

Effect of *Gastrodia elata* Blume Extract (TVB-1000) on the Menopausal Disorder Model in Ovariectomized Rats

Hae-Ryeong Lim¹, Eun-Su Ji¹, Hak-Kyu Byun¹, So-Min Lee², Hyeon-Yeol Ryu² and Deug-Chan Lee^{3*}

¹Thevaluebiotech,32, Soygang-gang-ro, Chuncheon 24232, Kangwon-do, Korea

²Bio Technology Division, GLP Center, Korea Conformity Laboratories(KCL), 8, Gaetbeol-ro 145 beon-gil, Yeonsu-gu, Incheon 21999, Korea

³Department of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

Received October 14, 2022 /Revised January 31, 2023 /Accepted March 15, 2023

A decrease in ovarian function and sex hormone production with aging results in hormone deficiency, which causes menopause in women. Natural products have been investigated to develop estrogen-like substances to improve menopausal status in women. This study was performed to evaluate the efficacy of *Gastrodia elata* Blume extract (TVB-1000) in ovariectomized rats. After a recovery period of 7 days, the TVB-1000 treatment group was orally administered at 16, 40, and 100 mg/kg for 12 weeks. In the OVX-positive control group, 17 β -estradiol was injected subcutaneously into the dorsal region of rats at a dose of 10 μ g/kg. Results show that TG and LDL-C, which are cardiovascular disease markers, were significantly decreased in all concentrations of TVB-1000 administration in the treatment group, and the LDL-C/HDL-C ratio significantly decreased in the medium and high TVB-1000 concentrations of the treatment group. In addition, in the high concentration TVB-1000 treatment group, the weight of abdominal fat decreased with statistical significance. The low-dose and medium-dose administration groups showed statistical significance and the expression level of their ER- α increased, but ER- β did not show a significant change. The above experiment shows that owing to the estrogen-like effect of TVB-1000, it can be useful as a functional food material to prevent cardiovascular disease, which is one of the menopausal symptoms.

Key words : *Gastrodia elata* Blume, menopausal, ovariectomized rats

서 론

여성 갱년기는 40~60세 여성 대부분에게 나타나는 증상이다. 신체의 노화는 여성의 자궁과 난소의 기능을 저하시켜 폐경이 시작된다. 폐경으로 인한 전반적인 증상들을 통틀어 여성 갱년기 질환이라 칭한다. 이러한 여성 갱년기의 대표적인 증상으로는 안면홍조, 성욕감퇴, 우울증, 골다공증 등이 있다. 이러한 갱년기 질환의 주요 원인은 난소 기능 저하로 인한 성호르몬 분비 감소이다. 여성의 성호르몬은 에스트로겐과 프로게스테론이 있으며 일반적으로 여성의 난소에서 생산되고, 이 중 에스트로겐은 체내 신진대사에 중요한 역할을 한다. 체내 세포에는 에스트로겐 수용체(Estrogen receptor, ER)가 있으며 체내에서 합성된 에스트로겐이 이 ER에 결합한다. 이 대사경로

는 정상적인 삶을 유지하는 데 도움을 주며 다수의 중요한 신호를 전달하여 신진대사를 조절한다. 그러나 갱년기에는 난소의 기능 상실로 에스트로겐 생산이 감소하고 체내에서 필요한 양을 공급하지 못해 호르몬 조절 장애를 일으키게 된다[22, 31]. 갱년기 여성에게 중요한 에스트로겐은 크게 에스트라디올, 에스트론, 에스트리올 세 가지로 나뉜다.

갱년기 질환은 건강 여부와 관계없이 거의 모든 중년 여성이 경험한다. 따라서 치료 또는 예방 방법이 광범위하게 연구되었다. 일반적인 치료법 중 하나는 천연물을 섭취하여 천연물에 존재하는 에스트로겐 유사 물질이 에스트로겐의 역할을 대체하게끔 하는 것이다[14, 21]. 예를 들어 식물성 에스트로겐을 함유한 콩과 식물 추출물로 이 추출물 속엔 에스트로겐 유사 효과가 있는 물질이 들어있다. 식물성 에스트로겐은 식물에서 유래하는 천연화합물로서 에스트로겐과 구조적 혹은 기능적으로 유사성을 보이며, 생리적으로는 에스트로겐과 항에스트로겐의 특성을 가진다. 대표적인 에스트로겐 유사물질로 식물성 에스트로겐의 일종인 이소플라본(isoflavones) 중 daidzein, formononetin, genistein, biochanin A 등이 있다[33]. 신체의 에스트로겐 결핍에도 불구하고 이러한 식물성 에스트로

*Corresponding author

Tel : +82-33-250-6488, Fax : +82-33-259-5642

E-mail : dcllee@kangwon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

겐은 ER에 결합하고 생물학적 신호를 전달할 수 있다. 식물성 에스트로겐은 갱년기 질환을 치료하고 예방하는 능력이 있다. 또한, 식물성 에스트로겐은 합성 에스트로겐보다 부작용이 적어 소비자에게 더 많은 신뢰성을 제공할 수 있다[2, 25].

천마(*Gastrodia elata* Blume)는 난초과에 속하는 다년생 기생 식물로 뿌나무 속의 식물로부터 영양을 공급받아 성장 및 번식한다. 한국, 중국 등 동남아 고산지대에서 자생한다. 천마는 항산화제, 항심뇌혈관 질환, 항염증 및 진통제, 기억력 향상 및 노화 방지 활성 등 여러 유익한 특성을 가지고 있다[6, 9, 15].

본 연구진의 이전 연구결과에서 MCF-7 cell을 사용하여 에스트로겐반응유전자(trefoil factor 1, progesterone receptor) 및 단백질(ERK, MEK1/2, ER- α / β) 발현증가 결과를 통해 *in vitro*에서 천마추출물의 에스트로겐 유사활성을 확인하였다. 또한, 천마추출물내에서 에스트로겐 유사활성을 나타내는 성분인 bis-(4-hydroxybenzyl)ether를 확인하였다[13]. 본 연구는 천마추출물(TVB-1000)의 여성 갱년기 증상에 대한 영향을 평가하기 위해 난소를 적출한 암컷 Sprague -Dawley rat (SD rat)을 이용하여 시험물질인 TVB-1000을 12주간 매일 1회 경구 투여하여 나타나는 안전성 및 갱년기 관련 지표에 대한 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

시험물질 천마추출물(TVB-1000) 제조

건조한 천마(김천, Korea)에 30% 주정(대한주정라이프, Korea)을 첨가하여 80±5°C에서 3시간 동안 추출하였다. 추출액은 Batch 농축기(춘천바이오산업진흥원, Korea)를 사용하여 60-70°C에서 농축하였다. 이 농축물을 분무건조(Ein system, 춘천바이오산업진흥원, Korea)하여 얻어낸 분말을 천마추출물(TVB-1000)으로 사용하였다.

실험동물

실험동물은 7주령 암컷 SD rat (샘타코 BIOKOREA, Korea)을 공급받아 6일간 순화시킨 후 실험에 사용하였다.

다. 실험동물은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20%, 명암주기 12시간 주기로 일정하게 유지된 사육실에서 표준케이지에 3마리 이하로 수용해 사육했다. 사료와 물은 자유롭게 공급하였다. 본 연구에서의 모든 동물실험은 한국건설 생활환경시험연구원 동물실험윤리위원회의 승인하에 수행되었다(승인번호: IA21-01814). SD rat의 양쪽 난소를 절제하여 갱년기를 유도(OVX)하였고, Sham 대조군은 난소 적출을 제외한 모든 시술 과정을 동일하게 실시하였다. 난소 절제 후 1주일간 회복기를 거친 후 Table 1과 같이 6개 군으로 나누어 실험을 진행하였다. 실험동물의 몸무게는 주 1회 측정하였고, 난소 무게와 복부지방은 12주간 시료 투여 후 측정하였다.

시료 투여

난소 절제 1주일 후부터 Sham군, OVX군에는 zonde를 이용하여 증류수를 경구투여하였고, Low, Medium, High 군에는 TVB-1000을 각 16 mg/kg, 40 mg/kg, 100 mg/kg 용량으로 경구투여하였다. 각각의 경구투여 액량은 5 ml/kg/day로 하였다. E2군에는 17 β -estradiol (에스트라디올데포주, 제이텍바이오젠, Korea)를 10 μ g/kg 용량으로 피하 투여하였으며 투여량은 1 ml/kg으로 하였다. 투여는 12주간 하루 1회 진행하였다.

혈액검사

혈청은 시료 투여 12주 후 혈액을 회수하여 분석하였다. 혈청 calcium (Ca), inorganic phosphorus (IP), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), total cholesterol (CHO), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT)의 함량은 혈액생화학검사기(Hitachi7180, HITACHI, Japan)를 이용하여 측정하였다. Estradiol 함량은 Estradiol ELISA Kit (Abbexa LTD, Cambridge, UK)을 사용하였다.

자궁 내 ER- α , ER- β 단백질 발현 분석

투여 종료 후 부검하여 얻은 자궁 조직에서 단백질을

Table 1. The Composition of experimental group

Experimental group	Sex	Number	Dose amount (ml/kg)	Dosage (mg/kg/day)
Sham	Female	8	5	0
OVX ¹⁾	Female	8	5	0
Low	Female	8	5	16
Medium	Female	8	5	40
High	Female	8	5	100
E2	Female	8	1	10 ²⁾

¹⁾ovariectomized, ²⁾unit: μ g/kg

분리하였다. 단백질 분리시 protease inhibitor cocktail P3100 (GenDEPOT, Barker, TX, USA) 및 phosphatase inhibitor P3200 (GenDEPOT)를 처리하여 추출한 단백질이 분해되는 것을 방지하였다. 분리한 단백질을 정량한 후, 동일양을 사용하여 분석하였다. ER- α 와 ER- β 를 ELISA kit을 사용하여 분석하였으며, ER- α 는 abx155481, ER- β 는 abx155482 (Abbexa LTD, Cambridge, UK)를 사용하였다.

통계학적 방법

모든 실험결과에 대한 통계 처리는 SPSS 12.0 K 프로그램(SPSS, Chicago, IL, U.S.A.)을 이용하였다. 시험군 간의 비교는 Student's t-test와 One-way ANOVA를 사용하였으며 $p < 0.05$ 이상인 경우에 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

결과 및 고찰

실험동물의 체중변화

폐경 후 여성은 체내 콜레스테롤이 에스트로겐으로 전환율이 감소하면서 혈중 콜레스테롤이 상승하고, 지방조직의 증가로 인해 내장지방이 증가하면서 복부지방이 늘어나게 된다[27, 29]. 난소를 적출한 실험동물은 에스트로겐의 결핍 때문에 전반적으로 체중이 증가하는 것으로 알려져 있다[20]. 난소절제 흰 쥐에서 비만이 유도되는 것은 식이 섭취량의 증가와 관련지어졌다[18]. 그러나 식이 섭취량의 변화 없이 즉, 에너지 과잉 섭취와 상관없이 난소절제 마우스에서 에너지 소비가 감소하고, 지방조직의 염증 반응이 증가하며, 간 조직의 지방합성 유전자의 발

현 증가와 함께 지방간이 나타났다는 연구 결과가 있다 [23]. 사람이나 실험동물에서 모두 에스트로겐 결핍은 체중증가와 관련되며 특히, 복부지방의 증가를 초래하여 대사증후군, 심혈관질환 등의 위험을 증가시킨다[20]. 이와 같은 연구결과와 마찬가지로 본 실험에서도 난소를 절제하고 17 β -estradiol을 투여한 E2군을 제외한 모든 실험군(OVX, Low, Medium, High)에서 sham군에 비해 체중이 증가하는 것을 알 수 있었다. OVX군의 1 주차부터 시험종료 시까지의 체중이 sham군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였고($p < 0.01$), E2군의 1 주차부터 투여 종료시까지의 체중은 OVX군에 비하여 통계학적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). 그 외 체중측정 결과, 모든 시험물질 투여군(Low, Medium, High)에서 OVX군과 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Table 2).

자궁 및 복부지방에 미치는 영향

폐경이 진행되면 자궁조직이 위축되어 자궁 중량이 감소하는 것으로 보고되고 있다[17]. 자궁의 무게가 감소한 것은 자궁의 조직유지에 필요한 17 β -estradiol이 분비되지 않기 때문으로 다른 연구보고와 같은 결과이다[7]. 갱년기 여성은 에스트로겐 결핍으로 인해서 제 2형당뇨, 대사증후군, 심혈관계 질환 등이 발생한다. 에스트로겐과 에스트로겐 수용체는 포도당과 지질대사를 조절하며 내장지방의 축적에 관여하는데 에스트로겐 결핍으로 인해 포도당과 지질대사 조절에 불균형이 발생하여 체지방분포도에 변화가 생겨 복부비만 및 복부 내장지방이 증가하게 된다[16]. 에스트로겐 유사 물질을 섭취한 OVX 쥐들은 복부 내장지방이 감소한다는 연구 결과가 있다[3]. 본 실험

Table 2. Effects of TVB-1000 on the body weight in female OVX rats

Week	Summary of body weight (g)					
	Sham	OVX	Low	Medium	High	E2
0	228.54±7.03	231.11±12.56	231.67±12.63	231.30±11.62	231.38±11.19	231.48±11.02
1	238.72±5.83	264.94 ^{##} ±15.19	269.00±14.52	264.10±14.25	266.25±13.86	230.25 ^{**} ±10.33
2	258.20±15.67	301.92 ^{##} ±16.55	303.31±15.02	295.18±15.69	296.32±20.08	235.75 ^{**} ±14.07
3	265.27±15.2	320.01 ^{##} ±15.35	325.08±16.12	314.10±19.31	313.99±20.62	240.22 ^{**} ±15.12
4	270.59±15.55	332.02 ^{##} ±15.61	337.28±18.74	325.28±21.25	328.02±26.81	243.91 ^{**} ±16.38
5	275.10±10.56	344.38 ^{##} ±17.25	348.86±19.97	337.04±24.15	338.73±31.23	245.82 ^{**} ±20.82
6	284.37±15.94	350.41 ^{##} ±15.43	354.41±22.03	342.39±24.68	344.31±34.61	247.50 ^{**} ±16.72
7	289.68±21.51	361.60 ^{##} ±18.65	367.03±24.98	355.43±23.3	358.38±39.16	255.43 ^{**} ±17.31
8	293.61±16.8	368.52 ^{##} ±18.93	373.33±26.14	361.91±25.37	363.72±41.32	259.51 ^{**} ±17.33
9	298.64±19.56	374.72 ^{##} ±20.68	380.32±29.04	369.00±25.58	368.49±41.85	261.86 ^{**} ±16.7
10	304.03±17.47	377.08 ^{##} ±20.36	382.51±27.63	373.82±26.48	375.71±42.32	264.03 ^{**} ±18.04
11	305.52±22.63	380.22 ^{##} ±20.14	382.09±27.94	375.76±27.5	376.36±43.15	264.78 ^{**} ±18.04
Necropsy	289.60±17.95	362.07 ^{##} ±20.39	363.48±25.77	356.87±27.79	357.82±43.03	249.52 ^{**} ±16.82

All values are expressed as M ± SD.

^{##}: Statistically significant when compared to Sham (student's t-test), $p < 0.01$

^{**}: Statistically significant when compared to OVX (student's t-test), $p < 0.01$

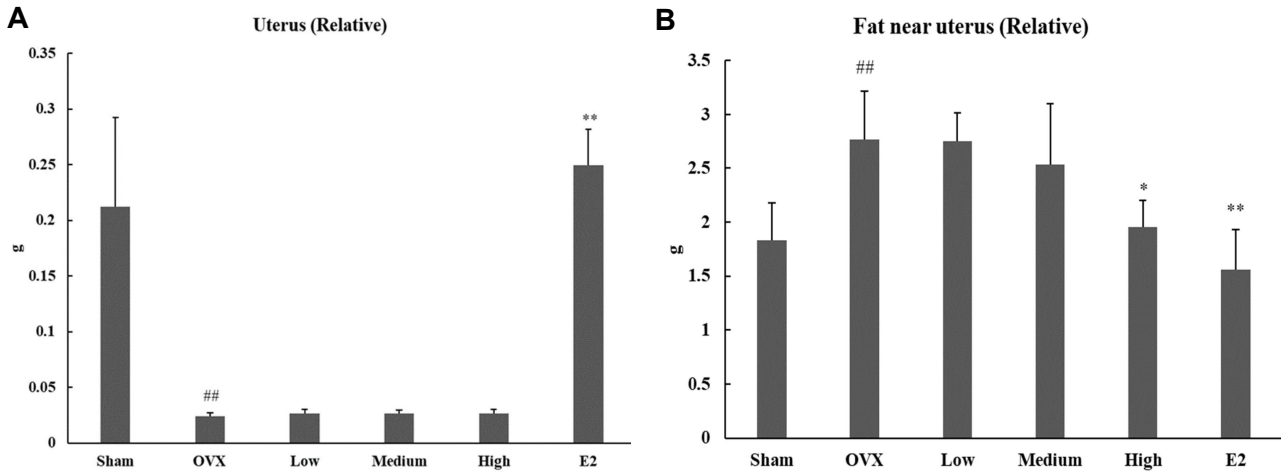


Fig. 1. Effects of TVB-1000 on the relative organ weights in female OVX rats. All values are expressed as M ± SD. ^{##}: Statistically significant when compared to Sham (student's t-test), $p < 0.01$, ^{**}: Statistically significant when compared to OVX (student's t-test), $p < 0.01$, ^{*}: Statistically significant when compared to OVX (One-way ANOVA), $p < 0.01$.

험에서 자궁과 복부지방 무게 측정결과(Fig. 1), OVX군의 자궁의 무게가 sham군에 비해 통계학적으로 유의성을 보이며 감소하였고, 복부지방 무게가 sham군에 비해 통계학적으로 유의성을 보이며 증가하였다($p < 0.01$). OVX 모델에 17 β -estradiol을 투여한 E2군의 자궁 무게가 OVX군에 비해 통계학적으로 유의성을 보이며 증가하였고, 복부지방의 무게는 감소하였다($p < 0.01$). OVX군과 OVX 모델에 시험물질인 TVB-1000을 투여한 시험군을 비교한 결과, High군의 복부지방 무게가 OVX군에 비해 통계학적 유의성을 보이며 감소하였다($p < 0.01$). OVX군과 TVB-1000 투여군(Low, Medium, High) 간 자궁 중량 차이의 유의성은 관찰되지 않았다. 이는 실험에 사용된 TVB-1000 투여군이 자궁무게에는 영향을 미치지 않으나, 복부지방무게를 효과적으로 감소시키는 것으로 판단된다. 이와 유사한 실험에는 황기 추출물이나 딱총나무 추출물 투여가 자궁무게에 영향을 미치지 않은 것으로 나타난 결과와 동일하다[7]. 그리고 에스트로겐 유사 활성 성분이 난소절제로 인해 비대해지는 지방세포 크기를 감소시킴으로서 자궁주위 지방 무게가 감소된다는 연구결과가 있다[5]. 대표적인 식물성 에스트로겐이라고 알려져 있는 체니스테인을 난소 절제한 마우스에게 급여한 연구[5]와 식물성 쿠마린 유도체를 난소절제 쥐에게 급여해 내장지방의 변화 연구[3]와 유사하게 내장 지방조직무게가 감소하였다. 이처럼 TVB-1000 투여군의 복부지방 감소도 에스트로겐 유사활성에 의한 것으로 판단된다.

혈중 지질변화에 미치는 영향

혈청 내 생화학적 분석 결과는 Table 3에 나타내었다. 혈청 내 칼슘, 인, ALP 등은 실험군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 본 연구에서는 심혈관질환 관련 바이오

마커인 CHO, TG, HDL-C 및 LDL-C를 평가하였다. 건강한 젊은 여성의 경우 같은 나이의 남성에 비해 콜레스테롤 농도 분포를 보면 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방의 농도는 낮고 HDL-콜레스테롤 농도는 남성에 비해 상대적으로 높다. 하지만 폐경 여성의 경우 HDL-콜레스테롤 농도는 거의 변화가 없고 중성지방, 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도는 증가한다[11]. 지단백의 형태로 존재하는 혈청 속의 지질은 중성지방이 증가하면 혈관폐쇄 위험이 있는 응고 항진상태가 되면서 고밀도 지단백이 감소되나, 이미 증가된 고밀도 지단백 상태에서는 중성지방이 심혈관의 위험을 증가시키지는 않는다[10]. 그래서 지질간의 인과적 관계가 고려된 저밀도 대 고밀도 지단백 콜레스테롤비(LDL : HDL-C ratio)를 활용하여 질환과의 연관성을 선명하게 확인하는 것이 심혈관질환을 예측하고 관리하는데 도움을 준다[29]. OVX군의 CHO, TG, HDL-C, LDL-C수치가 sham군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.01$). OVX 모델에 17 β -estradiol을 투여한 E2군의 LDL-C수치가 OVX군에 비하여 통계학적으로 유의하게 감소($p < 0.01$)하였다. E2군의 CHO수치는 통계학적 유의성을 보이지 않았지만 감소 경향을 보였다. OVX군과 OVX 모델에 시험물질인 TVB-1000을 투여한 시험군을 비교한 결과, Low, Medium, High 모든 시험군에서 TG와 LDL-C가 통계적으로 유의하게 감소하였다. TG의 경우 농도 의존적이지 않았으나 이와 비슷한 연구 결과로 OVX 쥐에게 estrogenic 효능물질 투여시 TG가 농도 의존적으로 감소하진 않지만 유의하게 감소하는 연구결과가 있다[19, 25, 31]. 따라서 TVB-1000 시험물질 투여군에서 농도 의존성은 없지만 효능이 있다고 해석할 수 있다. 모든 농도에서 통계학적 유의성을 보이지 않았지만, TVB-1000을 투여한 모든 시험군(Low, Medium, High)의

Table 3. Effects of TVB-1000 on the serum biochemical tests in female OVX rats

Parameters ¹⁾	Sham	OVX	Low	Medium	High	E2
ALP ¹ (IU/L)	135±23 ²⁾	149±18	165±34	159±13	167±30	112 ^{**3)} ±22
Ca ² (mg/dL)	9.6±0	9.6±0	9.6±0	9.8±0	9.7±0	10.3 ^{**} ±0
CHO ³ (mg/dL)	94±19.9	134.8 ^{###} ±23.2	111.1±11.5	115.6±17.9	128.9±18.6	120.5±18.3
AST ⁴ (mg/dL)	127±14	144±39	127±12	139±27	121±33	97 ^{**} ±18
ALT ⁵ (mg/dL)	28.5±6.91	32.63±9.29	30±5.07	32.38±6.02	34.88±8.63	27.75±6.04
IP ⁶ (mg/dL)	5.3±0.3	6.0 [#] ±0.8	5.8±0.4	5.9±0.2	5.8±0.3	5.9±0.3
LDH ⁷ (IU/L)	1509.75±341.93	1861.5±952.23	1560.38±324.21	1627.13±517.63	1078.5±708.76	440.63 ^{**} ±153.28
TG ⁸ (mg/dL)	29.5±8.8	48.3 ^{###} ±14.5	30.4 [*] ±11.9	31.3 [*] ±7.5	33.8 [*] ±11.6	49.8±15.6
HDL-C ⁹ (mg/dL)	28±3	35 ^{###} ±4	29 [*] ±2	32±4	33±3	35±4
LDL-C ¹⁰ (mg/dL)	8.1±1.7	11.1 ^{###} ±2	9.0 [*] ±1.5	8.5 [*] ±1.3	9.0 [*] ±1.3	5.8 ^{**} ±0.8
LDL/HDL ratio	0.29±0.08	0.32±0.05	0.31±0.04	0.27 [*] ±0.05	0.27 [*] ±0.03	0.17 ^{**} ±0.03

All values are expressed as M ± SD.

¹⁾: alkaline phosphatase, 2: Calcium, 3: Total cholesterol, 4: Aspartate aminotransferase, 5: Alanine aminotransferase, 6: Inorganic phosphorus, 7: Lactate dehydrogenase, 8: Triglyceride, 9: High density lipoprotein cholesterol, 10: Low density lipoprotein cholesterol

²⁾Values are expressed as mean±S.D (n=8/each group)

³⁾: Statistically significant when compared to OVX (One-way ANOVA), *p*<0.05, **: Statistically significant when compared to OVX (student's t-test), *p*<0.01, #: Statistically significant when compared to Sham (student's t-test), *p*<0.05, ###: Statistically significant when compared to Sham (student's t-test), *p*<0.01.

CHO, TG, LDL-C 수치가 OVX군에 비해 감소하는 경향을 보였다. LDL/HDL-C 수치는 Medium군, High군에서는 OVX 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(*p*<0.05). 이는 TVB-1000이 갱년기 여성의 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있는 긍정적인 결과로 보인다. 또한, TVB-1000의 섭취가 LDL/HDL-C 수치에 영향을 주어 간접적으로 갱년기 여성의 심혈관질환 수치에 긍정적인 영향을 끼친다고 볼 수 있다. 추가적으로 TVB-1000 투여군(Low, Medium, High)의 AST, ALT 수치는 군별 통계학적 유의성을 보이지 않는 것으로 보아 간독성을 유발하지 않음을 확인할 수 있었다. 이 결과는 폐경기 여성을 대상으로 한 다수의 연구에서 에스트로젠을 투여하면 LDL-콜레스테롤 농도 및 혈중 중성지방의 수준을 낮춘다는 연구 결과[26, 28]와 같이 본 실험에서도 난소절제 쥐에게 TVB-1000의 투여가 난소 절제에 의한 에스트로젠 분비 저하 상태에서 나타나는 지질대사 불균형에 유의한 영향을 주어 심혈관계 질환 개선에 도움을 줄 것으로 기대된다.

Estradiol 호르몬 변화에 미치는 영향

Estradiol은 에스트로젠 중 난소에서 분비되는 성호르몬으로, 폐경 시 혈중농도가 감소하게 된다. Estradiol 분석결과는 Fig. 2에 나타내었다. OVX군의 혈중 estradiol 농도가 sham군에 비해 통계학적으로 유의성을 보이며 감소하였다(*p*<0.01). OVX 모델에 17β-estradiol을 투여한 E2군의 혈중 estradiol 농도가 OVX군에 비해 통계학적으로 유의성을 보이며 증가하였다(*p*<0.01). OVX군과 OVX 모델에 시험물질인 TVB-1000을 투여한 시험군을 비교한 결과, TVB-1000의 모든 투여군에서 OVX군에 비하여 미미하게

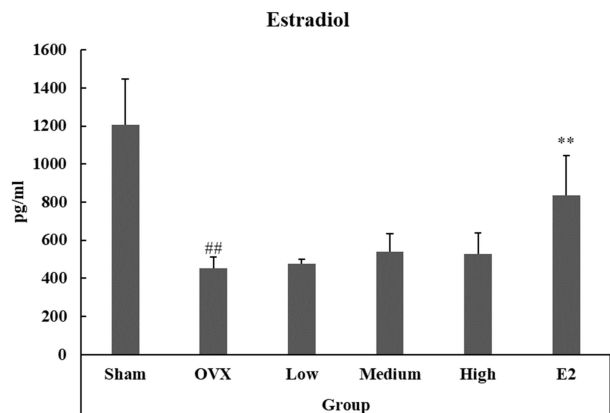


Fig. 2. Effects of TVB-1000 on the estradiol in female OVX rats. All values are expressed as M±SD. ###: Statistically significant when compared to Sham (student's t-test), *p*<0.01, **: Statistically significant when compared to OVX (student's t-test), *p*<0.01.

증가하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다[24].

자궁 내 ER-α와 ER-β 단백질 발현에 미치는 영향

자궁 내 ER-α와 ER-β 단백질 발현 분석결과는 Fig. 3에 나타내었다. 에스트로젠 수용체는 에스트로젠과의 상호작용으로 활성이 되어 유전자 전사에 영향을 미친다. 다른 연구 결과로 ER-α가 ER-β에 비해 성별이나, 위치와 관계없이 우세하게 발현되고 있음을 보고하여 에스트로젠 보충 요법이 ER-α를 경유하여 작용한다고 제시한다 [1]. 또 다른 연구는 ER-α가 결핍된 αERKO 생쥐에서 복부

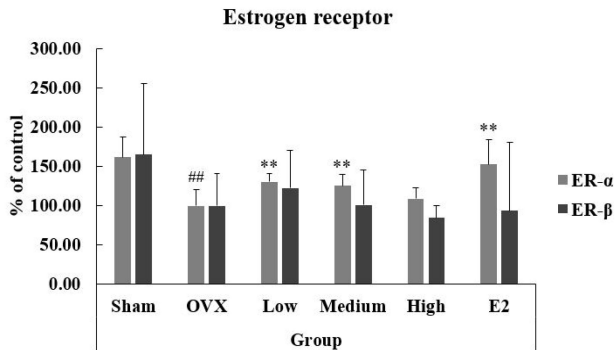


Fig. 3. Effects of TVB-1000 on the estrogen receptor expression level in female OVX rats. All values are expressed as M ± SD. ^{##}: Statistically significant when compared to Sham (student's t-test), $p < 0.01$, ^{**}: Statistically significant when compared to OVX (One-way ANOVA), $p < 0.01$.

내장지방이 증가하였다는 보고를 하여 ER-α가 복부 비만과 밀접한 관련이 있음을 보여주고 있다[5]. 본 실험에서는 OVX군의 ER-α 발현도가 sham군에 비하여 통계학적으로 유의성을 보이며 감소하였다($p < 0.01$). OVX 모델에 17β-estradiol을 투여한 E2군의 ER-α 발현도가 통계학적 유의성을 보이며 증가하였다($p < 0.01$). OVX군과 OVX 모델에 시험물질인 TVB-1000을 투여한 시험군을 비교한 결과, Low군과 Medium군에서 농도의존성은 없지만 통계학적 유의성을 보이며 ER-α의 발현도가 증가하였다($p < 0.01$). High군에서는 OVX대비 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. ER-β는 큰 변화를 보이지 않았으며, 이는 자궁 내에는 ER-α가 우세하게 발현되기 때문으로 판단된다[32]. OVX 쥐에게 estrogenic 효능 물질 투여 시 ER-α 발현율이 농도 의존적으로 증가하지 않지만 모든 구간에서 유의하게 증가하는 연구 결과가 있다[25, 30, 31]. 따라서 TVB-1000은 난소가 제거되어 에스트로겐이 부족한 SD rat의 자궁내 ER-α를 증가시킴으로서 ER-α를 경유하여 에스트로겐 결핍으로 나타나는 지질대사 불균형 개선과 복부지방을 감소시키는 것으로 해석된다. 따라서, TVB-1000은 ER-α를 경유하여 여성 갱년기에 에스트로겐 결핍으로 나타나는 심혈관계질환 증상개선에 효과가 있을 것으로 기대된다. 향후 임상시험을 통해 TVB-1000의 여성갱년기 증상개선효과를 검증할 필요가 있겠다.

감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부와 중소기업기술정보진흥원의 “지역특화산업육성+(R&D, S2910423)”사업의 지원을 받아 수행된 연구 결과입니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- D'Eon, T. M., Souza, S. C., Aronovitz, M., Obin, M. S., Fried, S. K. and Greenberg, A. S. 2005. Estrogen regulation of adiposity and fuel partitioning. Evidence of genomic and non-genomic regulation of lipogenic and oxidative pathways. *J. Biol. Chem.* **280**, 35983-35991.
- Gittens, S. A., Wohl, G. R., Zernicke, R. F., Matyas, J. R., Morley, P. and Uludag, H. 2004. Systemic bone formation with weekly PTH administration in ovariectomized rats. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **30**, 27-37.
- Ham, J. R. and Lee, M. K. 2018. Effects of coumarin derivatives on visceral fat mass and lipid metabolism in ovariectomized mice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **47**, 503-511.
- Heine, P. A., Taylor, J. A., Iwamoto, G. A., Lubahn, D. B. and Cooks, P. S. 2000. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**, 12729-12734.
- Jeong, S. H. 2017. Anti-obesity effects of genistein in female ovariectomy-induced obese mice. *J. Oil Appl. Sci.* **34**, 1-11.
- Jung, T. Y., Suh, S. I., Lee, H., Kim, I. S., Kim, H. J., Yoo, H. S. and Lee, S. R. 2007. Protective effects of several components of *Gastrodia elata* on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates. *Phytother. Res.* **21**, 960-964.
- Kim, C. S., Ha, H. K., Lee, J. H., Kim, J. S., Song, K. Y. and Park, S. W. 2003. Herbal extract prevents bone loss in ovariectomized rats. *Arch. Pharm. Res.* **26**, 917-924.
- Kim, H. S. and Kim, G. J. 1998. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J. Kor. Soc. Food Sci.* **27**, 718-723.
- Kim, I. S., Choi, D. K. and Jung, H. J. 2011. Neuroprotective effects of vanillyl alcohol in *Gastrodia elata* Blume through suppression of oxidative stress and anti-apoptotic activity in toxin-induced dopaminergic MN9D cells. *Molecules* **16**, 5349-5361.
- Kim, K. B. and Christie, M. B. 2004. Measurement of cholesterol. *Circulation* **110**, 296-297.
- Kim, M. K. Serum lipids by gender, age, and lifestyle in Korean adults. *Kor. J. Community Nutr.* 2000. **5**, 109-119.
- Lee, M. H., Nam, D. E., Park, S. J., Kim, D. K., Yun, J. M. and Kim, O. K. 2019. Grape seed extract complex (FFM-GS) inhibits postmenopausal symptoms: *in vitro* and *in vivo* study. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **48**, 297-305.
- Lim, H. R., Lee, J. H., Park, S. J., Ji, E. S. and Lee, D. C. 2022. Estrogenic effect of *Gastrodia elata* Blume extract. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **30**, 233-246.

14. Liu, J. and Mori, A. 1992. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. and *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. *Neuropharmacology* **31**, 1287-1298.
15. Lizcano, F. and Guzmán, G. 2014. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause. *BioMed. Res.* **2014**, 757461.
16. Maeng, Y. S., Choi, M. S., Ahn, I. S. and Kim, D. I. 2012. Effects of Sagunjatang-Gami on uterine and ovarian function in the ovariectomized rat postmenopause model. *J. Orient. Obstet. Gynecol.* **25**, 12-26.
17. Meli, R., Pacilio, M., Raso, G. M., Esposito, E., Coppola, A., Nasti, A., Di Carlo, C., Nappi, C. and Di Carlo, R. 2004. Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology* **145**, 3115-3121.
18. Mengue Ngadema, Y. S., Owona, P. E., Noubom, M., Mbock, M. A., MbolangNguegan, L., Chantal Ngoun-gouré, M., Fifen, R. N., Bidingha, A., Goufani, R., Kahou Tadah, R. B., Claude Bilanda, D., Kamtchouing, P. and Dzeufiet Djomeni, P. D. 2021. Estrogenic and antioxidant activities of *Pterocarpus soyauxii* (Fabaceae) heartwood aqueous extract in bilateral oophorectomized wistar rat. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2021**, 6759000.
19. Mobasser, S., Liebson, P. R. and Klein, L. W. 2004. Hormone therapy and selective estrogen receptor modulators for prevention of coronary heart disease in postmenopausal women estrogen replacement from the cardiologist's perspective. *Cardiol. Rev.* **12**, 287-298.
20. Noh, Y. H., Lee, J. W., Park, J. A., Lee, S. H., Lee, J. Y., Kim, S. S., Park, K. K., Kim, T. J., Myung, S. C. and Jeong, Y. H. 2016. Natural substance MS-10 improves women's health via regulation of estrogen receptor. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **45**, 903-910.
21. Oh, G. H., Oh, S. M., Lee, S. S., Kim, J. H., Oh, J. E., Park, Y. J. and Kim, J. E. 2019. Effects of *Dendropanax moribifera* extracts on postmenopausal syndrome in ovariectomized rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **51**, 361-368.
22. Rogers, N. H., Perfield II, J. W., Strissel, K. J., Obin, M. S. and Greenberg, A. S. 2009. Reduced energy expenditure and increased inflammation are early events in the development of ovariectomy-induced obesity. *Endocrinology* **150**, 2161-2168.
23. Sherman, B. M., West, J. H. and Korenman, S. G. 1976. The menopausal transition. Analysis of LH, FSH, estradiol and progesterone concentrations during menstrual cycles of older woman. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **42**, 629-636.
24. Shin, D., Hong, S. B., Geum, J. H., Ma, J. Y. and Chung, H. S. 2016. Effects of *Schisandrae Fructus* on menopause symptoms in ovariectomized mice. *J. Kor. Med.* **37**, 39-46.
25. Shumaker, S. A., Legault, C., Kuller, L., Rapp, S. R., Thal, L., Lane, D. S., Fillit, H., Stefanick, M. L., Hendrix, S. L., Lewis, C. E., Masaki, K. and Coker, L. H. 2004. For the Women's Health Initiative Memory Study Investigators. Conjugated equine estrogens and incidence of probable dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women: women's health initiative memory study. *JAMA.* **291**, 2947-2958.
26. So, H., Ahn, S., Song, R. and Kim, H. 2010. Relationships among obesity, bone mineral density, and cardiovascular risks in postmenopausal women. *Kor. J. Women Health Nurs.* **16**, 224-233.
27. Tashiro, T. 1983. Analysis of nucleic acid related substances of dried purple laver. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **49**, 1121-1125.
28. Valette, A., Meignen, K. M., Mercier, L., Liehr, J. G. and Boyer, J. 1986. Effects of 2-fluoroestradiol on lipid metabolism in the ovariectomized rat. *J. Steroid. Biochem.* **25**, 575-578.
29. William, P. C., Robert, D. A. and Patricia, M. M. 1983. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. *Circulation* **67**, 730-734.
30. Xu, Y., Ma, X. P., An, J. N., Zhang, Z. J., Ding, J., Qu, Y. K., Liu, Z. L. and Lin, N. 2015. Short-time QiBaoMei Ran formula treatment exerts estrogenic activities without side effects on reproductive tissues in immature mice. *Sci. Rep.* **5**, 17436.
31. Yin, C., Kang, L., Lai, C., Zhou, J., Shi, B., Zhang, L. and Chen, H. 2017. Effects of 17 β -estradiol on leptin signaling in anterior pituitary of ovariectomized rats. *Exp. Anim.* **66**, 159-166.
32. Weihua, Z., Saji, S., Makinen, S., Cheng, G., Jensen, E. V., Warner, M. and Gustafsson, J. A. 2000. Estrogen Receptor (ER) β , a modulator of ER α in the uterus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**, 5936-5941.
33. Lee, S. B., Park, S. Y., Jeon, G. S. and Hong, I. K. 2016. Phytoestrogen extraction for relaxation of female menopause symptoms from natural products. *Appl. Chem. Engineering* **27**, 217-220.

초록 : 난소를 적출한 갱년기 장애 모델에 대한 천마추출물(TVB-1000)의 영향

임해령¹ · 지은수¹ · 변학규¹ · 이소민² · 류현열² · 이득찬^{3*}

(¹더밸류바이오텍, ²한국건설생활환경시험연구원, ³강원대학교 의생명공학과)

노화에 따른 난소 기능 저하와 성호르몬 생성 감소는 호르몬 결핍을 유발하여 여성의 갱년기를 유발한다. 여성 갱년기 증상 개선을 목적으로 에스트로겐 유사 물질이 함유된 천연물을 연구하였다. 본 연구는 난소 적출술을 받은 쥐를 대상으로 *Gastrodia elata* Blume 추출물(TVB-1000)의 효능을 평가하였다. 난소 적출 수술을 한 뒤 7일의 회복 기간 후 TVB-1000 처리군에게 16, 40, 100 mg/kg을 12주 동안 경구 투여하였다. OVX 양성 대조군에는 17 β -estradiol을 10 μ g/kg의 용량으로 쥐의 등 부위에 피하 주사하였다. 그 결과 TVB-1000 처리군에서 심혈관질환 지표인 TG와 LDL-C가 모든 농도에서 유의하게 감소했다. LDL-C/HDL-C 비는 TVB-1000 투여군 중 Medium, High군에서 유의하게 감소하였다. 또한 TVB-1000 고농도 처리군에서 복부지방 무게가 통계적으로 유의하게 감소하였다. ER- α 의 발현량은 저농도 및 중농도 투여군에서 통계적 유의성을 보이며 증가하였으나 ER- β 는 유의한 변화를 보이지 않았다. 실험을 통해 TVB-1000은 에스트로겐 유사 효과로 인해 갱년기 증상 중 하나인 심혈관계 질환을 예방하는 기능성 식품 소재로써 유용할 수 있음을 보여준다.