

腎氣丸合蒼附導痰湯이 Estradiol Valerate로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소에 미치는 영향

세명대학교 한의과대학 부인과학교실
유영기, 서일복, 김형준, 이동녕

ABSTRACT

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

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

Purpose: Polycystic ovarian syndrome(PCOS) is a endocrine disorder and still remains as one of the common causes of anovulation in women of reproductive age. There are some evidences that nerve growth factor(NGF) is involved in the pathogenesis of PCOS.

In this research, the effects of *ShingihwanhapChangbudodam-Tang*(SCT) on the estradiol valerate(EV)-induced polycystic ovary(PCO) were investigated in rats.

Methods: PCO was induced by single intramuscular injection with EV(4mg) in female rats. Rats in PCO control group(n=8) were EV injected and orally administrated distilled water for sixty days. Rats in SCT-treated group(n=8) were EV injected and orally administrated SCT for same duration.

The weights of body, ovary and adrenal gland were measured. And also, ovarian histopathology and NGF immunohistochemistry were performed.

Results: The weights of ovaries in SCT-treated group were significantly increased compared with control group. The numbers of secondly and mature follicles, and corpora lutea in SCT-treated group were significantly increased compared with control group. The numbers of atretic follicles were significantly decreased compared with control group. The expression of NGF positive reaction in the ovarian granulosa cells of SCT-treated group were lesser observed than control group.

Conclusion: From the these results, we concluded that *Shingihwanhap Changbudodam-Tang*(SCT) 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: *ShingihwanhapChangbudodam-Tang*(SCT), polycystic ovary, estradiol valerate(EV), nerve growth factor(NGF)

I. 서 론

다낭성 난소 증후군(polycystic ovarian syndrome, PCOS)은 희발월경, 무월경, 무배란, 불임증, 다모증 등의 증상을 표현하는 내분비 질환이다¹⁾. 이 질환은 시상하부-뇌하수체-난소축 및 부신의 기능적 이상과 더불어 췌장 및 피하 지방조직 등 여러 다른 기관의 병리가 밀접하게 관련되어 발생하는 복합적인 증후군으로 설명되고 있다¹⁻²⁾.

가임기 연령 여성들 중에서 약 5-10%로 발생하는 것으로 알려진 이 질환은 1935년 Stein과 Leventhal에 의해 처음 보고된 이후 많은 연구에도 불구하고 다낭성 난소 증후군이 일차성 질환인지 혹은 이차성 질환인지 그리고 과연 난소자체의 질환인지 아니면 시상하부나 뇌하수체의 질환인지 아직 그 원인과 병태생리가 완전히 이해되지는 못하고 있다³⁾.

한편, 한의학 文獻에서 다낭성 난소증후군이라는 병명은 찾아볼 수 없지만 이 증후군이 표현하는 증상에 따라 不孕, 經閉, 月經不調, 月經後期, 多毛, 乳房胸脇脹滿, 癥瘕, 面瘡, 肥胖 등의 범주로 인식할 수 있다^{4,5)}. 한의학적 연구에 의하면 본 질환은 本虛表實에 의해 발생하고⁶⁾, 병인병기로는 腎虛, 痰濕阻滯, 肝鬱化火, 氣滯血瘀, 陰虛內熱 등이며, 치법으로는 滋腎壯陽, 化痰通絡, 活血化瘀, 清肝瀉火, 健脾燥濕 등이 제시되고 있다⁶⁻¹²⁾.

특히 羅元愷¹³⁾는 다낭성 난소 증후군은 腎虛來痰하여 발생하는 질환으로 腎氣丸合蒼附導痰湯을 활용할 수 있다고 하였다. 즉, 腎虛를 치료하는 대표적인

처방인 腎氣丸¹⁴⁾과 痰飲을 치료하는 蒼附導痰湯¹⁵⁾을 합방한 腎氣丸合蒼附導痰湯이 다낭성 난소질환의 치료에 유효하다는 것이다¹³⁾. 그러나 다낭성 난소질환에 대한 이 처방의 실제적 효과와 치료기전에 관한 실험적 연구는 없는 실정이다.

이에 본 연구에서는 腎氣丸合蒼附導痰湯이 다낭성 난소에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자, Estradiol Valerate(EV)로 유발된 흰쥐의 다낭성 난소 모델을 이용하여 난소의 무게, 육안 및 형태와 병리조직학적 소견, 그리고 뇌, 부신 및 Nerve Growth Factor(NGF) 발현의 차이를 관찰하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

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

2. 다낭성 난소의 유발

다낭성 난소(polycytic ovary, PCO)는 Brawer 등^{16,17)}의 방법에 준하여 유발하였다. Estradiol Valerate(EV)(Sigma,USA)를 소량의 benzyl alcohol(Sigma, USA)에 용해시킨 후 sesame oil(Sigma, USA)에 20 mg/ml의 농도로 혼합하고 이 용액 0.2 ml을 1회 근육주사하여 PCO를 유발

시켰다.

3. 검액의 제조

실험에 사용한 腎氣丸合蒼附導痰湯은 《金匱要略》¹⁴⁾과 《葉天士女科》¹⁵⁾에 의거하였으며, 약재는 세명대학교 한방병원에서 구입한 후 엄선하여 사용하였다. 처방의 내용과 분량은 Table 1과 같다.

腎氣丸合蒼附導痰湯 4첩 분량(424 g)

을 2,000 ml의 증류수에 1시간 동안 침지시킨 후, 2시간 30분간 전탕하였다. 전탕액을 원심하여 침전된 성분을 제거한 후 감압농축기(EYELA, NE-1001, Japan)로 100 ml로 농축시켰다. 이 농축액 1 ml를 흰쥐 마리 당 1일 투여량으로 하였다. 이 용량은 체중 비례로 환산하여 60 kg 성인의 1일 복용량의 5배에 해당되는 용량이다.

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

Name of Herbs	Pharmacognostic Name	Weight(g)	
腎氣丸	熟地黄	<i>Rehmanniae radix preperat</i>	16
	山藥	<i>Dioscoreae rhizoma</i>	8
	山茱萸	<i>Corni fructus</i>	8
	澤瀉	<i>Alismatis rhizoma</i>	6
	茯苓	<i>Poria</i>	6
	牡丹皮	<i>Moutan cortex</i>	6
	桂枝	<i>Cinnamomi ramulus</i>	2
	附子(炮)	<i>Aconiti iateralis preparata radix</i>	2
	蒼朮	<i>Rhizoma atractylodis</i>	8
	香附子	<i>Rhizoma cyperi</i>	8
蒼附導痰湯	枳殼	<i>Fructus ponciri</i>	8
	陳皮	<i>Pericarpium citri nobilis</i>	6
	白茯苓	<i>Poria</i>	6
	牛膽南星	<i>Arisaematis Rhizoma</i>	4
	甘草	<i>Radix glycyrrhizae</i>	4
	生薑	<i>Zingiberis Rhizoma</i>	6
	神麩	<i>Massa Medicata Fermentata</i>	2
	Total		106

4. 실험군의 분류

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

정상군(Noraml Group) : Sesame oil 0.2 ml만을 1회 근육주사하고 60일간 증류수 1 ml를 경구투여한 군

대조군(Control Group) : EV 를 1회 근육주사하고 60일간 증류수 1 ml를 경구 투여한 PCO 유발군

치치군(Treated Group) : EV 를 1회 근육주사하고 60일간 腎氣丸合蒼附導痰湯 1 ml를 경구 투여한 치치군

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 흰쥐를 ether로

마취시킨 상태에서 전혈을 심장채혈하고 4% paraformaldehyde 액으로 관류고정하고 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 μm의 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 2 층 이상으로 증식된 2차 난포, 난포동이 형성된 성숙난포 및 폐쇄 난포로 구분하여 계수하였다. 난자세포의 변성 또는 과립막 세포층의 고사(apoptosis)가 관찰되는 난포를 폐쇄 난포로 간주하였다. 황체는 외난포막으로 뚜렷하게 둘러싸인 것만을 계수하였으며, 황체의 경계가 불분명한 퇴화 중인 것은 계수에서 제외하였다.

5) Nerve Growth Factor(NGF) 면역조직화학적 검사

뇌, 뇌하수체, 부신 및 난소를 적출하여 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하고 각 조직을 5μm 두께의 박절편을 제작하였다. 탈파라핀 및 함수 과정을 거친 조직을 citrate buffer(pH 6.0)에 넣어 500 W 출력의 microwave로 5분간 3회 처리하여 항원성을 부활시키고, 1% H₂O₂ 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 0.05 M 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.

6) 통계처리

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

Ⅲ. 결 과

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 *Shingihwanhapchangbudodam-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±6	220±9 ^{***}	239±17 ^{**}	247±14 ^{**}	257±13 ^{**}

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 *Shingihwanhapchangbudodam-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 대조군 및 처치군 모두 정상군에 비해서 다소 증가되어 있었으며, 처치군은 대조군에 비해서 다소 증가되어 있었다. 그러나 모든 군간에 유의성 있는 차이는 없었다(Table 3).

Table 3. Effects of *Shingihwanhapchangbudodam-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)	69.9±15.6 ^{**:# #}	79.1±4.2

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 *Shingihwanhapchangbudodam-Tang*

* : Statistically significant compared with normal group(**:p<0.01, ***:p<0.001)

: Statistically significant compared with control group(# #:p<0.01)

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 난포가 표면으로 돌출되어 있었다. 위축된 7예도 얇은 벽을 지닌 작은 난포가 여러 개 형성되어 있었다(Fig. 2). 처치군은 대조군에 비해서 난소의 크기가 증가되었으며, 다양한 크기의 난포 및 황체가 발달되어 있었으며, 맑은 액을 함유한 난포의 수는 드물게 관찰되었다(Fig. 3).

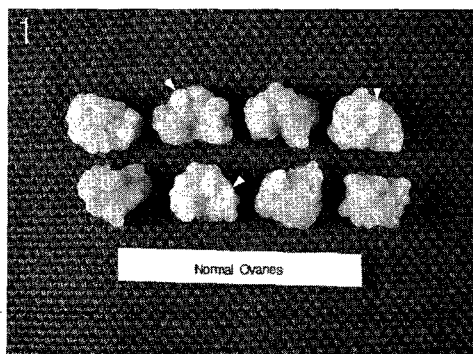


Fig. 1. Gross structure of ovaries of normal group. Note well developed follicles and corpora lutea (arrow heads).

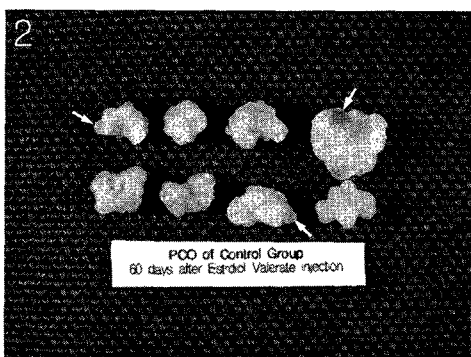


Fig. 2. Gross structure of ovaries of control group. Generally the sizes are decreased. Note variable sizes of cystic follicles (arrows).

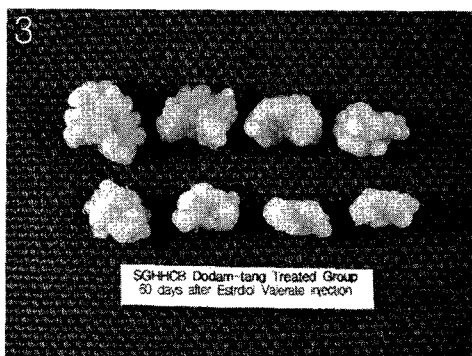


Fig. 3. Gross structure of ovaries of treated group. Generally the sizes are increased than those of control group. Compare with Fig. 2.

4. 난소의 병리조직학적 및 형태계측학적 소견

정상군에서는 다양한 크기의 1차 난포, 2차 난포 및 성숙난포가 다수 관찰되었고 많은 수의 황체가 형성되어 있었으며 (Fig. 4) 낭성 난포 및 폐쇄 난포는 매우 드물게 관찰되었다. 대조군에서는 장액을 함유한 다양한 크기의 난포가 형성되어 있었고 성숙 난포의 수는 현저히 감소되었고 황체는 매우 드물게 형성되어 있었다 (Fig. 5). 액을 함유한 난포의 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 낭성 난포 및 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 난포의 수는 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성은 없었다.

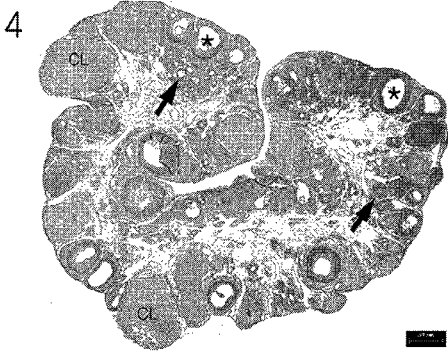


Fig. 4. Microscopic structure of ovary of normal group. Note well developed 2nd follicles(arrows), matured follicles(asterisks) and corpora lutea(CL). H&E stain bar = 0.5mm

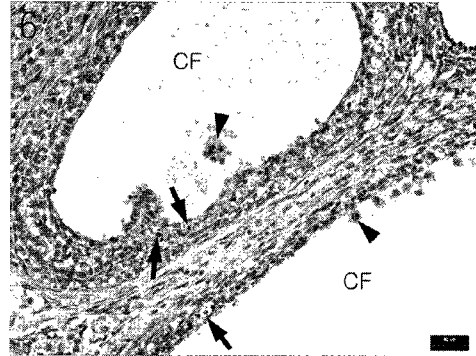


Fig. 6. Higher magnification of Fig. 5. Note thin layer of the cystic follicular walls, desquamated granular cells(arrow heads) in cystic follicles(CF), and apoptotic bodies (arrows). H&E stain bar = 30 μm

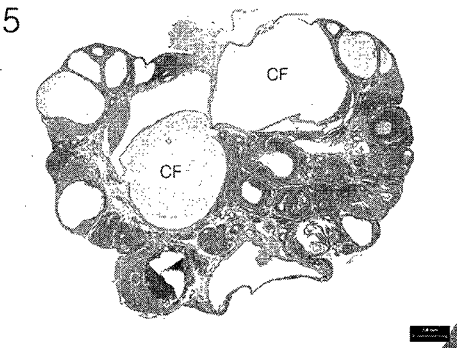


Fig. 5. Microscopic structure of ovary of control group. Variable sizes of fluid-filled cystic follicles(CF) are developed. A few of health follicles and one corpus luteum(CL) are shown. H&E stain bar = 0.5mm

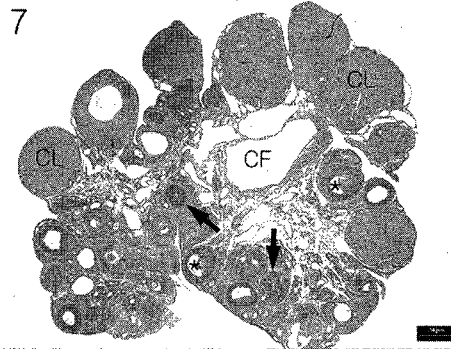


Fig. 7. Microscopic structure of ovary of treated group. Note well developed 2nd follicles(arrow), matured follicles(asterisks) and corpora lutea(CL). The numbers of cystic follicles(CF) are decreased compared with Fig. 5. H&E stain bar = 0.5mm

Table 4. Effects of *Shingihwanhapchangbudodam-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)	4.63±1.30 ^{##}	5.63±1.41 ^{##}	4.38±1.30 [#]	2.00±0.76 ^{***}	6.13±1.89 ^{**##}

a) : data expressed as Mean±S.D. and numeric means the number of its 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 *Shingihwanhapchangbudodam-Tang*

* : Statistically significant compared with normal group(**:p<0.01, ***:p<0.001)

: Statistically significant compared with control group(#:p<0.05, ##:p<0.01, ###:p<0.001)

5. 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 5와 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 양성 반응은 대조군에 비해서 약하게 나타났다.

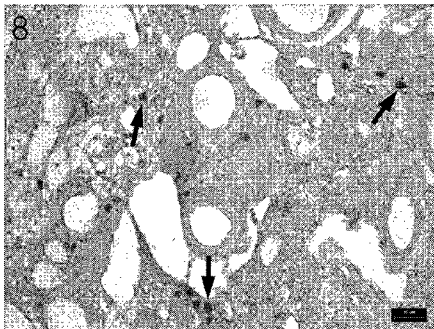


Fig. 8. Nerve growth factor(NGF) positive reaction in ovarian stromal cells(arrows) from control group. ABC immunohistochemical stain bar = 30 μ m

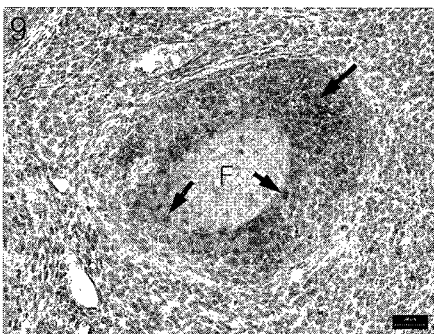


Fig. 9. Nerve growth factor(NGF) positive reaction in granular cell layers(arrows) from control group. F: follicle. ABC immuno- histochemical stain bar = 30 μ m

Table 5. Effects of *Shingihwanhapchangbudodam-Tang* Treatment on the Nerve Growth Factor(NGF) Expression in Ovaries of Estradiol Valerate(EV)-induced Polycystic Ovary in Rats

Group- Individual 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 *Shingihwanhapchangbudodam-Tang*

- : negative. + : mild positive. ++ : moderate positive. +++ : strong positive

6. 뇌, 뇌하수체 및 부신 조직내 NGF 발현

뇌, 뇌하수체, 부신 피질 및 수질에서의 NGF 양성 반응의 정도는 Table 6과 같다. 대조군 및 처치군의 부신 수질에서의 양성반응이 정상군에 비해서 약하게 나타난 것을 제외하고는 각 군에서의 양성반응의 정도는 모두 유사하게 관찰되었다.

Table 6. Effects of *Shingihwanhapchangbudodam-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 *Shingihwanhapchangbudodam-Tang*

- : negative, + : mild positive, ++ : moderate positive

IV. 고찰

다낭성 난소 증후군은 무배란과 불임 증, 월경장애, 고안드로겐혈증 등을 주 증상으로 하고 가임기 여성에게서 볼 수 있는 내분비질환으로, 시상하부-뇌하수체-난소축 및 부신에 기능적 이상이 초래되어 발생하는 복합적인 증후군이다¹⁻³⁾. 이 질환은 가임기연령의 여성들 중 약 5-10%에서 발병하는 것으로 알려져 있고, 무배란성 불임환자의 73%가 이 질환을 가지고 있으며 다모증이 있는 경우는 약 85%, 이차성 무월경 환자의 경우는 75% 정도에서 원인이 되는 질환이다¹⁸⁾.

이 질환은 1935년 Stein과 Leventhal에 의해 무월경, 다모증, 비만 그리고 경화성 난소(sclerotic ovaries)의 특징을 가진 질환으로 처음 보고된 바 있다¹⁹⁾. 이후 많은 연구자들에 의해 이 질환과 연관된 다양한 임상적 소견과 검사 소견들이 보고 되었으며, 1980년대 초에 이르러서야 다낭성 난소 증후군은 만성적인 고안드로겐혈증(chronic hyperandrogenemia), 비만 그리고 인슐린 저항성(insulin resistance)으로 인한 보상성 고인슐린혈증(compensatory hyperinsulinemia)의 특성을 가진 질환이라는 것이 인식되기 시작하였다^{20,21)}. 그 후 2003년 ASRM/ESHRE Rotterdam consensus¹⁸⁾를 통해 다낭성 난소 증후군은 무월경 혹은 희발월경, 고안드로겐혈증, PCO의 형태학적 관찰 등 세 가지 중에서 두 가지 이상이 확인되면서 선천성 부신과증식증을 제외하는 것을 진단의 기준으로 한다고 합의되었다.

다낭성 난소 증후군에서 난소의 병리

조직학적 특징은 현미경상 퇴화된 작은 난포를 많이 볼 수 있고 내난포막이 증식된 낭성 난포의 수가 증가되어 있으며 황체는 퇴화되거나 관찰되지 않을 수 있다²²⁾. 다낭성 난소 증후군에서는 혈중 LH의 상승과 혈중 FSH의 감소 내지 무변화가 나타나며, LH의 지속적인 자극에 의해 난소와 부신의 기능이상이 초래되고 그 결과 난소와 부신에서 기원하는 androgen이 증가하며, 이 androgen은 성숙난포군의 난포형성을 억제하거나 시상하부의 GnRH를 억제하여 배란을 방해하고, 난소의 과립막세포에서 estrogen으로 변환되어서 혈중 estrogen이 증가되며 이는 시상하부-뇌하수체에 대하여 부적절한 피드백 기전으로 다시 LH를 증가시키는 악순환을 반복하게 된다²⁴⁾.

한의학적으로 다낭성 난소 증후군에 대하여 沈이 本虛表實한 것으로 인식하였고 本虛는 腎虛로 설명하였으며 表實을 氣滯血瘀로 인한 증상과 痰濕으로 인한 증상의 2가지로 나누어 설명하였다⁶⁾. 張²⁴⁾은 肝의 疏泄機能失調과 肝鬱化火에 의한 것으로 보았으며, 蔡小蓀은 濕痰을 기본적인 病機로 인식하였다⁷⁾. 辨證治療에 있어서 吳 등⁸⁾은 腎虛型에는 滋腎壯陽의 治法으로, 肝鬱化火型에는 清肝瀉火의 治法으로 龍膽瀉肝湯을, 痰濕阻滯型에서는 化痰通絡의 治法에 따라 蒼附導痰湯加減을, 氣滯血瘀型에서는 活血化痰, 利氣導滯의 治法으로 桃紅四物湯加減을, 陰虛內熱型에는 養陰清熱의 治法으로 瓜石散加減으로 활용한다고 하였다. 金²⁵⁾은 3개 유형으로 辨證하였는데 腎虛痰濕型에는 補腎化痰의 처방에 따라 補腎化痰湯으로, 肝鬱化火型에는 清肝瀉火의 治法에 따라 清肝瀉火湯을, 腎虧血

瘀型에는 補腎祛瘀의 治法에 따라 補腎祛瘀湯을 복용시킨다고 하였다. 羅¹³⁾는 腎虛來痰, 陰虛來瘀, 氣滯痰濕, 肝火鬱結 등으로 변증하여 그 원인에 따라 腎氣丸合蒼附導痰湯, 瓜石湯合桃紅四物湯, 清肝解鬱湯, 龍膽瀉肝湯合啓宮丸 등을 활용한다고 하였다.

다낭성 난소 증후군에 관한 연구로는 김 등⁴⁾의 다낭성 난소 증후군에 관한 문헌적 고찰과 윤 등⁵⁾의 다낭성 난소 증후군 환자의 한방 치료에 대한 임상적 고찰, 양 등²⁶⁾의 蒼附導痰湯이 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향에 대한 연구, 권 등²⁷⁾의 전침 자극이 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향에 대한 연구, Stener²⁸⁾ 등의 다낭성 난소에 대한 전침의 효과에 대한 연구가 있었다.

腎氣丸合蒼附導痰湯은 羅¹³⁾에 의해 제시되었으며 腎氣丸과 蒼附導痰湯이라는 두 처방의 合方으로 이루어져있다. 腎氣丸은 熟地黃이 滋陰補腎하고 山茱萸가 이를 도우며, 山藥은 補益肝脾精血, 附子和 桂枝가 溫陽暖腎해서 溫補腎陽하는 등 腎陽不足을 治療하는 處方이므로²⁹⁾, 이 등³⁰⁾은 腎氣丸이 補腎 및 배란 촉진 효과가 있다고 보고하였다. 蒼附導痰湯은 蒼朮, 陳皮로 化痰燥濕하고, 膽南星으로 化痰之力을 강화하고, 枳殼은 導痰下行, 香附子是 理氣調經하여 痰濕阻滯性閉經을 治療하는 處方이며²⁹⁾ 양 등²⁶⁾은 다낭성 난소에 蒼附導痰湯이 유효한 효과가 있다고 보고한 바 있다. 그러나 다낭성 난소 증후군의 임상적 특징이 한의학적으로 本虛表實에 가깝기 때문에 腎氣丸合蒼附導痰湯이 다낭성 난소 증후군에 보다 유효한 처방이라고 생각된다⁴⁾.

현재까지 여성의 다낭성 난소 증후군

과 같은 비정상적인 병리 상태가 유발되는 동물 모델은 없지만, long-acting의 속성을 가진 EV를 흰쥐에 주사하면, 병리조직학적으로 퇴화된 난포동 난포(atretic antral follicles)와 잘 발달된 난포막층(theca cell layer)을 갖고 있는 난포낭(follicular cycts), 감소된 과립막 세포(granulosa cells), 황체화된 낭(luteinized cysts) 등 사람의 다낭성 난소와 유사한 병변이 유발된다^{16,17)}.

본 연구에서는 腎氣丸合蒼附導痰湯의 다낭성 난소 치료에 대한 효과를 실험적으로 구명하고자 흰쥐에 EV를 근육주사하여 다낭성 난소를 유발시킨 후 腎氣丸合蒼附導痰湯을 경구 투여하여 난소와 부신의 무게, 난소의 육안 및 병리조직학적 검사 그리고 NGF 발현의 정도를 확인하였다.

본 연구에서 EV를 접종한 대조군의 난소는 육안적으로 많은 낭이 형성되어 있어 다낭성 난소가 잘 유발되었음을 확인할 수 있었다. 그러나 腎氣丸合蒼附導痰湯을 투여한 처치군의 난소에서는 대조군에 비하여 난포 및 황체가 많이 관찰되어 본 처방이 다낭성 난소에 유효한 효과가 있음을 알 수 있었다.

실험 종료 후 EV로 다낭성 난소가 유발된 처치군과 대조군은 정상군에 비해 다소 체중이 감소하는 경향을 보였다. 이는 사람의 다낭성 난소 증후군 환자의 약 50% 정도에서 나타나는 비만³⁾과는 비교되는 사항으로, EV로 유발된 다낭성 난소를 가진 흰쥐의 병태학적 증상인지 또는 실험기간동안의 스트레스에 의한 결과인지는 보다 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 대조군 난소의 무게가 정

상군에 비해서 감소되었다. 이런 결과는 이차난포와 황체의 수적 감소로 인한 것으로 보이며, 이 결과는 다른 연구^{16,26)}와 같았다. 그런데 다낭성 난소 질환이 있는 여성의 난소 크기는 보통 2-3배 증가되는 데³⁾에 비해 EV로 유발된 흰쥐의 다낭성 난소는 오히려 크기가 감소한 결과를 보였다. 이러한 원인은 EV로 유발된 동물실험은 다낭성 난소의 발현 방법이나 기전의 차이에 의한 것으로 보이며, 이에 대해서는 보다 자세한 연구가 필요할 것으로 보인다. 그리고 腎氣丸合蒼附導痰湯이 투여한 흰쥐의 난소의 무게가 정상군에 비해서는 작지만 처치군에 비해서 유의성 있게 증가하였다. 이러한 결과는 Fig. 1, 2, 3에서 보는 바와 같이 육안적으로 난소의 형태를 비교하면 腎氣丸合蒼附導痰湯이 난소의 정상적인 성숙에 긍정적 영향을 미친 것으로 보인다.

본 연구에서 부신의 무게는 대조군이나 처치군이 정상군에 비해 부신의 무게가 다소 증가되었으나 모두 유의성 없는 범위 내에서 증가한 것이므로, EV 및 腎氣丸合蒼附導痰湯은 모두 부신에는 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

본 연구에서 EV로 유발된 대조군 난소의 병리조직학적 소견에서 장액을 함유한 다양한 크기의 낭포가 확인되었고 성숙 난포가 감소되고, 황체가 드물게 형성된 것으로 보아 EV에 의해 유발된 흰쥐의 다낭성 난소는 사람의 다낭성 난소의 병리조직학적 소견과 매우 유사함을 확인할 수 있었다. 그리고 腎氣丸合蒼附導痰湯이 투여된 처치군에서 대조군에 비해 이차난포, 성숙난포 그리고 황체가 많이 발견된 것으로 보아 腎氣丸合

蒼附導痰湯이 EV로 유발된 난소내 남성변화를 억제하고 배란에 유효한 성숙난포나 황체로의 발달에 긍정적인 효과를 나타낸 것으로 보인다.

난소의 형태학적, 기능적 발달에는 여러 가지 내분비 호르몬이 관여하고 있으며 교감신경에 의해서 조절 된다³²⁾. 난소의 교감신경 분포는 난소의 분비기능에 영향을 줄 뿐 아니라 난포의 발달에도 관여하고 있으며³²⁾, 난소 교감 신경의 발달은 말초교감신경계의 발달에 필요한 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)에 달려있다³³⁾. 그러나 난포벽에서 주로 합성되는 NGF의 과도한 활성화는 직접적으로 난소에서 androgen의 과다생성을 촉진시키거나, 간접적으로 norepinephrine의 작용으로 인해 androgen의 과다생성을 유발 한다^{27,34)}. 이러한 사실은 신생 흰쥐에 NGF의 항체를 형성시켜 난소 신경의 발달을 저해했을 때 난포의 발달 장애, 성 성숙 지연, 에스트론 분비 저하, 배란주기의 뚜렷한 불규칙성이 발생한다는 연구로 확인된 바 있다³⁵⁾. 또한 EV를 주사하여 다낭성 난소를 유발한 흰쥐에서 교감신경이 경유하는 superior ovarian nerve를 절단했을 때 배란주기와 배란능력이 회복되었다는 보고³⁶⁾로 볼 때 NGF의 과다활성은 다낭성 난소의 발생과 밀접한 관련을 지닌다 하겠다.

이에 腎氣丸合蒼附導痰湯이 흰쥐의 PCO 발생을 억제하는 기전을 확인하고자 NGF의 발현 정도를 난소, 해마, 뇌하수체 그리고 부신에서 관찰하였고 실험 결과, EV를 투여한 처치군의 난소조직에서 정상군에 비해 NGF의 발현이 상승되었으며, 특히 과립막에서 뚜렷하

게 증가되었고, 부신 수질에서는 오히려 다소 감소된 것으로 나타났다. 그리고 부신의 피질, 뇌하수체 및 해마 부위의 NGF 발현에는 차이가 없었다. 이러한 결과는 EV로 유발된 PCO는 난소, 특히 과립막의 NGF의 활성화가 중요하게 관여된다는 점을 알 수 있었으며, 다른 연구의 결과와도 일치하였다^{26,27)}. 즉, EV에 의해 난소에서 NGF가 과잉 생산되고, 교감신경이 과도하게 활성화되어 난포 발달을 억제하여 다낭성 난소가 형성되었음을 시사한다.

腎氣丸合蒼附導痰湯을 투여한 처치군에서 측정된 NGF의 발현은 정상군보다는 다소 높았지만, 대조군에 비해 NGF 발현이 상당히 감소되었으며, 특히 과립막에서 NGF의 발현을 감소시켰다. 그러나 황체, 뇌하수체, 해마, 부신피질 등은 腎氣丸合蒼附導痰湯의 투여에 영향을 거의 받지 않았던 것으로 보인다. 이러한 결과는 腎氣丸合蒼附導痰湯의 NGF 발현 조절은 중추보다는 말초영역이라는 것을 시사한다. 또한 腎氣丸合蒼附導痰湯이 난소 특히, 과립막에서 NGF의 발현을 감소시킴으로써 난포의 발달, 성장, 에스트로겐 분비저하, 배란주기 회복 등에 긍정적인 역할을 하는 것으로 사료된다³²⁾.

이상의 결과로 종합해 보면 다낭성 난소 증후군 환자에게 腎氣丸合蒼附導痰湯을 초기에 투여하면 배란 능력이 회복되어 다낭성 난소 증후군의 치료에 유의한 효과가 있을 것으로 보인다.

V. 결 론

腎氣丸合蒼附導痰湯이 흰쥐의 다낭성 난소(polycystic ovary, PCO)에 미치는 영향을 확인하기 위해서 체중 180g 내외의 암컷 흰쥐에 4mg의 Estradiol Valerate(EV)를 근육주사한 대조군, EV 주사와 더불어 腎氣丸合蒼附導痰湯 농축액을 60일간 경구 투여한 처치군으로 분류하였다. EV 주사 60일 후에 부검하여 난소 및 부신의 중량 측정, 난소의 육안 및 병리조직학적 검사, nerve growth factor(NGF) 면역조직화학적 검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 난소무게(mg)는 처치군(69.9 ± 15.6)이 대조군(46.7 ± 12.2)보다 유의성($p < 0.01$) 있게 증가되었다.

- 이차 난포 수는 처치군(4.63 ± 1.30)이 대조군(2.25 ± 1.39)보다 유의성($p < 0.01$) 있게 증가되었다.

- 성숙 난포 수는 처치군(5.63 ± 1.41)이 대조군(2.88 ± 1.13)보다 유의성($p < 0.01$) 있게 증가되었다.

- 폐쇄 난포 수는 처치군(4.38 ± 1.30)이 대조군(6.88 ± 2.03)보다 유의성($p < 0.05$) 있게 감소되었다.

- 황체 수는 처치군(6.13 ± 1.89)이 대조군(2.13 ± 1.46)보다 유의성($p < 0.001$) 있게 증가되었다.

- 난포의 과립막세포에서의 NGF 양성반응은 처치군이 대조군에 비해서 감소되었다.

이상의 성적을 토대로 할 때 腎氣丸合蒼附導痰湯 EV로 유도된 흰쥐의 다낭성 난소 증후군에서 난포의 성숙을 유도하여 정상 배란을 촉진하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

□ 투 고 일 : 2007년 01월 26일

□ 심 사 일 : 2007년 02월 01일

□ 심사완료일 : 2007년 02월 06일

參 考 文 獻

1. 구병삼 등. 임상부인과 내분비학 제2판. 서울:고려의학. 2001; 181-187.
2. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학 제3판. 서울: 칼빈서적. 1997; 519-525.
3. 김탁. 다낭성 난소 증후군의 최신지견. 대한산부인과학회:연수강좌: 2002; (31): 38-44.
4. 김동일 등. 다낭성 난소증후군에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지. 1997; 10(1): 73-91.
5. 윤소영, 강명자. 다낭성 난소증후군 환자의 한방 치료에 대한 임상적 고찰. 대한한방부인과학회지. 2000; 13(2): 437-451.
6. 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; 1004-1009.
7. 周羽珍, 蔡小蓀. 治療婦科癩疾驗方拾萃. 江蘇中醫. 1996; 17(1): 9-10.
8. 吳桂芳, 李祥雲. 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.
9. 東醫科學院. 東醫處方大全(3). 서울: 여강출판사. 1993; 1461.
10. 羅元愷. 中醫婦科學. 台北:知音出版社. 1990; 125.
11. 金維新. 中醫婦科學. 北京:科學出版社. 1996; 113-115, 303-308.
12. 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.
13. 羅元愷. 實用中醫婦科學. 上海: 上海科學技術出版社. 1994: 271-275.
 14. 大塚敬節. 金匱要略講話. 서울: 의방출판사. 2003: 428.
 15. 葉桂. 葉天士女科. 서울: 대성문화사. 1995: 14-15, 70, 101.
 16. Brawer JR et al. Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat. *Endocrinology*. 1978; 103: 501-512.
 17. Brawer JR et al. Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the Estradiol Valerate-treated rat. *Biol. Reprod*. 1986; 35: 647-655.
 18. 김정훈. 다낭성난소증후군 치료의 최신지견. *대한산부인과학회지*. 2005; 48(8): 1851-1869.
 19. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhoea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935; 29: 181-191.
 20. Barbieri RL et al. The role of hyperinsulinemia in the pathogenesis of ovarian hyperandrogenism. *Fertil Steril* 1988; 50: 197-212.
 21. Franks S. Polycystic ovary syndrome: a changing perspective. *Clin Endocrinol* 1989; 31: 87-120.
 22. 강길전. 여성생식의학. 서울: 대관출판사. 1998: 219-226.
 23. 김정구. 다낭성난소증. *중앙의학*. 1993; 58(9): 51-62.
 24. 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.
 25. 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.
 26. 양승정 등. 蒼附導痰湯이 Estradiol Valerate로 유발된 백서의 다낭성 난소에 미치는 影響. *대한한방부인과학회지*. 2002; 15(2): 1-11.
 27. 권세라 등. 三陰交·子宮穴 전침 자극이 백서의 다낭성 난소에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2003; 16(2): 76-86.
 28. 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.
 29. 夏桂成. 實用婦科方劑學. 北京: 人民衛生出版社. 1997: 107-112, 272-274.
 30. 이경섭 등. 옥미지황원과 신기환이 생쥐의 성숙도에 따른 배란과 수정란의 초기 발생에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2004; 13(1): 35-54.
 31. Lara HE et al. Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. *Endocrinology*. 1993; 133(6): 2690-2695.
 32. 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.

33. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science*. 1987; 237(4819): 1154-1162.
34. Dissen GA et al. A role for trkA nerve growth factor receptors in mammalian ovulation. *Endocrinology*. 1996; 137(1): 198-209.
35. Lara HE et al. Involvement of nerve growth factor in female sexual development. *Endocrinology*. 1990; 126(1): 364-375.
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.