

## 홍삼사포닌 투여의 다낭성난소에 의한 불임 치료효과 및 기작연구

김세은, 오동민, 심경미, 정문진<sup>1</sup>, 임성철<sup>2</sup>, 나승열<sup>3</sup>, 이윤렬<sup>4</sup>,  
강성수, 문창종, 김종춘, 김성호, 배춘식\*

전남대학교 수의과대학 및 동물의학연구소.

<sup>1</sup>조선대학교 치과대학 구강조직학교실, <sup>2</sup>의과대학 병리학교실 및 내성세포연구센터,

<sup>3</sup>건국대학교 수의과대학 생리학교실, <sup>4</sup>한림대학교 의과대학 생리학교실

## Studies on the Therapeutic Effect and Mechanism of Korean Red Ginseng Total Saponin on Infertility Caused by Polycystic Ovaries

Se-Eun Kim, Dong-Min Oh, Kyung-Mi Sim, Moon-Jin Jeong<sup>1</sup>, Sung-Chul Lim<sup>2</sup>,  
Seung-Yeol Nah<sup>3</sup>, Yun-Lyul Lee<sup>4</sup>, Seong-Soo Kang, Chang-Jong Moon,  
Jong-Choon Kim, Sung-Ho Kim and Chun-Sik Bae\*

College of Veterinary Medicine, Animal Medical Institute, Chonnam National University,  
Gwangju 500-757, Korea

<sup>1</sup>Department of Oral Histology, College of Dentistry

<sup>2</sup>Department of Pathology and Research Center for Resistant Cells, College of Medicine,  
Chosun University, Gwangju 501-825, Korea

<sup>3</sup>Ginsentology Research Laboratory and Department of Physiology, College of Veterinary Medicine,  
Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

<sup>4</sup>Department of Physiology, Hallym University College of Medicine, Chuncheon 200-702, Korea

(Received December 10, 2008; Accepted January 12, 2009)

### ABSTRACT

Experimental induction of polycystic ovary (PCO) resembling some aspects of human PCO syndrome was produced using the long-acting compound estradiol valerate (EV). Our previous study on the role of Korean red ginseng total saponins (GTS) in a steroid-induced PCO rat model demonstrated that electro-acupuncture modulates nerve growth factor (NGF) concentration in the ovaries. In fact, the involvement of a neurogenic component in the pathology of PCO-related ovarian dysfunction is preceded by an increase in sympathetic outflow to the ovaries. In the present study, we tested the hypothesis that therapeutic GTS administration modulates sympathetic nerve activity in rats with PCO. This was done by analyzing NGF protein and NGF mRNA expression involved in the pathophysiological process underlying steroid-induced PCO. EV injection resulted in significantly higher ovarian NGF mRNA expression in PCO rats compared to control rats,

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2004-041-E00321).

\* Correspondence should be addressed to DVM, PhD. Chun Sik Bae, College of Veterinary Medicine, Animal Medical Institute, Chonnam National University, Yongbongdong, Bukgu, Gwangju 500-757, Korea. Ph.: (062) 530-2876, Fax: (062) 530-2809, E-mail: csbae210@chonnam.ac.kr

and PCO ovaries were counteracted by GTS administration with significantly lower expression of NGF mRNA compared to EV treated ovaries. However, NGF protein was unaffected in both EV and GTS treated ovaries compared to control rats. These results indicate that EV modulates the neurotrophic state of the ovaries, which may be a component of the pathological process by which EV induces cyst formation and anovulation in rodents.

**Keywords** : Polycystic ovary, Estradiol valerate, Pathophysiology, Ginseng saponins

## 서 론

Stein과 Leventhal은 1935년 처음으로 무월경과 다낭성난소를 가지며 다모증과 비만을 동반하는 환자를 다낭성난소 증후군(polycystic ovary syndrome, PCOS)이라 설명하였으며(Barria et al., 1993), 현재에 이르러서는 희발월경, 무월경 등과 같은 월경이상에 비만 및 다모증을 동반하며 안드로젠과다혈증, 초음파 등의 검사 시 다낭성난소가 관찰될 때 PCOS로 정의하고 있다(Brawer et al., 1986). 다낭성난소 증후군은 가임기 여성의 5~10%에서 나타나며(Chen, 1997) 특히 PCOS가 있는 성인 여성 중 50~60%에서 비만이 있다고 보고되었다(Franks, 1995). 따라서 현재 사회에서의 비만의 증가에 따라 PCOS 또한 증가할 것이라 생각되며 PCOS는 과지방증에 의한 인슐린저항성을 가질 뿐 아니라 PCOS 자체에 의한 내인성 인슐린저항성을 가진다고 보고되고 있어(Brawer et al., 1986), 이에 따른 제2형 당뇨병, 임신성 당뇨병, 고혈압, 이상지질혈증 및 죽상경화증 등의 질환을 유발할 수도 있다(Lara et al., 1993; Garcia-Rudaz et al., 1998; Kim et al., 1998).

몇몇 연구에서는 다낭성난소(polycystic ovary, PCO)가 교감신경 발현의 증가와 관련되어 있다고 보고하였으며(Lobo, 1988; Barria et al., 1993; Lara et al., 1993, 2000), PCOS에서 카테콜아민 대사의 시상하부 변화에 의해 심화된 노르에피네프린의 대사부전이 PCO의 초기 불안정한 단계 동안에 명확하다고 보고되고 있다(Paradisi et al., 1988; Garcia-Rudaz et al., 1998). 사람 PCOS의 병태생리학에서 교감신경계와의 연관성은 발정주기가 존재하는 난소보다 PCOS가 존재하는 난소에 카테콜아민 신경섬유의 신경분포가 더 치밀하다는 사실에서 확인할 수 있었다(Heider et al., 2001). 발정주기가 있는 암컷 랫드에 estradiol valerate (EV)를 일회 근육주사하여 PCO의 가장 일반적인 형태를 유발할 수 있으며(Brawer et al., 1986), 이 때 우성 배란전난포(dominant preovulatory follicles)의 결핍과 안드로젠을 생산하는 비대된 난포막층을 포함하는 중간 크기의 다발성 동난포(antral follicle)가 존재하는 난소를 유발한다(Lara et al., 2000). EV를 주사한 랫드는 내분비학적 및 형태학적으로 사람의 PCOS와 몇 가지의 유사한 특징을 갖게 된다(Parra et al., 2007). PCO가 유발된 랫드에서 난소의 교감신경 활성화는 정상적인

발정주기를 가지고 있는 랫드에서보다 높으며 이는 낮은 발현을 보이는 아드레날린성 수용체를 가진 난소에서 노르에피네프린(norepinephrine, NE)을 많이 유리하거나 포함하고 있기 때문이다(Barria et al., 1993; Lara et al., 1993, 2000).

EV에 의해 PCO가 유발된 랫드에서 난소의 교감신경계 활성화가 높게 나타나는 것은 말초 교감신경계의 발달에 필요한 표적 유래 뉴로트로핀(Levi-Montalcini, 1987)인 난소의 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)의 합성증가에 의한 것이다(Stener-Victorin et al., 2003). 정상 랫드의 난소에서 NGF는 난포벽의 세포에서 합성되며(Dissen et al., 1996), NGF의 활성화는 EV에 의한 PCO에서 선(gland)로의 노르에피네프린 배출을 촉진시키는 인자가 될 수 있다고 보고되고 있다(Lara et al., 2000).

PCOS가 있는 여성에서 배란유도를 위해 clomiphene citrate, metformin 또는 이를 혼합하여 실시하는 약물치료는 치료효과에도 불구하고 불가피한 부작용을 유발할 수 있으며(Kousta et al., 1997), 따라서 이러한 약물치료를 대체하거나 감소시킬 수 있는 대체치료법이 필요한 실정이다. 그 중 약용 허브와 홍삼사포닌(red ginseng total saponins, GTS)은 부분적으로 EV를 처치한 랫드의 난소에서 NGF의 양을 줄일 수 있다고 보고되고 있다(Lee et al., 2003; Pak et al., 2005). 또한 전침은 효과적인 대체치료법 중 하나로 교감신경계에 영향을 미친다고 알려져 있다(Andersson, 1993). 실제로 전침치료는 PCOS가 발생한 여성의 1/3 이상에서 정상적인 배란을 유도하며 어떠한 부작용 없이 내분비 및 신경내분비를 정상화시켰다고 보고하였다(Stener-Victorin et al., 2000). 또한 스테로이드로 유발된 마우스 PCO 모델에서 전침이 난소의 고농도 NGF를 감소시켰으며(Stener-Victorin et al., 2000, 2003; Bai et al., 2004), corticotrophin 유리 인자(Stener-Victorin et al., 2001) 및 endothelin-1(Stener-Victorin et al., 2003)을 감소시켰다고 보고하고 있다.

Ginsenoside는 인삼 사포닌의 주된 활성 물질로 알려져 있어 많은 연구가 이뤄지고 있다. Ginsenoside의 잠재적인 효과는 항암, 면역조절, 항염증, 항알러지, 항동맥경화, 항고혈압, 항당뇨병 효과뿐만 아니라 항스트레스 효과 및 중추신경계에도 영향을 미친다(Christensen, 2009). 그리고 고려홍삼 GTS는 랫드의 PCO 모델에서 NGF의 조절에도 영향을 미친다(Pak et al., 2005). 따라서 본 연구에서는 랫드에서 EV를 투여하여 PCO를 유발하였을 때 난소의 교감신경분

포에 GTS의 투여가 미치는 영향과 NGF mRNA와 NGF 단백질의 발현 및 생성에 대해서도 알아보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 군분리

4일 간격의 성주기를 보이며 체중이 190~210 g인 7주령의 암컷 Sprague-Dawley 랫드 21마리를 샴타코(오산, 한국)에서 구입하였고 실험실 환경적응을 위하여 1주간 예비사육 후 실험을 실시하였다. 본 실험은 전남대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 표준작업지침서에 따라 수행되었으며 사육실 조건은  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $50 \pm 5\%$ 의 상대습도와 12시간의 명암주기를 유지하고 물과 사료(삼양사료, 대전, 한국)는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험동물은 oil 대조군, EV 대조군 및 홍삼사포닌(GTS) 투여군으로 나누고 각 군마다 7마리씩 배치하였다. Oil 대조군은 sesame oil을 0.2 mL 근육주사 하였고, EV 대조군은 estradiol valerate (EV)를 4 mg씩 근육주사 하였으며, GTS 투여군은 4 mg의 EV를 근육주사한 다음 60일 후 홍삼사포닌 100 mg/kg을 2일 간격으로 복강 내 주사하였으며 이를 60일 동안 실시하였다.

### 2. 다당성난소의 유발

박 등의 방법(Pak et al., 2005)에 준하여 EV 대조군과 GTS 투여군의 14마리 랫드에 4 mg의 EV (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)를 0.2 mL의 sesame oil (Sigma, USA)에 용해시켜 각 동물에 1회 근육주사 하였다. 그리고 7마리의 랫드는 대조군으로서 sesame oil 0.2 mL를 근육주사 하였다. PCO를 완전하게 유발시키기 위해 주사 60일 후에 실험을 시작하였다.

### 3. Ginseng total saponin (GTS)

GTS는 KT & G 중앙연구원(대전, 한국)에서 제공받았으며 다음과 같은 11가지 주된 배당체 및 ginsenoides를 포함하고 있었다; Rb1 (18.26%), Rb2 (9.07%), Rc (9.65%), Rd (8.24%), Re (9.28%), Rf (3.48%), Rg1 (6.42%), Rg2 (3.62%), Rg3 (4.7%), Ro (3.82%), Ra (2.91%) 및 다른 미미한 ginsenosides (20.55%). GTS는 생리식염수에 용해시켜 복강주사 하였다.

### 4. 난소 형태의 관찰

실험종료 시, 모든 랫드를 chloral hydrate (500 mg/kg)를 복강주사하여 전신마취를 실시한 후 난소를 적출하여 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.4)에 고정액 4% paraformaldehyde-4% sucrose를 처치하였다. 또한 적출된 난소를 동일한

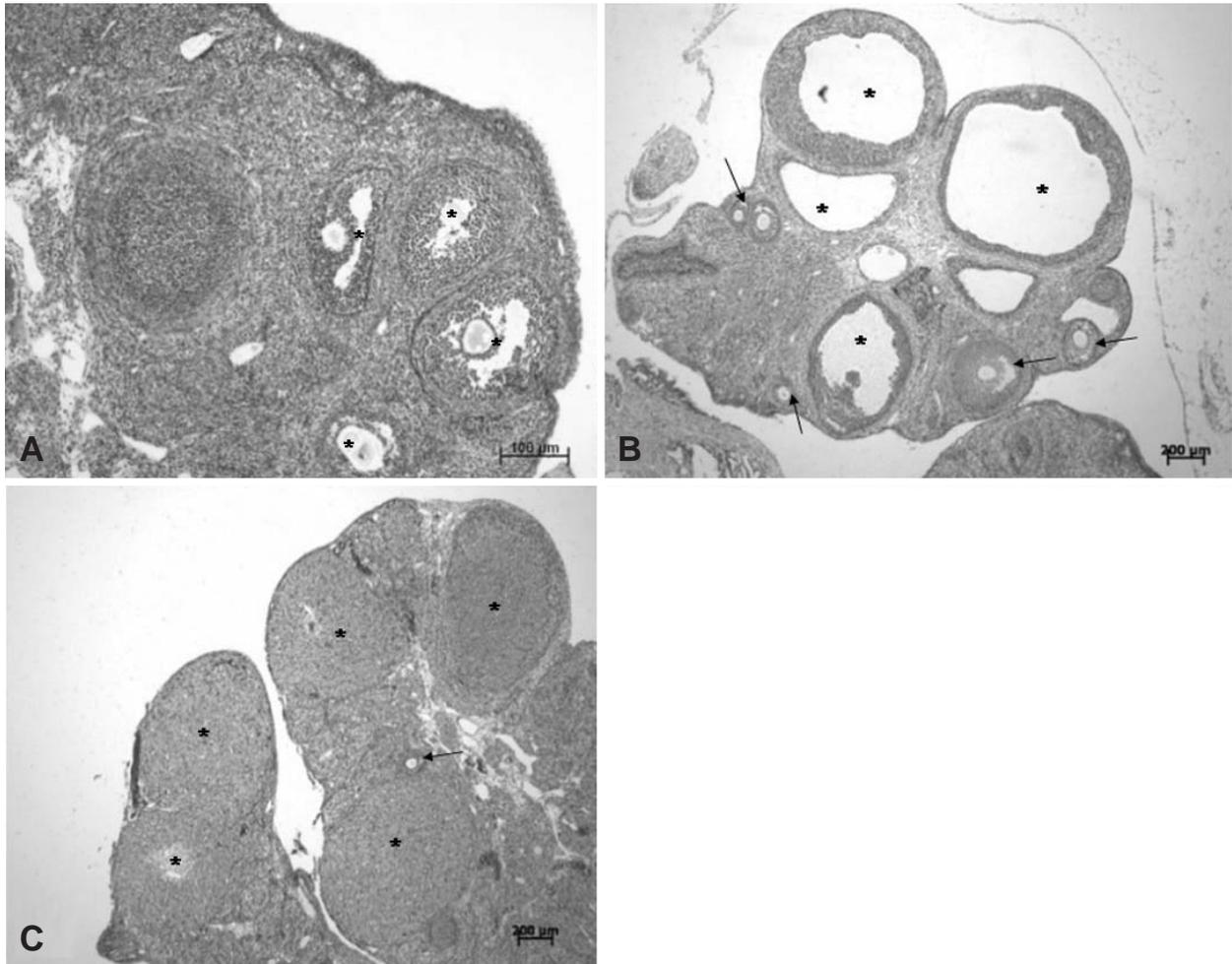
고정액에  $4^\circ\text{C}$ 에서 12시간 동안 고정시켰으며 파라핀 포매에 의해  $4 \mu\text{m}$  두께의 절편으로 제작하여 H & E염색을 실시하여 관찰하였다. 핵이 있는 난모세포를 포함하는 난포를 계수한 후 전문적인 병리학자가 분석하였다. 난자 변성이나 과립막 세포의 농축이 하나라도 관찰되면 폐쇄난포로 분류하였으며, 그렇지 않으면 건강하다고 분류하였다. 또한 폐쇄난포의 형태학적 특성을 과립막 세포 내에서 농축핵이 흩어져 있거나 기저막으로부터 과립막 세포층의 박리, 기저판(basal lamina)의 균열 및 난포강 내 세포 잔여물의 존재로 하여 관찰하였다.

### 5. 면역학적 단백질 검출법 (Western blot analysis)

EV를 투여한 랫드의 난소 조직으로부터 NGF 단백질의 발현을 분석하기 위하여 면역학적 단백질 검출법을 사용하였다. 난소 조직은 150 mM NaCl, 1% NP-40, 50 mM Tris-Cl (pH 7.4), 2 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 2 mM  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 50 mM NaF, 2 mM EDTA (pH 7.4)와 단백질분해효소 억제제인 leupeptin과 aprotinin을 첨가한 NP-40 lysis buffer를 이용하여 총 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질은 Dc Protein assay kit (Bio-Rad Laboratories, USA)를 이용하여 30 mg 씩 같은 양을 정량하여 실험에 사용하였고 SDS 12%-polyacrylamide겔을 이용 전기영동을 통해 단백질을 분리했다. 분리한 단백질은 nitrocellulose막으로 이동시킨 후, 5% skim milk in PBS-T를 이용하여 차단시켰고 PBS-T로 15분간 3번 세척 후, anti-rabbit NGF 항체 (Abcam, UK)를 5% skim milk in PBS-T에 1:2,500으로 희석하여 넣고  $4^\circ\text{C}$ 에서 다음날까지 반응시켰다. 다음으로 PBS-T로 15분간 3번 세척하고 HRP (horseradish-peroxidase)가 붙어있는 goat-anti-rabbit 2차 항체 (Santa cruz biotechnology Inc, USA)를 5% skim milk in PBS-T에 1:10,000으로 희석하여 넣고 실온에서 1시간 동안 처리한 후 ECL (Amershampharmacia, UK)을 이용하여 발색시킨 후 현상하였다. 현상 후 나타난 단백질 밴드는 Science lab Image Gauge (FUJI FILM, JAP) 프로그램을 이용, anti-mouse  $\beta$ -actin 항체 (Sigma, USA) 밴드를 대조군으로 하여 각 밴드의 밀도를 측정하여 정량하였다.

### 6. 역전사중합효소반응 (Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

EV를 투여한 랫드의 난소 조직을 적출한 후 Tri reagent (MRC Inc, Montgomery Rd, CIN, USA)를 이용하여 총 RNA를 추출하였다. Superscript one-step reverse transcriptase (Invitrogen, USA)는 추출한 총 RNA 1 mg으로부터 cDNA를 합성하기 위해 사용되었고, Ex Taq polymerase (TaKaRa Korea, Seoul, KOR)를 이용하여 Rat NGF PCR 반응을 수행하였다. Rat NGF 특이적 프라이머인 F-5'-CTTCAGCATT



**Fig. 1.** Morphological changes of the ovary. A) Oil control; B) EV control; C) EV plus GTS group. A): Various stages of developing follicles (asterisks) are found in the ovarian cortex, B): Cystic dilatation of follicles (asterisks) and some developing follicles (arrows) are identified, C): Many corpora lutea (asterisks) and a developing follicle (arrow) are noted.

CCCTTGACAC-3', R-5'-TGAGCACACACACGCAGGC-3', 크기: 592 bp (Lobos E et al., 2005)를 제작하여 PCR을 수행하였으며 PCR 반응 후 생산물은 ethidium bromide가 첨가된 1.5% 아가로스 겔에 전기영동 후 UV를 조사하여 확인하였다. 전기영동을 통한 PCR 생산물의 양은 시각화된 밴드의 밀도를 통해 정량하기 위해 GAPDH 프라이머 F-5'-CCATGGAGAAGGCTGGG-3, R-5'-CAAAGTTGTCATG GATGACC-3', 크기: 199 bp를 대조군으로 이용하여 수행했다. 랫드의 NGF PCR 수행 조건은 94°C 40초, 64°C 40초, 72°C 40초로 28주기였고 GAPDH는 94°C 30초, 56°C 30초, 72°C 30초로 29주기였다. 모든 PCR 반응에서 초기 변성 온도와 마지막 신장 온도는 각각 94°C 5분과 72°C 5분으로 하였다. 각 밴드의 밀도 측정은 Science lab Image Gauge (FUJI FILM, JAP) 프로그램을 이용하여 수행하였다.

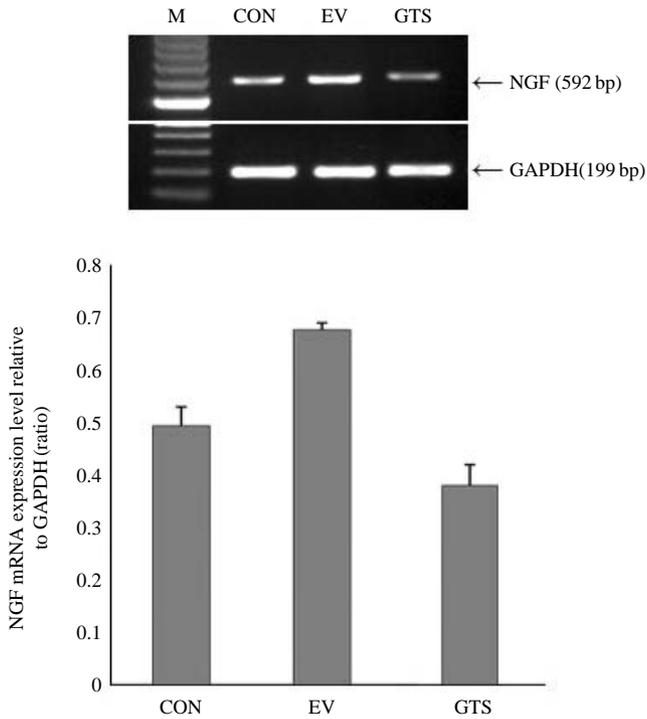
## 7. 통계처리

수치는 평균±표준편차로 나타내었다. 측정된 항목의 결과에 대한 통계분석은 Student's t test와 다중비교를 위한 Bonferroni 검정법을 사용하였다. 또한 1%의 유의수준( $p < 0.05$ )에서 유의성을 검증하였다.

## 결 과

### 1. 조직학적 소견

Oil 대조군의 난소는 정상적으로 관찰되었으며 난소피질에서 일차, 이차 및 발육난포가 명확하게 관찰되었다(Fig. 1A). EV 대조군의 난소는 낭포성으로 확장된 난포와 몇 개의 발달하고 있는 난포를 확인할 수 있었다(Fig. 1B). GTS



**Fig. 2.** Expression of NGF mRNA in ovaries. Representative agarose gels of RT-PCR amplification of NGF mRNA from ovaries with treatments of estradiol valerate only (EV) or EV plus ginseng total saponins (GTS). CON, oil control; EV, EV-control; GTS, EV plus GTS.

투여군의 폐쇄황체 (corpora lutea)와 백체 (corpora albicantia)의 수는 EV 대조군보다 유의적으로 많은 반면 낭포성 난포의 수는 더 적었다. 또한 EV 대조군에 비해 많은 수의 발육 중인 이차난포가 관찰되었다(Fig. 1C).

## 2. 난소 내 NGF mRNA의 발현

NGF mRNA의 발현은 oil 대조군보다 EV 대조군에서 유의성 있게 높았으며, GTS 투여군은 EV에 의해 유발된 다낭성난소에서 증가된 NGF mRNA 수준을 억압하여 oil 대조군과 유사한 수준으로 낮추주었다(Fig. 2).

## 3. 난소 내 NGF 단백질의 발현

면역학적 단백질 검출법에 의해 NGF 단백질이 세 군 모두에서 발견되었으나 군들 사이에서의 NGF 단백질 발현은 유의성 있는 변화를 보이지 않았다(data not shown).

## 고 찰

본 연구에서는 EV를 주사하여 PCO를 유발한 랫드에서 GTS의 투여가 난소의 NGF mRNA 농도를 유의적으로 감

소시킴을 확인할 수 있었다. 이는 EV에 의해 유발된 교감신경 자극의 과활성화가 NGF의 과형성과 함께 우리의 이전 연구에서 동일한 랫드 PCO 모델을 유발했을 때의 면역조직학적 발현 결과와 관련되어 있다고 생각할 수 있다(Lee et al., 2003; Bai et al., 2004). 또한 현재의 랫드 PCO 모델에서 난소의 형태가 다발성 중간 크기의 폐쇄난포 및 동난포를 가지고 있으므로 인해 랫드 PCO 모델로서의 타당성을 입증하였다.

랫드에서 스테로이드에 의해 유발된 PCO는 난포에 낭종을 유발시킨다고 이전의 연구에서도 보고되고 있으며, 이 낭종의 발달은 NGF 합성의 증가와 저친화성 수용체 그리고 난소선(ovarian gland)을 신경지배하는 복강신경절 노르아드레날린성 신경원(celiac ganglion noradrenergic neurons)의 선택적 활성화에 의해 강화된다(Lara et al., 2000). 따라서 신경형성-신경성 조절계(neurotrophic-neurogenic regulatory system)의 활성 증가가 랫드에서 EV에 의해 유발된 난소낭종과 무배란의 과정에 영향을 미칠 수 있을 거라 생각된다(Lara et al., 2000). 이후에 PCO가 있는 랫드에서 NGF에 대한 중화항체와 저친화성 수용체에 대한 antisense oligodeoxynucleotide를 난소에 주입하였을 때 발정주기 및 배란력(ovulatory capacity)을 회복하였다는 실험결과가 말초 교감신경계의 증가된 활성이 PCO가 유발된 랫드의 무배란기에 필요조건이라는 소견을 뒷받침 해주었다(Lara et al., 2000). 따라서 우리의 이전연구(Pak et al., 2005)에서는 NGF 발현에 대한 GTS 전처치의 역할에 대해 연구했던 반면 본 연구에서는 동일하게 EV로 유발시킨 랫드 PCO 모델에서 NGF 발현에 대해 GTS를 후처치 하였을 때의 역할에 대해 확증해보고자 하였다.

본 연구에서 난소 내 NGF mRNA의 발현은 EV 대조군보다 GTS 투여군에서 유의적으로 낮았다. 그러나 난소 내 NGF 단백질은 EV 대조군과 GTS 투여군에서 oil 대조군에 비해 유의적인 차이점을 발견할 수 없었다. 이는 NGF mRNA와 NGF 단백질 사이의 불균형적 전환이 있을 수도 있다고 생각되며 이는 NGF 단백질 전사와 연관된 NGF mRNA가 불완전하게 대체되었거나 GTS 투여에 대한 반응으로 필요한 양보다 더 많은 NGF가 생산되었을 가능성이 있을 것으로 생각된다(Stener-Victorin et al., 2003). 따라서 차후에는 EV에 의해 유발된 PCO와 관련된 아드레날린 수용체와 뉴로트로핀 수용체와의 관계에 대한 연구가 필요할 것이다(Manni et al., 2005).

NGF 조절에서 뇌의 연관성에 대해 현재 진행되고 있는 연구 중 아직 발표되지 않은 결과에서는 NGF 발현을 조절하는 인삼 사포닌의 작용 부위가 뇌 중심부분보다는 말초부분일 것이라 밝히고 있으며, 이는 우리의 이전 연구결과와 동일선상에 있음을 알 수 있다(Pak et al., 2005). 말초부분의 노르아드레날린성 및 펩티드성 반응은 난소의 전반적

기능과 높은 연관성을 가져왔다(Lara et al., 1993). 이는 교감신경이 상난소신경(superior ovarian nerves)을 통해 난소에 도달하기 때문에 GTS의 전달이 난소에 변화를 일으키는 난소 관련 신경계를 차단하는 것으로 생각된다. 실제로 EV로 PCO를 유발한 랫드에서 발정주기와 배란력은 상난소신경의 상호작용과 함께 회복될 수 있다고 보고되고 있다(Barria et al., 1993).

결론적으로, 본 연구에서 GTS의 투여는 난소 내 NGF mRNA의 농도를 유의적으로 감소시켰으며 이는 우리의 이전 연구에서 밝혔던 EV가 랫드에서 난소의 PCO 형태를 유발하며 난소에서의 교감신경의 활성을 조절한다는 결과를 지지해주었다. PCO의 유도를 위한 전달자는 난소 내의 NGF 발현에 의한 교감신경계의 과활성화였으며, GTS는 랫드에서 EV에 의해 유발된 PCO 모델에서 부분적으로 NGF 발현을 조절함을 확인할 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Andersson S: The functional background in acupuncture effects. *Scand J Rehabil Med Suppl* 29 : 31-60, 1993.
- Bai YH, Lim SC, Song CH, Bae CS, Jin CS, Choi BC, Jang CH, Lee SH, Pak SC: Electro-acupuncture reverses nerve growth factor abundance in experimental polycystic ovaries in the rat. *Gynecol Obstet Invest* 57(2) : 80-85, 2004.
- Barria A, Leyton V, Ojeda SR, Lara HE: Ovarian steroidal response to gonadotropins and beta-adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: role of sympathetic innervation. *Endocrinology* 133(6) : 2696-2703, 1993.
- Brawer JR, Munoz M, Farookhi R: Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat. *Biol Reprod* 35(3) : 647-655, 1986.
- Chen BY: Acupuncture normalizes dysfunction of hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *Acupunct Electrother Res* 22(2) : 97-108, 1997.
- Christensen LP: Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects. *Adv Food Nutr Res* 55 : 1-99, 2009.
- Dissen GA, Hill DF, Costa ME, Les Dees CW, Lara HE, Ojeda SR: A role for trkA nerve growth factor receptors in mammalian ovulation. *Endocrinology* 137(1) : 198-209, 1996.
- Franks S: Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 333 : 853-861, 1995.
- Garcia-Rudaz C, Armando I, Levin G, Escobar ME, Barontini M: Peripheral catecholamine alterations in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 49(2) : 221-228, 1998.
- Heider U, Pedal I, Spanel-Borowski K: Increase in nerve fibers and loss of mast cells in polycystic and postmenopausal ovaries. *Fertil Steril* 75(6) : 1141-1147, 2001.
- Kim HS, Lee JH, Goo YS, Nah SY: Effects of ginsenosides on Ca<sup>2+</sup> channels and membrane capacitance in rat adrenal chromaffin cells. *Brain Res Bull* 46(3) : 245-251, 1998.
- Kousta E, White DM, Franks S: Modern use of clomiphene citrate in induction of ovulation. *Hum Reprod Update* 3(4) : 359-365, 1997.
- Lara HE, Dissen GA, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler JL, Ojeda SR: An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat. *Endocrinology* 141(3) : 1059-1072, 2000.
- Lara HE, Ferruz JL, Luza S, Bustamante DA, Borges Y, Ojeda SR: Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. *Endocrinology* 133(6) : 2690-2695, 1993.
- Lee JC, Pak SC, Lee SH, Lim SC, Bai YH, Jin CS, Kim JS, Na CS, Bae CS, Oh KS, Choi BC: The effect of herbal medicine on nerve growth factor in estradiol valerate-induced polycystic ovaries in rats. *Am J Chin Med* 31(6) : 885-895, 2003.
- Levi-Montalcini R: The nerve growth factor 35 years later. *Science* 237(4819) : 1154-1162, 1987.
- Lobo RA: The role of neurotransmitters and opioids in polycystic ovarian syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 17(4) : 667-683, 1988.
- Lobos E, Gebhardt C, Kluge A, Spanel-Borowski K: Expression of nerve growth factor (NGF) isoforms in the rat uterus during pregnancy: accumulation of precursor proNGF. *Endocrinology* 146(4) : 1922-1929, 2005.
- Manni L, Holmång A, Lundeberg T, Aloe L, Stener-Victorin E: Ovarian expression of alpha (1)- and beta (2)-adrenoceptors and p75 neurotrophin receptors in rats with steroid-induced polycystic ovaries. *Auton Neurosci* 118(1-2) : 79-87, 2005.
- Pak SC, Lim SC, Nah SY, Lee JA, Hill JA, Bae CS: Role of Korean red ginseng total saponins in rat infertility induced by polycystic ovaries. *Fertil Steril* 4 Suppl(2) : 139-4311, 2005.
- Paradisi R, Grossi G, Venturoli S, Capelli M, Porcu E, Fabbri R, Pasquali R, Flamigni C: Evidence for a hypothalamic alteration of catecholamine metabolism in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 29(3) : 317-326, 1988.
- Parra C, Fiedler JL, Luna SL, Greiner M, Padmanabhan V, Lara HE: Participation of vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary. *Reproduction* 133(1) : 147-154, 2007.
- Stener-Victorin E, Lundeberg T, Cajander S, Aloe L, Manni L, Waldenström U, Janson PO: Steroid-induced polycystic ovaries in rats: effect of electro-acupuncture on concentrations of endothelin-1 and nerve growth factor (NGF), and expression of NGF mRNA in the ovaries, the adrenal glands, and the central nervous system. *Reprod Biol Endocrinol* 1 : 33, 2003.
- Stener-Victorin E, Lundeberg T, Waldenström U, Bileviciute-Ljungar I, Janson PO: Effects of electro-acupuncture on corticotropin-releasing factor in rats with experimentally-induced polycystic ovaries. *Neuropeptides* 35(5-6) : 227-231, 2001.
- Stener-Victorin E, Lundeberg T, Waldenström U, Manni L, Aloe L,

Gunnarsson S, Janson PO: Effects of electro-acupuncture on nerve growth factor and ovarian morphology in rats with experimentally induced polycystic ovaries. *Biol Reprod* 63(5) : 1497-1503, 2000.

Stener-Victorin E, Waldenström U, Tägnfors U, Lundeberg T, Lindstedt G, Janson PO: Effects of electro-acupuncture on anovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 79(3) : 180-188, 2000.

#### < 국문 초록 >

사람에서의 PCO와 몇몇 측면에서 유사한, 실험적으로 유발된 다낭성난소(polycystic ovary, PCO)는 장기간 작용하는 estradiol valerate (EV)에 의해 유발된다. 랫드에서 스테로이드로 유발한 PCO 모델에서 홍삼 총사포닌의 역할에 대한 우리의 이전연구는

전침이 난소의 nerve growth factor (NGF) 농도를 조절하는 것을 검증하였다. 실제로 PCO와 관련된 난소 기능부전의 병리기전에서 신경성 요소의 관련성은 난소로의 교감신경유출(sympathetic outflow)의 증가로 인해 높아진다. 따라서 본 연구에서는 치료제로서의 GTS 투여가 PCO를 유발한 랫드에서 교감신경 활성을 조절할 것이라는 가설을 시험해보고자 하였다. 본 연구에서는 스테로이드로 유발한 PCO에 내재하고 있는 병태생리학적 과정과 연관된 NGF 단백질과 NGF mRNA를 분석함으로써 이루어졌다. PCO가 유발된 랫드에서 EV 대조군은 oil 대조군과 비교하였을 때 유의적으로 높은 NGF mRNA의 발현을 나타내었으며, GTS 투여군은 EV 대조군에 비해 유의적으로 낮은 NGF mRNA의 발현을 나타내었다. 그러나 NGF 단백질은 oil 대조군에 비해 EV 대조군과 GTS 투여군에서도 유의적인 변화를 발견할 수 없었다. 이러한 결과는 EV가 설치류에서 낭종 형성과 무배란을 유발하는 병리학적 단계의 구성요소일 수 있는 난소의 신경항성 단계(neurotrophic state)를 조절한다고 생각할 수 있다.