

향부자가 estradiol valerate로 유발된 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향

*동신대학교 한의과대학 부인과학 교실, **부산대학교 한의학전문대학원

양동선*, 양승정*, 조성희*, 박경미*, 김형우**, 조수인**

ABSTRACT

Effects of Cyperi Rhizoma(CR) on the Polycystic Ovaries Induced by Estradiol Valerate in Rats

Dong-Seon Yang*, Seung-Jung Yang*, Seong-Hee Cho*,
Kyung-Mi Park*, Hyung-Woo Kim**, Su-In Cho**

*Dept. of Gynecology, College of Oriental Medicine, Dong-Shin University

**School of Korean medicine, Pu-San National University

Purpose: This study was designed to investigate the effects of Cyperi Rhizoma (CR) on changes in weights morphological and histopathological observations in Polycystic Ovary(PCO) rats.

Methods: PCO was induced by single intramuscular injection with EV(2mg) in female rats. Normal group(n=8) were injected with sesame oil and orally administrated distilled water for five weeks. PCO control group(n=8) were injected with EV and orally administrated distilled water for five weeks. CR treated group(n=8) were injected with EV and orally administrated CR for five weeks. Then we measured weight of body, ovaries. The histopathology changes of ovaries, and the expression of nerve growth factor(NGF) were also evaluated.

Results: Single injection of EV induced suppression of weight gain, formation of cysts, increase of NGF expression. Oral administration of CR prevent suppression of weight gain shown in control group. In addition CR group showed upward tendency of ovarian size. Formation of cystic follicles induced by EV injection is suppressed by CR treatment. In addition, CR treatment lowered expression levels of nerve growth factor(NGF), which were elevated by induction of PCOS.

Conclusion: These results suggest that CR can be used for patients with PCOS to prevent formation of cystic follicles and malfunction of ovary. And also suggest that the related mechanisms are involved in suppression of NGF expression.

Key words: Polycystic ovary syndrome(PCOS), Cyperi Rhizoma(CR), Nerve growth factor(NGF)

I. 서 론

다낭성 난소증후군(PolyCystic Ovary Syndrome: PCOS)는 시상하부-뇌하수체-난소축 및 부신에 기능적 이상이 초래되어 비만, 불임, 무월경 혹은 희발월경, 다모증, 황체화호르몬의 과다, 안드로겐과다증 및 인슐린 저항성 등으로 이루어진 복합적인 증후군으로서 무배란으로 인한 불임증의 가장 많은 원인이기도 하다¹⁻³⁾.

한의학에서는 다낭성 난소증후군이라는 병명을 찾아 볼 수 없지만 특징적인 증상으로 보아 不孕, 多毛, 月經失調, 月經後期, 肥胖, 癥瘕 등의 범주로 인식하고 있으며 주로 腎虛, 痰濕阻滯, 肝鬱化火, 氣滯血瘀, 陰虛內熱 등으로 변증하여 蒼附導痰湯, 右歸飲, 膈下逐瘀湯, 龍膽瀉肝湯, 瓜石散 등으로 치료한다^{4,5)}.

근래에 들어 식생활습관의 변화로 비만, 불임 및 무월경 환자가 증가되고 있으나 서양의학에서는 아직까지 확실하게 정해진 치료법은 없으며 다양한 임상양상에 따른 대증적인 치료만 행해지고 있는 실정이다^{1,3)}. 한의학계에서도 현재까지 다낭성 난소와 관련된 여러 실험적인 연구가 이루어져 왔는데, 복합처방으로는 蒼附導痰湯⁶⁾, 定經湯⁷⁾, 歸脾湯⁸⁾, 蒼附六君湯⁹⁾, 腎氣丸合蒼附導痰湯¹⁰⁾ 등이 있고 단미제에 관한 연구로는 홍삼추출물¹¹⁾에 관한 연구가 있다.

향부자는 莎草科에 속하는 多年生 宿根本草인 향부자의 塊莖을 말하며 味는 辛微甘苦하고 性은 平하며 肝·脾·三焦經으로 歸經한다. 향부자는 理氣解鬱·調經止痛의 효능이 있어 胸脇脘腹脹痛,

消化不良, 胸脘痞悶, 寒疝腹痛, 乳房脹痛, 月經不調, 經閉痛經 등을 치료하는데 사용된다¹²⁾.

이에 저자는 이전 연구를 토대로 향부자가 다낭성 난소증후군이 유발된 흰쥐의 난소에서 조직병리학적 소견에 미치는 영향을 실험적으로 구명하기 위하여, 다낭성 난소 유발 양상과 Nerve growth factor(NGF) 발현 양상을 관찰한 결과 다음과 같은 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 실험방법

1. 재 료

1) 동 물

실험동물은 160~180 g의 S/D계 암컷 백서를 샘타코(인천, 한국)로부터 구입하여 사용하였다. 1주일 이상, 고행사료(삼양 배합사료 실험동물용, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 충분히 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험실 환경은 온도 22±2℃를 유지하면서 12시간 단위로 낮과 밤이 계속되는 상황을 실험 종료 시까지 유지하였다.

2) 약 재

향부자(Cyperi Rhizoma, CR)은 방동사니과(莎草科)에 속한 다년생 초본인 향부자 *Cyperus rotundus* L.의 塊莖을 건조한 것으로 동신대학교 순천한방병원을 통하여 구입, 정선하여 사용하였다.

3) 시약 및 기기

PCOS 유발을 위하여 β-Estradiol 17-valerate(EV, Sigma, USA)를 사용하였고, 조직염색과 관찰을 위하여 rabbit polyclonal antibody for NGF(1:500, Millipore, Billerica,

MA, USA), Vetastain ABC elite kit(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) 등을 사용하였다.

시료 조제를 위하여 전기약탕기(대웅, 한국), 감압농축기(EYELA, Japan), 동결건조기(Labconco, Missouri, USA), 강제순환건조기(제이오텍, 한국)를 사용하였고, 체중 및 난소 무게의 측정을 위하여 전자저울(한성, 한국)을 사용하였다. 조직관찰을 위하여 미세절단기(microtome, Leica, Wetzlar, Germany), 광학현미경(Olympus, Japan) 등을 사용하였다.

2. 방 법

1) 시료의 조제

구입, 정선한 CR 200 g을 증류수 1,500 ml과 함께 전기약탕기(대웅, 한국)을 이용하여 3시간 동안 전탕한 후, 거즈로 걸러 전탕액을 얻었다. 얻어진 전탕액을 5,000 g에서 10분간 원심분리하여 찌꺼기는 버리고 상청액을 얻은 다음 감압 농축하고, 동결건조기(Labconco, Missouri, USA)를 이용하여 동결건조 분말을 조제하였다. 얻어진 추출물은 16.2 g으로 수율은 8.1% 였다.

2) PCOS의 유발

β -Estradiol 17-valerate(EV, Sigma, USA)의 1회 근육 주사법¹³⁾을 이용하여 PCOS를 유발하였다. 간략히 정리하면, Sesame oil(Sigma, USA)에 EV를 녹인 후, 0.45 mm Syringe Filter(Whatman, Springfield, UK)로 걸러 줌으로써 멸균을 대신하였다. 이렇게 하여 얻어진 EV 용액을 20 mg/kg의 분량으로 1회 근육 주사하였고, 정상군은 동일한 양의 Sesame oil을 근육 주사하였다. 근육주사 후 2일간 관찰한 다음, 5주간 약물을 투여하였

다.

3) 실험군의 선정

정상군(Normal group)은 EV를 녹이지 않은 Sesame oil 200 μ l를 대퇴부에 근육 주사하였다. 대조군(Control group)과 실험군(CR group)은 EV를 Sesame oil에 20 mg/kg의 분량으로 녹여 마리당 200 μ l씩 대퇴부에 근육 주사하였다.

정상군(Normal group, n=8)은 다낭성 난소를 유발하지 않고, 5주간 정상식이를 투여하였고, 대조군(Control group, n=8)은 다낭성 난소를 유발시킨 후, 5주간 정상 식이를 투여하였다. 실험군(CR group, n=8)은 다낭성 난소를 유발시킨 후, CR 추출물을 10 g/kg으로 고품사료에 섞어 투여하였다. 자세한 고품 사료의 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Compositions of basal and experimental diet

Ingredients	Diet (g/kg)	
	Basal diet	Experimental diet(CR)
Casein	200	200
Sucrose	172.8	172.8
Dextrose	100	100
Corn Starch	72.8	72.8
Cellulose	50	50
Mineral mix	45	45
Vitamin mix	10	10
L-Cystine	3	3
Choline Bitartrate	2	2
CR Extract	-	10

4) 체중 및 난소 무게의 측정

체중 및 난소 무게의 측정은 실험 마지막 날, 전자저울(한성, 한국)을 이용하여 실시하였다. 난소의 적출을 위하여 생쥐를 희생시킨 후, 복강 정중선을 따

라 절개하여 복강을 개방하고 측, 후면의 난소를 드러낸 다음, 난소 하부를 절단하고 지방조직을 조심스럽게 제거한 후 좌, 우측의 난소 무게를 각각 측정하였다.

5) 식이량 및 음수량 측정

실험 시작일부터 5주간 식이량 및 음수량의 변화를 관찰하였다. 측정 단위는 24시간으로 전일 오후 2시에 고형사료와 음용수를 공여한 후, 다음 날 2시에 남은 사료와 음용수의 양을 측정하여 그 차이를 하루 동안의 식이량 및 음수량으로 계산하였다. 모든 측정은 cage 단위로 이루어졌으며, 측정된 값을 cage에 사육된 마리수인 4로 나누어 개체당 식이량 및 음수량으로 제시하였다.

6) 조직병리학적 소견 관찰

흰쥐로부터 얻어진 난소를 10% 포르말린에 고정한 후, 파라핀에 고정하였다. 미세절단기(microtome, Leica, Wetzlar, Germany)를 이용하여 고정된 조직을 4 μm 두께로 잘라 슬라이드 글라스 위에 부착하였다. 부착된 조직으로부터 파라핀을 제거하고 hematoxylin과 eosin을 이용하여 염색한 후 광학현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

7) NGF 발현 양상 관찰

NGF의 발현 양상은 면역조직화학염색법(Immunohistochemistry)을 이용하여 관찰되었다¹⁴⁾. 간단히 정리하면, 4 μm 두께의 조직을 자일렌과 알콜, 증류수를 차례로 이용하여 파라핀을 제거한 다음, 인산완충액으로 수세하였다. 준비된 조직 절편은 NGF 검출을 용이하게 하기 위하여 0.01M citrate buffer(pH 6.0)를 첨가한 후 microwave oven에서 600W로 5분간 2회에 걸쳐 가열되었다. 가열이 끝

난 후 peroxidase를 불활성화 시키기 위하여 3% 과산화수소를 첨가하고 비특이적 결합을 방지하기 위해 5% goat serum (0.1% BSA)를 처리하였다. Blocking이 끝난 조직에 NGF 항체(1:500, Millipore, USA)를 처리하고 4°C에서 다음날 까지 배양하였다. 면역조직화학염색은 Vetastain ABC elite kit(Vector Laboratories, USA)를 이용하여 avidin-biotin peroxidase complex 방법으로 시행되었으며, 제작자가 제시한 매뉴얼에 따라 실험을 진행하였다. NGF 염색과 대조염색을 위하여 핵을 파란색으로 염색할 수 있는 hematoxylin을 이용하였다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot(Sigma plot for Windows, ver. 9.0, USA)를 이용하였다. 실험 성적은 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었으며, 결과의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 p-value 값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 체중에 미치는 영향

정상군(Normal)은 254.6 \pm 12.1 g, 대조군(Control)은 196.1 \pm 13.0 g, CR군은 211.7 \pm 6.8 g을 보여 대조군과 비교해서 유의한 체중 증가를 보였다(Fig. 1).

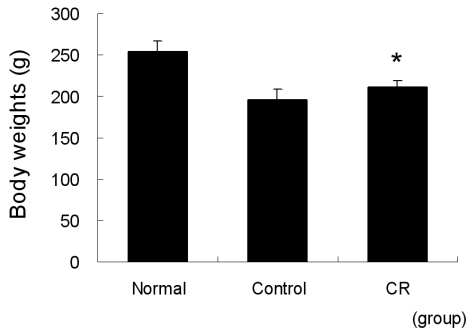


Fig. 1. Effects of CR on Changes in Body Weights in PCO Rats.

Body weights were measured at the end of the experiment. Normal : naive Rats, Control : PCO Rats, CR : CR administered PCO Rats. Values are represented as mean±SD. *P < 0.05 vs. control(n=8).

2. 식이량 및 음수량에 미치는 영향

모든 군에서 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table 2).

Table 2. Effects of CR on Food and Water uptake in PCO Rats.

Group	Food uptake (g)	Water uptake (ml)
Normal ^{a)}	14.7±4.8 ^{b)}	26.1±1.8
Control	12.3±1.3	29.3±5.1
CR	13.9±2.3	27.5±4.6

a) Normal : naive Rats, Control : PCO Rats, CR : CR administered PCO Rats. b) Values are represented as mean ± SD (n=8).

3. 난소의 외부 형태에 미치는 영향

정상군의 난소 조직은 크기가 크고 붉게 충혈되어 있었으며, 난소 주위에 수양성 막성 물질과 같은 병리적 소견이 관찰되지 않았다(Fig. 2A). 대조군의 난소 조직은 큰 수양성 막성 물질에 둘러싸여 있었으며 작게 축소되어 있었다(Fig. 2B). 실험군의 난소 조직은 대조군보다 미미하게 커보였으며, 수양성 피막

과 같은 병리적 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 2C).

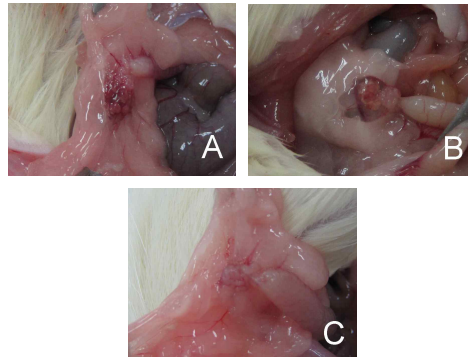


Fig. 2. Effect of CR on morphology of Ovary in PCO Rats.

Morphology of Ovaries were observed using digital camera at the end of the experiment. (A) Normal, (B) Control, (C) CR.

4. 난소 무게에 미치는 영향

대조군에서 정상군에 비하여 유의한 난소 무게 감소가 관찰되었고, CR군에서는 대조군과 유사한 수준의 난소 무게가 관찰되었다(Fig. 3A).

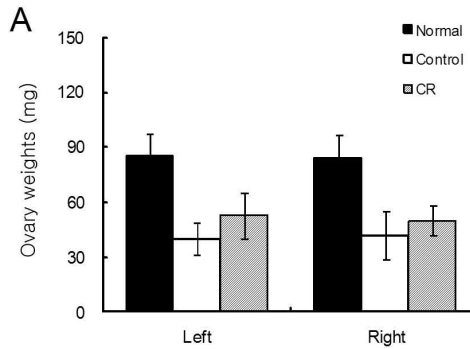


Fig. 3A. Effects of CR on Ovary Weights in PCO Rats.

Ovary weights were measured at the end of the experiment. Normal : naive Rats, Control : PCO Rats, CR : CR administered PCO Rats. Values are represented as mean±SD (n=8).

흰쥐의 체중을 이용하여 난소 / 체중

비를 계산한 결과 대조군에서 정상군에 비하여 유의한 난소 / 체중비의 감소가 관찰되었고, 실험군에서는 대조군과 유사한 수준의 난소 / 체중비가 관찰되었다(Fig. 3B).

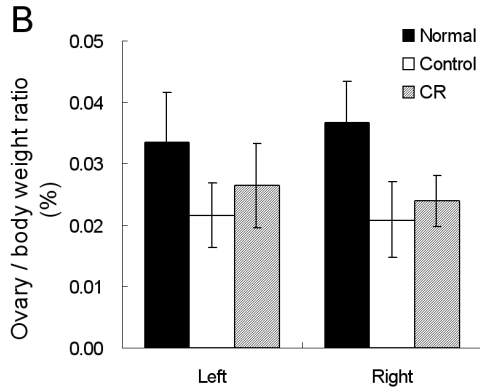


Fig. 3B. Effects of CR on Ovary / Body Weight ratio in PCO Rats.

Ovary / body weight ratio was calculated with ovary and body weights, which were measured at the end of the experiment. Normal : naive Rats, Control : PCO Rats, CR : CR administered PCO Rats. Values are represented as mean±SD(n=8).

5. 난소의 조직병리학적 소견에 미치는 영향

정상군의 난소 조직에는 초기 난포(open asterisk)와 2차 난포(closed asterisk)가 보이는 등 정상적인 난소 조직의 소견을 보였다(Fig. 4A). 대조군의 난소 조직에서는 낭포(closed arrow)와 폐쇄 난포(open arrow)가 보였다(Fig. 4B). 실험군의 난소에서는 대조군에서 보이던 낭포와 폐쇄 난포는 줄어들었고, 정상군에서 보이던 초기 난포가 관찰되었다(Fig. 4C).

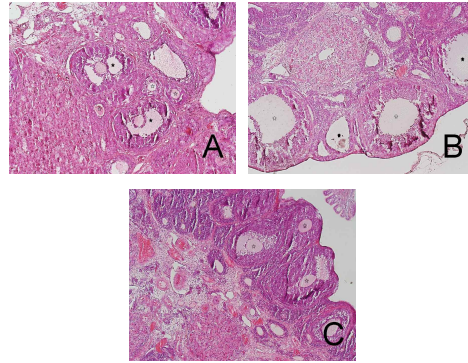


Fig. 4. Effects of CR on histo-pathological changes of Ovary in PCO Rats.

Histo-pathological changes of Ovary were observed using haematoxylin and eosin stain methods. (A) Normal, (B) Control, (C) CR. Open asterisk: primary follicle, Closed asterisk: secondary follicles, Open arrow: atretic follicles, Closed arrow: cystic follicles.

6. NGF 발현 변화에 미치는 영향

정상군에서는 소량의 NGF(red)가 발현하는 것을 알 수 있었고(Fig. 5A), 대조군에서는 정상군에 비하여 NGF의 발현정도가 증가되어 있었다(Fig. 5B). 실험군의 NGF 발현 양상은 대조군에 비하여 줄어드는 경향을 보였다(Fig. 5C).

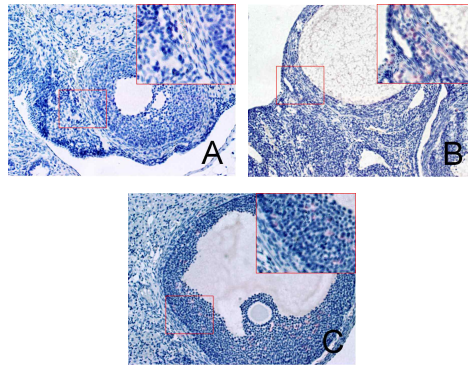


Fig. 5. Effects of CR on expression levels of NGF in Ovaries from PCO Rats.

Expression levels of NGF were observed using Immunohistochemistry. (A) Normal, (B) Control, (C) CR.

IV. 고찰

PCOS는 희발월경, 무월경, 무배란, 다모증, 비만증, 다낭성 난소 등의 다양한 임상증상을 갖는 만성무배란증의 일종이다. 초음파 검사상 특징적으로 작은 난포들이 마치 그물모양으로 밀집해있는 양상을 보인다. 그러나 정상적인 배란을 하는 여성이라도 25%에서 다낭성 난소 모양을 보이므로 다낭성 난소의 모양을 보인다고해서 모두 PCOS로 진단하면 안된다. 어떤 원인이든 무배란이 만성적으로 지속되면 PCOS에서 볼 수 있는 모든 증상을 볼 수 있으므로 최근에는 만성무배란, 안드로겐과다혈증의 두가지 조건만 갖추면 PCOS로 정의한다^{2,3)}.

PCOS의 병인과 치료에 대한 연구는 지난 30여 년간 많은 변화와 발전을 이루었으나 아직까지도 확실하게 정해진 치료법은 없으며 다양한 임상 양상을 보이므로 증상에 따른 치료가 필요하다. 현대의학의 치료에서 기본이 되는 것은 식이요법과 운동 등 건전한 생활습관을 통한 적정 체중의 유지이며 체중 감량은 고안드로겐혈증에 의한 증상, 불규칙 월경, 배란장애에 따른 불임을 완화시키고, 대사성 합병증과 자궁내막암을 예방하는데 있어서도 효과를 나타낸다¹⁾. 이외 다모증을 치료하기 위한 경구피임약의 복용, 배란장애를 치료하기 위한 배란유도제, 고인슐린혈증을 치료하기 위한 인슐린감제 등 여러 치료법이 현재 병용되고 있으나 대중적인 치료일 뿐 부작용으로 인해 한계가 있다^{1,3)}.

이처럼 뚜렷한 현대의학적 치료법이 없고, 꾸준한 관리가 필요한 질환이라는

점에서 PCOS는 한방치료의 전망이 밝다고 볼 수 있다. 근래 식생활의 변화, 생활습관의 변화 등으로 비만 환자가 증가되고 있고, 여성의 비만에 대한 한방치료가 활발한 현실에서 비만과 불임 및 월경이상 등이 주증상이 되는 PCOS에 대한 이해와 임상적 관심이 중요하다고 여겨진다.

한의학에서는 PCOS라는 병명을 찾아볼 수 없지만 이 질환에서 나타나는 특징적인 증상으로 미루어보아 不孕, 多毛, 月經失調, 月經後期, 肥胖, 癥瘕 등의 범주로 인식하고 있으며 주로 腎虛, 痰濕阻滯, 肝鬱化火, 氣滯血瘀, 陰虛內熱 등으로 변증하여, 滋腎壯陽, 化痰通絡, 活血化瘀, 清肝瀉火, 健脾燥濕 등의 治法을 사용하며, 그 처방으로는 蒼附導痰湯, 右歸飲, 膈下逐瘀湯, 龍膽瀉肝湯, 瓜石散 등이 있다^{4,5,15,16)}.

향부자는 莎草科에 속하는 多年生 宿根本草인 향부자의 塊莖을 말하며 味는 辛微甘苦하고 性은 平하며 肝·脾·三焦經으로 歸經한다. 향부자는 理氣解鬱·調經止痛하는 효능이 있어 胸脇脘腹脹痛, 消化不良, 胸脘痞悶, 寒疝腹痛, 乳房脹痛, 月經不調, 經閉痛經 등을 치료하는데 사용되고 있으며¹²⁾ 그 외에 직접 자궁수축을 억제하는 작용, estrogen 유사 작용, 장관과 기관지 평활근 이완작용, 진통해열 작용, 항균소염작용, 강심 혈압강하 작용, 중추신경 억제 작용 등의 약리작용이 있다^{17,18)}.

향부자에 대한 연구로는 김 등¹⁹⁾의 간장해 및 지질과산화에 미치는 영향, 김 등²⁰⁾의 혈압 및 국소뇌혈류량에 미치는 영향에 관한 보고, 김 등²¹⁾의 항우울효과에 관한 실험적 연구, 이 등²²⁾의 적출

장관과 심장운동에 미치는 영향에 관한 연구, 김 등²³⁾의 항부자가 자궁근종세포의 성장억제와 MAP Kinase 활성화 및 Cell Apoptosis에 미치는 영향에 관한 보고 등이 있었다.

東醫寶鑑의 「婦人門」, 「胞門」에 항부자가 주약으로 활용된 처방들을 살펴보면²⁴⁾ 婦人無子 多因七情所傷 到經水不調 不能受孕를 치료하는 調經種玉湯, 久服有孕 及治月水參差不調하는 百子附歸丸, 經脈不調 久不受孕를 치료하는 調經養血元, 婦人無子를 치료하는 玉鑰啓榮丸, 經閉 有積塊疼痛을 치료하는 四物調經湯, 月經不通 腹中有積塊疼痛을 치료하는 歸朮破癥湯, 婦人經水不調久無子를 치료하는 墨附丸, 月候不調能調和經脈 시키는 四製香附丸, 月候不調結成癥瘕或骨蒸發熱을 치료하는 七製香附丸, 肥人白帶를 치료하는 蒼栝樗皮丸 등²⁵⁾ PCOS의 범주로 볼 수 있는 不孕, 多毛, 月經失調, 月經後期, 肥胖, 癥瘕 등의 질환을 치료하는데 많이 활용되고 있음을 알 수 있다. 또한 항부자는 최근의 연구에서 白鼠의 다낭성난소에 유의한 효과가 있다고 보고된 蒼附導痰湯⁶⁾, 蒼附六君湯⁹⁾의 주약이기도 하다.

이에 저자는 한방부인과에서 각종 여성 질환의 치료에 활용되어 온 ‘항부자’가 PCOS에 어떤 영향을 미치는지 실험적으로 구명하고자 EV를 백서에 근육주사하여 다낭성 난소를 유발시킨 후 난소의 형태와 무게, NGF를 측정하였다.

비만은 PCOS의 대표적 수반 증상 중의 하나로 알려 있으나¹⁾, 본 연구에서 사용된 EV에 의하여 월경불순과 전형적인 PCOS 등은 유발되나 인간의 PCOS에서 흔히 수반되는 비만과 같은 질환은

유발되지 않으며²⁶⁾, 오히려 EV 투여에 의하여 체중은 감소하는 경향을 보임²⁷⁾이 알려져 있다.

본 연구의 결과에서 EV 투여군은 정상군에 비하여 유의한 수준으로 체중 증가 억제 경향을 보였으며, CR 투여에 의하여 유의한 수준으로 체중 증가량이 회복되는 경향을 보였다(Fig. 1). 일반적으로 PCO 질환에서 체중을 감소시키는 것이 중요한 치료 방법에 속한다¹⁾. 그러나, 고용량의 EV 투여는 식욕 부진을 일으켜 체중을 감소시킨다는 보고²⁸⁾와 몇 가지 논문에서 고용량 스테로이드 투여로 인한 체중감소는 동물 실험에서 부작용으로 취급된다는 것²⁹⁾을 감안하면, CR이 EV에 의하여 유발되는 체중 증가 억제 작용을 방지할 수 있다는 가설을 세울 수 있다.

체중 변화에 직접적으로 영향을 미칠 수 있는 식이량과 음수량을 측정된 결과 대조군에서 정상군에 비하여 식이량이 감소되는 경향을 보였으나, 유의하지는 않았고, CR군은 대조군과 유사한 수준의 식이량을 보였으며, 음수량은 세 군에서 특별한 차이를 발견할 수 없었다(Table 2). 식이량 및 음수량 측정결과와 체중 변화의 결과를 종합해보면, Fig. 1에서 보이던 유의한 체중 증가 억제의 원인이 식이량의 감소와 같은 외적 요인보다는 실험 동물의 일반적인 건강 상태(general condition), 질병의 정도 등과 같은 내적 요인에 기인할 가능성이 높다고 해석된다.

EV에 의한 PCOS에서는 난소의 크기와 무게가 감소함이 알려져 있다^{27,30)}. 본 연구 결과에서 정상군의 난소는 붉게 충혈 되어 있었으며 크고 외적으로 잘 발

달된 형태를 보였으나(Fig. 2A), 대조군의 난소는 낭성 피막에 둘러싸여 있었으며 피막 내에 작은 난소가 관찰되었다(Fig. 2B). 실험군에서는 대조군에서 보이던 피막은 보이지 않았고, 크기도 대조군에 비하여 크게 보였다(Fig. 2C). 육안적으로 관찰된 크기를 실제 무게를 측정하여 확인한 결과 대조군의 난소 무게는 정상군에 비하여 유의한 수준으로 감소하였고, CR 투여에 의하여 난소 무게 감소가 억제되는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Fig. 3A). 대조군과 실험군 사이에 체중에서 유의한 차이가 있었으므로 체중에 대한 난소 무게의 비율을 계산하여 비교한 결과 역시 CR 투여에 의하여 난소의 무게비가 증가하는 경향을 보였으나, 유의성은 없었다(Fig. 3B). 비록 유의하지는 않았지만, 난소 무게 감소를 억제하는 경향을 보인 것은 CR이 PCOS에서 난소 실질에 어느 정도 영향을 미칠 수 있음을 시사한다. 또한, 체중 변화와 비교하여 난소 무게 변화가 더 미미한 것은 CR의 효과가 난소에만 국한되어 나타나는 것이 아니라 또 다른 조직 또는 장기에 영향을 미칠 수 있기 때문이라 생각된다.

EV를 이용하여 유발된 PCOS에서는 난소 크기 감소와 더불어 여러 개의 낭성 난포(cystic follicle)가 관찰되며, 새로운 황체(corpora lutea)는 발견되지 않는 것이 알려져 있다²⁷⁾. 본 연구의 H & E 염색 결과를 살펴보면, 정상군에서 적출된 난소는 초기 난포와 2차 난포 등이 보이는 정상 상태를 보인데 반해(Fig 4A), 대조군의 난소는 낭성 난포와 폐쇄 난포가 보이는 등 PCOS의 특징을 보였다(Fig. 4B). 실험군에서는 대조군과 달리 정상

군에서 보이던 초기 난포가 보이고, 낭성 난포나 폐쇄 난포는 보이지 않았다(Fig. 4C). 이러한 결과는 CR이 낭성 난포의 형성을 억제할 가능성이 있는 것으로 해석된다.

Nerve growth factor(NGF)는 난세포(ovarian cell)에서 합성되어 유리되며, 난소 조직에 존재하는 NGF 수용체는 난소의 발달에 관여함이 알려져 있다^{31,32)}. 최근 연구를 통해서 EV 투여에 의하여 비정상적으로 발현이 증가된 NGF는 난소 기능 장애를 일으킬 수 있음이 밝혀졌으며, 특히 난소에서 낭포(follicular cyst) 형성의 전단계로 작용함이 알려져 있다³³⁾. 이러한 난소 기능 장애나 낭포 형성은 NGF와 그 수용체의 발현을 차단하거나 작용을 제한함으로써 개선될 수 있음 또한 알려져 있다^{33,34)}. 본 연구의 결과를 살펴보면 정상군에서는 경미한 수준의 NGF가 발현되었고(Fig. 5A), 대조군에서는 정상군에 비하여 확연히 증가된 NGF 발현이 관찰되었다(Fig. 5B). 실험군에서는 대조군에 비하여 NGF 발현이 감소하는 경향을 보였다(Fig 5C). 이러한 결과는 CR이 NGF 발현을 감소시켜 PCOS에서 발견되는 난소 크기 감소와 낭성 난포 형성을 억제했음을 설명할 수 있는 증거라고 할 수 있다.

이상을 정리하여 보면 CR은 PCOS가 유발된 흰쥐에서 식이량이나 음수량의 변화 없이 체중의 감소를 억제하였고, 난소의 크기를 경미하게 증가시켰으며, 낭성 난포 형성을 억제하였고 NGF 발현을 감소시켰다.

이를 통해 항부자는 PCOS에서 난소 실질에 직접 영향을 미쳐 난소의 회복을 도우며, 이러한 일련의 작용에는 NGF

발현 억제가 관여한다고 생각해볼 수 있다. 따라서 항부자가 PCOS의 치료에 좋은 효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대된다.

V. 결 론

Estradiol valerate에 의해 PCOS가 유발된 흰쥐에 항부자 추출물(CR)을 경구 투여하고, 체중 및 식이량과 음수량의 변화, 난소의 외형의 육안적 소견과 무게, 난소 조직의 조직병리학적 소견과 NGF 발현 정도를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군에서 나타나는 체중 증가 억제를 효율적으로 방지하였다.
2. 식이량 및 음수량에는 특별한 영향을 미치지 않았다.
3. 육안적 관찰 상으로는 난소 크기가 증대 되는 경향을 보였으나, 무게 측정 결과 유의성은 없었다.
4. 대조군에서 보이던 낭성 난포의 형성을 억제하였다.
5. PCOS 유발에 의하여 증가된 NGF 발현 양을 효율적으로 감소시켰다.

- 투 고 일 : 2010년 10월 21일
- 심 사 일 : 2010년 11월 2일
- 심사완료일 : 2010년 11월 9일

참고문헌

1. 민응기. 다낭성 난소 증후군. 대한산부인과학회지. 2008;51(8):805-19.
2. 서울대학교의과대학 산부인과학교실. 산

- 부인과학. 서울:군자출판사. 1999:536-41.
3. 강길전. 여성생식의학. 서울:대관출판사. 1998:219-30.
4. 羅元愷. 實用中醫婦科學. 上海:上海科學技術出版社. 1994:262, 271-5.
5. 東醫科學院. 東醫處方大全(3). 서울:여강출판사. 1993:1461.
6. 양승정 등. 蒼附導痰湯이 estradiol valerate로 유발된 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2002;15(2):1-11.
7. 남은정 등. 定經湯이 estradiol valerate로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2007;20(1):99-113.
8. 이연경 등. 歸脾湯이 estradiol valerate로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2008;21(3):60-74.
9. 김희주, 김윤상, 임은미. 蒼附六君湯이 estradiol valerate로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2008;21(2):1-16.
10. 유영기 등. 腎氣丸合蒼附導痰湯이 estradiol valerate로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2007;20(1):84-98.
11. Pak SC et al. Effect of Korean red ginseng extract in a steroid-induced polycystic ovary murine model. Arch Pharm Res. 2009;32(3):347-52.
12. 한의과대학 본초학 편찬위원회. 본초학. 서울:영림사. 2004:399-400.
13. Caillol M et al. Pituitary and ovarian responses to luteinizing-hormone-releasing hormone during pregnancy and after parturition in

- brown hares (*Lepus europaeus*). *J Reprod Fertil*. 1991;92(1):89-97.
14. Lee JC et al. The effect of herbal medicine on nerve growth factor in estradiol valerate-induced polycystic ovaries in rats. *Am J Chin Med*. 2003;31(6):885-95.
 15. 陳貴延, 楊思澍. 實用中西醫結合診斷治療學. 北京:中國醫藥科技出版社. 1991;1004-9.
 16. 陳玲, 王朋英, 王珺. 健脾益腎化痰湯治療多囊卵巢綜合證30例. *江蘇中醫*. 1999;7:31.
 17. 한방약리학 교재편찬위원회 저. 한방약리학. 서울:신일상사. 2005:632-3.
 18. 강병수. 임상배합본초학. 서울:영림사. 1994:333-6.
 19. 김태희, 박지영. 향부자 분획물의 사염화탄소로 유도된 간장해 및 지질과산화에 미치는 영향. *생약학회지*. 1997;28(4):185-91.
 20. 김형창, 황경택, 한중현. 수종 한약제가 혈압 및 국소뇌혈류량에 미치는 영향. *동의병리학회지*. 2000;14(1):82-9.
 21. 김인재, 이동원. 人蔘과 향부자의 抗憂鬱效果에 관한 실험적 연구. *동의 신경정신과학회지*. 2004;15(1):101-19.
 22. 이일량. 향소산및 향부자가 적출장관과 심장운동에 미치는 영향에 관한 연구. *學位論叢*. 1985;14(1):99-118.
 23. 김동철 등. 香附子가 子宮筋腫細胞의 成長抑制와 Map Kinase 活性 및 Cell Apoptosis에 미치는 影響. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2003;16(2):18-33.
 24. 이기옥, 황기명, 윤용갑. 향부자(香附子)가 주약(主藥)으로 배오(配伍)된 방제(方劑)의 활용범위(活用範圍), 병리(病理), 주치분류(主治分類) 및 구성내용(構成內容) 조사(調査) (동의보감(東醫寶鑑)을 중심으로). *방제학회지*. 2000;8(1):61-85.
 25. 동의보감편찬위원회. 대역동의보감. 서울:법인문화사. 1999:361-71, 1584-8.
 26. Mannerås L et al. A new rat model exhibiting both ovarian and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome. *Endocrinology*. 2007;148(8):3781-91.
 27. Farookhi R, Hemmings R, Brawer JR. Unilateral ovariectomy restores ovulatory cyclicity in rats with a polycystic ovarian condition. *Biol Reprod*. 1985;32(3):530-40.
 28. Quirarte GL et al. Estradiol valerate and alcohol intake: dose-response assessments. *BMC Pharmacol*. 2007;7:3.
 29. Blaauw I et al. De novo glutamine synthesis induced by corticosteroids in vivo in rats is secondary to weight loss. *Clin Nutr*. 2004;23(5):1035-42.
 30. JAMES R et al. Development of the Polycystic Ovarian Condition (PCO) in the Estradiol Valerate-Treated Rat. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*. 1986;35:647-55.
 31. Stener VE et al. Steroid-induced polycystic ovaries in rats: effect of electro-acupuncture on concentrations of endothelin-1 and nerve growth factor(NGF), and expression of NGF mRNA in the ovaries, the adrenal glands, and the central nervous system. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1:33-40.

32. Dissen GA et al. A role for trkA nerve growth factor receptors in mammalian ovulation. *Endocrinology*. 1996;137:198-209.
33. 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; 141:1059-72.
34. Barria A et al. Ovarian steroidal response to gonadotropins and beta-adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: role of sympathetic innervation. *Endocrinology*. 1993;133:2696-703.