KH-304 투여가 흰쥐 음경조직의 Nitric Oxide Synthase활성 및 Erectile dysfunction에 미치는 영향

이은정 · 이현지 · 김희석 · 황성연*

주) KMSI 부설 한국의과학연구소

Effect of the KH-304 on the Nitric Oxide Synthase Activity and Erectile Dysfunction in Young Rats

Eun Jeong Lee, Hyun Ji Lee, Hee Seok Kim, Sung Yeoun Hwang*

Korea Medical Science Institute, Incheon

This study was designed to investigate effects of KH-304 in improving erectile dysfunction (ED), particularly in terms of nitric oxide (NO)-cGMP pathways. After oral administration of the KH-304 water extract, 100mg, 300mg, 500mg or 700mg per 1kg of body weigh for 10days, We examined the expression and activity of two enzyme: neuronal NO synthase (nNOS), endothelial NO synthase (eNOS) and that act upon the major NO-cGMP signaling pathway in penile tissue. Effect of KH-304 on cGMP degradation was also examined using bovine vascular smooth muscle cells pretreated with an NO donor, S-nitroso-N-Acetylpenicillamine (SNAP). Also, it examined the endothelial NO synthase (eNOS) for seaching effecting period (100mg, 300mg/kg for 10 and 30days) and peak intracavernous pressures (ICPs) in penile tissues rabbit copus cavernosum contracted by 10-6 M phenylephrine. The severely reduced peak intracavernous pressures (ICPs) in penile tissues were restored completely after KH-304 treatment, and KH-304 treatment significantly made the latency period earlier. Furthermore, the penile expression levels of nNOS, eNOS dependent NOS activities and cGMP concentrations were increased significantly in the KH-304 100, 300mg treated rats. These results suggest that KH-304 with high expression of NOS may be useful in erectile dysfunction.

Key words : Erectile dysfunction, cGMP, Intracavernous pressure, NOS (Nitric Oxide Synthase)

서 론

발기부전이란 성관계의 50%이상에서 강직성 발기가 일어나지 않거나 일어나도 유지가 안 되는 경우로, 전 세계적으로 40-70대 남성의 약 50%이상이 발기부전 환자로 보고 되고 있으며 우리나라에서도 30대 이후에 약 3백만의 환자가 있는 것으로 조사되고 있다.[1] 이는 서구화된 식생활, 당뇨와 동맥경화증 등의 성인병의 증가, 실업이나 사회생활에서 오는 스트레스 등의 다양한 원인에 의하여 발생된다.[2]

기존의 발기부전 치료제는 발기유지에 관여하는 물질로 신경계 nNOS 발현과 같은 성적자극이 있어야만 인체 내에서 작용하며 심혈관계 및 시력장애의 부작용, 정상인에게는 효과가 거의 없다는 문제점등이 있어[3] 현재 무독성 발기부전 치료제 선도물질을 천연물 및 생약에서 탐색 하려는 연구가 시도 되고 있다.[4-6]

음경발기는 신경계와 혈관계 및 내분비계의 상호작용으로 발생 nitric oxide (NO)-cGMP 또는 cAMP 작용에 의한 음경해면체와 해면소동맥 평활근의 이완에 의하여 일어나는 생리적인 현상이다.[7] 음경발기에 관여하는 신경전달물질들로는 아세틸콜린, ATP, VIP, NO (nitric oxide)등이 있는데 이 중 NO가 강력한 EDRF의 하나로 밝혀 짐에 따라 NO 역할에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 음경발기에 관여하는 NO는 혈관 평활근의 이완 인자로서 NOS에 의하여 생합성 되며 음경발기는 혈관계에 존재하는 NO 합성 효소 (endothelial NOS=eNOS)와 신경계 NO 합성 효소 (neuronal NOS=nNOS)가 동시에 작용할 때 발기가 유발된다.[8,9]

본 연구는 발기부전에 효과가 있는 한약재를 선정하여 SMC

* 교신저자 : 황성연, 인천시 연수구 송도동 7-20 한국의과학연구소

· E-mail : nexia@kmsi.co.kr, · Tel : 032-255-2500

· 접수 : 2006/04/10 · 수정 : 2006/05/04 · 채택 : 2006/06/01

cell에서 cGMP를 측정하여 KH-304를 선정하였으며, KH-304 구성물질의 한방학적 효능을 근거로 NO-Pathway에 관련된 NOS (nitric oxide synthase)의 발현증가를 Western blot를 실시하여 농도별, 기간별로 비교 해 본 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 시료의 조제

KH-304는 토사자 복분자 음양곽을 각각 다른 비율로 배합하여 총 100g이 되게 하고 증류수로 환류장치를 한 용기에서 4시간 2회씩 수욕상에서 추출한 후 여과한 후, 여액을 감압 농축, 동결건조 과정을 거쳐 갈색분말로 만들어 시료로 사용하였다. 토사자는 경원생약에서 복분자와 음양곽은 각각 옴니허브에서 제공 받았다.

2. 실험 시약 및 기기

전압전류공급기 (Thermo EC) Heating Block, Oribital shaker (FINEPCR), 저속 미세 원심 분리기 (Hanil), 항온수조용 Shake Incubator (EYELA), Skim milk (DIFCO), Tris base, Tris Hcl, Nacl, Trypsin inhibitor (Sigma), 30% Acrylamide, TEMED, Protein assay (Bio-rad), Membrane (Hybond), Tween (Daejung), Aprotinin (Fluka), SNAP (Tocris), Dithiothreitol (Acros) ECL (Amersham Biosciences)를 사용 하였으며 기타 본 실험에 사용한 시약은 세포 배양 및 분석용 특급시약을 사용하였다.

3. 실험동물 및 사육조건

웅성 흰쥐 (100~120g)을 중앙 실험 동물에서 분양 받아 최소 일주일간 본 회사 실험 사육장 환경에 적응 시킨 후 사용하였다. Organ bath에 사용된 토끼 (New zealand white)는 5개월 령 수컷 토끼로 1 주간 순화기간을 거쳐 사용하였으며 사육 상자 당 1마리씩 수용하여 사육하였다. 사육장은 인공조명에 의하여 조명시간을 아침 7시부터 저녁 7시 까지 12시간으로 조절하였으며 실내온도는 18-23℃로 유지하였다. 급수는 정수된 물을 사용하였으며, 사료와 급수는 제한하지 않았다.

4. 시료의 투여

1차 KH-304농도별 실험은 체중이 200g (10weeks)수컷 흰쥐를 구입하여 본 실험실에서 일주일간 적응 기간을 거친 후 동물의 체중에 따라 각 군의 평균체중을 220±15g 이 되도록 난괴법으로 각 6마리씩 5그룹으로 대조군 (Control)과 실험군 (100, 300, 500, 700mg/kg)으로 나눈 후 10일간 경구투여 하였다.

2차 KH-304 기간별 실험은 1차 농도별 실험에서 가장 좋은 활성을 나타내는 농도 100, 300mg을 10일, 30일 동안 경구투여 하였다. 체중과 식이 섭취량은 실험 사육기간 중 매일 오전 9시에 측정하고, 식이 잔량을 산출하였다.

토끼 음경해면체 평활근 실험 물질은 KH-304 61, 183, 549 mg/L 농도로 가하여 평활근 긴장도 변화를 측정하였다.

5. 조직채취

사육기간 종료 후 에테르로 채워진 desicator로 동물을 마취시킨 후 하복부를 절개하여 복부 대동맥으로부터 혈액을 채혈하고 희생시킨 다음 음경과 고환을 적출하였다. 적출한 조직은 0.9%생리식염수로 혈액을 씻고 여과지로 염 용액을 제거한 뒤 무게를 측정한 다음, 즉시 액체 질소에서 급속 동결하였다. 한편 채혈된 혈액은 Heparin처리된 tube로 즉시 옮겨 담고 2500rpm (4℃)에서 15분간 원심 분리하여 혈장을 분리하였다. 분리된 혈장과 장기는 사용 전 까지 -70℃ 에서 보관하였다. 조직내 효소원 제조는 200nM Hepes, 320mM sucrose, 1mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1mM dithiothreitol (DTT), 10ug/mL leupeptin, 2ug/ml aprotinin, 1ug/mL pepstatin, 10ug/mL trypsin inhibitor, 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) 용액에서 균질화 시킨 후 원심 분리하여 (4℃, 10000 rpm, 15분간) 상층액을 단백질 정량 후 -70℃에 보관하였다.

6. 세포배양

Bovine vascular smooth muscle cell (BVSMCs)세포는 주)바이오 버드에서 구입하였다. 이 세포를 10% heat inactivated fetal bovine serum과 penicillin (100ug/ml) / streptomycin (100U/ml) 이 함유된 DMEM에서 37℃, 5% CO_2배양기에서 T-25 flask에 배양하였다. 배양액은 2또는 3일 간격으로 교환해 주었다. 세포는 액체질소에 보존해 두었다가 같은 passage번호를 가진 세포를 녹여서 사용하였다.

7. cGMP test측정

SMC (smooth muscle cell) 세포의 최종수를 0.2 x 10^6 cell/ml 로 조정하여 48well plate의 각 well에 24시간 부착 시킨후 시료를 농도별로 10ul 씩 가하였다. Positive control로서는 sildenafil을 사용하였으며 24시간 후에 상층액을 회수하여 cGMP Kit (BD)를 이용하여 측정하였다. 즉, cGMP kit의 96well plate에 이들 상층액을 100ul씩 가한 뒤, conjugate 50ul, anti-body 50ul를 가하여 상온에서 2시간 배양하였다. Washing buffer로 3회 세척하고 substrate 200ul를 가한 후 상온에서 1시간 배양한다. ELISA reader를 사용하여 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. 가토 음경해면체 Organ bath study

가토의 이각정맥에 sodium phentobarbital (30~50mg/kg)을 주사하여 마취 시키고, 음경전체를 골반골 로부터 분리하였고 음경에 종 절개를 가한 후 해면체 조직을 주변의 백막으로부터 분리하여 음경해면체 조직을 얻었다. modified Kreb's solution (pH 7.4) 가 담긴 organ bath 내의 tissue holder에 mounting하고 1시간 정도 안정화 시킨 후 0.5% CMC (G1)관류 5분후 phenylephrine에 의한 수축작용에 미치는 효과를 측정하였으며 1 x 10^{-6} M phenylephrine처리로 평활근 절편을 수축 시킨 후 양성대조물질 (Sodium nitroprusside, SNP)을 10^{-8}~10^{-5}M까지 가하여 평활근의 긴장도를 측정하였다. 1 x 10^{-6} M phenylephrine 처리로 수축시킨 평활근 절편의 측정치 피크 높이를 100% 로 설정하

고 시험물질 처리군의 이완율을 평균±표준편차로 산출하였다.

9. Western blotting

*Bovine serum albumin*을 사용한 *Bradford*방법을 이용해 정량한 단백질 30ug을 95℃에서 5분간 변성 시킨 후 12% discontinuous sodium dodecylsulfate (SDS-PAGE)-polyacrylamide gel에서 전기영동 하였다.

전기영동된 단백질은 25volt에서 2시간 30분 동안 0.2μm polyvinylidene difluoride (PVDF. Amersham bioscience. USA)막에 이동시켰다. 전기영동 된 membrane은 blocking buffer (5% skim milk in TBS-T buffer)으로 30분간 실온에서 반응하여 차단하였다. Anti-eNOS, anti-nNOS, anti-PDE5 (BD Biosciences, USA) 각 항체들을 2시간 동안 반응시킨 후 TTBS를 사용하여 10분 간격으로 3회 세척하였다. 2차 항체 anti-mouse IgG-HRP, anti-goat IgG-HRP (1:2,000 dilution)(Zymed Laboratories, USA)를 실온에서 1시간 동안 반응 시킨 후 세척단계를 거쳐 다시 한 번 TTBS로 5분간 6회 세척하였다.

ECL용액으로 2분간 반응하고 Kodac필름에 감광하여 나타난 band의 두께를 비교하여 단백질 발현 유무 및 그 차이를 확인하였다.

10. 통계처리

측정된 결과는 평균값과 표준 편차 (mean±SD)로 표시 되었다. 대조군 간의 비교를 위해서는 Student t-test를 사용하였으며 $p<0.05$인 경우 유의한 차이로 간주 하였다.

결 과

1. 체중 증가, 식이섭취 및 식이 효율

KH-304를 일반흰쥐에 10일간 경구투여 한 각 군의 체중증가, 식이 섭취 및 식이 효율은 Table 1과 같다. KH-304를 투여군에서는 실험기간 중 특별한 이상이 없었으며 대조군과 비슷한 식이 섭취와 체중 증가를 보였다. 이상과 같은 결과는 KH-304투여가 생체 내 거부 반응 없이 본 실험에 적합함을 알 수 있다.

Table 1. The body weight gain, food intake and food efficiency ratio of KH-304 treated young-rats

Group	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio
Control	7.01±0.66	27.18±2.48	0.26±0.05
100	5.83±0.77	25.58±1.99	0.23±0.04
300	6.81±0.36	27.52±1.05	0.25±0.01
500	6.44±0.56	26.22±0.93	0.25±0.02
700	6.83±0.39	28.12±1.22	0.25±0.02

Rats of each experimental group were oral administered with water (control) or the KH-304 at the dose of 100, 300, 500 and 700mg/kg body weight daily for 10 days. Food efficiency ratio : Body weight gain (g/day) / Food intake (g/day). All values are mean±SD

2. 장기 중량 측정

KH-304 투여에 따른 생식장기의 무게 변화를 측정한 결과 음경조직과 고환 장기 무게는 대조군과 비교할 때 KH-304투여 모든 군에서 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. (Table 2)

Table 2. Effect of KH-304 on penis and testis weight in young-rat

Group	Body weight (g)	Penis (g)	Testis (g)
Control	318.52±20.5	0.26±0.02	1.58±0.21
100	321.64±11.6	0.25±0.01	1.62±0.38
300	316.76±16.29	0.26±0.02	1.65±0.07
500	315.37±30.12	0.26±0.02	1.57±0.23
700	320.26±18.19	0.25±0.02	1.56±0.17

Rats of each experimental group were oral administered with water (control) or the KH-304 at the dose of 100, 300, 500 and 700mg/kg body weight daily for 10days. All values are mean±SD.

3. KH-304의 cGMP 농도별 test

KH-304 열수 추출물은 SMC cell line에서 10, 30, 100ug/ml의 농도를 처리하여 cGMP를 처리하였으며 (Fig. 1) 양성대조군은 sildenafil 50μM 을 사용하였다. NO-doner인 SNAP를 KH-304 10, 30, 100ug/ml의 약물과 동시에 처리를 하였을 경우 실험대조군에 비교하여 음경 cGMP의 농도가 의존적으로 증가 하였으며 ($p<0.05$) KH-304 100ug/ml (1.84±0.16)의 농도에서는 양성대조군인 sildenafil 50μM (1.49±0.22) 처리 했을 때 보다 더 높은 cGMP 함량이 측정되었다.

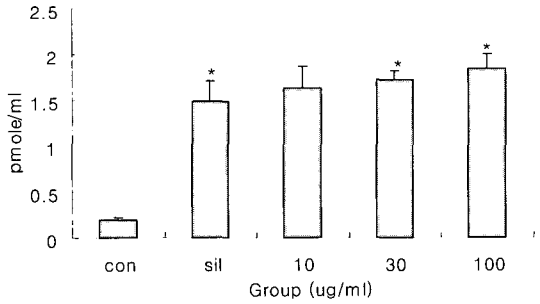

Fig. 1. cGMP concentrartion measured in media after KH-304 treatment in SNAP-pretreated BVSMCs. KH-304 inhibited cGMP-hydrolysis probably mediated by PDE as shown in positive control treated with a PDE inhibitor, sildenafil, whereas no significant change in the cGMP concentration after KH-304 treatement only. All values are mean±SD. * :P<0.05 as compared with control group and KH-304 supplied group.

4. KH-304 농도별, 기간별 투여에 따른 흰쥐의 음경조직 내 단백질 발현

KH-304 열수추출물의 투여가 음경조직 내 단백질 발현 증가 양상변화를 측정하기 위하여 western blot 실험을 통하여 정상쥐에서 KH-304 농도별 효과를 관찰하였다. (Fig. 2A. dose)

Fig. 2A 는 흰쥐를 KH-304 100, 300, 500, 700 mg/kg/10 days 경구투여 했을 경우 eNOS, nNOS 단백질 발현 정도를 나타내는 것으로 대조군과 비교해 볼 때 모든 그룹에서 eNOS, nNOS 효소발현이 증가 하였다. 100, 300 mg/kg 투여군은 높은 NOS발현이 되었으나 농도가 증가할수록 NOS 발현이 감소되는 경향이 보였다. Fig. 2B 는 이전 농도별 실험에서 단백질 발현이 가장 뚜렷히 보인 100, 300mg/kg 그룹을 10일, 30일 동안 경구투여 하였을 경우 eNOS, nNOS 단백질 발현 정도를 나타내는 것으로 기간별로 투여 하였을 경우 단백질 발현 정도가 큰 변동이 없는 것을 알 수 있다.

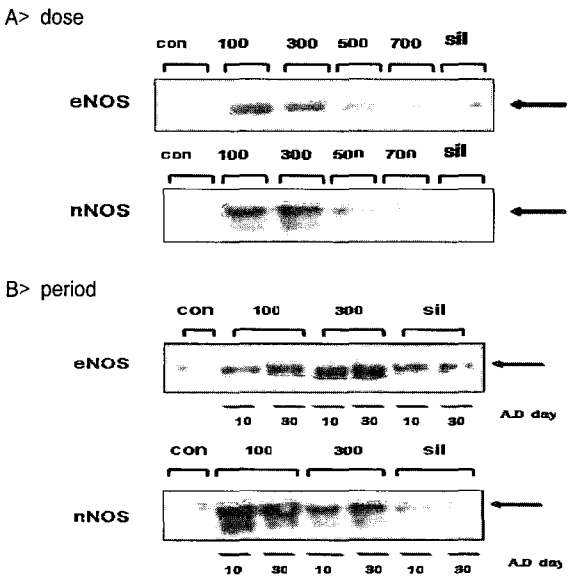

Fig. 2. After oral administration of the KH-304 water extract, A> 100mg, 300 mg, 500mg or 700mg per 1kg of body weigh for 10 days, B> 100mg, 300mg per 1kg of body weigh for 10, 30 days. We examined the expression and activity of two enzyme: neuronal NO synthase (nNOS), endothelial NO synthase (eNOS). eNOS:135kDa, nNOS:155kDa

5. 가토 음경해면체 평활근 조직에서의 Organ bath 실험

Fig. 3는 수축 평활근에서의 KH-304의 효과를 나타낸 것으로 phenyleph rine 10^{-6} M 로 수축시킨 평활근에 KH-304를 61, 183, 549 mg/L로 축척용량으로 처리 하였을때 각각 3.6, 8.2 및 19.5%의 용량의존적인 이완율을 나타내었다.

Table 3. Effects of KH-304 and sodium nitroprusside on the isolated rabbit corpus cavernosum contracted by 10^{-6}M phenylephrine

Group	Test Item	Dose (mg/L)	Ratio of relaxation (%)	Reference Item	Dose (M)	Ratio of relaxation (%)
G5	KH-304	0	0.00±0.00	SNP	10^{-8}	13.59±7.77
G6	KH-304	61	3.64±7.35	SNP	10^{-7}	42.23±15.36
G7	KH-304	183	8.22±8.03	SNP	10^{-7}	88.31±14.23
G8	KH-304	549	19.47±13.86	SNP	10^{-6}	93.83±8.2

All values are mean±S.D.(n=10). SNP: Sodium nitroprusside

고 찰

본 실험은 옛날부터 민간에서 단방으로 자양 보양약으로 쓰여졌던 토사자, 복분자, 음양곽을 일정한 비율로 배합하여 열수추출로 얻어진 KH-304를 일반쥐에 투여해서 해면체 평활근 이완에 관련된 세포내 신호전달체계 NO-cGMP pathway에 관여하는 NOS의 단백질 발현정도를 측정하고 토끼에서 organ bath를 이용한 조직의 이완력 측정, SMC세포에서 cGMP 농도를 측정하여 음경 발기 지속 및 촉진에 미치는 영향을 보았다.

cGMP 농도를 높이는 약재인 KH-304에 배합되는 토사자, 복분자, 음양곽은 한방에서 보양약으로 빈번히 사용되는 한약재로 토사자는 메꽃과에 속하는 다년생 초본의 새삼씨이며 기미가 맵고 달면서 성질은 평하여 補肝腎, 益精髓, 明目효능을 가지고 있으며 teraxanthin, lutein, carotene의 성분을 함유하고 있다. 복분자는 장미과에 속하는 낙엽관목의 복분자, 산딸기의 미성숙한 僞果로서 catechin, vitamin c를 함유하고 있으며 澁精, 縮尿, 明目, 助陽의 효능이 있다. 음양곽은 매자나무과 다년생 초본인 삼지구엽초의 줄기 및 잎으로 icariin, tannin, phytosterol의 성분을 함유하고 있으며 補腎, 强壯, 祛風, 除濕의 효능이 있는 것으로 보고 되고 있다.[10]

발기부전은 한의학에서 陽痿, 陰痿, 陰器不用, 陰不起 등의 병증에 속하고 病因은 腎陽虛, 心脾陽虛, 腎精虧虛, 肝氣 鬱結, 濕熱下注 등이 있는 주로 腎陽虛로 인한 것이 많으며 溫腎壯陽, 補腎鎭精, 疎肝解鬱, 淸熱瀉濕, 補益心脾, 理氣活血 등의 治法이 응용되고 있으며[11-14] 서양의학에서 음경발기는 중추신경계에서부터 시작되어 음경 해면체 내 흥분성신경계 에 해당되는 nNOS 발현과 해면체 혈관에서 eNOS 발현으로 NO생성이 유도 되고 이 NO는 cGC를 활성화시켜 이차 전령자인 cGMP 생성을 촉진시키며, cGMP의 증가로 음경해면체내 평활근이 팽창되고 혈액이 유입 됨으로써 발기가 유지되며 혈관수축기전에 관여하는 'Rho-Kinase'활성 또는 cGMP를 가수분해 하는 PDE-5 효소의 작용으로 음경이 수축하게 된다.[15] 음경발기 기전에 작용하는 NO는 2가지 다른 NO합성효소 (nitric oxide synthase)에 의해서 생성되며, 이는 혈관계에 존재하는 NO (endothelial NOS=eNOS)와 신경계 NO 합성효소 (neuronal NOS=nNOS)이며 이들 두 가지 효소가 동시에 작용할 때 발기가 유발된다.

KH-304 투여에 따른 발기 효능을 보기 위하여 흰쥐에게 농도별 (100, 300, 500, 700kg/mg)로 경구투여 한 후 단백질을 량을 측정한 결과 모든 그룹에서 eNOS 와 nNOS가 증가하였으며 특히 100, 300mg/kg에서는 뚜렷하게 증가하는 경향이 보였다. 젊은 쥐의 농도별 실험 중 KH-304 고농도의 경구투여가 성장과정에 문제점이 있는지 10일간 체중증가 및 식이섭취량을 측정한 결과 대조군과 유사한 성장 발육을 보였으며 이는 1일 KH-304 700mg/kg의 고농도 투여 에서도 생체 내 거부 반응 등의 문제점이 없음을 시사한다. 농도별 실험과정을 걸쳐 가장 단백질 발현이 뚜렷한 100, 300mg/kg 그룹에 대한 기간별 (10일, 30일) 실험을 실시한 바 기간별에서는 큰 차이가 없었다. 따라서, 100mg/kg/10day 투여 했을 경우 NOS발현이 가장 효율적인 것으로 사료된다.

발기는 음경의 신경과 혈관망을 통하여 일어나는 복잡한 반응의 종합적 결과이며 음경해면체 평활근의 이완은 이의 핵심적인 과정이므로 organ bath를 통해 효능 정도를 파악한 바 KH-304를 61, 183, 549mg/ml을 투여 했을 경우 토끼 해면체 내압은 42%, 88%, 93%으로 이완되었다.

토끼 해면체 내압의 이완이 농도별로 증가하긴 하지만 위의 KH-304의 NOS 발현 정도와 비교해 볼때 는 효능 증가폭이 둔화 되는 것을 알 수 있다.(Table 3) 이것은 약물에 대한 영향 이라기 보다는 가토를 이용한 실험 모델이 음경해면체 평활근 이완을 매개로 효과를 나타내는 약재들의 약효평가에 적절한 모델이 아닐 가능성도 있다. Stief[16]는 PDE3,5를 선택적으로 억제하는 mil rinone과 sildenafil을 이용한 실험에서 milrinone은 인체 음경해면체 평활근 조직에 대하여 강력한 이완효과를 보인데 비하여 가토의 조직에서는 미미한 효과만 나타냄을 보고하였다.

또한, eNOS 와 nNOS 이 두가지 효소는 정상인 생체내 일정한 농도로 항상 존재하기 때문에 감소하거나 또는 과다하게 발현되면 생체 항상성에 중요한 문제를 야기 시키는데 KH-304투여로 NO가 과다 합성되어 염증반응이 일어나 역작용을 일으키는 가능성도 있다.

KH-304를 10, 30, 100 ug/ml농도처리 하였을 경우 SMC cell의 cGMP 농도는 농도의 의존적으로 증가하였다.(Fig. 1) 이것은 NO공여 물질이 음경해면체 평활근 세포에 존재하는 guanylate cyclase를 직접적으로 활성화 하여 cGMP의 농도를 상승시키거나, PDE-5에 의한 cGMP의 농도를 감소를 억제하여 농도를 유지시킨 결과라 할 수 있다. 현재까지의 연구결과를 토대로 보면 KH-304가 성기능 개선에 효과가 있는 것은 분명하나 앞으로 연구해야 할 여러 가지 문제점이 지적되고 있다. 생체 내 항상성을 유지하면서 NOS활성을 최대한 높이고 해면체 이완율을 높이는 적정 용량, 적정모델 (쥐), 저 용량을 찾아야 할 것이며, 생체 내 NO합성능력이 저하 되어 나타나는 정자 생성능력의 감퇴나 발기부전에 대한 실험 (노화쥐 모델), 열수추출뿐 아니라 효과적인 음경발기 유도가 가능한 분획 및 유효성분의 추출에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 향후 이러한 실험이 추가적으로 시행되어야만 좀 더 확실한 결론을 얻을 수 있으리라 생각한다.

결 론

저자들은 KH-304를 일반쥐에 투여해서 해면체 평활근 이완에 관련된 세포내 신호전달체계 NO-cGMP pathway에 관여 하는 NOS의 단백질 발현정도를 측정하고 토끼에서 organ bath를 이용한 조직의 이완력 측정, SMC세포에서 cGMP 농도를 측정하여 음경 발기 지속 및 촉진에 미치는 영향을 보았다. 그 결과 KH-304를 투여한 모든 그룹에서 NO-pathway에 관여하는 NOS (eNOS, nNOS)발현이 증가 되지만 농도별 로는 감소하였고 해면체 내압측정에서는 고농도일때 이완율이 증가 하였다. 그러나 해면체 내압 실험은 가토를 사용, 실험 Model에 대한 고려가 있어야 할 사항이고 또한 생체 내 항상성을 유지 하면서 NOS활성을 최대한 높이고 해면체 이완율을 높이는 적정 용량, 저 용량에 대한 실험이 수행된다면 발기부전 치료제 천연물 신약 후보약재가 될 수 있으리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2005년 중소기업기술혁신개발사업에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 이종욱, 비뇨기과학, 고려의학, 서울 pp462-263, 1996.
2. Han, D.H., Lee, H.S., Kim, J.H., Lee, S.W. 한국남성들의 건강 및 성기능에 대한 인식 및 행동 양식의 조사. Kor J Androl 23(2):61-70, 2005.
3. Choi, H.K. 발기부전 치료의 새로운 PDE-5억제제들. 대한 의사협회지 pp 1050-1056, 2003.
4. An, T.G., Jeong, J.C. 五子丸이 Ethanol로 발기부전을 유도한 흰쥐의 성기능 개선에 미치는 영향. Korean J. Orient. Int. Med 26(3):605-614, 2005.
5. 민건우, 박종혁, 윤철호, 정지천, 신억섭, 한영환. 동충하초가 Hydrocortisone을 투여한 흰쥐의 nitric oxide synthase활성 및 testosteron함량에 미치는 영향, Korean J. Orient. Int. Med 2(3):389-398, 2000.
6. 김경동, 정지천, 금앵자 추출물이 음경해면체의 nitric oxide synthase 활성 및 항산화 효과에 미치는 영향, 대한한방내과학회지 19(1):452-465, 1998.
7. Andersson, K.E., Wagner, G. Physiology of penile erection. Physiol Rev 75(1):191-236, 1995.
8. Palmer, R.M., Ferrige, A.G., Monacada, S. Nitric oxide release accounts for the biological acivity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 327, 524-526, 1987.
9. Andersson, K.E. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. J Urol 170(1): 6-13, 2003.
10. 문관심. 약초의 성분과 이용. 서울, 일월서각, p 450, 310, 250, 1991.
11. 두호경. 동의신계학. 서울, 동양의학연구원, pp 610-161, 1991.
12. 여평. 실용중의신병학. 서울, 일중사, pp 475-477, 1992.
13. 최훈섭, 김철중. 양위에 대한 문헌적 고찰. 혜화의학, 5(1): 212-235, 1996.
14. 강해신, 강력생. 중의남과강좌. 북경, 중국의학과기출판사, pp 94-111, 1992.
15. Chitaley, K., Wingard, C.J., Webb, R.C., Brannam, H., Stopper, V.S., Lewis, R.W., Mills, T.M. Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-indipendent pathway. Nature Medicine 7(1):119-122, 2001.
16. Stief, C.G., Uckert, S., Becker, A.J., Truss, M.C., Jonas, U. The effect of the specific phosphodiesterase (PDE) inhib itors on human and rabbit cavernous tissue in vitro and in vivo. J Urol 159, 1390-1393, 1998.