

천연소재 MS-10의 에스트로겐 수용체 조절을 통한 여성건강 증진

- 연구노트 -

노유현¹ · 이지원² · 박지애³ · 이상형⁴ · 이준영⁵ · 김성수³ · 박광균⁶ · 김태진⁷ · 명순철² · 정운화³

¹중앙대학교 의과대학 해부학교실, ²중앙대학교 의과대학 비뇨기과학교실
³단국대학교 자연과학대학 식품영양학과, ⁴서울대학교 의과대학 신경외과학교실
⁵서울대학교 의과대학 정신건강의학과교실, ⁶연세대학교 치과대학 구강생물학교실
⁷성균관대학교 의과대학 분자세포생물학교실

Natural Substance MS-10 Improves Women's Health via Regulation of Estrogen Receptor

Yoo-Hun Noh¹, Ji Won Lee², Jiae Park³, Sang Hyung Lee⁴, Jun Young Lee⁵, Sung-Su Kim³,
Kwang-Kyun Park⁶, Tae Jin Kim⁷, Soon-Chul Myung², and Yoonhwa Jeong³

¹Department of Anatomy and Cell Biology and ²Department of Urology, College of Medicine, Chung-Ang University

³Department of Food Science and Nutrition, College of Natural Science, Dankook University

⁴Department of Neurosurgery and ⁵Department of Neuropsychiatry, SMG-SNU Borame Medical Center,
College of Medicine, Seoul National University

⁶Department of Oral Biology, College of Dentistry, Yonsei University

⁷Department of Molecular Cell Biology and Samsung Biomedical Research Institute,
Sungkyunkwan University School of Medicine

ABSTRACT In this study, the expression level of estrogen receptor in an ovariectomized rat model was effectively enhanced by MS-10, *Cirsium japonicum* and *Thymus vulgaris* extract complex, in a reversible manner. MS-10 plays a positive role in enhancing estrogen activity at low concentrations, leading to improved women's health. In order to determine whether or not MS-10 improves menopausal symptoms clinically, a randomized, double-blinded, and placebo-controlled clinical study was carried out on 62 middle-aged women treated with 500 mg of MS-10 or placebo daily for 12 weeks. Clinical menopausal symptoms were evaluated by Kupperman's index (KI) detecting various menopausal symptoms, including hot flushes, parenthesis, insomnia, nervousness, melancholia, dizziness, fatigue, rheumatic pain, palpitations, formication, and headaches. Total KI score decreased significantly by about 18% upon ingestion of MS-10. Colpoxerosis, a main symptom of menopause, was significantly reduced by about 21% upon ingestion of MS-10 in contrast to placebo. In addition, reduction of insulin-like growth factor-1 with age was improved by over 10% upon ingestion of MS-10, whereas there were no significant difference with placebo. No side effects appeared after treatment with MS-10. Thus, MS-10 can be suggested as a plausible natural substance for improving women's health.

Key words: MS-10, menopause, colpoxerosis, Kupperman's index, estrogen receptor

서 론

여성호르몬인 에스트로겐은 중요 대사과정에 관여하여 에너지 균형을 조절하여 조직별 에너지 배분에 큰 역할을 하게 된다. 또한, 이는 직간접적으로 세포 증식과 관련하여 면역세포 활성화, 조골세포 활성화 조절, 신경 전구세포의 활성화, 상피 세포 재생 활성화 등에 영향을 미친다. 그리고

에스트로겐은 칼슘 흡수에 직접 영향을 줌으로써 체액 내 이온 농도 조절에도 관여하는 것으로 알려져 있다(1-5).

에스트로겐은 30대 이후 여성에서 매년 약 1%가량씩 감소하기 시작하는데, 이로 인해 체지방량 증가, 피부노화, 골밀도 감소, 내장지방 증가, 우울함과 짜증 및 질 건조증 등 다양한 갱년기 증상이 나타난다(6-8). 에스트로겐의 생체 내 역할은 에스트로겐 수용체에 의해 매개되기 때문에 이 수용체의 발현과 활성도는 여성호르몬이 역할을 수행하는데 중요한 관건이 된다(9). 특히 중년여성의 경우는 에스트로겐 농도가 낮은 상태여서 이를 효과적으로 사용할 수 있도록 하는 것이 건강관리에 중요하다(10).

여성갱년기에 대한 증상 처방으로 외부에서 에스트로겐

Received 4 February 2016; Accepted 17 February 2016

Corresponding authors: Yoonhwa Jeong, Department of Food Science and Nutrition, College of Natural Science, Dankook University, Chungnam 31116, Korea

E-mail: yjeong@dankook.ac.kr, Phone: +82-41-550-1597

을 공급하는 호르몬 요법이 사용되고 있다. 하지만 이런 호르몬 요법은 유방암, 질 출혈, 기면증 등의 부작용 사례도 종종 보고되어 여성의 에스트로겐 주사요법과 같은 외부 호르몬 주입은 많은 주의가 요구되며 치료 동안에 지속적인 전문가의 관찰이 요구되는 등 많은 갱년기 여성들을 대상으로 적용하기에는 한계가 있다(11-15).

이에 생체 내에서 안전하고 효과적으로 여성갱년기 증상 개선 기능성을 갖는 천연소재의 개발이 매우 중요하다. 따라서 효능 및 안전성이 의과학적으로 잘 검증되고 공식적으로 인정된 여성갱년기 및 여성노화 억제에 효과가 있는 천연 식의약 소재 개발이 절실하다.

본 연구팀은 여성건강 개선 효과가 있을 것으로 예상하는 수많은 천연소재를 대상으로 한 선행연구를 통해 엉겅퀴와 타입의 복합추출물인 MS-10이 여성호르몬 수용체의 활성을 증가시키고 뼈 건강 지표를 개선하여 여성갱년기 증상을 완화시킨다는 것을 확인한 바 있다(16).

엉겅퀴는 민간이나 한방에서 감기, 절상, 토혈, 출혈, 여성 대하증 등의 치료로 사용됐으며, 국내외에서 항염, 항암, 항당뇨, 항우울, 항산화 효과와 여성 대하증 치료 효과가 있는 것으로 알려졌다(17-20). 또한, 타입은 기침 및 기관지염, 골수염, 림프절염 등의 치료, 항균, 소독, 피부질환 치료 등에 효과가 있는 것으로 알려졌다(21-24).

본 연구에서는 MS-10의 여성갱년기 증상 개선 및 이를 통한 여성의 삶의 질 개선 효과를 대표적인 검사도구인 Kupperman's menopausal index(KI)를 사용하여 조사하였으며, 또한 MS-10의 IGF-1(insulin-like growth factor-1)의 감소 억제 효과를 확인하였다.

재료 및 방법

시험물질(MS-10)의 제조

엉겅퀴와 타입의 복합추출물인 MS-10은 대호양행(Hwa-seong, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 엉겅퀴(*Cirsium japonicum var. maackii* (Maxim.) Matsum.) 전초와 타입(*Thymus vulgaris* L.) 잎을 선별하고 분쇄하여 식용 알코올로 추출하고, 여과 및 정제한 후 건조하여 분말로 제조하였다. MS-10을 경질 캡슐에 충전하여 시험약(MS-10 섭취군)으로 사용하였으며, 동일한 경질 캡슐에 텍스트린을 충전하여 위약(위약군)으로 사용하였다.

동물실험

동물실험은 중앙대학교 동물실험윤리위원회의 동물실험 계획을 승인(천연추출물의 여성갱년기 개선 전임상 효능 검증/14-0010) 받아 수행하였다. 7주령의 암컷 Sprague-Dawley 흰쥐(Samtako Inc., Osan, Korea)를 12시간 주기로 조명의 점등 및 소등이 반복되고 실내온도 25°C, 습도 60%가 유지되는 공간에서 사육하였다. 사료는 고품사료를 공급하였고, 사료 및 급수에 제한을 두지 않았다. 실험기간

동안 일주일에 1회 실험동물의 체중을 측정하였다. 실험동물은 10마리씩 임의로 세 군으로 분류하여 1주일간 적응시킨 뒤, isoflurane(중외제약, Seoul, Korea)으로 호흡 마취하여 개복하고 난소절제 실험군으로 정한 실험동물들의 한쪽 난소를 절제한 후 봉합하였다. 대조군은 난소절제를 하지 않고 개복하였다가 봉합하였다. 실험동물은 난소절제 시술 이후 2주간의 회복기를 거친 후 MS-10과 생리식염수를 투여하였다. MS-10은 생리식염수에 50 mg/kg의 농도로 용해하여 MS-10 실험군에 매일 1회 8주간 경구 투여하였으며, 정상군과 위약군에게는 동일 양의 생리식염수를 매일 1회 8주간 경구 투여하였다. 8주간의 투여가 끝난 후 실험동물을 3% isoflurane으로 호흡 마취하여 각각 자궁을 적출하였고, 총 10마리 중 5마리는 바로 단백질을 분리 정제하였으며 5마리는 관류를 통해 3% 포르말린으로 고정하였다.

Western blotting

실험동물을 희생시킨 후 즉시 자궁을 적출하여 PBS로 수세한 뒤 lysis buffer를 이용하여 조직세포를 lysis 하였으며, 얻어진 단백질은 BCA assay(25)로 단백질을 정량하였다. 12% 겔 전기영동(SDS-PAGE)으로 western blot을 실시하였다. 1차 항체인 β -actin(1:1,000, Abcam Inc., Cambridge, UK), estrogen receptor- α (ER α , 1:1,000, Abcam Inc.)를 각각 적정 농도로 희석하여 반응시키고, 2차 항체(1:2,000, Abcam Inc.)를 반응시켜 단백질의 활성을 관찰하였다.

면역조직화학염색

3% 포르말린으로 고정된 동물의 자궁을 20%, 25%, 30% sucrose에 24시간씩 보관하여 자궁조직의 수분 함량을 일정농도 수준으로 맞추고 통상적인 조직 처리 과정을 거쳐 15 μ M 두께로 냉동 절편한 후 슬라이드에 얹어 사용하였다.

냉동 절편이 부착된 슬라이드를 triton X-100이 포함된 PBS에서 수세 과정을 거쳐 1차 항체인 rat 에스트로겐 수용체(ER α) 항체(1:200, Abcam Inc.)와 반응시키고, 다시 triton X-100이 포함된 PBS에 3회 수세하였다. 이후 2차 항체(1:2,000, Abcam Inc.)를 처리하여 항원항체반응을 거쳐 DAB(3,3'-diaminobenzine tetra-hydrochloride, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 발색시키고 현미경(Leica DM6, Leica, Mannheim, Germany)으로 관찰하였다.

연구대상자 선정 및 시험군 편성

본 연구는 중앙대학교 연구윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(제2011-10-03호). 만 45세 이상의 여성(또는 자각증상이 있는 만 45세 미만 여성)을 대상으로 무작위로 MS-10과 위약을 이중맹검법으로 섭취하게 하였다.

연구대상자 선정 시 다음의 경우는 대상자에서 제외하였다. 1) 서면 동의를 하지 않은 자, 2) 인체실험에 참가하기

4주 이내에 여성갱년기에 영향을 미칠 수 있는 의약품 또는 건강기능식품을 복용한 경험이 있는 자, 3) 최소 6개월 전에 호르몬 대체요법을 시행하였거나 시행 중인 자, 4) 여성갱년기 증상의 개선을 판단하기에 혼돈을 줄 수 있는 질환을 앓거나 신경 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 앓고 있는 자(정신분열증, 간질, 알코올중독, 약물중독, 거식증, 이상식욕항진 등), 5) 임신부 또는 수유부.

연구대상자는 총 66명이었으며, 무작위로 MS-10군 33명, 위약군 33명을 배정하였다. 모든 연구대상자는 여성갱년기 증상 평가를 위한 KI 검사 및 질 건조증 문항에 대한 설문검사를 시행하고, 혈액 지표 분석을 위하여 채혈하였다. 연구대상자는 각 군별로 MS-10 또는 MS-10과 같은 형태의 위약을 1일 500 mg씩 12주 동안 섭취하고, 섭취가 종료된 후에 섭취 전과 동일한 검사를 수행하였다. 중도 탈락자는 4명이었으며, 1명은 임의로 섭취를 완료하지 않았고 3명은 2차 검사에 방문하지 않았다. 따라서 최종적으로 인체적용시험을 완료한 연구대상자의 수는 62명이었다. 연구 시작 전 두 집단은 나이, 체중 등에서 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 연구대상자들의 특징은 Table 1과 같다.

여성갱년기 증상 평가

여성갱년기 증상을 측정하기 위하여 국제적으로 공인된 여성갱년기 증상 평가방법인 KI 검사를 시행하였다. KI는 1953년 Kupperman 등(26)이 임상적 갱년기 장애 치료 경험을 바탕으로 갱년기의 대표적인 증상을 문항으로 설정한 것으로서 여성갱년기 장애 정도 및 특징을 파악하고 문항별로 점수를 합산하여 점수화하는 평가방법이다. KI 방법은 여성갱년기 증상을 평가하기 위하여 전 세계적으로 가장 많

이 사용되고 있는 오래된 평가방법으로서 중년 여성에서 여성호르몬 결핍 상태를 선별할 수 있는 진단검사로 타당성이 입증되었다. 본 연구에서는 KI의 각 항목인 안면홍조 및 야한증(hot flushes and sweating), 감각마비(paresthesia), 수면장애(sleeping problems), 신경과민(nervousness), 우울(depressive mood), 현기증(dizziness), 피로(fatigue), 관절 및 근육통(joint and muscle pains), 두통(headaches), 가슴 두근거림(심계항진, heart palpitations), 개미핥기(formications)에 대하여 각각 증상없음(1점)에서 심함(4점)까지 4단계로 평가하였으며, 안면홍조는 4점의 가중치, 발한, 불면증, 신경과민은 2점의 가중치, 그 외 문항은 1점의 가중치를 통해 KI 총점을 산출하여 여성갱년기 증상 정도를 평가하였다(Table 2). 또한, 여성갱년기의 대표적인 증상인 질 건조 문항을 추가하여 증상없음(1점)에서 심함(4점)까지의 4단계로 평가하였다(27).

IGF-1 측정

연구대상자의 혈중 IGF-1 수치를 측정하기 위하여 MS-10 또는 위약의 섭취 전과 12주간의 섭취 후 채혈하였고, 혈액을 원심분리 하여 얻어진 혈청의 IGF-1의 농도를 IGF-1 kit(Diasorin, Saluggia, Italy)을 사용하여 화학발광면역법으로 측정하였다.

통계처리

동일군 내에서 섭취 전과 후의 KI 총점, 혈중 IGF-1 농도, 체중, BMI 평균값의 비교는 paired *t*-test, 질 건조 증상의 섭취 전과 후의 평균값의 비교는 Wilcoxon Signed Rank Test를 이용하였다. 두 군 간의 기본정보 비교 및 KI 총점과

Table 1. Demographic characters of the subjects

Variable	Placebo (n=31)			MS-10 (n=31)			<i>P</i> ³⁾
	Before	After	<i>P</i> ²⁾	Before	After	<i>P</i> ²⁾	
Age (years)	55.36±1.54 ¹⁾			55.36±1.54			0.698
Weight (kg)	57.95±1.14	57.98±1.11	0.836	57.95±1.14	59.68±1.58	0.937	0.377

¹⁾Mean±SEM.

²⁾Paired *t*-test, before vs. after, two-tailed *P*-value.

³⁾Two sample *t*-test, placebo vs. MS-10, two-tailed *P*-value.

Table 2. Kupperman's menopausal index (KI) questionnaire

Questionnaire	None (1)	A bit (2)	Common (3)	Extreme (4)	Weight	Score
Hot flushes & sweating					×4	
Paresthesia					×2	
Sleeping problems					×2	
Nervousness					×2	
Depressive mood					×1	
Dizziness					×1	
Fatigue					×1	
Joint & muscle pains					×1	
Headaches					×1	
Heart palpitations					×1	
Formications					×1	
Total KI score						

개선율의 비교는 two-sample *t*-test, 섭취 후 질 건조 점수 및 개선율의 비교는 Mann-Whitney Rank Sum Test를 이용하였다. 동물실험에서 섭취군 간의 비교와 단백질 발현량의 비교는 two-sample *t*-test를 이용하였다. 통계분석은 SPSS 프로그램(SPSS 12.0 system software, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 *P* 값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 평가하였다.

결과 및 고찰

MS-10의 동물실험 내 여성갱년기 증상 개선을 위한 작용기전

본 연구팀은 사전연구를 통해 영경귀와 타임의 복합추출물인 MS-10이 여성갱년기를 나타내는 낮은 농도의 에스트로겐 상태에서 에스트로겐 수용체를 효과적으로 활성화시켜 저농도 에스트로겐을 효율적으로 활용할 수 있음을 제시하였다(16). 또한, MS-10이 여성호르몬 수용체 활성화의 가역적 조절을 통해 안전하고 효과적으로 여성호르몬을 활용함으로써 여성갱년기 증상을 개선한다는 것을 규명하였다. 하지만 시험관 시험에서 확인한 상기 작용기전을 바탕으로 MR-10이 생체에서도 동일한 기전으로 여성갱년기 개선

작용을 하는지를 확인할 필요가 있었다.

본 연구에서는 시험관 시험을 통해 규명한 수용체 조절 작용기전을 난소 적출 갱년기 동물모델(OVX)에서 확인하였다. MS-10을 매일 50 mg/kg의 농도로 섭취한 갱년기 동물모델의 자궁에서 에스트로겐 수용체의 발현을 단백질 수준에서 western blotting과 면역조직화학염색을 통해서 확인하였다.

난소 적출 여성갱년기 동물모델의 경우 에스트로겐 수용체의 발현이 감소하였다. 하지만 MS-10을 지속적으로 섭취한 난소 적출 여성갱년기 동물모델에서는 MS-10을 섭취하지 않은 동물모델에 비해 약 2.8배가량 에스트로겐 수용체의 발현이 향상되는 것을 확인할 수 있었다. 이를 갱년기 이전의 상태를 나타내는 정상군과 비교하면 약 70% 이상 회복되는 것으로 확인되었다. 그리고 MS-10의 섭취를 중단하면 약 1주 후부터 원상태로 돌아감으로써 안전한 가역적 작용임을 확인하였다(Fig. 1A).

면역조직염색을 통한 자궁 내 에스트로겐 수용체의 발현에서도 MS-10을 지속적으로 섭취한 난소 적출 여성갱년기 동물모델에서는 대조군 여성갱년기 동물모델과 비교하여 자궁의 자궁근층(M: myometrium)과 샘상피(GE: glandular epithelium), 자궁내막(E: endometrium), 그리고 내

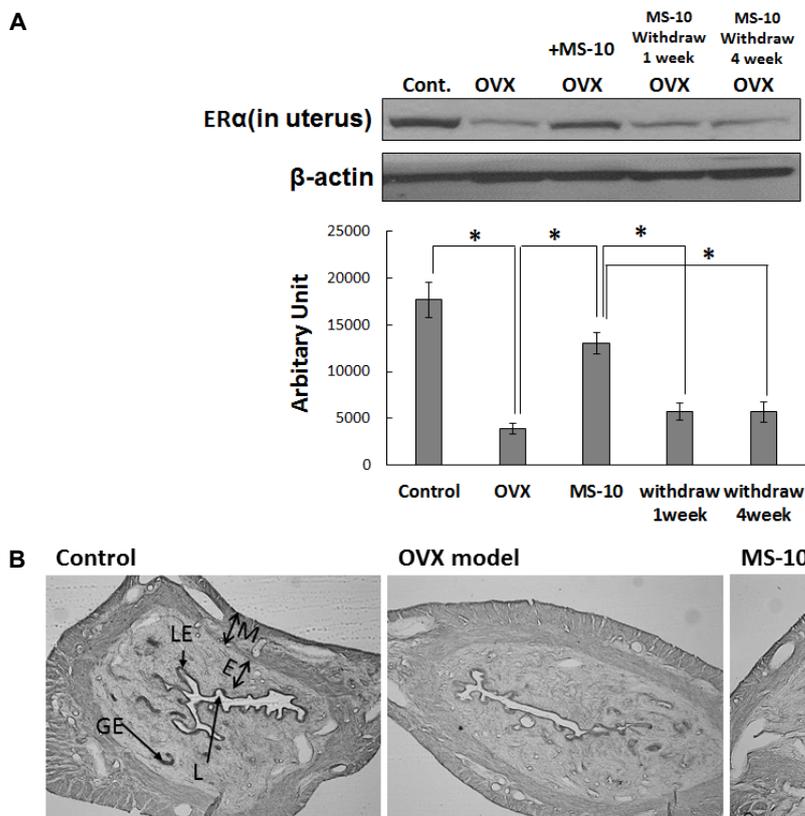


Fig. 1. Expression and localization of estrogen receptor in uterus tissues of ovariectomized rat or normal control rat. Effect of MS-10 on ER α was determined by western blot (A). Results are representative of five separated rats. Significantly different values are indicated with an asterisk ($P < 0.05$, two-sample *t*-test). Immunostaining detection of the expression of ER α in rat uterus tissue following administration of 50 mg/kg/d of MS-10 or placebo (B). Magnification, $\times 200$. ER, estrogen receptor; OVX, ovariectomy; M, myometrium; GE, glandular epithelium; E, endometrium; LE, luminal epithelium; L, lumen.

강상피층(LE: luminal epithelium) 모두에서 수용체 발현이 높은 것이 확인되었다(Fig. 1B).

즉, MS-10을 지속해서 섭취한 동물모델에서 에스트로겐 수용체의 발현이 전체적으로 향상되었으며, 특히 자궁내막과 내강상피층에서 에스트로겐 수용체의 발현 세포가 여성갱년기 동물모델에서 더 유의적으로 증가하였다(Fig. 1B).

따라서 세포시험의 결과와 동일하게 MS-10이 여성호르몬 수용체를 효과적으로 활성화해서 낮은 농도의 여성호르몬을 효율적으로 활용할 수 있도록 함이 확인되었다. 더욱이 MS-10의 섭취를 중단한 이후에는 수용체에 대한 영향도 원상태로 복귀되는 가역적인 작용 방식이 확인되어 안전성도 검증되었다.

MS-10의 여성갱년기 증상(KI) 개선 효과

나이가 들에 따라 여성건강 저하에 대한 대처는 보건의료적 차원에서 매우 중요하다. 여성갱년기의 임상적 치료방법으로 외부에서 호르몬을 주입하는 방식이 제시되고는 있으나, 이는 생체 내에서 급격한 호르몬 변화를 유발하여 부작용이 수반되기도 한다(11-15). 따라서 여성갱년기를 보다 근본적이고 예방적으로 관리하기 위해 안전하고 지속해서 장복이 가능한 천연식의약소재가 중요한 대안이 될 수 있다.

MS-10의 여성갱년기 증상 개선 효과를 확인하기 위하여 국제적으로 공인된 검사법인 KI 검사를 시행하였다. KI의 각 문항은 Table 2에 나타내었으며, 섭취 전과 후의 위약군과 MS-10 섭취군의 KI 총점 및 개선율은 Table 3에 나타내었다. 섭취 전 위약군(Placebo)과 MS-10 섭취군(MS-10)의 KI 총점은 각각 33.58점과 33.00점으로 통계적으로 유사하였다($P=0.875$). 12주간 일일 500 mg 섭취 후 위약군의 KI 총점은 32.39점으로 유의한 변화가 없었다. 반면에 MS-10 섭취군은 섭취 전 33.00점에서 섭취 후 26.87점으로 통계적으로 유의하게 KI로 평가한 여성갱년기 증상이 감소하였다($P<0.001$).

MS-10 섭취군에서는 섭취 전 약 33점에서 섭취 후 약 27점으로 통계적으로 유의한 개선이 있었다. 또한, 위약군과 MS-10 섭취군의 KI 총점이 섭취 전에는 유사했지만, 섭취 후 두 군의 KI 총점이 통계적으로 유의하게 차이가 있음이 확인되었다(Fig. 2).

위약군에서는 12주간의 섭취 후 통계적으로 유의한 변화가 없었지만, MS-10을 12주간 일일 500 mg 섭취한 군에서는 KI 검사방법으로 평가한 여성갱년기 증상이 약 18% 개선

Table 3. Mean change in scores of the each individual symptoms evaluated by Kupperman's menopausal index (KI) following administration of 500 mg/d of MS-10 or placebo for 12 weeks

Questionnaire	Placebo		MS-10	
	Before	After	Before	After
KI total score	33.58 ±1.43 ¹⁾	32.39 ±1.08	33.00 ±1.12	26.87 ±1.02 ^{**}

¹⁾Mean±SEM.

^{**} $P<0.001$; Paired *t*-test, before vs. after.

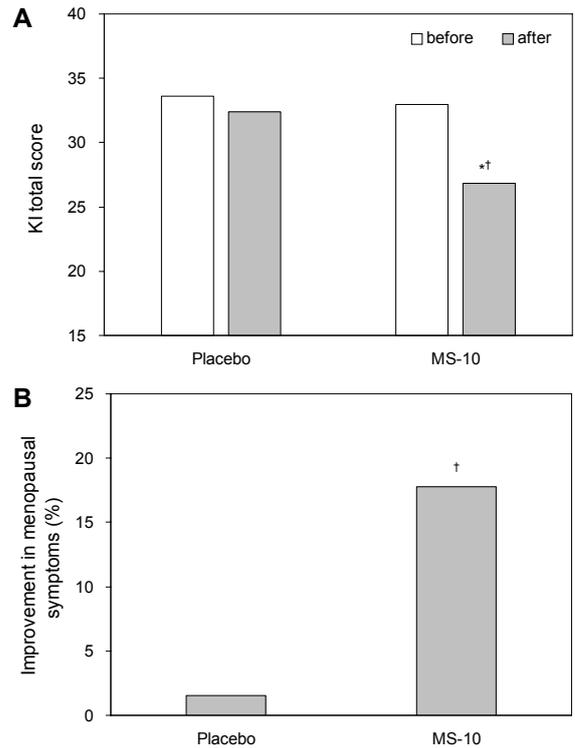


Fig. 2. Improvement in menopausal symptoms following administration of 500 mg/d of MS-10 or placebo. The KI questionnaire was completed to evaluate menopausal symptoms at 0 and 12 weeks. Kupperman's menopausal index (KI) total score (A) and the percentage of improved KI (B) are presented as mean. Significantly different values from the before administration are indicated with an asterisk ($*P<0.05$, paired *t*-test), whereas significantly different values from placebo are indicated with an obelisk ($†P<0.001$, two-sample *t*-test).

됨이 확인되었다(Fig. 2B). 이는 위약군에 비해 통계적으로 유의하게 개선되었다($P<0.001$).

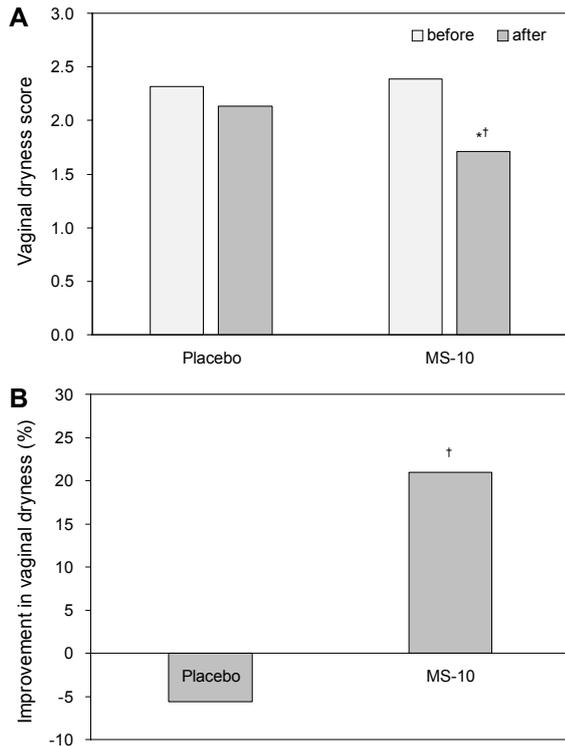
MS-10의 여성갱년기 증상(질 건조) 개선 효과

대표적인 여성갱년기 증상인 질 건조증에 대한 MS-10의 개선 효능을 인체실험을 통해 평가하였으며, 결과는 Table 4와 같다. 섭취 전 위약군의 질 건조 증상 점수는 2.32점, MS-10 섭취군의 질 건조 증상 점수는 2.39점으로 유의적 차이가 없었다($P=0.786$). 12주간의 섭취 후에는 위약군이 2.13점으로 유의적인 변화가 없었다. 반면, MS-10 섭취군은 섭취 전 2.39점에서 섭취 후 1.71점으로 통계적으로 유의하게 질 건조 증상이 감소하였다($P<0.001$).

위약군은 유의한 개선이 나타나지 않았지만, MS-10 섭취군은 섭취 전보다 통계적으로 유의한 질 건조 증상 개선을 보였다(Fig. 3). 또한, 섭취 전 두 군 간 증상 점수가 유사했던 반면에 섭취 후 두 군 간 증상 점수가 통계적으로 유의하게 차이가 있었다. 즉 위약군에서는 12주간의 섭취 후 통계적으로 유의한 변화가 없었지만, MS-10을 12주간 일일 500 mg 섭취한 군에서는 여성갱년기의 증상인 질 건조증이 통계적으로 유의하게 약 20% 이상 개선되었다($P<0.05$).

Table 4. Vaginal dryness following administration of 500 mg/d of MS-10 or placebo for 12 weeks

Questionnaire	Placebo		MS-10	
	Before	After	Before	After
Vaginal dryness	2.32 ±0.16 ¹⁾	2.13 ±0.16	2.39 ±0.17	1.71 ±0.16**

¹⁾Mean±SEM.***P*<0.001; Wilcoxon Signed Rank Test, before vs. after.**Fig. 3.** Improvement in vaginal dryness symptom following administration of 500 mg/d of MS-10 or placebo. The vaginal dryness questionnaire was completed to evaluate menopausal symptoms at 0 and 12 weeks. Vaginal dryness symptom score (A) and the percentage of improved vaginal dryness (B) are presented as mean. Significantly different values from the before administration are indicated with an asterisk (**P*<0.05, Wilcoxon Signed Rank Test), whereas significantly different values from placebo are indicated with an obelisk (†*P*<0.05, Mann-Whitney Rank Sum Test).

MS-10의 IGF-1 개선 효과

여성갱년기 증상은 매우 복잡하고 다양하여 노화 자체와의 상관관계를 배제할 수 없다. IGF-1은 인슐린과 구조가 비슷한 폴리펩티드로 이루어진 성장인자로, 혈청 내에서 인슐린과 유사한 작용을 하지만 인슐린 항체로 억제되지는 않는 물질이다(28). 인간에게 존재하는 IGF-1과 IGF-2 중 성장호르몬에 영향을 받아서 성장촉진에 관계하는 것이 IGF-1이다(29,30). IGF-1은 난포막세포에서 합성되며, 과립막세포의 증식과 aromatase 활성 및 progesterone의 합성을 촉진한다고 알려져 있다. IGF-1은 사춘기 전기까지 증가하고 사춘기 이후부터 50세까지 서서히 감소하며, 여성갱년기

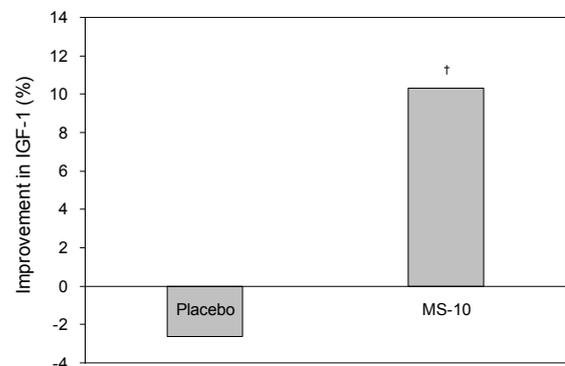
에는 IGF-1이 감소하는 것으로 알려져 있다. IGF-1은 신체에서 대사를 활성화하고 건강을 유지하는 역할을 하며, 이의 감소는 노화 및 노화의 다양한 증상들을 수반하는 것으로 알려져 있다(31-33). 특히, IGF-1은 직접 에스트로겐의 중추신경계 세포 활성 유지 및 보호에 매우 중요한 역할을 하는 작용메커니즘(34)이며, 조골세포에서 생성되는 IGF-1은 직접 뼈의 발생부터 재생, 재구성, 성장까지 뼈 건강과 관련된 다양한 역할을 한다는 것이 보고됨으로써 갱년기 증상 개선에 IGF-1이 밀접한 관련성이 있음을 추정할 수 있다(35).

따라서 MS-10의 종합적인 여성갱년기 증상 개선에 IGF-1이 긍정적 역할을 할 수 있을 것이라는 가설이 제시될 수 있다. 이에 따라 본 연구에서는 MS-10 섭취군과 위약군의 섭취 전과 후의 혈중 IGF-1 농도를 연구대상자로부터 채취한 혈액 분석을 통해 측정하였다. 섭취 전 위약군의 혈중 IGF-1 농도는 151.35 ng/mL였으며, MS-10 섭취군은 133.60 ng/mL로 두 군 간 섭취 전 혈중 IGF-1의 농도는 통계적으로 유의적 차이가 없었다(*P*=0.251). 12주간의 섭취 후 위약군은 혈중 IGF-1 농도에 유의적인 변화가 없었다(*P*=0.516). 반면, MS-10 섭취군은 섭취 전 133.60 ng/mL에서 섭취 후 146.86 ng/mL로 통계적으로 유의하게 증가하였다(*P*<0.05)(Table 5).

위약군에서는 12주간의 섭취 후 통계적으로 유의한 변화가 없었지만, MS-10을 12주간 일일 500 mg 섭취한 군

Table 5. Mean change in blood level of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) following administration of 500 mg/d of MS-10 or placebo for 12 weeks

Variable	Placebo		MS-10	
	Before	After	Before	After
IGF-1 (ng/mL)	151.35 ±10.6 ¹⁾	147.04 ±11.7	133.60 ±10.87	146.86 ±12.95*

¹⁾Mean±SEM.**P*<0.05; Paired *t*-test, before vs. after.**Fig. 4.** Improvement in insulin-like growth factor-1 (IGF-1) following administration of 500 mg/d of MS-10 or placebo. The percentage of improved IGF-1 are presented as mean. Significantly different values from placebo are indicated with an obelisk (†*P*<0.05, two-sample *t*-test).

(MS-10)에서는 혈중 IGF-1 농도가 통계적으로 유의하게 약 10% 이상 개선되었다(Fig. 4)($P<0.05$). 따라서 MS-10이 IGF-1을 개선하는 기전으로 여성의 노화억제와 갱년기 증상을 개선하는 것이 확인되었다.

MS-10을 구성하는 엉겅퀴는 전통적으로 감기, 절상, 토혈, 출혈, 여성 대하증 등의 치료로 사용됐으며, 국내외에서 항염, 항암, 항당뇨, 항우울, 항산화 효과와 여성 대하증 치료 효과가 있는 것으로 알려져 있다(17-20). 또한 유럽에서 자생하는 타임은 기침 및 기관지염, 골수염, 림프절염 등의 치료, 항균, 소독, 피부질환 치료 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(21-24). 사전연구에서 엉겅퀴 또는 타임의 단일추출물은 여성갱년기 개선과 관련된 뚜렷한 효능을 나타내지 않은 반면, 복합추출물인 MS-10은 여성갱년기 개선에 높은 효능을 나타내어 엉겅퀴와 타임의 시너지 효과가 에스트로겐 수용체의 활성화와 노화억제 호르몬인 IGF-1의 증가에 효능이 있다고 판단된다.

또한, 본 연구를 통해 MS-10 섭취로 안면홍조 및 야한증, 감각마비, 수면장애, 신경과민, 우울, 현기증, 피로, 관절 및 근육통, 두통, 가슴 두근거림(심계항진), 그리고 질 건조 등의 여성갱년기 증상이 개선되었음이 확인되었다.

요 약

엉겅퀴와 타임의 복합추출물인 MS-10이 여성호르몬 수용체를 가역적으로 활성화해 여성갱년기에 감소하는 에스트로겐이 효율적으로 사용될 수 있도록 작용한다는 것이 확인되었다. 12주간의 인체적용시험에서 MS-10은 안면홍조 및 야한증, 감각마비, 수면장애, 신경과민, 우울, 현기증, 피로, 관절 및 근육통, 두통, 가슴 두근거림(심계항진), 그리고 질 건조 등의 여성갱년기 증상이 개선되었음이 확인되었다. 이러한 MS-10의 여성갱년기 증상 개선은 MS-10에 의한 insulin-like growth factor-1의 개선에 기인한 것으로 판단된다. MS-10은 여성갱년기 증상을 개선하는 천연소재 건강기능식품으로 사용될 수 있다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(A085138), 농림축산식품부 농림축산식품연구센터지원사업(714001-07)의 지원에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Enns DL, Tiidus PM. 2010. The influence of estrogen on skeletal muscle: sex matters. *Sports Med* 40: 41-58.
- Nilsson N, Carlsten H. 1994. Estrogen induces suppression of natural killer cell cytotoxicity and augmentation of polyclonal B cell activation. *Cell Immunol* 158: 131-139.
- Saint-Criq V, Rapetti-Mauss R, Yusef YR, Harvey BJ. 2012. Estrogen regulation of epithelial ion transport: Implications in health and disease. *Steroids* 77: 918-923.
- Iwakura A, Luedemann C, Shastry S, Hanley A, Kearney M, Aikawa R, Isner JM, Asahara T, Losordo DW. 2003. Estrogen-mediated, endothelial nitric oxide synthase-dependent mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury. *Circulation* 108: 3115-3121.
- Oboti L, Ibarra-Soria X, Pérez-Gómez A, Schmid A, Pyrski M, Paschek N, Kircher S, Logan DW, Leinders-Zufall T, Zufall F, Chamero P. 2015. Pregnancy and estrogen enhance neural progenitor-cell proliferation in the vomeronasal sensory epithelium. *BMC Biol* 13: 104.
- Cummings SR, Rubin SM, Black D. 1990. The future of hip fractures in the United States. Numbers, costs, and potential effects of postmenopausal estrogen. *Clin Orthop Relat Res* 1: 163-166.
- Holloway D. 2011. An overview of the menopause: assessment and management. *Nurs Stand* 25: 47-57.
- Nappi RE, Kokot-Kierepa M. 2010. Women's voices in the menopause: results from an international survey on vaginal atrophy. *Maturitas* 67: 233-238.
- Chakrabarti S, Morton JS, Davidge ST. 2014. Mechanisms of estrogen effects on the endothelium: an overview. *Can J Cardiol* 30: 705-712.
- Harlow SD, Gass M, Hall JE, Lobo R, Maki P, Rebar RW, Sherman S, Sluss PM, de Villiers TJ. 2012. Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. *J Clin Endocrinol Metab* 97: 1159-1168.
- Hooper L, Ryder JJ, Kurzer MS, Lampe JW, Messina MJ, Phipps WR, Cassidy A. 2009. Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre- and post-menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 15: 423-440.
- Manson JE, Hsia J, Johnson KC, Rossouw JE, Assaf AR, Lasser NL, Trevisan M, Black HR, Heckbert SR, Detrano R, Strickland OL, Wong ND, Crouse JR, Stein E, Cushman M. 2003. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease. *N Engl J Med* 349: 523-534.
- Simon JA, Hunninghake DB, Agarwal SK, Lin F, Cauley JA, Ireland CC, Pickar JH. 2001. Effect of estrogen plus progestin on risk for biliary tract surgery in postmenopausal women with coronary artery disease: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. *Ann Intern Med* 135: 493-501.
- Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E. 1998. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *JAMA* 280: 605-613.
- Brinton LA, Richesson D, Leitzmann MF, Gierach GL, Schatzkin A, Mouw T, Hollenbeck AR, Lacey JV Jr. 2008. Menopausal hormone therapy and breast cancer risk in the NIH-AARP Diet and Health Study Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17: 3150-3160.
- Noh YH, Kim DH, Lee SA, Yin XF, Park J, Lee MY, Lee WB, Lee SH, Kim JK, Kim SS, Jeong Y, Myung SC, Kim TJ, Kang IJ. 2016. The natural substance MS-10 improves and prevents menopausal symptoms, including colpoxerosis, in clinical research. *J Med Food* 19: 228-237.
- Choi YJ, Yoon Y, Choi HS, Park S, Oh S, Jeong SM, Suh HR, Lee BH. 2011. Effects of medicinal herb extracts and their components on steatogenic hepatotoxicity in Sk-hep1 cells. *Toxicol Res* 27: 211-216.
- de la Peña JB, Kim CA, Lee HL, Yoon SY, Kim HJ, Hong

- EY, Kim GH, Ryu JH, Lee YS, Kim KM, Cheong JH. 2014. Luteolin mediates the antidepressant-like effects of *Cirsium japonicum* in mice, possibly through modulation of the GABA_A receptor. *Arch Pharm Res* 37: 263-269.
19. Liu S, Luo X, Li D, Zhang J, Qiu D, Liu W, She L, Yang Z. 2006. Tumor inhibition and improved immunity in mice treated with flavone from *Cirsium japonicum* DC. *Int Immunopharmacol* 6: 1387-1393.
 20. Yin J, Heo SI, Wang MH. 2008. Antioxidant and antidiabetic activities of extracts from *Cirsium japonicum* roots. *Nutr Res Pract* 2: 247-251.
 21. Büechi S, Vögelin R, von Eiff MM, Ramos M, Melzer J. 2005. Open trial to assess aspects of safety and efficacy of a combined herbal cough syrup with ivy and thyme. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd* 12: 328-332.
 22. de la Torre Rodriguez YC, Martínez Estrada FR, Flores Suarez AE, Waksman de Torres N, Salazar Aranda R. 2013. Larvicidal and cytotoxic activities of extracts from 11 native plants from northeastern Mexico. *J Med Entomol* 50: 310-313.
 23. Gruenwald J, Graubaum HJ, Busch R. 2006. Evaluation of the non-inferiority of a fixed combination of thyme fluid- and primrose root extract in comparison to a fixed combination of thyme fluid extract and primrose root tincture in patients with acute bronchitis. *Arzneimittelforschung* 56: 574-581.
 24. Shimelis ND, Asticcioli S, Baraldo M, Tirillini B, Lulekal E, Murgia V. 2012. Researching accessible and affordable treatment for common dermatological problems in developing countries. An Ethiopian experience. *Int J Dermatol* 51: 790-795.
 25. Walker JM. 1994. The bichinchonic acid (BCA) assay for protein quantitation. *Methods Mol Biol* 32: 5-8.
 26. Kupperman HS, Blatt MH, Wiesbader H, Filler W. 1953. Comparative clinical evaluation of estrogenic preparations by the menopausal and amenorrheal indices. *J Clin Endocrinol Metab* 13: 688-703.
 27. Chae HD, Choi SY, Cho EJ, Cho YM, Lee SR, Lee ES, Park HM. 2014. Awareness and experience of menopausal symptom and hormone therapy in Korean postmenopausal women. *J Menopausal Med* 20: 7-13.
 28. Filus A, Zdrojewicz Z. 2015. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) – structure and the role in the human body. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab* 20: 161-169.
 29. Froesch ER, Schmid C, Schwander J, Zapf J. 1985. Actions of insulin-like growth factors. *Ann Rev Physiol* 47: 443-467.
 30. Zapf J, Schoenle E, Froesch ER. 1978. Insulin-like growth factors I and II: some biological actions and receptor binding characteristics of two purified constituents of nonsuppressible insulin-like activity of human serum. *Eur J Biochem* 87: 285-296.
 31. Juul A, Holm K, Kastrup KW, Pedersen SA, Michaelsen KF, Scheike T, Rasmussen S, Müller J, Skakkebaek NE. 1997. Free insulin-like growth factor I serum levels in 1430 healthy children and adults, and its diagnostic value in patients suspected of growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 2497-2502.
 32. Lin CM, Huang YL, Lin ZY. 2009. Influence of gender on serum growth hormone, insulin-like growth factor- I and its binding protein-3 during aging. *Yonsei Med J* 50: 407-413.
 33. Kwon JY, Nam TJ. 2005. Effects of phytoestrogen on cell growth and insulin-like growth factor- I (IGF- I) production in MC3T3-E1 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 743-749.
 34. Alonso A, Gonzalez C. 2012. Neuroprotective role of estrogens: relationship with insulin/IGF-1 signaling. *Front Biosci (Elite Ed)* 4: 607-619.
 35. Sheng MH, Lau KH, Baylink DJ. 2014. Role of osteocyte-derived insulin-like growth factor I in developmental growth, modeling, remodeling, and regeneration of the bone. *J Bone Metab* 21: 41-54.