

목단피에 의한 임신 저해의 분자적 기전에 대한 연구

최희정 · 김은영 · 최희진 · 박미주 · 정태욱 · 박성하¹ · 김소연¹ · 하기태*

부산대학교 한의학전문대학원 한의과학과 & 응용의학부 및 건강노화한의과학연구소센터,
1 : 부산대학교 한의학전문대학원 임상의학1부 및 부산대학교 한방병원 내과

Mechanism Study on Inhibition of Pregnancy by Root Barks of *Paeonia suffruticosa*

Hee Jung Choi, Eun Young Kim, Hee Jin Choi, Mi Ju Park, Tae Wook Chung,
Seong Ha Park¹, So Yeon Kim¹, Ki Tae Ha*

Department of Korean Medical Science, Division of Applied Medicine, and Korean Medical Research Center for Healthy Aging,
School of Korean Medicine, Pusan National University,

1 : 1st Division of Clinical Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University and Department of Internal Medicine,
Pusan National University Korean Medical Hospital

Root barks of *Paeonia suffruticosa* Andrews (PS) was reported as contraindicated drugs of pregnancy by many Korean medical classics. Recently, a major ingredient component of PS, paeonol was reported that has contraceptive effect on early pregnancy in rats. However, the accurate molecular mechanism is not clear. In this study, we showed that PS decreased the expression of receptor for leukemia inhibitory factor (LIFR) in human endometrial Ishikawa cells at non-toxic dose, although the expression of leukemia inhibitory factor (LIF) was increased by PS. In addition, PS inhibited the adhesion of human trophoblastic JAR cells onto Ishikawa cells. Given importance of LIF-LIFR signaling pathway in the process of embryo implantation, the decreased LIFR expression by PS will be a good explanation on the PS- or its ingredient compounds-induced contraception.

keywords : Root barks of *Paeonia suffruticosa*(牡丹皮), Contraception, Contraindicated drugs of pregnancy, LIF, LIFR

서 론

임신 중의 약물 복용은 태아의 성장발육과 임신유지에 여러 가지 영향을 미쳐서 기형이나 유조산을 유발할 가능성이 있다¹⁾. 선천기형이 약물을 비롯한 환경적 인자에 의해서도 발생하는 것이 1960년대에 보고된 이후²⁾, 태반관문이 불완전으로 인하여 임신 중 약물이나 환경인자가 임신유지에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 한의학에서도 오랫동안 임신금기 약물에 대한 인식이 있었는데, 정 등의 연구³⁾에 의하면 肉桂, 瞿麥, 芫莢, 南星, 牡丹皮 등 90여종의 약이 다수의 문헌에서 임신금기약으로 보고되어 있다.

목단피는 미나리아재비과에 속한 낙엽소관목인 모란 (*Paeonia suffruticosa* Andrews)의 뿌리껍질을 건조한⁴⁾ 한약

재로 淸熱涼血, 活血散瘀하는 작용이 있어서 溫毒發斑, 吐血衄血, 夜熱早涼, 無汗骨蒸, 癰腫瘡毒, 跌撲傷痛⁵⁾ 등의 질환에 사용되었다. 또한 血滯로 인한 무월경, 생리통, 월경전 발열, 胞衣의 배출⁶⁾ 등 부인과 질환에도 자주 사용된다. 최근의 약리학적인 연구에 의하면 목단피 및 그 구성성분인 paeonol 등은 혈압강하, 중추신경에 작용하여 해열 및 진통 작용, 항균작용, 항바이러스 작용, 항알러지 작용, 면역조절 작용, 항종양 작용 등을 하는 것으로 보고되고 있다^{6,7)}.

임신과 관련해서는 『日華子本草』, 『本草綱目』 등에서 목단피가 落胎下胞하는 작용을 가지고 있다고 하였으며^{6,8)}, 최근 연구에서도 목단피의 주성분인 paeonol이 임신초기에 유산을 유발한다는 보고^{4,9)}가 있다. 특히 임신 초기인 6일째에 생쥐에 paeonol을 투여하고 3일 후 부검하였을 때 유산율이 88.76%에

* Corresponding author

Ki-Tae Ha, Korean Medical Research Center for Healthy Aging, School of Korean Medicine, Pusan National University 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yangsan-si, Gyeongsangnam-do, Korea

·E-mail : hagio@pusan.ac.kr ·Tel : +82-51-510-8464

·Received : 2014/08/01 ·Revised : 2014/09/25 ·Accepted : 2014/10/17

© The Korean Society of Korean Pathology, The Korean Society of Korean Physiology

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529

Available online at www.hantopic.com

달하는 것으로 나타났다⁴⁾. 국내에서는 배 등¹⁰⁾이 목단피가 혈중 progesterone 농도는 유의하게 증가시키지만 배아의 착상에는 유의한 효과가 없었다고 보고하였다.

그러나 아직까지 목단피가 임신 초기에 유산을 유발하는 구체적인 기전에 대해서는 명확한 보고가 없는 실정이다. 본 연구에서 저자는 수정란의 착상에 중요한 인자로 알려진 사이토카인인 백혈병억제인자(leukemia inhibitory factor: LIF)¹¹⁾와 관련하여 한약재의 착상유도 효능을 연구하던 중, 목단피가 LIF와 관련된 기전으로 착상을 억제하는 것을 최초로 발견하였다. 이에 중요한 임신유도 약물 중 하나인 목단피가 임신 초기에 유산을 유발하는 기전에 LIF 신호전달이 관련되었을 가능성에 대하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 목단피의 추출

실험에 사용된 목단피는 옴니허브(대구)에서 구입하여 사용하였으며, 추출 방법은 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 즉, 목단피 100 g을 증류수 1 L에 넣고 2시간 동안 100°C에서 끓여서 식힌 다음, 4,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후 상등액을 취한다. 그 다음 열수추출물에 포함된 다당류를 제거하기 위하여 에탄올을 첨가하여 최종 농도가 70%가 되도록 한 후 4°C에 1시간 이상 방치하였다가 4,000 rpm에서 10분간 원심분리를 2회 진행한다. 원심분리를 통해 침전물을 제거하고 상등액을 취한 다음, 회전교반농축기(Eyela Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축한 후 동결건조기(Labconco, Kansas city, MO, USA)를 통하여 약 10.14g을 얻었다. 건조된 약재를 100 mg/mL의 농도로 증류수에 녹인 후 0.2 µm의 필터(Merck Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과한 후 -80°C에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

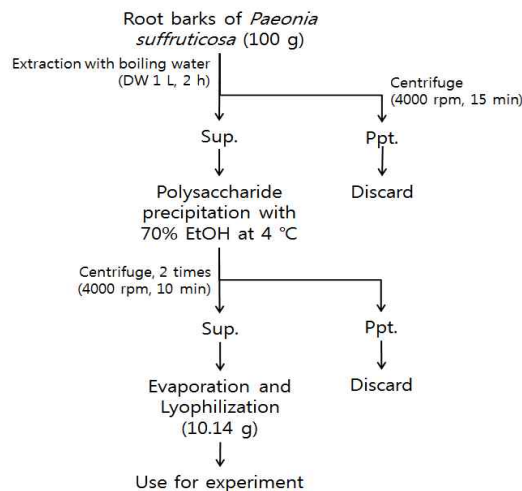


Fig. 1. Scheme of hot-water extraction and polysacchride precipitation methods.

2. 세포배양

인간 자궁내막선종에서 유래된 세포주인 Ishikawa 세포¹²⁾는 Dr. Jacques Simard(CHUL Research Center, Quebec, Canada)로부터 분양받아 사용하였다. 세포주는 10% fetal bovine serum (FBS; Sigma-Aldrich)과 1%의 페니실린/스트렙토마이신 (Gibco, Rockville, MD, USA)를 포함한 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Welgene, Daegu, Korea) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂를 포함한 공기 환경에서 단일층으로 배양하였다. 인간 용모막암 세포주인 JAR 세포¹³⁾는 한국세포주은행 (Seoul, Korea)으로부터 분양받았으며, 10% FBS와 1%의 페니실린/스트렙토마이신이 포함된 RPMI1640 배지 (Welgene)를 이용하여 배양하였다.

3. 세포생존율 측정

목단피에 의한 세포독성은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide를 이용한 MTT assay 방법으로 측정하였다. 즉, Ishikawa 세포주를 24 well plate에 농도별로 처리한 후 24시간을 배양한 다음, MTT 용액 (2 mg/mL)을 각 well에 처리하였다. 세포배양기에서 37°C로 4시간 배양한 후에 상등액을 제거하고 formazan 결정이 형성된 것을 microplate reader를 이용하여 540 nm의 흡광도에서 측정하였다. 약물을 처리하지 않은 군과 비교한 흡광도로써 살아 있는 세포의 비율을 백분율로 계산하였다.

4. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)

목단피를 농도별로 처리한 Ishikawa 세포에서 RiboExTM (GeneAll, Seoul, Korea)을 이용하여 chd RNA를 추출하였다. 각 시료별로 동량의 총 RNA (1 µg)을 oligo-dT primer와 M-MLV 역전사효소(Enzynomics, Daejeon, Korea)를 이용한 역전사반응에 사용하였다. 합성된 cDNA는 DiaStarTM Taq Polymerase (Solgent, Daejeon, Korea)를 이용한 PCR 반응에 사용되었다. PCR을 위한 primer 염기서열은 LIF의 합성에는 forward는 5'-CGT CTC GGT CGG AAC CAT GCC-3'와 reverse는 5'-TTC TCC GGG CCC ACT CCA CC-3'를 사용하였고, IL-11의 합성에는 forward는 5'-GGG GAC ATG AAC TGT GTT TGC-3'와 reverse는 5'-CAG GG AAT CCA GGT TGT GGT-3'를 사용하였고, β-actin의 합성에는 forward는 5'-CAA GAG ATG GCC ACG GCT GCT-3'와 reverse는 5'-TCC TTC TGC ATC CTG TCG GCA-3'를 사용하였다.

5. Western blot 분석

목단피를 농도별로 처리한 Ishikawa 세포에서 RIPA buffer (Cell Signaling, Denvers, MA, USA)를 이용하여 단백질을 분리한 후, 동량의 단백질 (20 µg)을 SDS-PAGE 전기영동을 통하여 분자량별로 분리한 다음 nitrocellulose 막으로 이동시킨다. 막을 5% skim milk로 blocking한 다음 anti-LIFR, gp130, integrin αv 및 anti-β-actin 항체 (Santa Cruz Co., Santa

Cruz, CA, USA)를 각각 반응시킨 후, horseradish peroxidase가 부가된 2차 항체를 반응시킨다. 항체반응의 강도는 ECL 반응을 이용하여 ImageQuant LAS4000 (GE healthcare, Uppsala, Sweden)로 측정하였다.

6. 세포접착 시험

Ishikawa 세포를 6 well plate에 1.5×10^6 이 되도록 뿌린 후 24시간 배양한다. 배지를 FBS가 제거된 DMEM 배지로 교체한 후 목단피 또는 인간 재조합 LIF (PeproTech, Rocky Hill, NJ, USA)를 첨가하여 48시간 동안 배양한다. JAR 세포를 4',6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI; Sigma-Aldrich)를 이용하여 10분간 4°C에서 형광표지한 후, 표지된 JAR 세포를 1X PBS로 세척한 후 단면배양된 Ishikawa 세포에 추가한다. RPMI1640 배지를 추가하고 37°C에서 30분간 40 rpm으로 천천히 교반한 후, Ishikawa 세포와 결합하지 않은 JAR 세포를 제거하기 위하여 1X PBS를 이용하여 세척한다. 결합된 JAR 세포는 Axio Imager M1 형광현미경 (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 촬영한 다음, 형광을 나타내는 세포수를 계수하였다.

7. Densitometry 및 통계분석

RT-PCR과 western blot을 통하여 얻어진 밴드의 강도와 세포접착 시험을 통해 얻어진 결합된 세포의 수는 Image J 프로그램 (NIH, Bethesda, MA, USA)을 이용하여 정량화되었다. 위의 모든 실험에서 얻어진 결과는 control과의 비교를 통하여 백분율로 표시되었으며 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 두 그룹 간 차이의 유의성은 GraphPad Prism 프로그램 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)을 이용하여 단방향 분산분석 (ANOVA)의 Dunnet's 사후비교법으로 분석하였다. 유의성을 인정하는 최소의 P 값은 0.05로 정하였으며, 모든 실험은 최소 3회 이상 독립적으로 실시하였다.

결 과

1. 세포생존을 확인

목단피가 인간 자궁내막유래 세포주인 Ishikawa 세포에 대하여 세포독성을 가지는 농도를 MTT 법을 이용하여 확인하였다. 그 결과 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 100 μ g/mL의 농도까지는 세포독성이 확인되지 않았으며, 500 μ g/mL의 농도에서 대조군에 비하여 $87.5 \pm 2.4\%$ 로 통계적으로 유의하게 세포생존율이 감소하였다. 따라서 이후의 실험은 세포독성이 나타나지 않은 것으로 확인된 50 μ g/mL의 농도까지로 진행하였다.

2. LIF 발현 확인

목단피가 착상 과정에 있어서 자궁내막의 중요 cytokine인 LIF 발현에 대한 영향을 확인하기 위하여 목단피를 농도별로 처리한 Ishikawa 세포에서 mRNA의 발현정도를 RT-PCR법으로 확인하였다. 그 결과, Fig. 3에 나타난 바와 같이 LIF의 발현이

농도의존적으로 증가하였으며 50 μ g/mL의 농도에서는 목단피를 처리하지 않은 군에 비하여 $723.8 \pm 124.8\%$ 로 통계적으로 유의하게 증가하였다. 이러한 결과는 목단피가 LIF의 증가를 통하여 수정란의 착상을 증가시킬 가능성을 시사한다.

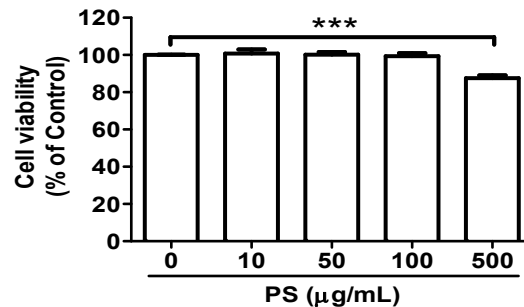


Fig. 2. The effect of root barks of paeonia suffruticosa (PS) on cell viability of human endometrial Ishikawa cells. The 2×10^4 cells were cultured in 24-well plates with the indicated concentrations of PS. At 24 h after the treatment, cell viability was estimated by using an MTT assay. Data represent the mean \pm SD of three independent measurements (***) $p < 0.001$ in comparison between two groups.

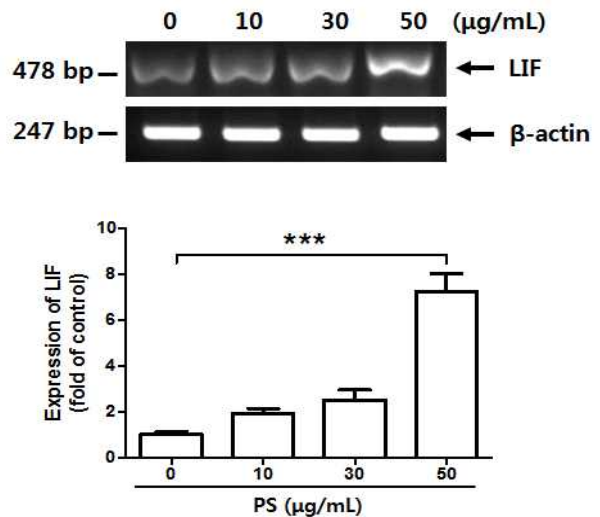


Fig. 3. The effect of PS on the expression of LIF in human endometrial Ishikawa cells. The Ishikawa cells were treated with indicated concentrations of PS in serum-free medium for 24h. Total RNA were extracted and the expression of LIF was measured by RT-PCR. The intensities of bands were estimated by densitometric analysis and calculated as means \pm SD of three independent experiments (***) $p < 0.001$ in comparison with each group).

3. IL-11, gp130 및 integrin α v의 발현 확인

목단피가 착상 과정에 있어서 자궁내막의 중요 인자들인 IL-11, gp130 및 integrin α v의 발현에 대한 영향을 확인하기 위하여 목단피를 농도별로 처리한 Ishikawa 세포에서 mRNA와 단백질의 발현정도를 RT-PCR법 및 western blot으로 확인하였다. 그 결과, 50 μ g/mL의 농도까지 목단피를 처리하였어도 Fig. 4에 나타난 바와 같이 IL-11, gp130, integrin α v의 발현은 유의한 변화를 나타내지 않았다.

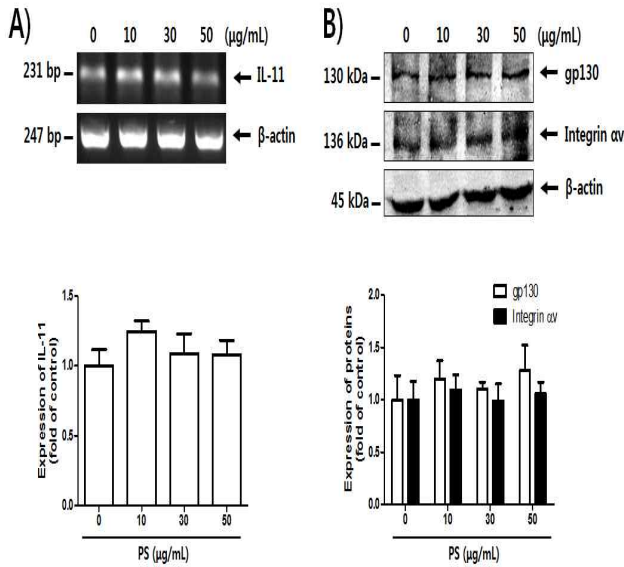


Fig. 4. The effect of PS on the expression of IL-11, gp130, and Integrin αv in human endometrial Ishikawa cells. The Ishikawa cells were treated with indicated concentrations of PS in serum-free medium for 24h. (A) Total RNA were extracted and the expression of IL-11 was measured by RT-PCR. The intensities of bands were estimated by densitometric analysis and calculated as means ± SD of three independent experiments. (B) Total proteins were extracted and the expression of gp130 and integrin αv were measured by western blot analysis. The intensities of bands were estimated by densitometric analysis and calculated as means ± SD of three independent experiments.

결과, 흥미롭게도 목단피 추출물 50 μg/mL을 처리하였을 때 Ishikawa 세포에 접착된 JAR 세포의 수는 목단피를 처리하지 않은 대조군에 비하여 28.9 ± 10.7%로 현저히 감소하였다. 반면 양성대조군으로 LIF를 처리한 경우에는 접착된 세포의 수가 280.7 ± 64.9%로 현저하게 증가하였다(Fig. 5).

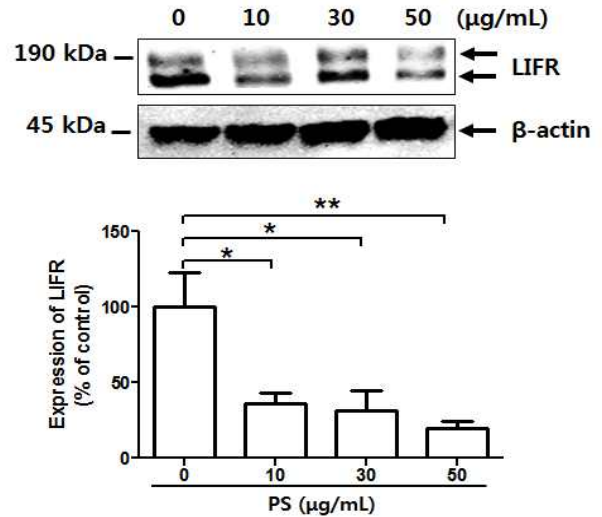


Fig. 6. The effect of PS on expression of LIFR in human endometrial Ishikawa cells. The Ishikawa cells were treated with indicated concentrations of PS in serum-free medium for 24h. Total proteins were extracted and the expression of LIFR was measured by western blot analysis. The intensities of bands were estimated by densitometric analysis and calculated as means ± SD of three independent experiments (* p < 0.05, ** p < 0.01 in comparison with each group).

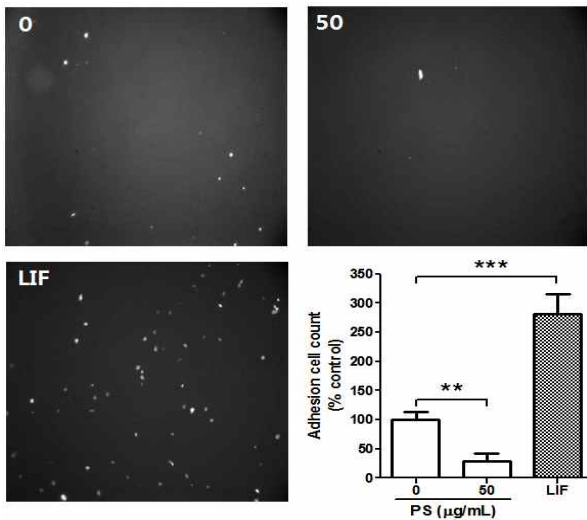


Fig. 5. Effect of PS on adhesion of human trophoblastic JAR cells onto Ishikawa cells. The Ishikawa cell were thoroughly cultured in 6-well plates and treated with PS or LIF for 48h. JAR cells labeled with DAPI were added onto Ishikawa cell monolayer. The numbers of JAR cells bound to confluent Ishikawa cells were manually counted. Three pictures were taken per slide and calculated as means ± SD of three independent experiments (** p < 0.01, *** p < 0.001 in comparison with each group).

4. 세포접착을 확인

다음으로는 목단피의 처리에 의하여 실제로 자궁내막유래 세포인 Ishikawa 세포와 trophoblast 유래 세포인 JAR 세포의 접착이 감소하는지를 adhesion assay를 통하여 확인하였다. 그

고찰

임신은 정상적인 배란, 수정, 수정란의 정상적 발달, 수정란의 수송 및 착상과 태반형성 등 다양한 과정이 관여하는 복합적인 생체 현상이다. 이 과정 중에서 배란과 수정, 수정란의 수송과 관련된 불임은 인공수정이나 시험과 시술법 등 임신보조술의 발달로 인해 많은 부분이 해결되고 있으나, 자궁내막의 기능 장애로 인한 착상 부전은 현재까지도 특별한 해결 방안이 없어서 불임치료에 있어 가장 중요한 난관이 되고 있다¹⁴⁾. 따라서 현재 25~30%에 불과한 착상 효율을 증가시키는 것은 임상적 미충족 수요를 해결할 수 있는 중요한 방안이며, 한의학적인 해결 가능성이 높은 주제라고 생각된다. 기존에 Reid와 Stuart의 보고¹⁵⁾에 의하면 한약을 양약치료 및 IVF와 병행하였을 때 2배 정도 임신율을 증가시킬 수 있으며, Huang과 Chen은¹⁶⁾ 한약은 GnRH의 분비를 조절하여 배란을 유도하며 자궁의 혈류를 개선시키고 월경주기를 조절하고 다낭성난소(PCOS)나 불안, 스트레스 및 면역학적 이상에 의한 불임에도 효과가 있음을 보고하였다. 또한 국내에서도 조경종옥탕, 육린주 등의 호르몬 조절과 배란 촉진 효능에 대한 보고¹⁷⁻¹⁹⁾ 등 많은 연구가 진행되어 있다.

착상 과정에 관여하는 인자로는 LIF, IL-6, IL-11 등의 gp130 family의 cytokine과 EGF, TGF-β, IGFBP-1, VEGF와 같은 성장인자, prostaglandin과 같은 염증성 인자,

L-selectin, $\alpha\beta3$ integrin과 같은 접착분자들이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다²⁰⁻²². 이 중에서도 LIF는 자궁내막의 glandular endothelium에서 분비되어 endothelial cell과 trophoblast에 대하여 autocrine 및 paracrine으로 작용하며, LIF에 대한 수용체인 LIFR과 결합한 후 JAK/STAT3 신호전달을 통하여 L-selectin, $\alpha\beta3$ integrin과 같은 접착분자의 발현을 증가시켜 두 세포간의 결합을 일으키는 것으로 알려져 있다^{23,24}. 특히, LIF 결손 생쥐의 경우 apposition까지는 정상적으로 진행된다가 adhesion 과정에서부터 결합이 발생하여 착상과 임신이 되지 않으며²⁴) LIF에 대한 항제나 antagonist를 통하여 LIF의 기능을 억제하면 착상이 일어나지 않는^{25,26}) 등, 착상 과정에 있어서 LIF의 기능이 핵심적인 것으로 알려져 있다. 따라서 LIF/LIFR 신호전달을 통하여 착상과정을 조절하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다²⁷.

한때 임신시의 약물 복용은 태반관문의 기능에 의해서 태아의 성장발육과 임신유지에 영향을 주지 않는 것으로 생각되었으나 탈리도마이드에 의한 선천기형이 1960년대에 보고된 이후²), 임신 중 약물이 태아의 성장발육과 임신유지에도 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 특히 임신초기에는 다양한 호르몬이나 호르몬의 antagonist들이 착상과 태반형성 등에 영향을 주는 것으로 알려져 있으며^{21,27}), 그 중에서도 progesterone 수용체에 대한 antagonist인 RU-486이 초기 임신을 효과적으로 억제하는 것으로 밝혀져²⁹) 현재 임상에서 사후피임약으로 사용 중이다. 한약을 비롯한 천연물에서도 임신을 억제하는 약물에 대한 보고가 있었으며^{30,31}), 특히 이들 약의 대부분은 한의학에서 임신금기약으로 보고되었다^{3,32}). 그러나 이와 같은 임신금기약 또는 유산을 유발하는 한약이 어떠한 기전에 의해서 착상을 비롯한 초기 임신과정을 억제하는지에 대한 연구는 아직 없는 실정이다.

저자는 한약에서 LIF의 발현을 증가시켜 착상 효율을 증가시킬 수 있는 약물을 탐색하던 중, 목단피가 LIF의 발현을 증가시키는 것을 확인하였다(Fig. 3). 또한 목단피는 LIF 이외에 IL-11, gp130 및 integrin $\alpha\upsilon$ 와 같은 인자의 발현에는 유의한 영향을 주지 않았다(Fig. 4). 그러나 자궁내막세포와 trophoblast의 접착실험을 진행하였을 때, LIF의 발현은 증가됨에도 불구하고 목단피의 처리해 의해서 trophoblast와 자궁내막세포의 결합은 오히려 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 5). 목단피에 의해서 LIF의 발현이 증가함에도 불구하고 자궁내막세포주와 trophoblast 세포주의 결합이 증가하지 않는 이유는, 목단피에 의하여 LIF의 증가를 상쇄할 수 있는 기전이 있음을 시사한다. 특히 LIF는 그 수용체인 LIFR를 통하여 신호가 전달되며, LIFR의 발현 조절에 의해서도 착상부전이 일어나는 것으로 보고되고 있다²⁸). 따라서 LIF에 대한 수용체인 LIFR의 발현을 확인한 결과 목단피는 LIFR의 발현을 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서부터 현저하게 저해하는 것을 확인하였다(Fig. 6).

이러한 결과는 목단피가 금계요약에서 임신금기약으로 분류된 이후³²) 다수의 문헌에서 임신금기약으로 보고되고 있는 것^{3-5,6,9,33})과 목단피의 주요 성분인 paeonol이 임신초기에 유산을 유발한다는 기존 연구결과⁹)와도 일치한다. 특히 동의보감의 임

신문에서는 육미지황탕을 기본으로 한 처방이 고본건양단, 속사단, 온신환 등 수종이 수록되어 있으나, 이들 처방에서 대부분 목단피를 사용하지 않고 있다³⁴). 또한 유 등의 연구³³)에서 보고한 바와 같이 임신기간에 사용된 처방 중에서 목단피를 사용한 용례를 살펴보면, 肝火血熱이나 火盛迫血妄行, 大便乾結小產 등 血熱이 존재하는 경우에만 매우 제한적으로 사용되었음을 알 수 있다.

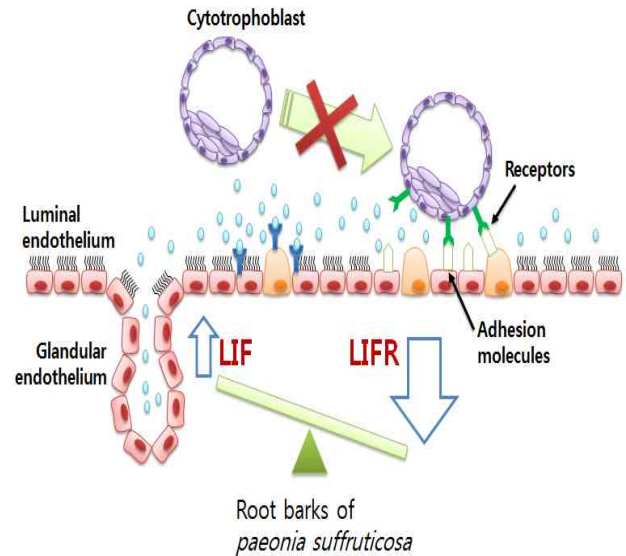


Fig. 7. Schematic presentation of Molecular Mechanism of Inhibition of Pregnancy by Root Barks of *Paeonia suffruticosa*.

이와 같이 목단피는 오랫동안 중요한 임신금기약으로 인식되어 왔으며, 실험적 연구에서도 초기 임신을 억제할 가능성이 제시되었다. 그러나 기존의 연구에서는 목단피가 유산을 유발하는 구체적인 기전에 대해서는 확인을 하지 못하였으나, 본 연구에서는 목단피가 착상과정을 억제하는 분자적 기전에 LIFR의 발현 감소가 관련되어 있을 가능성을 최초로 밝혔다(Fig. 7). 향후 목단피가 LIFR의 발현을 억제하는 구체적인 신호전달 기작이 어떠한지, LIFR 이외의 임신과 관련된 분자에 대한 영향은 어떠한지, 또한 LIFR의 발현을 억제하는 성분이 무엇인지에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

목단피는 다수의 한의학 문헌에서 임신금기약으로 제시되었으며, 최근의 실험연구에서도 임신저해 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 그 분자적인 기전은 아직 명확하지 않다.

본 연구에서는 목단피가 LIF의 발현을 증가시키기는 하지만, 동시에 그 수용체인 LIFR의 발현을 현저히 감소시키는 것을 확인하였다. 또한, 그 결과로 목단피는 자궁내막세포와 trophoblast의 접착을 저해하였다. 수정란의 착상과정에 있어서 LIF-LIFR 신호전달 과정이 중요한 역할을 하는 것을 감안할 때, 목단피에 의한 LIFR의 발현 감소를 통하여 임신저해 작용의 기전을 설명할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 향후 임상에서 임

신율을 제고하기 위한 한의학적 치료를 시행할 때, 목단피의 사용에 대해서 매우 신중하게 숙고할 것을 제언한다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한의약선도기술개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임. (과제고유번호: HI13C0502)

References

1. Chung H., Cha S., Shin T., Park C., Jang J., Lee K., Song B. Changes in Reproductive Functions in Pregnant Mice Administrated Kyoaekungkue-tang, Bojungkki-tang, Kungso-san, Antae-eum, Antaegumchul-tang, J Korean Oriental Med. 21(3):166-173, 2000.
2. Mellin, G.W., Katzenstein, M. The saga of thalidomide. Neuropathy to embryopathy, with case reports of congenital anomalies, N Engl J Med. 267: 1238-1244, 1962.
3. Jeong J.T., Kang H.S., Song B. Literatural study On contraindicative drugs during pregnancy, J Oriental Gynecology, 1(1):47-68, 1987.
4. Kim H.C., Pharmacology on Herbal Medicines, Seoul, Jipmundang, pp 47-150, 2001.
5. Co-edited by Professors of Herbalogy in Korea, Herbalogy, Seoul, Younglimsa, pp 193-195, 1991.
6. Council of editing encyclopedia on chinese herbal medicines, Encyclopedia on Chinese Herbal Medicines (translated in Korean), Seoul, Jungdam Publishing, pp 1311-1317, 1997.
7. Chae, H.S., Kang, O.H., Lee, Y.S., Choi, J.G., Oh, Y.C., Jang, H.J., Kim, M.S., Kim, J.H., Jeong, S.I., Kwon, D.Y. Inhibition of LPS-induced iNOS, COX-2 and inflammatory mediator expression by paeonol through the MAPKs inactivation in RAW 264.7 cells, Am J Chin Med. 37(1):181-194, 2009.
8. Li, S.Z., Compendium of Materia Medica, Beijing, Huaxia Publishing, pp 592-593, 2002.
9. Wu, B., Zhao, T.D., Guan S.H. Study on the effect of Paeonol on the contraception of mouse, Laioning J Tradi Chinese Med, 1980(4):43-44, 1980.
10. Bae E.K., Lee K.S., Song B.K., Study on the Influences of Moutan Cortex Radicis and Corydalis tuber on Pregnant Maintenance, Corpus Lutein Functions and Toxic Action of Kidney and Liver during Pregnancy, J Kyunghee Oriental Medicine, 18(2):1-12, 1995.
11. Suman, P., Malhotra, S.S., Gupta, S.K. LIF-STAT signaling and trophoblast biology. JAKSTAT. 2(4):e25155, 2013.
12. Nishida, M. The Ishikawa cells from birth to the present. Hum Cell, 15(3):104-117, 2002.
13. Hochberg, A., Rachmilewitz, J., Eldar-Geva, T., Salant, T., Schneider, T., de Groot, N. Differentiation of choriocarcinoma cell line (JAr), Cancer Res, 52(13):3713-3717, 1992.
14. Koot, Y.E., Macklon, N.S. Embryo implantation: biology, evaluation, and enhancement, Curr Opin Obstet Gynecol, 25(4):274-279, 2013.
15. Ried, K., Stuart, K. Efficacy of Traditional Chinese Herbal Medicine in the management of female infertility: a systematic review, Complement Ther Med, 19(6):319-331, 2011.
16. Huang, S.T., Chen, A.P. Traditional Chinese medicine and infertility, Curr Opin Obstet Gynecol, 20(3):211-215, 2008.
17. Seo Y.J., Kim C.W., Yoo S.K. Effect of Jokyungjongok-tang on ovulation of rats, J Oriental Gynecology, 12(2):101-106, 1999.
18. Bae J.K., Kim K.H. Effect of Jokyungiongoktang on the Fluctuation of Gonadotropin and Sex Hormone Concentration, J Dongguk Oriental Medicine, 1(1):15-54, 1992.
19. Choi S.S., Hong S.E., Kim J.H., Yu S.G. Study on the effect of Yuklinju on ovulation and ovarian function of rats, J Oriental Gynecology, 12(2):177-133, 1999.
20. Salamonsen, L.A., Hannan, N.J., Dimitriadis, E. Cytokines and chemokines during human embryo implantation: roles in implantation and early placentation, Semin Reprod Med 25(6):437-444, 2007.
21. Guzeloglu-Kayisli, O., Kayisli, U.A., Taylor, H.S. The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions, Semin Reprod Med, 27(1):62-79, 2009.
22. van Mourik, M.S., Macklon, N.S., Heijnen, C.J. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment, J Leukoc Biol, 85(1):4-19, 2009.
23. Aghajanova, L. Update on the role of leukemia inhibitory factor in assisted reproduction, Curr Opin Obstet Gynecol, 22(3):213-219, 2010.
24. Stewart, C.L., Kaspar, P., Brunet, L.J., Bhatt, H., Gadi, I., Köntgen, F., Abbondanzo, S.J. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor, Nature, 359(6390):76-79, 1992.

25. Terakawa, J., Wakitani, S., Sugiyama, M., Inoue, N., Ohmori, Y., Kiso, Y., Hosaka, Y.Z., Hondo, E. Embryo implantation is blocked by intraperitoneal injection with anti-LIF antibody in mice, *J Reprod Dev*, 57(6):700-707, 2011.
26. White, C.A., Zhang, J.G., Salamonsen, L.A., Baca, M., Fairlie, W.D., Metcalf, D., Nicola, N.A., Robb, L., Dimitriadis, E. Blocking LIF action in the uterus by using a PEGylated antagonist prevents implantation: a nonhormonal contraceptive strategy, *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(49):19357-19362, 2007.
27. Duncan, G.W., Wheeler, R.G. Pharmacological and mechanical control of implantation. *Biol Reprod*. 12(1):143-175, 1975.
28. Cullinan, E.B., Abbondanzo, S.J., Anderson, P.S., Pollard, J.W., Lessey, B.A., Stewart, C.L. Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(7):3115-3120, 1996.
29. Kovacs, L., Sas, M., Resch, B.A., Ugocsai, G., Swahn, M.L., Bygdeman, M., Rowe, P.J. Termination of very early pregnancy by RU 486—an antiprogestational compound. *Contraception*. 29(5):399-410, 1984.
30. Kong, Y.C., Xie, J.X., But, P.P. Fertility regulating agents from traditional Chinese medicines, *J Ethnopharmacol*, 15(1):1-44, 1986.
31. Kamboj, V.P. A review of Indian medicinal plants with interceptive activity, *Indian J Med Res*. 87: 336-355, 1988.
32. Wu J., Fan X.S. Analysis on the use and significance of pregnancy drug contraindications in *Jinkuiyaolue*, *J Tradi Chinese Med*, 54(10):889-890, 2013.
33. Lyu K.H., Kim C.M., Park L.J., Choi H.I Study on the prescriptions used during pregnant periods related with forbidden herbal drugs, *J Medical Gi-gong*, 9(1):49-69, 2006.
34. Heo J. Chapter of Multiple Diseases II, in *Dongeuibogam* (vol. 4), Seoul, Ryeongang, pp 2244-2250, 1994.