

芎歸調血飲이 흰쥐의 자궁내막증 형성 억제에 미치는 영향

세명대학교 한의과대학 한방부인과교실

최변탁, 서일복, 이동녕, 김형준

ABSTRACT

Inhibiting Effect of *Gungguijohyeoleum* on the Development of Experimentally-induced Endometriosis in the Rats

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

Purpose: This study was performed to investigate the inhibiting effects of *Gungguijohyeoleum* 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 them into three groups: (1) sham-operated group(n=8), (2) surgically induced endometriosis and untreated control group(n=8), (3) surgically induced endometriosis and *Gungguijohyeoleum* treated group(n=8). *Gungguijohyeoleum* was orally administered for 15 days after operation. Then we measured the body weight, the volumes of endometriotic implants, the weight of uterus and ovary, and investigated the concentrations 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 performed.

Results:

- The volume (mm³) of endometriotic implants in *Gungguijohyeoleum* treated group (76.4 \pm 24.5) was significantly decreased(p<0.05) compared with control group(222.1 \pm 109.1).
- The concentration (pg/ml) of MCP-1 in peritoneal fluids in *Gungguijohyeoleum* treated group (1060.8 \pm 280.8) was significantly decreased(p<0.05) compared with control group(1412.5 \pm 345.7).
- The concentration (pg/ml) of TNF- α in peritoneal fluids in *Gungguijohyeoleum* treated group (827.5 \pm 219.9) was significantly decreased(p<0.01) compared with control group(1126.2 \pm 139.9).
- The concentration (pg/ml) of IL-1 β in peritoneal fluids in *Gungguijohyeoleum* treated group(83.4 \pm 9.0) was significantly decreased(p<0.01) compared with control group(105.3 \pm 17.6).
- The concentration (pg/ml) of IL-6 in peritoneal fluids in *Gungguijohyeoleum* treated group(108.9 \pm 15.7) was decreased compared with control group(122.8 \pm 19.3).
- Histopathologically, proliferation of endometriotic epithelia, infiltration of inflammatory cells and angiogenesis in transplanted uterine tissue of *Gungguijohyeoleum* treated group were weakly observed than those of control group.
- The percentage(%) of positive epithelial layers for COX-2 in *Gungguijohyeoleum* treated group(56.8 \pm 12.8) was significantly decreased(p<0.01) compared with control group (75.1 \pm 16.3).
- The VEGF expression of endometriotic epithelia, neovascular endothelia and stromal cells in transplanted uterine tissue of *Gungguijohyeoleum* treated group was weakly observed than that of control group.
- The numbers of mast cells in transplanted uterine tissue in *Gungguijohyeoleum* treated group(35.4 \pm 18.4) were significantly decreased(p<0.01) compared with control group (91.0 \pm 28.3).

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

Key Words: Endometriosis, *Gungguijohyeoleum*, MCP-1, TNF- α , IL-1 β , COX-2, VEGF, Mast cell.

교신저자(김형준) : 충북 제천시 신월동 세명대학교 부속 한방병원 부인과

전화 : 043-649-1906 이메일 : khjoongy@hanmail.net

I. 서 론

자궁내막증은 자궁내막조직이 자궁이 외의 다른 곳에 존재하여 증식하면서 생리통, 생리불순, 골반통, 성교통, 불임 등의 다양한 증상을 나타내는 부인과질환이다¹⁾. 이 질환은 생식연령 여성의 10% 내외에서 발견되며^{2,3)}, 특히 불임여성에서는 25-50%나 好發하는 질환으로 그 빈도가 점점 증가하는 추세에 있다⁴⁾.

진단은 복강경을 통한 병변의 확인이 가장 중요하고, 초음파나 MRI, 혈청 표지물질인 CA-125도 보조적으로 활용할 수가 있다⁵⁾. 자궁내막증의 치료는 기대요법, 약물요법, 수술요법, 약물-수술 병용요법 등이 있다. 그중 약물요법으로는 estrogen, progesterone, androgen, GnRH agonist, RU 486, gossypol, clomiphene, tamoxifen과 prostaglandin 합성 억제제 등을 통해 가성임신이나 가성폐경상태를 유발하여 자궁내막증을 치료하는데⁶⁾, 체중증가, 多毛症, 여드름, 안면홍조, 질건조증, 골질감소, 질 출혈, 우울증 등의 부작용이 자주 나타난다^{7,8)}. 또 수술적 치료의 경우도 수술부위에 유착이 발생하거나 골반통등 환자의 자각증상이 호전되지 않는 경우가 많다⁹⁾. 따라서 많은 경우, 특히 임신을 원하는 환자의 경우에는 배란주기를 유지하면서 이루어지는 한의학 치료의 가치가 높을 것으로 생각된다^{10,11)}.

한의학문헌에서는 자궁내막증이라는 병명을 찾을 수는 없으나, 임상증상으로 미루어 볼 때 痛經, 月經不調, 崩漏, 不妊, 癥瘕, 少腹痛, 經行吐衄, 經行血咳 등의 범주에 속한다고 볼 수 있다¹⁾. 많은 연구자들은 자궁내막증을 주로 瘀血로 변증하고, 그 발생 원인에 따라 다시 寒

凝血瘀, 氣滯血瘀, 氣虛血瘀, 熱鬱血瘀 등으로 변증하였으며, 치료법 역시 活血化瘀之劑를 이용한 실험이 활발히 진행되어 왔다^{7,12-17)}. 그러나 최근에는 瘀血이 생기는 근본적인 원인을 “正氣虛”의 관점으로 접근하면서 면역기능에 중점을 둔 연구들이 보고되고 있다¹⁸⁻²⁰⁾.

芎歸調血飲은 《萬病回春》²¹⁾에 처음 기재되어 “產後去血過多 以致發熱心煩腹痛 頭暈眼花 或口噤神昏”하는데 사용된 처방으로, 補血益氣 補脾益胃 活血化瘀 溫經散寒하는 효능이 있어 正氣虛와 관련하여 발생하는 瘀血을 치료하는데 널리 쓰이고 있다²²⁾. 그러나 芎歸調血飲에 대한 실험적 연구로 鎮痛 鎮靜 解熱 및 止血작용에 미치는 영향²³⁾만 있을 뿐 자궁내막증과 관련된 연구는 아직 없는 실정이다.

이에 저자는 자궁 자가이식법으로 자궁내막증이 유발된 흰쥐의 病態모델을 이용하여 이식자궁조직의 형태학적 및 병리학적 검사, 복강액내 cytokine(MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6) 분석, COX-2 및 VEGF 면역조직화학적 검사, 그리고 비만세포 조직화학적 검사를 실시하여 芎歸調血飲의 효과를 관찰하였으며 다음과 같이 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

체중 200 g 내외의 암컷 Sprague-Dawley Rat(샘타코, 한국)를 구입하여 세명대학교 청정동물사육실(온도 23±1℃, 습도 55±5%)에서 일주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 사

료(제일제당, 한국)와 물은 충분한 양을 제공하였다.

2. 처방 및 검액의 제조

실험에 사용한 芎歸調血飲 처방은 《萬病回春》²¹⁾에 의거하였으며, 약재는 세명대학교 한방병원에서 구입한 후 엄선하여 사용하였다. 처방의 내용과 분량은 Table 1과 같다. 검액의 제조를 위해 芎歸調血飲 4첩(204 g)을 1500 ml의 증류수에 3시간 동안 침지시킨 후 2시간 30분간 전탕하였다. 전탕액을 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 부유 입자를 제거하고 감압농축기(EYELA, NE-1001, Japan)를 이용하여 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 *Gungguijohyeoleum* per Pack

| 한약명 | 생약명 | 용량(g) |
|-------|---|-------|
| 當歸 | <i>Angelicae Gigantis Radix</i> | 4 |
| 川芎 | <i>Cnidii Rhizoma</i> | 4 |
| 熟地黄 | <i>Rehmanniae Radix Preparat</i> | 4 |
| 白朮 | <i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i> | 4 |
| 茯苓 | <i>Poria</i> | 4 |
| 陳皮 | <i>Citri Pericarpium</i> | 4 |
| 烏藥 | <i>Linderæ Radix</i> | 4 |
| 香附子 | <i>Cyperi Rhizoma</i> | 4 |
| 牡丹皮 | <i>Moutan Cortex</i> | 4 |
| 益母草 | <i>Leonuri Gerba</i> | 3 |
| 甘草 | <i>Glycyrrhizae Radix</i> | 3 |
| 乾薑 | <i>Zingiberis Rhizoma</i> | 3 |
| 大棗 | <i>Jujubae Fructus</i> | 3 |
| 生薑 | <i>Zingiberis Rhizoma Recens</i> | 3 |
| Total | | 51 |

3. 자궁내막증의 유발

자궁내막증은 Vernon and Wilson의 방법²⁴⁾에 준하여 자궁의 자가이식법으로 유발하였다. 실험개시일 오전에 흰쥐의 질 도말표본(vaginal smear)을 만들어 Giemsa 염색하고, 유핵상피세포가 주로 관찰되는 발정전기인 개체를 선별하였다 (Fig. 1). Pentobarbital sodium(Sigma, USA)을 100 mg/kg 농도로 복강주사하여 마취한 후 개복수술하고 우측 자궁을 고리모양으로 묶고(Fig. 2) 자궁의 일부를 적출하였다. 적출된 자궁조직을 37°C Creb's sol.에 담근 상태에서 종축으로 절단하고 4×4 mm 크기의 절편을 만들었다. 절편의 자궁내막이 복강으로 향하도록 좌측복벽에 catgut(B.Braun Surgical Sdn.Bhd., Malaysia)으로 자궁조직의 중앙부위를 1회 결찰하여(Fig. 3) 자궁내막증을 유발하였다.

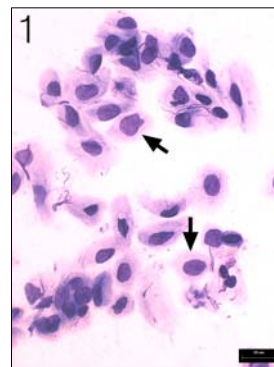


Fig. 1. Cytology of vaginal smear of rat.

Most of exfoliated cells are nucleated epithelia (arrows) at proestrus stage. Giemsa's stain, bar=20 μm.

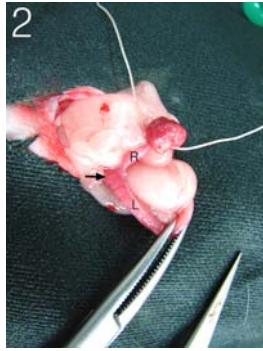


Fig. 2. Surgical procedure of partial right uterectomy. Right uterine horn(R) was ligated and taken out. L:left uterine horn, arrow: uterine body.



Fig. 3. Surgical procedure of auto-transplantation of uterus. Fragment (4×4 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 芎歸調血飲 감압농축액을 1일 1회 15일간 경구투여하였다.

음성군(sham group) : 우측 자궁의 일부를 적출한 후 이식술은 실시하지 않고 증류수를 경구투여한 군

대조군(control group) : 우측 자궁의 자가이식술을 실시하여 자궁내막증을 유발하고 증류수를 경구투여한 군

처치군(treated group) : 우측 자궁의 자가이식술을 실시하여 자궁내막증을 유발하고 芎歸調血飲 감압농축액을 경구투여한 군

5. 체중의 측정

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

6. 이식자궁조직의 체적(volume) 측정

예비실험에서 이식자궁조직은 모두 구형의 덩어리로 성장되어 있었기에, 이식자궁조직의 크기 차이는 그 체적으로 평가하였다. 실험종료일에 부검하여 이식자궁조직 및 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

실험종료일에 부검하여 좌측 자궁 및 양측 난소를 적출하고 주변 결합조직을 세밀하게 분리한 후 무게를 측정하였다.

8. 복강 세척액내 cytokine 함량 측정

실험종료일에 흰쥐를 가볍게 ether로 마취시키고 심장을 통해서 전혈을 채취하였다. 전혈을 채취한 후 복강내로 생리식염수 1 ml을 주사하고 복강을 노출시켰다. 멸균된 막대봉으로 복강이 충분히 세척되도록 복강장기를 저은 다음 흡입관을 이용하여 복강 세척액을 회수하였다. 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, 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 아래의 방정식에 적용하여 MCP-1의 함량을 구하였다.

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

(A : 40.03, B : 1.695, C : 43.069, D : 244444.7, R² : 0.999)

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

복강 세척액내 TNF-α 함량은 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 아래의 방정식에 적용하여 TNF-α의 함량을 구하였다.

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

3) Interleukin-1β(IL-1β) 함량 측정

복강 세척액내 IL-1β 함량은 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-1β 표준액(2500, 1000, 400, 160, 26, 10.4, 0 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 아래의 4-parameter 방정식이 구해졌으며, 검액의 흡광도를 아래의 방정식에 적용하여 IL-1β의 농도를 구하였다.

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

(A : 22.394, B : 1.511, C : 6.148, D : 39646.82, R² : 0.999)

4) Interleukin-6(IL-6) 함량 측정

복강 세척액내 IL-6 함량은 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 흡

광도를 측정하였다.

8단계의 IL-1 β 표준액(2000, 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 0 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 다음과 같은 직선회귀 방정식이 구해졌으며, 검액의 흡광도를 아래의 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 μ m의 박절편을 제작하였다. 제작된 박절편을 Hematoxylin-Eosin 염색하여 광학현미경으로 병리조직학적 소견을 관찰하였다.

10. Cyclooxygenase-2(COX-2) 면역조직화학적 검사

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

탈파라핀과 흡수과정을 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 조직내 항원을 부활시켰다. 내인성 과산화 반응을 억제하기 위해서 3% H₂O₂ 용액에 30분간 처리한후 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 세척 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 양성반응을 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 컬러영상분석기(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 ABC법으로 VEGF 면역조직화학 염색을 다음과 같이 실시하였다.

탈파라핀과 흡수과정을 거친 이식자궁조직 절편을 protease K(Roche, Germany) 용액으로 20분간 처리하여 조직내 항원을 부활시켰다. 내인성 과산화 반응을 억제하기 위해서 3% H₂O₂ 용액에 30분

간 처리한 후 0.5 M PBS(pH 7.5)로 3회 세척하였다. 비특이 반응을 억제하기 위해서 0.3% Triton- \times 100, 1% BSA 및 3% normal horse serum이 함유된 PBS로 30분간 처리한 후 1:200으로 희석된 monoclonal anti-VEGF (SantaCruz, USA)를 냉장상태에서 24시간 반응시켰다. 조직을 PBS로 3회 세척하고 biotinylated anti-mouse antibody 및 avidin-biotin peroxidase complex(Vector Laboratories, USA)를 각각 차례로 1시간씩 반응시킨 후 diaminobenzidine(Sigma, USA)으로 발색시켜 광학현미경으로 관찰하였다.

12. 비만세포 수의 측정

탈파라핀과 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. 결 과

1. 체중 차이

음성군, 대조군 및 처치군 모두에서 실험개시일부터 실험종료일까지 완만한 체중의 증가가 있었으며, 모든 군간에 유의성 있는 차이는 없었다(Table 2).

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

| Group | Body Weight(g) | | | |
|--------------|---------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 0 | 5 | 10 | 15 days |
| Sham(n=8) | 225 \pm 6 ^{a)} | 235 \pm 4 | 252 \pm 9 | 260 \pm 7 |
| Control(n=8) | 225 \pm 5 | 234 \pm 8 | 254 \pm 11 | 258 \pm 11 |
| Treated(n=8) | 220 \pm 6 | 232 \pm 10 | 249 \pm 11 | 257 \pm 12 |

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 *Gungguijohyeoleum*

2. 이식 자궁조직의 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 있었

고, 1예는 비교적 치밀한 형태의 원형으로 증식되어 있었다(Fig. 4a, 4b). 처치군의 이식 자궁조직은 대조군에 비해서 현저히 작게 관찰되었으며(Fig. 5a), 8예 중 4예는 맑은 장액이 차 있는 낭포상 구조로, 4예는 치밀한 형태의 원형으로 증식되어 있었다(Fig. 5b).

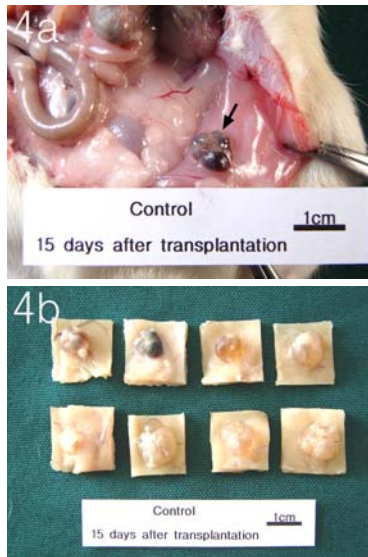


Fig. 4. Gross structure of transplanted uterine tissue of control group. (4a) : Presentative case, (4b) : All cases (formalin fixed) of control group. Note cystic development of the implanted tissues.



Fig. 5. Gross structure of transplanted uterine tissue of *Gungguijohyeoleum* treated group. (5a) : Presentative case, (5b) : All cases (formalin fixed) of control group. Compare the size of Fig. 4.

3. 이식자궁조직 체적(volume) 차이

실험 종료일에 측정된 이식자궁조직의 체적은 처치군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Table 3).

Table 3. Effects of *Gungguijohyeoleum* 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) | 222.1±109.1 ^{a)} |
| Treated(n=8) | 76.4±24.5 ^{##} |

a) : data expressed as Mean±S.D.

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

Treated : right partial uterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Gungguijohyeoleum*

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

4. 자궁 및 난소 중량 차이

좌측 자궁의 중량은 처치군이 음성군 및 대조군에 비해서 감소되었으나 유의성 있는 차이는 없었다.

우측 난소의 중량은 처치군이 음성군에 비해서 유의성 있게 감소되었으나 처치군과 대조군간에는 차이가 없었다.

좌측 난소의 중량은 모든 군간에 차이가 없었으며, 평균 난소 중량도 처치군이 음성군 및 대조군에 비해서 감소되었으나 군간의 유의성은 없었다(Table 4).

5. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) 함량 차이

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

Table 4. Effects of *Gungguijohyeoleum* Treatment on the Weight of 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) | 148±19 | 44±7* | 45±11 | 44±7 |

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 *Gungguijohyeoleum*

* : Statistically significant compared with sham group(*:p<0.05)

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

| Group | MCP-1(pg/ml) |
|--------------|-------------------|
| Sham(n=8) | 79.2±14.2 |
| Control(n=8) | 1412.5±345.7*** |
| Treated(n=8) | 1060.8±280.8***.# |

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 *Gungguijohyeoleum*

* : Statistically significant compared with sham group(***;p<0.001)

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

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

| Group | TNF-α(pg/ml) |
|--------------|-------------------|
| Sham(n=8) | 79.2±14.2 |
| Control(n=8) | 1126.2±139.9*** |
| Treated(n=8) | 827.5±219.9***.## |

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 *Gungguijohyeoleum*

* : Statistically significant compared with sham group(***;p<0.001)

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

6. Tumor Necrosis Factor-α(TNF-α) 함량 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).

7. Interleukin-1β(IL-1β) 함량 차이

실험 종료일에 측정된 복강세척액내 IL-1β의 함량은 대조군 및 처치군 모두 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며, 처치군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Table 7).

8. Interleukin-6(IL-6) 함량 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 *Gungguijohyeoleum* 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) | 45.0 \pm 5.0 |
| Control(n=8) | 105.3 \pm 17.6*** |
| Treated(n=8) | 83.4 \pm 9.0***## |

a) : data expressed as Mean \pm S.D.
 Sham : right partial hysterectomy and treated with distilled water
 Control : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Gungguijohyeoleum*
 * : Statistically significant compared with sham group(***;p<0.001)
 # : Statistically significant compared with control group(##;p<0.01)

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

| Group | IL-6(pg/ml) |
|--------------|--------------------|
| Sham(n=8) | 94.2 \pm 11.7 |
| Control(n=8) | 122.8 \pm 19.3** |
| Treated(n=8) | 108.9 \pm 15.7 |

a) : data expressed as Mean \pm S.D.
 Sham : right partial hysterectomy and treated with distilled water
 Control : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Gungguijohyeoleum*
 * : 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 점막상피는 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 기질내로 증식된 자궁선이 발달되어 있었다. 이식자궁조직과 복벽사이의 유착부위는 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, 중막 및 외막의 구조를 모두 유지하고 있었으나 대조군에 비해서 자궁 점막상피세포 및 자궁선의 발달은 미약하였다(Fig. 7a). 대조군에 비해서 내막의 기질에는 기질세포의 증식이 미약한 반면 세포외 물질(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 나타내었으며, 난소도 모든 군에서 다양한 단계의 난포 및 황체가 발달되고 있는 정상범위의 소견만이 관찰되었다.

10. COX-2 발현 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).

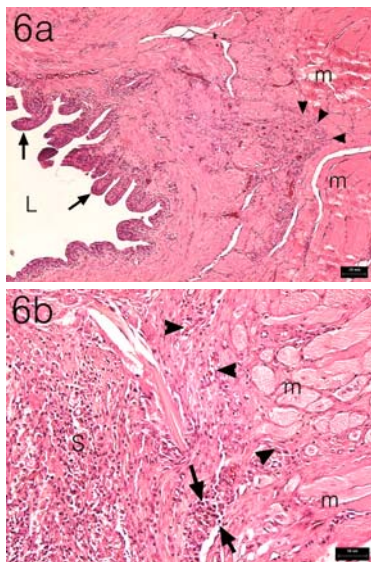


Fig. 6. Histological structure of transplanted uterine tissue of control group.

(6a) : Papillary proliferation of endometrial epithelia(arrows), stromal hyperplasia and infiltration 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

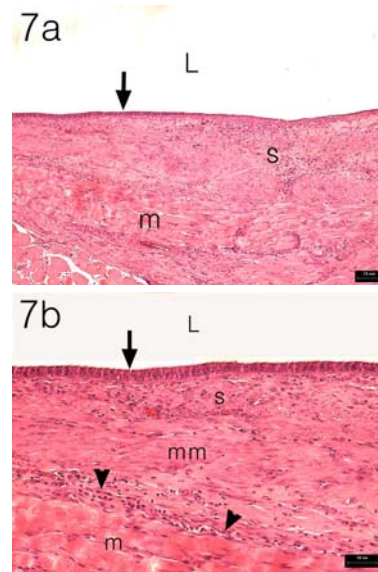


Fig. 7. Histological structure of transplanted uterine tissue of treated group.

(7a) : The endometrial epithelia(arrow) of transplanted uterine tissue was 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. arrow : endometrial epithelia, mm : myometrium, m : abdominal muscle layer. 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 hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water

Treated : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Gungguijohyeoleum*

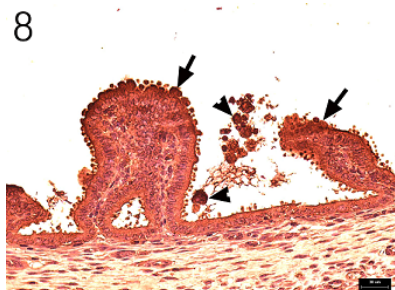


Fig. 8. COX-2 immunohistochemistry in control group.

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

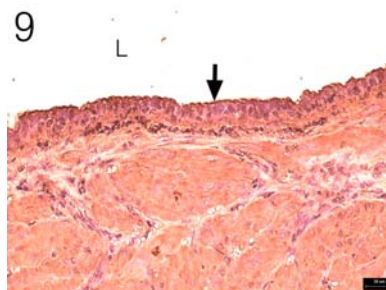


Fig. 9. COX-2 immunohistochemistry in treated group.

Activities and incidence of positive reaction of COX-2 in cytoplasm of transplanted endometrial epithelia (arrow) were decreased. Compare with Fig. 8.

L : lumen of transplanted uterine tissue. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μ m

11. COX-2 발현 비율 차이

이식 자궁조직의 점막상피세포층에서의 COX-2 양성 반응 비율은 처치군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다(Table 10).

Table 10. Effects of *Gungguijohyeoleum* Treatment on the Percentage of Positive Epithelial Layer for COX-2 in Transplanted Uterine Tissue in Rats with Experimentally-induced Endometriosis

| Group | Positive Epithelial Layer for COX-2(%) |
|---------------|--|
| Control (n=8) | 75.1±16.3 ^{a)} |
| Treated (n=8) | 56.8±12.8 [#] |

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 *Gungguijohyeoleum*

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

12. VEGF 발현 양상

대조군의 이식자궁조직에서 VEGF 양성반응은 점막상피세포, 간질세포 및 혈관내피세포에서 확인되었다. 점막상피세포에서는 상피세포층에 고르게 양성반응이 나타난 것이 아니라 상피세포 사이 사이에 국소적으로 강한 양성반응이 확인되었다(Fig. 10a). 간질세포에서는 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).

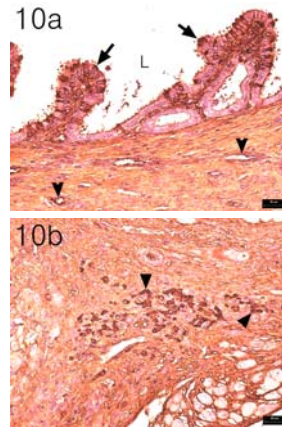


Fig. 10. VEGF immunohistochemistry in control group.

(10a) : Strong positive reaction of VEGF was expressed in cytoplasm of transplanted endometrial epithelia(arrows) and capillary endothelia(arrow heads).

L : lumen of transplanted uterine tissue. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μm
(10b) : Strong positive reaction of VEGF was expressed in cytoplasm of infiltrated inflammatory cells(arrow heads). ABC immunohistochemical stain, bar=30 μm

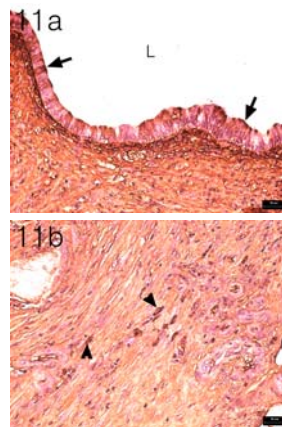


Fig. 11. VEGF immunohistochemistry in treated group.

(11a) : Positive reaction of VEGF was expressed in cytoplasm of transplanted endometrial epithelia(arrows), but the intensity of reaction was weak.

L : lumen of transplanted uterine tissue. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μm
(11b) : Positive reaction of VEGF was expressed in cytoplasm of infiltrated inflammatory cells(arrow heads), but the intensity of reaction was weak. ABC immunohistochemical stain, bar=30 μm

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.

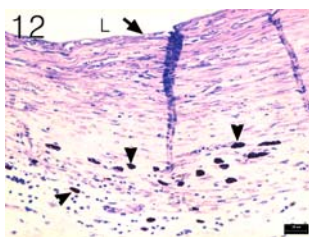
14. 비만세포 수의 차이

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

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 hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with distilled water
 Treated : right partial hysterectomy and uterine autotransplantation and treated with *Gungguijohyeoleum*



in adjacent tissue of transplanted uterine tissue. L; lumen of uterine tissue. arrow : endometrial epithelia. Toluidine blue stain. bar=30 μm

Fig. 12. Mast cells in transplanted uterine tissue of control group. Mast cells(arrows heads) observed abundantly

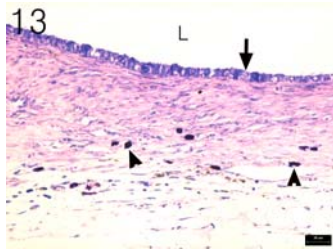


Fig. 13. Mast cells in transplanted uterine tissue of treated group. A few number of mast cells(arrow heads) observed in adjacent tissue of transplanted uterine tissue. Compare with Fig. 12. arrow; endometrial epithelia, L ; lumen of uterine tissue. Toluidine blue stain. bar=30 μ m

Table 12. Effects of *Gungguijohyeoleum* 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) | 91.0±28.3 ^{a)} |
| Treated(n=8) | 35.4±18.8 ^{###} |

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

IV. 고 찰

자궁내막증은 자궁내막조직이 자궁 이외의 골반강, 장, 방광, 요관 등 부분에 존재하며, 월경주기에 따라 정상 자궁내막조직과 동일하게 성장, 분비, 탈락하는 만성적 부인과 질환이다¹⁾.

자궁내막증의 病因에 관해서는 생리혈의 역류에 의한 착상설(endometrial implantation theory), 체강상피 화생설

(coelomic metaplasia theory), 혈행 및 림프성 파종설(hematogenous or lymphatic theory) 등이 유력하게 제시되어 왔으나 가장 널리 인정되는 가설은 Sampson의 생리혈 역류에 의한 착상설이다²⁵⁾. 그러나 생리혈의 역류가 90%의 여성에서 나타나는 광범위한 현상이지만 실제로 자궁내막증이 일어나는 경우는 소수에 불과하므로²⁶⁾ 최근에는 환자의 유전적 요인, 호르몬에 의한 자궁내막 세포의 증식과 더불어 면역학적 요인의 중요성이 대두되고 있다⁹⁾.

한의학에서 자궁내막증은 痛經, 癥瘕, 月經不調, 經行吐衄, 經行血咳, 血瘕 등의 범주에 속한다고 할 수 있다¹⁾. 자궁내막증의 원인으로 肝鬱, 腎虛등도 제시하고 있지만 무엇보다도 瘀血을 가장 중요한 病因病機로 보고 있다⁹⁾.

瘀血이 생기는 원인으로 《靈樞, 經脈》에서는 “寒邪客于經脈之中, 則血泣而不通”, 《素問, 調經》에서는 “氣血者喜溫而惡寒, 寒則泣而不流, 溫則消而去之”라 하였으며, 《靈樞, 百病始生》에서는 “陽絡傷則血外溢, 陰絡傷則血內溢”이라 하였다. 또한 《靈樞, 賊風》에서는 “若有所墮墜, 惡血內留而不去”라 하였다²⁷⁾. 또한 張景岳은 《景岳全書, 婦人規, 血癥》²⁸⁾에서 “血癥은 瘀血이 留滯하여 형성된 것으로 여성에만 있는 질환이며, 이 질환을 유발하는 病因은 결국 血行이 있을 때 일부 血이 완전히 빠져나가지 못하고 거슬러 올라감으로써 이것이 날로 쌓여서 癥을 형성하게 된다”고 보았는데, 이는 자궁내막증 기전을 설명한 생리혈 역류설⁹⁾과 일맥상통한다. 또한 指甲 및 球結膜 微循環의 관찰을 통하여 자궁내막증의 환자는 혈류가 완만하고

粘稠하며 농축된 형태인 血瘀型이라는 사실이 밝혀지기도 하였다²⁹⁾. 한편 1988년 北京 瘀血證研究國際會議에서 제정된 瘀血證 진단표준⁹⁾은 “離經之血로 疼痛의 특성이 찌르듯이 아프며, 疼痛부위가 고정되어 있고, 월경색이 검으며 血塊가 동반된 월경통이 있는 경우”라고 하였다. 상기의 문헌들과 자궁내막증에서 나타나는 생리통, 성교통, 골반통의 양상을 연결시켜 볼 때 이 병의 증상이 瘀血과 관련이 많은 것을 알 수 있다.

그러나 생리혈 역류로 이식된 자궁내막조직이 잘 착상하고 성장하는 것은 면역기능과 연관되므로, 결국 자궁내막증을 유발하게 되는 근본적인 원인은 正氣의 허약이라고 할 수 있다³⁰⁾.

면역이란, 과거에는 단지 어떤 전염성 질환의 재감염에 대한 방어반응으로 인식되었지만, 최근에는 “外邪로부터 침입하는 미생물, 同種의 조직이나 체내에서 불필요한 산물등을 非自己인 항원으로 인지하고 특이하게 반응하여 제거함으로써 그 개체의 항상성을 유지하는 현상”으로 정의됨으로써 생체방어기구로 그 개념이 확대되었다²²⁾. 자궁내막증의 면역학적 설명은 면역감시기능이 활성화된 경우에는 내막조직이 탐식되지만 그렇지 않은 경우에는 자궁내막증으로 발전한다는 주장으로, 한의학에서 正虛瘀阻의 病機와 유사하다고 할 수 있다¹¹⁾. 최근 서양의학에서도 자궁내막증의 발생기전은 Sampson의 생리혈 역류설만으로는 설명될 수 없고 개인의 면역상태와 밀접한 관련이 있다는 의견이 대두되고 있으며, 환자의 혈청 및 복강액내 여러 종류의 cytokine이 이 병의 진행과 발달에 관여됨이 확인되고 있다^{2,4,25,32-36)}.

자궁내막증과 관련한 한의학적 연구는 문헌적 고찰^{9,11)} 외에도, 실험연구로 중국에서는 活血化瘀藥物을 이용한 치료보고³⁷⁻⁴⁰⁾가 있었고, 국내에서도 血府逐瘀湯^{41,42)}, 內膜 I 號丸⁴³⁾, 內膜 II 號丸⁴⁴⁾, 蟠蔥散 및 桂朴湯⁴⁵⁾, 加味歸朮破癥湯¹²⁾, 溫經湯¹³⁾, 少腹逐瘀湯¹⁴⁾, 挑紅四物湯¹⁵⁾, 加味紅藤湯¹⁶⁾, 膈下逐瘀湯⁷⁾, 丹蔘⁴⁶⁾, 半夏⁴⁷⁾, 蒲公英²⁹⁾, 瘀血藥鍼¹⁷⁾, 蜂藥鍼⁴⁸⁾, 保留灌腸法⁴⁹⁻⁵¹⁾ 등 活血之劑를 통한 자궁내막증에 대한 실험적 연구들이 발표되었다. 한편 자궁내막증을 正氣虛證으로 보고 扶正法을 이용한 연구로 黃芪¹⁸⁾, 八珍湯¹⁹⁾, 山蔘藥鍼²⁰⁾ 등도 보고되었다.

芎歸調血飲은 明代 龔廷賢이 편찬한 《萬病回春》²¹⁾에 처음으로 등장하는 처방으로 當歸 川芎 熟地黃 白朮 白茯苓 陳皮 烏藥 香附子 牡丹皮 益母草 甘草 乾薑 大棗 生薑으로 구성되어 있다.

구성약물을 분석해 보면, 當歸는 補血 化血 調經止痛 潤燥滑腸하고 川芎은 活血行氣 祛風止痛하며 熟地黃은 滋陰補血 益精填髓하는바, 이 세 가지 약물을 통해 補血의 기능을 한다. 또한 白朮은 補脾 益胃 燥濕 和中하고 白茯苓은 利水滲濕 健脾寧心하니, 이를 통해 益氣의 기능을 한다. 한편 陳皮는 理氣 調中 燥濕 化痰하고 烏藥은 順氣 開鬱 散寒 止痛하며, 香附子는 理氣解鬱 止痛調經하고 牡丹皮는 清熱涼血 活血散瘀하고 益母草는 活血調經 利水退腫하므로 이를 통해 理氣와 活血化瘀의 역할을 담당한다. 또한 乾薑은 溫中逐寒 回陽通脈하고 生薑은 解表散寒 溫中止嘔 化痰止咳하니 이를 통해 溫經散寒의 기능을 담당한다. 아울러 甘草는 和中緩急 潤肺解毒 調和諸藥하며, 大棗는 補脾和胃 益氣生津 調營衛

解藥毒하므로 이를 통해 白朮 白茯苓 등과 함께 補脾益胃의 역할을 담당한다⁵²⁾. 결국 芎歸調血飲은 補血益氣 補脾益胃 기능을 통해 正氣虛를 치료하고, 活血化瘀 溫經散寒 기능을 통해 瘀血을 치료한다고 할 수 있으며, 자궁 위장을 함께 다스리면서 혈액을 공급하고 하복부의 노폐물도 제거하여 부인의 산후조리와 자궁에 관련된 질환에 널리 이용되어 왔다⁵³⁾.

芎歸調血飲에 대한 국내 연구는 진통진정 해열에 미치는 영향²³⁾ 이외에는 발표된 것이 없지만, 처방의 효능과 방제목적이 正氣虛와 관련하여 발생하는 瘀血치료에도 효능이 있을 것으로 보이며, 자궁내막증이 瘀血의 병리적 특성을 지니고 면역적 요인에 의해 발생되므로 본 처방이 양호한 효과가 있을 것으로 기대되어 실험을 실시하였다.

실험은 자궁자가이식법을 통해 자궁내막증을 유발한 흰 쥐를 각각 음성군, 대조군, 처치군으로 나누어 체중, 이식자궁의 체적, 자궁 및 난소의 중량, 복강내 cytokine(MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6)의 함량을 측정하고, 병리조직학적 검사, 면역 조직화학적 검사(COX-2, VEGF), 비만세포 조직화학적 검사를 시행하였다.

실험결과, 음성군, 대조군 및 처치군 모두에서 완만한 체중의 증가가 있었으나 각 실험군 간에 유의성 있는 차이는 없었다. 이는 실험과정에서 芎歸調血飲 투여와 관련하여 체중에는 별다른 영향을 주지 않았음을 의미한다. 그리고 선행연구에서 加味歸朮破癥湯¹²⁾이나 膈下逐瘀湯⁷⁾을 동일한 실험모델에 대해 투여하였을 때 실험군의 체중이 대조군에 비해 유의성 있게 감소한데 비해 본 실험

에서는 오히려 체중이 약간 증가되었는데, 이는 선행실험에 사용한 약물들은 活血化瘀의 효능만을 지닌데 반해 芎歸調血飲은 補血益氣하는 약물과 活血化瘀하는 약물이 함께 조합되어 있기 때문이라고 생각된다.

실험 종료일에 대조군 및 처치군의 모든 경우에서 육안으로 확인할 수 있는 다양한 크기의 이식자궁조직이 복벽에 형성되어 있었다. 그러나 처치군의 이식자궁조직의 체적은 대조군에 비해 1/2정도 크기로 유의성 있게 감소하였다. 또한 좌측 자궁과 평균 난소의 중량은 처치군이 음성군 및 대조군에 비해서 감소하였으나, 모든 군간에서 유의성 있는 변화는 없었다. 이러한 실험결과로 볼 때 芎歸調血飲은 이식 자궁조직의 발달을 억제한 반면에, 자궁 및 난소의 기능에는 별다른 영향을 미치지 않았다고 사료된다.

자궁내막증에서 골반내 자궁내막이 복막에 착상할 때에는 혈관신생, 섬유성 반흔, 활성화된 염증세포의 축적 등 국소적인 염증반응이 진행됨이 알려져 있다⁵⁴⁾. 본 실험에서도 대조군의 이식자궁조직에 혈관신생 및 염증세포 등의 소견이 관찰되어 이식 자궁내막의 증식에 국소염증반응이 관여됨을 확인할 수 있었으며, 처치군에서는 이러한 소견이 완화되어 관찰되었다. 이로 볼 때 芎歸調血飲이 이식자궁조직의 착상 및 증식을 억제하는 효과가 있다고 생각된다.

자궁내막의 복막내 착상 및 증식에는 세포성 및 체액성 면역반응의 변화가 관련되며⁵⁵⁾, 여러 종류의 cytokine이 자궁내막증 환자의 혈청 및 복강액에 증가되어 있음이 확인되었다^{4,32)}.

MCP-1은 내피세포, 섬유모세포, 백혈구 등에서 분비되며, 단핵세포와 대식세포의 활성화를 유도하는 인자로 자궁내막증 조직에서 MCP-1은 IL-1, TNF- α , PDGF, interferon- γ 등에 의해 유도된다. MCP-1은 대식세포를 자극하여 growth factor 및 여러 종류의 cytokine들을 분비하도록 하기도 하고, 자궁내막증 세포의 증식을 직접 자극하기도 한다²⁵⁾. 자궁내막증의 여성에서 MCP-1의 농도가 병정과 비례하여 높아지는 것으로 확인되었으며^{25,56)}, 자궁내막증 치료를 위해 GnRH를 투여하자 MCP-1이 감소됨이 보고되었다⁴⁾.

본 연구에서 측정된 MCP-1의 함량도 대조군이 음성군에 비해 증가된 것으로 보아 자궁내막증 발현에 MCP-1이 관여함을 확인할 수 있었으며 처치군이 대조군에 비해 유의성 있게 줄어든 것으로 볼 때 芎歸調血飲이 MCP-1의 분비를 감소시켜 자궁내막조직의 발달과 성장을 억제한다고 생각된다.

TNF- α 는 복강내 섬유아세포, 대식세포, T세포, B세포 등 여러 세포에서 생산되는 강력한 염증매개적 cytokine²⁵⁾으로 중성구와 호산구를 모으고 혈관을 통한 이동을 도우며 조직내 활성을 유도한다^{2,57)}.

자궁내막증에서 TNF- α 는 prostaglandin의 합성을 촉진시키고 IL-8 유전자 발현을 유도하여 기질세포의 증식 및 혈관신생을 자극한다^{2,3,25)}. 또한 자궁내막세포의 증피세포 유착을 촉진하며, 정자의 활동성을 제한하고 수정란의 발생과정에서 독성을 발휘하는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 자궁내막증 환자의 복강액내 TNF- α 농도가 증상과 비례해서 증가되어 있으

며^{4,25,32,55,58)}, TNF blocker인 etanercept를 투여하여 자궁내막증을 치료한 사례가 보고된 바 있어²⁾, 자궁내막증의 발생에 TNF- α 가 밀접한관련이 있음이 확인되고 있다.

본 실험에서 실험 종료일에 측정된 복강세척액 중 TNF- α 함량은 대조군이 음성군에 비해 유의성 있게 증가되었으며 처치군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다. 이러한 결과로 보아 芎歸調血飲이 대식세포의 활성억제를 통하여 TNF- α 의 분비를 감소시킴으로써 이식 자궁내막조직의 혈관형성 및 복벽유착과 발달을 억제한 것으로 생각된다. 이는 이식 자궁조직에 대한 병리조직학적 검사에서 처치군의 모세혈관 신생과 염증세포 침윤이 감소한 사실과 일치한다.

IL-1 β 는 자궁내막, 내피세포 및 대식세포에서 생성되는 염증매개인자 중의 하나로 prostaglandin의 합성을 촉진시키고, 섬유아세포의 증식, collagen의 합성을 촉진시켜 자궁내막증과 관련한 섬유화와 침착에 기여하며, IL-2의 분비를 촉진시킴으로써 NK 증식과 T세포의 성장에 영향을 줄 수도 있다^{7,25)}. IL-1 β 는 TNF- α 와 더불어 MCP-1의 분비를 조절하며 VEGF와 IL-6 생산을 유도할 수 있다¹⁴⁾. 뿐만 아니라 IL-1 β 는 자궁내막증의 기질세포에서 혈관신생을 활성화하며⁵⁹⁾, estradiol을 자극하여 대식세포와 T-림프구의 활동성을 증가시키는 것으로 확인되었다⁶⁰⁾. 또한 IL-1 β 는 자궁내막증에서 대식세포유주억제인자(macrophage migration inhibition factor)의 분비를 촉진시켜 이소성 자궁내막증 조직 성장을 야기한다는 주장⁶¹⁾도 제기되고 있다.

골반유착을 지닌 자궁내막증 여성의 복강액에서 IL-6, TNF- α 와 함께 IL-1 β 의 농도가 증가되어 있음이 밝혀졌으며³⁴⁾, GnRH agonist를 투여하면 IL-1 β 와 VEGF같은 cytokine의 분비가 감소되어 자궁내막증 억제됨이 확인되었다^{62,63)}.

본 연구에서 실험 종료일에 측정된 복강세척액 내의 IL-1 β 의 함량은 음성군에 비해서 대조군 및 처치군에서 모두 유의성 있게 증가하였다. 그러나 처치군에서의 함량은 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 이는 자궁내막증이 진행됨에 따라 IL-1 β 의 양이 증가하였으나 芎歸調血飲을 투여하자 IL-1 β 의 기능 억제를 통해 자궁내막증이 상당 부분 위축되었음을 보여 준다.

IL-6는 감염, 염증성 질환, 악성 종양 및 외상 등에서 초기 반응의 매개체로 여겨지며, 외상이나 감염 등에서 숙주의 방어 기전에 중요한 역할을 하고¹³⁾, 단핵구 및 대식세포에서 분비되어 혈관신생을 자극하기도 한다. IL-6는 B세포를 자극하여 면역글로불린 생산과 분화를 촉진시키고 T세포의 분화를 고양시켜서 단백질 합성을 유도³⁵⁾할 뿐만 아니라 여포생성, 스테로이드 호르몬 생산, 초기착상 등 생식의 과정에도 영향을 주는 것으로 밝혀졌다^{32,36,64)}.

한편 IL-6는 정자의 운동성을 떨어뜨려 자궁내막증과 연관된 불임에 한 원인을 제공하는 것으로 밝혀졌다^{36,64)}. 실험결과, 이소성 자궁내막증 조직배양액에서 IL-6의 농도가 상당히 증가된다는 사실^{4,25,32,65,66)}이 확인되었으며, 자궁내막증 환자에게 GnRH를 투여하자 IL-6의 농도가 낮아졌다는 보고도 있다³²⁾.

본 실험에서 실험 종료일에 측정된 복

강세척액내 IL-6의 함량은 대조군이 음성군에 비해서 유의성 있게 증가되었으며, 처치군은 대조군에 비해서 약간 감소되었으나 유의성은 없었다. 이는 자궁내막증의 발현이 IL-6의 함량을 높인다는 기존의 연구와 일맥상통하는 것이며, 芎歸調血飲을 투여했을 때 IL-6의 함량이 약간 낮아지긴 했으나 유의성은 없었다.

Cyclooxygenase(COX)는 세포막의 arachidonic acid가 분해되어 prostaglandin을 생산하는 과정에 작용하는 효소인데 COX-1은 생체내 많은 조직에 분포하는 내재성 효소인 반면, COX-2는 여러 가지 자극에 의해서 유도되는 유도성 효소이다. COX-2는 PGE₂의 과량생산을 자극하여 월경불순, 비정상자궁수축을 유발하고, 정자의 정상적 이동과 수정된 난모세포의 착상을 방해하는 것으로 보인다⁶⁷⁻⁶⁹⁾. 또한 COX-2는 estrogen을 과잉생산하여 자궁내막증을 악화시키고, 골반통과 불임 등을 초래한다고 여겨진다⁷⁰⁾. 쥐에서 COX-2 유전자를 제거하자 배란, 수정, 착상, 분화 등 여러 가지 생식관련 기능이 실패로 돌아갔다는 실험보고⁷³⁾도 있다.

한편 COX-2 및 PGE₂는 VEGF 등을 자극하여 자궁내막증 조직에서의 혈관신생에 관여하며^{68,71)}, 자궁내막증 환자의 자궁내막 상피세포와 기질세포에서 COX-2의 발현이 증가됨⁷²⁾이 확인되었다. 다른 실험에서도 COX-2는 자궁내막증의 선상피와 혈관내피세포에 분포하면서 생리주기에 따라 변화되는 것⁶⁹⁾으로 나타났다. 중국에서는 쥐에게 異位寧方이라는 처방을 투여한 결과 자궁내막증 환자에게서 MMP-2와 COX-2의 수치가 현저

히 감소되었다는 보고⁷³⁾도 있다.

본 연구에서 이식자궁조직의 박절편을 COX-2 면역조직화학 염색하여 광학현미경으로 관찰하고 표면 자궁점막 상피세포층만을 대상으로 하여 COX-2에 염색된 자궁점막상피세포의 비율을 측정하였다. 그 결과, 대조군에서는 양성반응의 비율이 점막상피세포층 등에서 강하게 나타났으나, 처치군의 경우는 유의성 있게 감소하였다. 이는 芎歸調血飲이 이식자궁조직에서 COX-2의 발현을 억제하여 자궁내막증을 억제한 것으로 해석된다. 이는 이식 자궁조직을 병리조직학적으로 관찰한 소견에서 芎歸調血飲 처치군이 대조군에 비해 혈관형성이 미약한 것과는 관련이 있다고 생각된다.

자궁내막증의 확산에 있어서는 cytokine, 면역세포 못지않게 효율적인 혈액공급이 매우 중요하다. 이를 위해서는 내피세포의 증식, 이동, 투과성, 세포유착분자와 단백질가수분해 효소 등을 포함한 새로운 혈관신생과정이 필요하다²⁶⁾. Vascular endothelial growth factor(VEGF)는 생리학, 병리학 혈관신생에 관련된 혈관투과유도성 단백질이다. VEGF는 자궁내막증조직과 복강액 대식세포 등에서 분비되며^{25,74)}, 내피세포의 성장을 선택적으로 자극하고 미세혈관 투과성을 증가시킴으로써 신생혈관 생성의 조절에 관여한다⁷⁵⁾. 여러 실험에서 복강내 호중구와 대식세포는 TNF와 IL-6를 작동하여 VEGF를 분비하여 자궁내막증을 위한 혈관신생을 촉진시켰다⁷⁶⁻⁷⁸⁾. VEGF는 VEGF-A, -B, -C, -D, PLGF 라는 다섯 개의 패턴을 가지면서 이런 작용을 촉진하는 것으로 확인되고 있다^{26,79)}.

자궁내막증을 지닌 여성들에게서 혈관

신생 활동이 정상여성보다 훨씬 활발하게 관찰되고^{4,80)}, 복강액의 VEGF 농도도 대조군보다 더욱 증가했다는 연구가 발표되고 있다^{25,26,32)}. GnRH agonist를 투여한 여성들에게서 복강액내 VEGF 농도가 현저히 줄었다는 보고도 있다²⁵⁾.

본 연구에서도 이식자궁조직의 VEGF 양성반응이 대조군의 점막상피세포, 간질세포 및 혈관내피세포에서 나타났다. 처치군의 VEGF 양성반응은 대조군과 동일한 부위에서 확인되었으나, 그 발현 정도는 훨씬 미약하게 관찰되었다. 이로써 芎歸調血飲이 자궁내막증을 혈관신생 측면에서 조직학적으로 억제하고 있음을 알 수 있다.

비만세포(mast cell)는 골수에서 유래된 세포로 주로 결합조직, 특히 소혈관 주위에 많이 분포하고 있으며, 피부 장 점막 호흡기점막과 같은 외부에 노출된 부위에 많다. 비만세포는 조직손상 등이 있을 때 백혈구의 침윤에 의해 내재적 면역반응에 중요한 역할을 하며, 관절염, 알러지, 천식 등 만성질환에도 관여한다. 자궁내막증에서 비만세포는 PGE₂에 의해 탈과립화되어 TNF- α , IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-13, 백혈구 등 염증매개자의 분비를 유도하여⁸¹⁾ 비정상적 자궁출혈을 유발하는 것으로 밝혀졌으며, 근섬유아세포 증식, collagen 생산 등에 영향을 줌으로써 복강내 유착에도 관여하는 것으로 알려져 있다⁸²⁾.

본 연구에서도 이식 자궁조직의 기질내 및 자궁외막의 결합조직에서 많은 수의 비만세포가 확인되었으며, 이는 자궁내막증의 확산을 의미한다고 볼 수 있다. 반면에 처치군에서 비만세포의 침윤이 대조군에 비해 유의성 있게 감소한

것은, 芎歸調血飲의 투여로 비만세포의 침윤이 억제되어 이식 자궁조직의 형성에 방해할 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하면, 芎歸調血飲은 정상 자궁조직이나 난소의 기능에는 별다른 영향을 미치지 않으면서 이식 자궁조직의 유착 및 발달을 억제하는 효과가 있었으며, 이는 MCP-1, TNF- α , IL-1 β , COX-2 및 VEGF 분비 감소, 비만세포 침윤 억제와 관련되어 있어서, 正氣虛를 동반한 瘀血로 변증되는 자궁내막증의 억제 및 치료에 유효할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

芎歸調血飲이 자궁내막증의 형성 억제에 미치는 영향을 확인하기 위해서 흰쥐를 음성군, 대조군 및 芎歸調血飲을 투여한 처치군으로 분류하고 체중, 난소 및 자궁 무게, 이식자궁조직의 체적, 복강세척액내 MCP-1, TNF- α , IL-1 β 및 IL-6 함량 등을 측정하였다. 또한 이식 자궁조직에 대한 병리조직학적 검사, COX-2 및 VEGF 면역조직화학검사, 그리고 비만세포 조직화학검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 이식 자궁조직의 체적(mm³)은 처치군(76.4 \pm 24.5)이 대조군(222.1 \pm 109.1)에 비해서 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다.
2. 복강세척액내 MCP-1 함량(pg/ml)은 처치군(1060.8 \pm 280.8)이 대조군(1412.5 \pm 345.7)에 비해서 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다.

3. 복강세척액내 TNF- α 함량(pg/ml)은 처치군(827.5 \pm 219.9)이 대조군(1126.2 \pm 139.9)에 비해서 유의성(p<0.01) 있게 감소하였다.
4. 복강세척액내 IL-1 β 함량(pg/ml)은 처치군(83.4 \pm 9.0)이 대조군(105.3 \pm 17.6)에 비해서 유의성(p<0.01) 있게 감소하였다.
5. 복강세척액내 IL-6의 함량(pg/ml)은 처치군(108.9 \pm 15.7)이 대조군(122.8 \pm 19.3)에 비해서 감소하였으나 유의성은 없었다.
6. 병리조직학적으로 처치군은 점막상피세포의 발달, 염증세포의 침윤 및 모세혈관의 신생이 대조군에 비해서 미약하게 관찰되었다.
7. COX-2 발현 점막상피세포층 비율(%)은 처치군(56.8 \pm 12.8)이 대조군(75.1 \pm 16.3)에 비해서 유의성(p<0.01) 있게 감소하였다.
8. 점막상피세포, 신생혈관 내피세포 및 간질세포에서의 VEGF 발현 정도는 처치군이 대조군에 비해서 미약하게 관찰되었다.
9. 이식자궁조직에 침윤된 비만세포 수는 처치군(35.4 \pm 18.4)이 대조군(91.0 \pm 28.3)에 비해서 유의성(p<0.001) 있게 감소하였다.

이상의 결과를 종합하면 芎歸調血飲은 실험적으로 유발된 흰쥐의 자궁내막증에서 이식자궁조직의 발달을 억제하는 효과가 있음을 확인하였으며, 자궁내막증 특히 正氣虛를 동반한 瘀血로 변증되는 환자에게 유용할 것으로 생각된다.

□ 투 고 일 : 2008년 7월 24일

□ 심 사 일 : 2008년 7월 29일

□ 심사완료일 : 2008년 8월 8일

참고문헌

1. 한의부인과학 교재편찬위원회. 한의부인과학 상권. 서울: 도서출판 정담. 2002;186-190.
2. Shakiba K, Falcone T. Tumor necrosis factor- α blockers : potential limitations in the management of advanced endometriosis. *Human Reproduction*. 2006;21(9):2417-2420.
3. Iwabe T. et al. Tumor necrosis factor- α promotes proliferation of endometriotic stromal cells by enducing Interleukin-8 gene and protein expression. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000;85(2):824-829.
4. Oral E, Olive DL, Arici A. The peritoneal environment in endometriosis. *Human Reproduction Update*. 1996;2(5):385-398.
5. 대한산부인과학회. 부인과학 제3판. 서울: 칼빈서적. 1997;566-597.
6. Nasir L, MBBS, Bope ET. Management of pelvic pain from dysmenorrhea or endometriosis. *JABFP*. 2004.
7. 김철수 등. 膈下逐瘀湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 자궁내막증에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2007;20(1):61-83.
8. 임용택, 김승조. 골반성 자궁내막증 환자에서의 Nafarelin Acetate(Synarel) 및 Danazol의 임상적인 치료효과. *대한산부회지*. 1991;34(12):1716-1724.
9. 이태균. 子宮內膜症에 대한 文獻的 考察. *대한한방부인과학회지*. 1995;8(1):161-174.
10. 보건복지부. 자궁내막증의 새로운 진단, 치료 및 예방법 개발-1998년도 보건의료 기술연구, 개발사업 최종보고서. 1999;2-108.
11. 김동일, 이동규, 이태균. 子宮內膜症의 韓醫學 治療에 관한 研究. *대한한방부인과학회지*. 2001;16(2):126-143.
12. 김여태 등. 加味歸朮破癥湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 자궁내막증에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2006;19(2):162-185.
13. 김형일, 임은미, 권기록. 溫經湯이 자궁내막증 유발 白鼠에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2006;19(2):18-33.
14. 윤영희 등. 少腹逐瘀湯이 실험적으로 유발된 흰쥐의 자궁내막증에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2006;19(2):141-161.
15. 장성환, 임은미, 이은. 桃紅四物湯이 자궁내막증을 유발한 흰쥐에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2006;19(1):125-138.
16. 이지연, 임은미, 권기록. 加味紅藤湯 직장 내 투여가 자궁내막증을 유발한 흰쥐에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2006;19(3):109-120.
17. 육상숙, 임은미, 권기록. 中性瘀血藥 鍼이 자궁내막증 白鼠에 미치는 영향. *대한약침학회지*. 2006;9(1):83-94.
18. 조현주, 김윤상, 임은미. 黃芪가 자궁내막증 유발 흰쥐에 미치는 영향. *대한한방부인과학회지*. 2007;20(2):43-59.
19. 이미정, 임은미, 권기록. 八珍湯이 자궁내막증을 유발한 흰쥐에 미치는 영

- 향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(3):83-94.
20. 김성혜, 권기록, 박희수. 山蔘藥鍼이 자궁내막증 유발 흰쥐에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006;23(5):55-67.
 21. 龔廷賢 著, 朱甲惠 譯. 國譯 萬病回春 하권. 서울: 계축문화사. 1977;225-229.
 22. 許浚 著, 東醫寶鑑國譯委員會 譯. 對譯 東醫寶鑑. 서울: 법인문화사. 1999;1628.
 23. 정선례. 芎歸調血飲 煎湯液이 진통·진정·해열 및 지혈작용에 미치는 영향. 원광대학교 석사학위논문. 1987.
 24. Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *Fertil Steril*. 1985;44(5):684-694.
 25. Gazvani R, Templeton A. The peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. *Reproduction*. 2002;123:217-226.
 26. McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis. *Human Reproduction Update*. 2000;6(1):45-55.
 27. 郭靄春 編著. 黃帝內經 靈樞校注語譯. 서울: 도서출판 의성당. 1993; 102-136, 389-391, 434-441.
 28. 張介賓 著. 景岳全書. 北京: 人民衛生出版社. 1991;886-887.
 29. 박준식, 임은미, 이은. 蒲公英 추출물이 자궁내막증 유발 白鼠에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006; 19(3):69-82.
 30. Donnez J, Langendonck AV. Typical and subtle atypical presentations of endometriosis. *Endoscopic surgery*. 2004;16:431-437.
 31. 채우석. 면역질환의 한방개념과 치료에 관한 문헌적 고찰. 대한한의학회지. 1990;11(2):54-91.
 32. Barcz E, Kamlnski P, Marianowski L. Role of cytokines in pathogenesis of endometriosis. *Med Sci Monit*. 2000;6(5):1042-1046.
 33. Boucher A. et al. Ovarian hormones modulate monocyte chemotactic protein-1 expression in endometrial cells of women with endometriosis. *Molecular Human Reproduction*. 2000;6(7):618-626.
 34. Cheong YC. et al. IL-1, IL-6 and TNF- α concentrations in the peritoneal fluid of women with pelvic adhesions. *Human Reproduction*. 2002;17(1):69-75.
 35. 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):2269-2275.
 36. Yoshida S. et al. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm mobility : implications in infertility associated with endometriosis. *Human Reproduction*. 2004;19(8):1821-1825.
 37. 胡國珍. 活血化癥法治療子宮內膜異位症 48例. 上海中醫藥雜誌. 1995;2:38-40.
 38. 李文芹, 張宏霞. 活血化癥法治療子宮內膜異位症 64例. 吉林中醫藥. 1998;1:33.
 39. 王大增. 子宮內膜異位症的中醫藥診治. 中西醫結合雜誌. 1994;2:112-114.
 40. 錢靜. 桂枝茯苓丸加味治療子宮內膜異

- 位症의臨床研究. 楊洲大學醫學院. 1999;170.
41. 오규석, 홍영옥, 이태균. 血府逐瘀湯이 자궁내막증 白鼠에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1995;18(2):273-282.
 42. 김동일, 이태균. 자궁내막증 환자 2례에 대한 임상적 고찰. 대한한의학회지. 1997;18(2):58-71.
 43. 권은정, 배한익, 이태균. 內膜 I 號丸의 자궁내막증 白鼠의 치료효과에 대한 연구. 東國論集. 1996;15:325-342.
 44. 이동규, 김순열, 이태균. 內膜 II 號丸의 phospholipase A₂ 활성 억제능에 관한 연구. 대한한방부인과학회지. 1996;9(1):97-107.
 45. 김동일, 이태균. 자궁내막증 및 만성 지속성 간염과 병발한 원발성 불임증 1례에 대한 치험 보고. 대한한의학회지. 1998;19(1):100-108.
 46. 허윤, 임은미, 이은. 丹蔘이 자궁내막증 白鼠에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(3):95-107.
 47. 송미선, 임은미. 半夏가 자궁내막증 유발 흰쥐에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2007;20(2):107-123.
 48. 이용현, 임은미, 권기록. 蜂藥鍼이 자궁내막증 白鼠에 미치는 영향. 대한약침학회지. 2006;9(1):21-32.
 49. 엄은석, 임은미. 속발성 월경통을 한약 내복 및 약물보류관장법으로 치료한 치험 2례. 대한한방부인과학회지. 1999;12(1):1-12.
 50. 조성희, 진천식. 만성골반염을 한방 치료한 치험 1례 (한약내복약과 보류관장치료 중심으로). 대한한방부인과학회지. 2002;15(3):181-189.
 51. 조성희, 진천식. 골반염 치료를 위해 사용된 보류관장요법에 관한 문헌적 고찰 (중국 잡지를 중심으로). 대한한방부인과학회지. 2002;15(2):79-93.
 52. 전국한의과대학 본초학교실. 本草學. 서울: 永林社. 1998;136-580.
 53. 노영범. 腹診과 正統方劑學. 서울: 대성의학사. 2006;437-440.
 54. 김영아 등. 자궁내막증 자궁내막의 증가된 증식 활성도. 대한산부회지. 2004;47(7):1334-1341.
 55. 강정배 등. 자궁내막증환자 복강액의 세포 매개성 면역반응의 변화양상에 관한 연구. 대한산부회지. 1999;42(9):1965-1971.
 56. 김동호 등. 자궁내막증에서 MCP-1의 면역조직화학적 특성. 대한산부회지. 2000;43(12):2140-2145.
 57. 김호성 등. 자궁내막증의 존재유무에 따른 혈장과 복강액내의 TNF- α 농도 : TNF- α 가 자궁내막증의 병인가? 대한산부회지. 2001;44(9):1617-1620.
 58. Bedaiwy MA. et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal markers: a prospective controlled trial. Human Reproduction. 2002;17(2):426-431.
 59. Lebovic DI. et al. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1 β . Molecular Human Reproduction. 2000;6(3):269-275.
 60. Akoum A, Lemay A, Maheux R. Estradiol and Interleukin-1 β exert a synergistic stimulatory effect on the expression of the chemokine regulated upon activation, normal T cell expressed, and secreted in

- endometriotic cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(12):5785-5792.
61. Cao WG. et al. Stimulation of macrophage migration inhibitory factor expression in endometrial stromal cells by Interleukin-1, beta involving the nuclear transcription factor NF κ B. *Biology of Reproduction*. 2005;73:565-570.
62. Meresman GF. et al. Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1 β and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis. *Human Reproduction*. 2003;18(9):1767-1771.
63. 최두석 등. 자궁내막증 여성에서의 GnRH Agonist 투여후 말초혈액내 Cytokine 농도의 변화양상에 관한 연구. *대한산부회지*. 1999;42(5):1030-34.
64. Rier SE. et al. Dysregulation of interleukin-6 responses in ectopic endometrial stromal cells : correlation with decreased soluble receptor levels in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1995;80(4):1431-1437.
65. 전상식 등. 난소관련 병변에서 복강체액내의 cytokine 농도. *대한산부회지*. 2001;44(2):258-262.
66. 이경석 등. 자궁내막증 환자에서 복강내의 IL-6와 IL-10의 변화양상에 관한 연구. *대한산부회지*. 1999;42(11):2558-2563.
67. Wu MH. et al. Distinct regulation of cyclooxygenase-2 by interleukin-1 β in normal and endometriotic stromal cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(1):286-295.
68. Sales KJ, Jabbour HN. Cyclooxygenase enzymes and prostaglandins in pathology of the endometrium. *Reproduction*. 2003;126:559-567.
69. Ota H. et al. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Human Reproduction*. 2001;16(3):561-566.
70. Wu MH. et al. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and -2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis. *Molecular Human Reproduction*. 2002;8(12):1103-1110.
71. Fagotti A. et al. Analysis of cyclooxygenase-2 expression in different sites of endometriosis and correlation with clinico-pathological parameters. *Human Reproduction*. 2004;19(2):393-397.
72. 이준서 등. 착상관련 질환 환자의 자궁내막에 있어서 프로게스테론 수용체, integrin β_3 , COX-2의 발현 양상. *대한산부회지*. 2000;43(6):961-967.
73. Fan QU. et al. Effects of Yiweining Recipe on expressions of metalloproteinase -2 and cyclooxygenase-2 mRNAs in ectopic endometrium of rats with endometriosis. *Journal of Chinese Integrative Medicine*. 2006;4(6):634-638.
74. Donnez J. et al. Vascular endothelial
-

- growth factor(VEGF) in endometriosis. Human Reproduction. 1998;13(6):1686-1690.
75. 정창원. 자궁내막증 환자에서 자궁내막의 VEGF 발현 양상. 서울대학교 석사학위논문. 2006.
76. Lin YJ. et al. Neutrophils and Macrophages promote angiogenesis in the early stage of endometriosis in a mouse model. Endocrinology. 2006;147(3):1278-1286.
77. McLaren J. et al. Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. The American Society for Clinical Investigation. 1996;98(2):482-489.
78. Na YJ. et al. Effects of peritoneal fluid from endometriosis patients on the release of vascular endothelial growth factor by neutrophils and monocytes. Human Reproduction. 2006;21(7):1846-1855.
79. Sharkey AM. et al. Vascular endothelial growth factor expression in human endometrium is regulated by hypoxia. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2000 ;85(1):402-409.
80. 박창수, 오성택, 이민철. 자궁내막증 병인에 있어서 혈관내피세포 성장인자의 역할. 대한산부회지. 1998;41(5):1410-1420.
81. Nguyen M, Pace AJ, Koller BH. Age-induced reprogramming of mast cell degranulation. The Journal of Immunology. 2005;175:5701-5707.
82. Xu X. et al. Role of mast cells and myofibroblasts in human peritoneal adhesion formation. Annals of Surgery. 2002;236(5):593-601.