君藥으로 補中益氣하고 升陽固表하여 止汗하게 하며, 人蔘 甘草 白朮을 臣藥으로 하여 益氣健脾하고 君藥과 배합되어 益氣補中하며, 佐藥에는 理氣和胃시키는 陳皮와 養血하는 當歸를 사용하였고, 使藥으로는 少量의 升麻 柴胡로 君藥을 협조하면서 下陷된 陽氣를 昇提케 하였다. 이와 같이 諸藥을 合用하여 脾胃를 強健하게 하여 中氣를 充足시키고, 下陷된 陽氣가 升擧하게 된다⁴¹⁾.

李杲의 《脾胃論》⁴⁰⁾에서는 補中益氣湯

을 “若飲食失節 寒溫不適 則脾胃乃傷 喜怒憂恐 損耗元氣 既脾胃氣衰 元氣不足 而心火獨盛…則氣高而喘 身熱而煩 其脈洪大 而頭痛 或渴不止 其皮膚不任風寒 而生寒熱”한 경우에 活用 하도록 立方되었다. 이 처방은 補土派의 이론을 계승한 薛己의《校注婦人良方》과 張介賓의《景岳全書·婦人規》등 明代 溫補派에 의해 婦人科 영역의 여러 질환에 응용되었다. 또한 국내의 許浚의《東醫寶鑑》과 黃度淵의《方藥合編》에서도 중요한 처방으로 수재되었고, 시대를 넘어 현대 임상으로 연결되어 중요한 활용 지침을 제공하고 있다⁴³⁾.

補中益氣湯은 현대 약리학적 연구에 의하면 중추신경을 흥분시켜 인체의 대사량을 늘리며, 심근의 수축력을 강화시키고, 혈청단백질의 함량을 높여주며, 혈구 세포의 숫자와 기능을 강화시킨다. 이로 인해 인체의 단백질 대사를 개선하고 체력을 증가시키며, 빈혈을 예방하고, 질병에 대한 저항력을 높여주는 補氣生血의 기본 처방이 된다^{60,61)}.

婦人科 임상에서는 脾虛를 중심으로 虛證에 의한 월경질환, 대하질환, 임신 및 산후질환, 종양 질환, 기타 여성의 일반 비특이적 허약 증상의 개선에 두루 활용될 수 있다^{3,43)}. 補中益氣湯과 관련된 婦人科 질환에 대한 연구가 여러 가지 있었지만⁴²⁻⁴⁷⁾, 子宮內膜症에 대한 연구는 아직 없었다. 이에 補中益氣湯이 양호한 효과가 있을 것으로 기대되어 본 실험을 실시하였다.

실험 결과 음성군, 대조군 및 처치군 모두에서 완만한 체중의 증가가 있었으나 각 실험군 간에 유의성 있는 차이는 없었다. 일반적으로 약물 투여로 인한

체중의 변화가 10% 이상 나타나면 약물의 부작용이 있음을 볼 때, 補中益氣湯의 투여는 일반 독성을 나타내지 않음을 의미한다 하겠다.

또한 대조군 및 처치군에서 육안으로 확인할 수 있는 다양한 크기의 이식자궁조직이 복벽에 형성되어 있었으나 처치군이 대조군에 비해 현저하게 작게 관찰되었다. 그리고 이식자궁조직의 체적은 처치군이 유의성 있게 감소되어 있었기에 補中益氣湯이 子宮內膜症 발달에 억제 작용이 있음을 육안적으로 확인할 수 있었다. 子宮內膜症에서 자궁내막이 복벽에 착상할 때에는 혈관신생, 섬유조직의 증식, 활성화된 염증세포의 침윤 등의 국소적인 염증 반응이 진행됨이 알려져 있다⁶²⁾. 본 실험에서도 대조군의 이식자궁조직이 복벽에 침윤 되고 혈관신생 및 염증세포침윤 등의 소견이 관찰되어 이식자궁조직의 증식에 염증과 수복 과정이 관여됨을 확인할 수 있었다. 처치군에서는 이러한 소견이 미약하게 관찰되어 補中益氣湯의 효과를 병리조직학적으로도 확인할 수 있었다.

좌측 자궁과 좌측 난소의 중량은 처치군이 음성군 및 대조군에 비해서 감소하였으나, 모든 군간에서 유의성 있는 변화는 없었다. 다만 우측 난소 및 평균 난소의 중량이 처치군이 음성군에 비해 유의성 있게 감소되었으나 처치군과 대조군간에는 유의성 있는 차이가 없었다. 이는 補中益氣湯은 이식자궁조직의 발달을 억제하였으나, 자궁 및 난소에는 별다른 영향을 미치지 않았다고 볼 수 있다.

Cytokine은 선천면역과 적응면역에 관여하는 세포에서 분비되는 단백질로서,

적응면역 반응의 활성화 단계에서 림프구의 성장과 분화를 자극하고, 선천면역과 적응면역의 작동 단계에서 여러 종류의 작동 세포들을 활성화시켜 미생물과 많은 항원들을 제거하는 작용을 한다⁶³⁾.

MCP-1은 단핵세포와 대식세포의 활성화를 유도하는 인자로 이것의 분비는 IL-1, TNF- α , IFN- γ 등에 의해 조절된다⁶⁴⁾. MCP-1은 대식세포를 자극하여 growth factor 및 여러 종류의 cytokine 들을 분비하도록 하기도 하고, 子宮內膜症 세포의 증식을 직접 자극하기도 한다⁶⁵⁾. 子宮內膜症이 있는 여성의 복강액에서 子宮內膜症이 없는 여성에 비해 높은 농도로 확인되었다^{66,67)}. 이러한 점으로 미루어 MCP-1은 子宮內膜症의 병태생리에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 평가되고 있다.

복강 세척액내 MCP-1의 함량은 대조군 및 처치군 모두 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으나 처치군은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 이는 子宮內膜症의 발현에 MCP-1이 관여하고 있음을 알 수 있고, 補中益氣湯의 효과를 MCP-1 분비 감소와 관련되리라 생각된다.

TNF- α 는 복강 내 섬유아세포, 대식세포, T세포, B세포 등 여러 세포에서 생산되는 강력한 염증매개적 cytokine으로⁶⁵⁾ 중성구와 호산구를 모으고 혈관을 통한 이동을 도우며 조직 내 활성을 유도한다⁶⁸⁾. 子宮內膜症 환자의 복강액에서 TNF- α 의 증가가 관찰되었으며 子宮內膜症의 중증도에 따라 증가하는 경향을 보인다⁶⁹⁾. 또한 TNF- α 는 자궁내막세포의 복막 부착에 관여할 수 있으며, 고농도에서는 정자의 운동성을 저하시키고

배아자체에 독성을 나타내 불임을 야기하는 인자로 작용할 수도 있다⁷⁰⁾.

본 실험에서 복강 세척액내 TNF- α 함량은 대조군 및 처치군 모두 음성군에 비해 유의성 있게 증가되었으나 처치군은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 이는 子宮內膜症의 발현에 TNF- α 가 관여하고 있음을 알 수 있고, 補中益氣湯이 이식자궁조직의 혈관형성 및 복벽 유착과 발달을 억제한 것은 TNF- α 분비 감소와 관련되리라 생각된다.

IL-1 β 는 염증성 면역 반응과 연관된다면 발현성 cytokine으로 활성화된 단핵구와 대식세포에서 생성 된다⁷¹⁾. IL-1 β 는 prostaglandin의 합성을 유도하며, 섬유아세포의 증식과 collagen의 축적 및 fibrinogen의 형성을 자극하여 子宮內膜症에서의 섬유화와 유착에 관여 한다⁶⁵⁾. 또한 子宮內膜症 병변에서 혈관생성에 관여하는 VEGF, IL-6, IL-8의 분비를 촉진시키고⁷²⁾, natural killer cell이나 기타 면역세포에 의한 인식을 방해하는 intercellular adhesion molecule의 분비를 촉진시켜 子宮內膜症 세포의 증식을 돕는다⁷³⁾.

본 실험에서 IL-1 β 의 함량은 대조군 및 처치군 모두 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으나, 처치군은 대조군에 비해서 상당히 감소되었으나 유의성은 없었다. 이는 子宮內膜症의 발현에 IL-1 β 가 관여하고 있고, 補中益氣湯이 비록 유의성은 없으나 IL-1 β 의 활성 억제에 어느 정도 영향을 주었다고 생각해 볼 수 있다.

IL-6는 B세포를 자극하여 면역글로블린 생산과 분화를 촉진시키고 T세포의 분화를 고양시켜 단백질 합성을 유도 한

다⁷⁴⁾. IL-6가 난소 호르몬 생성과 난포 형성, 배아 착상의 초기단계에 중요한 역할을 한다고 보고된 이후 子宮內膜症이 있는 환자에서 IL-6가 혈액이나 복강액내에서 증가되어 있어 IL-6가 子宮內膜症을 가진 환자의 불임에 기초가 되는 요소로 제시되었다⁷⁵⁾. 또한 증가된 IL-6의 농도는 子宮內膜症의 정도와 연관이 있다⁷⁶⁾.

본 실험에서 측정된 복강 세척액내 IL-6의 함량은 대조군이 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으나, 처치군은 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성은 없었다. 이는 子宮內膜症의 발현에 IL-6가 관여하고 있음을 알 수 있으나, 補中益氣湯이 IL-6의 활성 억제에는 별다른 영향을 주지 못한 것으로 생각된다.

COX는 prostaglandin 생산에 작용하는 효소로서, COX-1은 항상 일정하게 체내 대부분의 조직에서 발현하는 내재성 효소인 반면, COX-2는 내분비적 자극 등 세포 외부에서 오는 신호에 의해 유도되는 유도성 효소의 특징을 가지고 있다⁷⁷⁾. 子宮內膜症 환자에 있어서도 복강내 대식세포에서의 COX-2 활성이 증가되며 이로 인해서 IL, VEGF, TNF 등을 포함한 여러 가지 cytokine의 증가를 초래한다고 알려져 있다⁷⁸⁾. 子宮內膜症의 진행 및 성장에는 혈관형성이 필수적이며⁷⁹⁾, 최근의 실험연구에서 COX-2가 혈관생성을 조절한다고 하였고⁸⁰⁾, 이소성 자궁내막조직의 발달 및 성장에 COX-2가 관련되며 COX-2는 혈관 신생을 통한 자궁내막조직의 초기 발달과 관련이 있다는 보고가 있다⁸¹⁾.

본 실험에서 대조군의 이식자궁조직에서 COX-2 양성반응을 관찰해 본 결과

점막상피 세포층 대부분과 낭내에 산재된 탈락상피세포 및 호중구의 세포질에서 강하게 나타났으며, 기질내 침윤된 대식세포 및 형질세포의 세포질에서도 강하게 관찰되었다. 처치군에서의 COX-2 양성반응은 대조군에서 관찰된 곳과 동일한 부위에서 확인되었으나 양성 반응의 정도는 미약하였고, 이식자궁조직의 점막상피세포층에서의 COX-2 양성반응 비율은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다. 이는 子宮內膜症의 발생에 COX-2가 관여하고 있음을 알 수 있으며 補中益氣湯이 COX-2의 발현 억제를 통하여 이식된 자궁내막조직의 성장과 발달을 억제하는 것으로 여겨진다. 또한 이식자궁조직을 병리조직학적으로 관찰한 소견에서 처치군이 대조군에 비해 신생혈관의 증식이 미약한 것과도 관련이 있다고 생각된다.

子宮內膜症의 확산에 있어서는 cytokine, 면역세포 못지않게 효율적인 혈액공급이 매우 중요하다. 이를 위해서는 내피세포의 증식, 이동, 투과성, 세포유착분자와 단백질가수분해 효소 등을 포함한 새로운 혈관신생과정이 필요하다⁵⁰⁾.

VEGF는 子宮內膜症 조직과 복강액 대식세포 등에서 분비되며⁶⁵⁾, 혈관내피세포의 prime regulator로서 강력한 혈관형성인자 중의 하나이다^{50,82)}. VEGF는 강력한 혈관내피세포 특이적 세포분열 촉진인자이며 혈관투과성 조절인자로 알려져 있다⁸²⁾. 子宮內膜症은 혈관형성이 주 병태 생리를 이루고 있는 것으로 생각되는 질환으로, 혈관형성의 주요 인자인 VEGF가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Donnez 등⁷⁹⁾은 子宮內膜症의 초기 병변에서 VEGF가 말기 병변에

서보다 더 높음을 보고하였으며, McLaren 등⁸³⁾은 子宮內膜症 환자의 복강액에서 혈관형성의 활성화가 증가되어 있으며 혈관형성인자가 대조군보다 높은 농도로 존재하고 있음을 밝혀내는 등 子宮內膜症의 병변 형성에 VEGF가 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다.

본 실험에서 대조군의 이식자궁조직에서 VEGF 양성반응은 점막상피세포, 간질세포 및 혈관내피세포에서 확인되었다. 반면 처치군에서의 VEGF 양성반응은 대조군에서 관찰된 곳과 동일한 부위에서 확인되었으나, 양성반응의 정도는 미약하게 관찰되었다. 이는 子宮內膜症의 발생에 VEGF가 관여하고 있음을 알 수 있으며 補中益氣湯이 VEGF의 발현 감소를 통하여 신생혈관형성을 억제하는 것으로 생각된다.

비만세포는 골수에서 유래된 세포로 주로 결합조직에 분포되어 있으며, histamine, heparin, serine protease, IL-1, IL-3, IL-5, IL-6 등과 같은 다른 매개체들을 분비하여 여러 가지 염증 반응을 유발한다고 알려져 있다⁸⁴⁾. 또한 섬유아세포에서의 collagen 합성 등을 통하여 섬유 조직의 증식을 유발하여 복막 유착 형성에 중요한 역할을 한다. 子宮內膜症 환자의 병변에서 활성화된 비만 세포가 증가되어 있는 것으로 나타나 子宮內膜症의 병태생리와 연관이 있는 것으로 알려져 있다⁸⁵⁻⁸⁷⁾.

본 실험에서 대조군 및 처치군의 이식자궁조직내에서 비만세포는 자궁내막의 기질 및 자궁외막의 결합조직에서 주로 관찰되었다. 이식자궁조직에 침윤된 비만세포 수는 처치군이 대조군에 비해 감소되었으나 유의성은 없었다. 이는 子宮

內膜症의 발현에 비만세포가 관여하고 있음을 알 수 있으며, 비록 통계적 유의성을 검증하지는 못하였지만 補中益氣湯은 비만세포의 활성화 억제에 어느 정도 영향을 준다고 생각된다.

이상의 실험 결과를 통해 補中益氣湯은 자궁과 난소의 정상기능에는 영향을 주지 않으면서 이식자궁조직의 발생과 성장을 억제하는 효과가 있으며, 이는 MCP-1, TNF- α 의 분비 감소, COX-2와 VEGF의 발현 억제 등과 관련이 있는 것으로 생각된다. 앞으로 氣虛를 동반한 子宮內膜症의 치료에 補中益氣湯을 활용하여 치료효과를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

V. 結 論

補中益氣湯이 子宮內膜症의 발생에 미치는 영향을 확인하기 위해서 자궁 자가 이식법으로 유발된 子宮內膜症 흰쥐를 음성군, 대조군 및 補中益氣湯을 투여한 처치군으로 분류하였다. 補中益氣湯 감압농축액을 15일간 경구투여하고, 체중, 난소 및 자궁 무게, 이식자궁조직의 체적을 측정하였다. ELISA 법을 이용하여 복강세척액내 cytokine(MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6) 함량을 측정하였다. 또한 이식자궁조직에 대한 병리조직학적 검사, 면역조직화학적(COX-2, VEGF) 검사, 그리고 비만세포 수를 계수하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 이식자궁조직의 체적은 처치군이 대조군에 비해서 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다.

2. 병리조직학적으로 처치군은 점막상피세포 및 자궁선의 발달, 염증세포의 침윤 및 모세혈관의 신생이 대조군에 비해서 미약하게 관찰되었다.
3. 복강세척액내 MCP-1 함량은 처치군이 대조군에 비해서 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다.
4. 복강세척액내 TNF- α 함량은 처치군이 대조군에 비해서 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다.
5. COX-2 발현 점막상피세포층 비율은 처치군이 대조군에 비해서 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다.
6. 점막상피세포, 신생혈관 내피세포 및 간질세포에서의 VEGF 발현정도는 처치군이 대조군에 비해서 미약하게 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하면 補中益氣湯은 실험적으로 유발된 이식자궁조직의 발달을 억제하는 효과가 있으며, 이는 MCP-1와 TNF- α 함량 감소 및 COX-2 발현과 VEGF 발현 감소와 관련이 있다고 생각된다.

- 투 고 일 : 2009년 7월 24일
- 심 사 일 : 2009년 8월 3일
- 심사완료일 : 2009년 8월 10일

參考文獻

1. Hammond CB, Hancy AF. Conservative treatment of endometriosis. *Fertil Steril.* 1978;30:497-509.
2. 대한산부인과학회 교과서 편찬위원회. 부인과학(제4판). 서울:도서출판 고려

- 의학. 2007:399-430.
3. 한의부인과학 교재편찬 위원회. 한의부인과학 상권. 서울:도서출판 정담. 2001:96, 137, 171, 172, 182, 186, 279, 280, 287, 291, 326, 380.
4. Winkel CA. Evaluation and management of women with endometriosis. *Obstet Gynecol.* 2003;102:397-408.
5. Smith S, Pfiefer SM, Collins J. Diagnosis and management of female infertility. *JAMA.* 2003;290:17.
6. ASRM Practice Committee Report. A Committee Opinion: endometriosis infertility. *Fertil Steril.* 2004;81:1441-6.
7. Kennedy SH. Is there a genetic basis to endometriosis?. *Semin Reprod Endocrinol.* 1997;15:309-17.
8. Halme J et al. Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with mild endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1983;145(3):333-7.
9. Koyama N, Matsuura K, Okamura H. Cytokines in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Int J Gynecol Obstet.* 1993;43(1):45-50.
10. Hughes E, Fedorkow DM, Collins J. A quantitative overview of controlled trials in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril.* 1993;59:963-70.
11. Winkel CA, Scialli AR. Medical and surgical therapies for pain associated with endometriosis. *J Womens Health Gend Based Med.* 2001;10:137-62.
12. Takayama K et al. Treatment of severe postmenopausal endometriosis with an aromatase inhibitor. *Fertil Steril.* 1998;69:709-13.

13. Ailawadi RK et al. Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone: a pilot study. *Fertil Steril*. 2004;81:290-6.
14. Canis M et al. Laparoscopic treatment of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl*. 1989;150:15-20.
15. Nisolle-Pochet M, Casanas-Roux F, Donnez J. Histologic study of ovarian endometriosis after hormonal therapy. *Fertil Steril*. 1988;49(3):423-6.
16. 보건복지부. 子宮內膜症의 새로운 진단, 치료 및 예방법 개발-1998년도 보건의료 기술 연구. 개발사업 최종 보고서. 1999;2-108.
17. 김동일, 이동규, 이태균. 子宮內膜症의 韓醫學 治療에 관한 研究. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2002;15(2):126-43.
18. 최변탁 등. 芎歸調血飲이 흰쥐의 子宮內膜症 형성 억제에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2008;21(3):34-59.
19. 이태균. 子宮內膜症에 대한 文獻的 考察. *大韓韓方婦人科學會誌*. 1995;8(1):161-74.
20. 오규석, 홍영옥, 이태균. 血府逐瘀湯이 子宮內膜症 白鼠에 미치는 영향. *대한한의학회지*. 1995;18(2):273-82.
21. 김동일, 이태균. 子宮內膜症 및 만성 지속성 감염과 병발한 원발성 불임증 1례에 대한 치험 보고. *대한한의학회지*. 1998;19(1):100-8.
22. 권은정, 배한익, 이태균. 內膜 I 號丸의 子宮內膜症 白鼠의 치료효과에 대한 연구. *東國論集*. 1996;15:325-42.
23. 이동규, 김순열, 이태균. 內膜 II 號丸의 phospholipase A₂ 활성 억제능에 관한 연구. *大韓韓方婦人科學會誌*. 1996;9(1):97-107.
24. 김동일, 이태균. 子宮內膜症 환자 2례에 대한 임상적 고찰. *대한한의학회지*. 1997;18(2):58-71.
25. 김여태 등. 加味歸朮破癥湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 子宮內膜症에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2006;19(2):162-85.
26. 김형일, 임은미, 권기록. 溫經湯이 子宮內膜症 유발 白鼠에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2006;19(2):18-33.
27. 윤영희 등. 少腹逐瘀湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 子宮內膜症에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2006;19(2):141-61.
28. 장성환, 임은미, 이은. 桃紅四物湯이 子宮內膜症을 유발한 흰쥐에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2006;19(2):125-38.
29. 이지연, 임은미, 권기록. 加味紅藤湯 직장 내 투여가 子宮內膜症을 유발한 흰쥐에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2006;19(3):109-20.
30. 김철수 등. 膈下逐瘀湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 子宮內膜症에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2007;20(1):61-83.
31. 허운, 임은미, 이은. 丹蔘이 子宮內膜症 白鼠에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2006;19(3):95-107.
32. 옥상숙, 임은미, 권기록. 中性瘀血藥 鍼이 子宮內膜症 白鼠에 미치는 영향. *대한약침학회지*. 2006;9(1):83-94.
33. 박준식, 임은미, 이은. 浦公英 추출물이 子宮內膜症 유발 白鼠에 미치는 영향. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2006;19(3):69-82.
34. 이현희, 김운상, 임은미. 黃芩의 경구

- 와 직장투여가 실험적으로 유발된 子宮內膜症에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2008;21(3):1-17.
35. 이미정, 임은미, 권기록. 八珍湯이 子宮內膜症을 유발한 흰쥐에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2006;19(3):83-94.
36. 임성민. 補陽還五湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 子宮內膜症에 미치는 영향. 세명대학교 대학원 한의학과 박사학위논문. 2008.
37. 주병주. 當歸芍藥散이 실험적으로 유발된 흰쥐의 子宮內膜症에 미치는 영향. 세명대학교 대학원 한의학과 박사학위논문. 2008.
38. 조현주, 김윤상, 임은미. 黃芪가 子宮內膜症 유발 흰쥐에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2007;20(2):43-59.
39. 김성혜, 권기록, 박희수. 山蔘藥鍼이 子宮內膜症 유발 흰쥐에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006;23(5):55-67.
40. 李杲. 東垣十種醫書. 上海:鴻文局版. 1975:33, 34, 85, 86.
41. 金相贊 등. 方劑學-改正增補版. 서울: 도서출판 永林社. 1999:279-81.
42. 尹用甲. 補中益氣湯 및 加減方이 白鼠와 家兔의 摘出子宮, 腸 및 血管運動에 미치는 影響. 方劑學會. 1992;3(1):53-80.
43. 김동일 등. 補中益氣湯 과립제(보로)의 한방부인과 임상응용 경향 분석과 월경기간 중 활용에 대한 제언. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(2):148-58.
44. 정형민 등. 교애궁귀탕, 보중익기탕, 궁소산, 안태음, 안태금출탕을 투약한 임신생쥐의 생식능력의 변화. 대한한의학회지. 2000;21(3):166-73.
45. 金惠媛, 李京燮, 宋炳基. 加味補中益氣湯이 肥滿생쥐의 卵巢反應과 妊娠에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2000;13(2):35-45.
46. 白承禧. 加味補中益氣湯으로 治療한 卵巢囊腫 治驗例. 東西醫學. 1999;24(3):1-16.
47. 宋鐘錫, 柳同烈. 加味補中益氣湯과 子宮下垂의 活用上 關한 考察. 大田大學校 韓醫學研究所 論文集. 2005;14(2):205-12.
48. 許浚 著, 東醫文獻研究室 編譯. 新編對譯 東醫寶鑑. 서울:법민문화사. 2005:2113.
49. Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. Fertil Steril. 1985;44(5):684-94.
50. McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis. Hum Reprod Update. 2000;6:45-55.
51. Jonathan S et al. Novak's Gynecology. 12ed Williams & Wilkins, Baltimore. 1996;403, 406, 887-915.
52. Moen MH. Endometriosis in monozygotic twins. Acta Obstet Gynecol Scand. 1994;73:59-62.
53. Kennedy S et al. Age of onset of pain symptoms in non-twin sisters concordant for endometriosis. Hum Reprod. 1996;11:403-5.
54. 韓媛程. 한국 여성에서 중증子宮內膜症과 MMP-9 유전자 다형성에 관한 연구. 이화여자대학교 대학원 의학과 석사학위논문. 2007;1.
55. Dmowski WP, Steele RW, Baker GF. Deficient cellular immunity in endometriosis. Am J Obstet Gynecol. 1981;141(4):377-83.

56. Donnez J, Langendonck AV. Typical and subtle atypical presentations of endometriosis. *Med Sci Monit.* 2000 ;6(5):1042-6.
57. 金達鎬, 李鍾馨, 共編譯. 注解補注 黃帝內經 素問. 서울:醫聖堂. 2001:上권:628, 726, 下권:746.
58. 李慶雨 翻譯. 編注譯解 黃帝內經 靈樞. 서울:여강출판사. 2001:2권:221, 3권:223.
59. 蔡浩然, 鄭鎮鴻, 金東熙. 加味八珍湯이 免疫調節作用에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 1999;12(2):198-224.
60. 장일무 外 편집부. 동양의과학대전(2) 서울:서울대학교 천연물과학연구소 문헌정보학연구소. 2003:180, 642, 706, 806, 837, 937, 1006.
61. 江克明, 包明薰. 校正方劑大辭典. 서울:醫聖堂. 1991:567-8.
62. 김영아 등. 子宮內膜症 자궁내막의 증가된 증식 활성도. 대한산부학회지. 2004;47(7):1334-41.
63. Abul KA, Andrew HL. 세포분자면역학 제 5판. 서울:도서출판 범문사. 2005:243-74.
64. Akoun A, et al. Cytokine-induced secretion of monocyte chemotactic protein-1 by human endometriotic cells in culture. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;172:594-600.
65. Gazvani R, Templeton A. The peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. *Reproduction.* 2002;123:217-26.
66. Barcz E, Kaminsk P, Marianowski L. Role of cytokines in pathogenesis of endometriosis. *Medical science monitor.* 2000;6(5):1042-6.
67. Christine J, et al. Increased expression of monocyte chemotactic protein-1 in the endometrium of women with endometriosis. *American journal of pathology.* 1998;152(1):125-33.
68. Shakida K, Falcone T. Tumor necrosis factor- α blockers:potential limitations in the management of advanced endometriosis. *Human Reproduction.* 2006;21(9):2417-20.
69. Overton C, et al. Peritoneal fluid cytokines and the relationship with endometriosis and pain. *Hum Reprod.* 1996;11(2):380-6.
70. Hill JA, et al. Effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages (lymphokines and monokines) on human sperm motion parameters. *Fertil Steril.* 1987;47(3):460-5.
71. Lebovic DI, et al. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by Interleukin-1 β . *Mol Hum Reprod.* 2000;6(3):269-75.
72. Arici A, et al. Interleukin-8 concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis and modulation of interleukin-8 expression in human mesothelial cells. *Mol Hum Reprod.* 1996;2(1):40-45.
73. Viganò P, et al. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 mRNA and protein is enhanced in endometriosis versus endometrial stromal cells in culture. *Mol Hum Reprod.* 1998;4(12)

- :1150-6.
74. Akoun A, et al. Secretion of interleukin-6 by human endometriotic cells and regulation by proinflammatory cytokines and sex steroids. *Human Reproduction*. 1996;11(10):2269-75.
75. Gorospe WC, Hughes FM Jr, Spangelo BL. Interleukin-6: effects on and production by rat granulosa cells in vitro. *Endocrinology*. 1992;130(3):1750-2.
76. Cheong YC, et al. IL-1, IL-6 and TNF-alpha concentrations in the peritoneal fluid of women with pelvic adhesions. *Hum Reprod*. 2002 ;17(1):69-75.
77. Fletcher BS, et al. Structure of the mitogen-inducible TIS10 gene and demonstration that the TIS10-encoded protein is a functional prostaglandin G/H synthase. *J Biol Chem*. 1992;267(2):207-14.
78. Harada T, et al. Role of cytokines in progression of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest*. 1999;47(1):34-40.
79. Donnez J, et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod*. 1998;13(6):1686-90.
80. Tsujii M, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell*. 1998;93:706-16.
81. Matsuzaki S, et al. Cyclooxygenase-2 selective inhibitor prevents implantation of eutopic endometrium to ectopic sites in rats. *Fertil Steril*. 2004;82(6):1609-15.
82. Tischer E, et al. Vascular endothelial growth factor: a new member of the platelet derived growth factor gene family. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;165:1198-206.
83. McLaren J, et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod* 1996;11:220-3.
84. 이재춘 등. 이식된 생검에서 비만세포의 임상적 의의. *대한외과학회지*. 2002;63(3):201-5.
85. Sugamata M, Ihara T, Uchiide I. Increase of activated mast cells in human endometriosis. *American journal of reproductive immunology*. 2005;53(3):120-5.
86. Nguyen M, Pace AJ, Koller BH. Age-induced reprogramming of mast cell degranulation. *The journal of immunology*. 2005;175:5701-7.
87. Xiang Xu, et al. Roles of mast cells and myofibroblasts in human peritoneal adhesion formation. *Annals of surgery*. 2002;236(5):593-601.
-