



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학 석사학위 논문

면역기전으로 유도된 백서의
방광염에서 방광근 수축력에 대한
여성호르몬의 영향

아주대학교대학원

의 학 과

안 현 수

면역기전으로 유도된 백서의
방광염에서 방광근 수축력에 대한
여성호르몬의 영향

지도교수 김 영 수

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

1999년 12월

아 주 대 학 교 대 학 원

의 학 과

안 현 수

안현수의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

아 주 대 학 교 대 학 원

1999년 12월 일

감사의 글

대학원 입학부터 어려움이 있을 때마다 걱정해주시고 어려움 속에서도 본 논문이 완성될 수 있도록 세심한 배려와 지도로 이끌어주신 김 영수 교수님께 먼저 진심으로 감사를 드리며, 논문 심사에 많은 가르침을 주신 문 창현 교수님, 김 현만 교수님께 감사드립니다.

실험이 가능하도록 많은 배려와 가르침을 주셨던 생리학 교실의 백 은주 교수님과 정 이숙 선생님께 감사드립니다. 실험 중 많은 도움을 주셨던 임상병리과 임 영애 교수님, 경기대학교 계 명찬 교수님과 실험을 도와준 권 재일, 강 지훈, 김 영부, 이 준엽, 허 용선 선생님에게도 감사드립니다.

본 논문이 잘 마무리되기를 바라며 배려와 기원해 주었던 가족들에게 이 결실을 바칩니다.

1999. 12. .

면역기전으로 유도된 백서의 방광염에서 방광근 수축력에 대한 여성호르몬의 영향

간질성 방광염은 방광통증증후군(painful bladder syndrome) 중 가장 증가 되고 대표적인 질환으로서 현재 많은 연구가 진행되고 있다. 이 질환은 주로 30-50대 백인 여성에서 호발하는 질환으로 알려져 있으나 실제로는 국내에서도 이 질환에 대한 관심이 고조되면서 최근에 많이 발견되고 있다.

간질성 방광염의 발생율은 남녀비가 1:10으로 여성에서 호발되는 것으로 보아 성호르몬이 이 질환의 발생 기전에 어떤 역할을 할 것으로 추정되고 있다. 이에 연구자는 여성호르몬의 제거 또는 투여로 전처치 후 비자극성 항원인 난황알부민으로 백서를 감작시킨 후 알러지성 방광염을 유발하여, 여성호르몬이 방광근 수축력에 미치는 영향을 알아보고, 여성호르몬이 알러지성 방광염 동물모델에서는 어떠한 작용을 하는지를 확인하여, 간질성 방광염의 발생에 여성호르몬의 역할을 규명하고자 이 연구를 시행하였다.

Sprague-Dawley종 암컷 백서 36마리를 대상으로 하여 sham 수술, 난소적출술, 난소적출술 후 여성호르몬 투여의 세가지 전처치를 한 후, 난황알부민을 백서의 복강내 주입하여 백서를 감작시키고, 감작군과 생리식염수를 주입한 대조군으로 분류하여, 3주 후 면역 반응을 유발시키기 위하여 감작군에서는 난황알부민을, 대조군에서는 생리식염수를 방광내에 유치하고 배출시킨 후, 방광근육절편을 이용하여 bethanechol 및 전기 자극에 의한 수축력을 비교하고, 조직학적 검사로 방광 조직내 비만세포를 조사하였다.

대조군에서 bethanechol에 대한 방광근육절편의 수축력은 난소절제술 시행 후 감소하는 양상을 보였으며, 이는 여성호르몬 투여 후에도 회복되지 않았다. 감작군에서는 난소절제술 후 감소하는 양상이 관찰되며, 여성호르몬 투여 후 sham

수술만 시행한 군만큼 회복되었다. 여성호르몬 투여 군에서는 감각군에서 대조군보다 수축력이 더 큰 양상을 보였다. 전기 자극에 의한 수축력은 대조군에서 sham 수술 군에 비하여 난소절제술 후 증가하였으며, 이는 여성호르몬 투여 후 어느 정도 다시 감소되었다. 감각군에서는 sham 수술, 난소절제술 및 난소절제술 후 여성호르몬 투여 군에서 유의한 차이를 보이지 않았다. Sham 수술 군에서는 일부 유의하게 감각군에서 대조군에 비해 수축력이 더 큰 양상을 보이며, 난소절제술 및 난소절제술 후 여성호르몬 투여군에서는 대조군에서 수축력이 더 큰 경향을 보였다.

방광근층의 비만세포 수는 대조군에서 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 3군에서 1, 2군에 비하여 의미있게 높았으며, 감각군에서는 6군에서 4, 5군에 비하여 높았으나 유의하지는 않았다. 감각군에서 전처치에 따라 대조군에 비하여 방광근층 비만세포 수가 높은 양상을 보이나 통계적 유의성은 없었다. 점막하층에서 비만세포 수는 모든 군에서 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과에서 백서의 방광에서도 면역학적 기전으로 방광염을 유도할 수 있고, 이는 간질성 방광염과 유사한 소견을 나타내며, 감각된 방광에서는 여성호르몬 투여가 수축력을 회복시킬 수 있음을 알 수 있었다. 또한, 여성호르몬이 알려지성 방광염 유발에도 영향을 미쳤다. 이는 정상적인 여성호르몬의 존재가 간질성 방광염 발생에 기여할 것으로 추정할 수 있다. 감각에 대한 여성호르몬의 영향을 이 실험만으로 규명하기는 어려웠으나, 향후 여성호르몬의 투여 방법 및 용량의 차이에 따른 변화에 대한 실험 및 투여 기간의 차이에 대한 영향, 그리고 감각시킨 후 여성호르몬 상태의 변화를 유발하여 감각 후의 영향에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

핵심되는 말: 방광, 감각, 난황알부민, 난소절제술, 여성호르몬, 간질성 방광염

차 례

논문인준서 -----	i
감사의 글 -----	ii
국문요약 -----	iii
차례 -----	v
그림차례 -----	vi
표차례 -----	vii
I. 서론 -----	1
II. 재료 및 방법 -----	3
A. 실험 동물과 분류 -----	3
B. 난소절제술 및 여성호르몬 투여 -----	3
C. 방광 감작 및 항원 주입 -----	3
D. 방광배뇨근의 수축력 측정 -----	4
E. 조직학적 비만세포 판별 -----	5
F. 통계 처리 방법 -----	5
III. 결과 -----	6
A. 흰쥐 체중 및 방광의 무게 -----	6
B. 방광의 수축력 -----	6
1. Bethanechol에 의한 수축력의 차이 -----	6
2. 전기 자극(Field Stimulation)에 의한 수축력의 차이 -	7
C. 방광 비만세포의 수 -----	7
IV. 고찰 -----	14
V. 결론 -----	18
참고문헌 -----	20
영문요약 -----	25

그림 차례

- Fig. 1. Contractile response of bladder muscle strips to
bethanechol in control and sensitized group ----- 9
- Fig. 2. Comparison between control group and sensitized
group in contractile response of bladder muscle
strips to bethanechol ----- 10
- Fig. 3. Contractile response of bladder muscle strips to field
stimulation in control and sensitized group ----- 11
- Fig. 4. Comparison between control group and sensitized
group in contractile response of bladder muscle
strips to field stimulation ----- 12

표 차례

Table 1. The grouping of the experimental rat model ----- 8

Table 2. The number of mast cell in submucosa
and detrusor muscle ----- 13

I. 서 론

1907년 Nitze에 의해 처음으로 기술된 간질성 방광염은 방광통증증후군 (painful bladder syndrome) 중 가장 주가 되고 대표적인 질환으로서 현재 많은 연구가 진행되고 있다. 이 질환은 주로 30-50대 백인 여성에서 호발하는 질환으로 알려져 있으나 실제로는 국내에서도 이 질환에 대한 관심이 고조되면서 최근에 많이 발견되고 있다. 간질성 방광염의 진단은 동통, 빈뇨, 급뇨와 같은 증상과 마취하에서 방광내벽의 특징적인 상피의 구상화(glomerulation) 혹은 Hunner 궤양 등이 지표가 되며, 진단적 3징후(triad)는 무균성뇨, 설명되지 않는 빈뇨, 요급 및 치골상부 동통 등의 방광자극 증세와 방광경 검사상 방광 점막의 구상화 혹은 Hunner 궤양이다. 진단을 위해서는 많은 조건들의 제외(exclusion)를 요하는 "exclusion diagnosis" 라 할 수 있다¹.

간질성 방광염은 병리조직학적으로 방광점막 점액다당질층의 결손, 배뇨근층의 비만세포(mast cell)의 증가 및 염증성 단핵세포 출현, 면역인자에 의한 상피세포의 손상 및 배뇨근의 전반적 섬유화 등을 관찰할 수 있다^{2,3}. 이 질환의 기전으로는 자가면역, 감염, 임파혈관성 울혈, 정신적 압박, 방광점막 GAG(glycosaminoglycan)층의 결여, 방광 비만세포 및 요중 자극성 물질의 방광 점막 투과 등 많은 인자들이 주장되고 있으나, 방광 점막의 투과성 증가로 인한 요중 자극성 물질의 방광 점막내 투과로 방광근의 손상 및 방광근 감각 신경 세포의 변성이 야기되어 발생할 것이라는 설과 면역 기전에 의한 만성 염증 반응에 기인할 것이라는 설이 가장 많이 대두되고 있다⁴⁻⁹. 이렇게 발병 기전이 명확히 규명되지 않은 원인은 이 질환의 확립되지 않은 진단 기준 및 희귀성 그리고 자연적으로 유발된 실험 동물 모델의 부족 등에서 기인하는 것으로 생각된다.

간질성 방광염의 발생 빈도는 남녀비가 1:10 으로 여성에서 호발되는¹⁰ 것으로 보아 성호르몬이 발생 기전에 어떤 역할을 할 것으로 추정되고 있다. 여성호르

몬의 방광근에 대한 역할에 대한 연구는 일부 보고에서 난소적출술 후 방광근 수축력이 감소하고 여성호르몬 투여 후 수축력이 다시 회복되는 결과를 보고하였으나¹¹, 감각된 방광 즉 간질성 방광염에 대한 여성호르몬의 영향에 대한 보고는 거의 없는 상태이다.

난황알부민(ovalbumin)은 당단백질의 일종으로 난백내 단백질의 주성분이다. 이 단백질은 방광에 화학적 혹은 물리적 손상을 주지 않는 비자극성 항원으로 정상 방광에 주입시 변화를 가져오지 않으나, 미리 복강내에 주입하여 감각시킨 후 일정 시간 지난 뒤 방광내에 주입하면 알리지 반응을 유발하여 간질성 방광염과 유사한 소견을 나타내는 것으로 알려져 있다¹²⁻¹⁴.

연구자는 간질성 방광염에서의 여성호르몬의 역할을 규명하고자 하였다. 이를 위하여 백서에서 sham 수술을 시행한 군, 난소절제술을 시행한 군 및 난소절제술 시행 후 여성호르몬을 투여한 군에서, 난황알부민을 이용하여 알리지 반응을 백서의 방광에 유발시킨 후, 여성호르몬의 유무에 따른 방광근 수축력의 차이를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

A. 실험 동물과 분류

실험 동물은 동일 환경에서 실험 동물용 사료로 사육한 36마리의 백서 (Sprague-Dawley, 암컷, 체중 210-240gm)를 사용하였다. 실험 동물은 전처치와 난황알부민 감각에 따라 다음과 같이 분류하였다.

- 1군: sham 수술을 시행한 대조군
- 2군: 난소절제술을 시행한 대조군
- 3군: 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 대조군
- 4군: sham 수술을 시행한 감각군
- 5군: 난소절제술을 시행한 감각군
- 6군: 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 감각군

B. 난소절제술 및 여성호르몬 투여

모든 군에서 백서 복강내에 pentothal(10mg/100gm)을 주입하여 마취한 후에 배복측(lumbar) 부분절개 하에서 1, 4군에서는 sham 수술을, 2, 3, 5, 6군에서는 양측 난소절제술을 시행하였다. 수술 부위의 감염방지를 위하여 수술 후 1주일간 매일 2회씩 베타딘 용액을 수술 부위에 도포하였으며, 항생제는 사용하지 않았다. 수술 5일 후부터 3, 6군에서는 참기름(sesame oil)에 β -estradiol(Sigma chemical co. St. Louis, Mo, e-8875, 10 μ g/개체)을 용해하여 0.1ml씩, 다른 군에서는 참기름을 0.1ml씩 실험 종결 시까지 매일 피하 주사하였다.

C. 감각 및 항원 주입

수술 7일 후부터 감각을 시작하였다. 1, 2, 3군에서는 감각 시작 1, 3, 5일에

각각 생리식염수 1ml를 복강내 주입한 후 4주째 pentothal(10mg/100gm)을 복강내에 주입하여 마취한 후에 방광내에 생리식염수 1ml를 1시간 동안 유치한 뒤 희생시켰다. 4, 5, 6군에서는 감각 시작 1, 3, 5일에 각각 등장액에 용해시킨 비자극성 항원인 난황알부민(Sigma chemical co. St. Louis, Mo, a-2512, 10mg/ml) 1ml를 복강내 주입한 후 마지막 주입 3주 후에 pentothal(10mg/100gm)을 복강내에 주입하여 마취한 후 등장액에 용해시킨 난황알부민(10mg/ml) 1ml를 방광내에 1시간 동안 유치한 뒤 희생시켰다^{3,12,13}(Table 1).

D. 방광근의 수축력 측정

마취 후 방광내 생리식염수 및 난황알부민을 1시간 동안 유치하고 치골 상부의 하복부를 중앙 절개하여 근위부 요도를 포함한 방광을 적출하였다. 근위부 요도로부터 방광정부에 이르는 방광의 전부(복부)의 중앙부를 절개하여 방광내부를 노출시킨 후 점막의 변화를 육안적으로 관찰하였다. 적출된 방광의 경부상방에서 방광정부 쪽으로 5x10mm 크기의 근육절편을 2개 만들어 Tyrode용액(NaCl 136.9mM, KCl 2.68mM, CaCl₂ 1.80mM, NaHCO₃ 11.90mM, NaHPO₄ 0.40mM, glucose 5.55mM)이 든 patri dish에 넣었다. 근육절편의 양쪽 끝에 스틸클립(stainless steal clip)을 이용하여 아랫쪽은 37℃의 Tyrode용액이 5ml 담긴 organ bath의 바닥에 고정하고 윗쪽은 physiograph(Model 7400 Grass co. West Warwick, RI)에 연결하여 95%의 산소를 공급하여 37℃에서 30분간 배양하였다. 최대 장력이 2.0gm을 넘지 않는 범위 내에서 0.2씩 장력을 증가시키며 기초 장력이 1.0gm이 되도록 한 후 평형 상태를 유지시켰으며, 이 시기에 15분 간격으로 Tyrode용액을 교환하였다. 하나의 근육절편에 1Hz에서 100Hz의 전기 자극(Field Stimulation:FS)을 가해 그 각각의 주파수에 따른 수축 정도를 physiograph로 측정하였다^{14,15}. 다른 하나의 근육절편에 1.0gm으로 평형 유지 후 bethanechol을 배양액 내 최종 농도가 3x10⁻⁷M에서 10⁻⁴M까지 되도록 투여하여 수축력을 측정하였다.

E. 조직학적 비만세포 판별

적출된 방광 중 남은 부분을 10% 중성 포르말린에 고정하여 파라핀 포매 과정을 거친 후 4 μ m의 두께로 박절하였다. 비만 세포를 관찰하기 위하여 Toluidine Blue로 염색한 표본을 광학 현미경 200배 시야에서 점막하층과 방광근층에 침윤되어 있는 비만세포의 수를 측정하였다. 각 200배 시야가 서로 중복되지 않게 7군대를 임의로 선정하여 비만세포의 수를 측정한 후 평균치를 산출하였다³.

F. 통계 처리 방법

자료는 평균 \pm 표준편차로 표기하였고 얻어진 결과의 유의성은 unpaired t-test를 이용하여 검정하였으며 p 값이 0.05미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

III. 결 과

A. 백서 체중 및 방광의 무게

실험군과 대조군의 구성은 Table 1과 같았으며, 대조군 중 난소절제술을 시행한 2군에서 1, 3군에 비하여 실험 기간 중 체중이 더 많이 증가하였으나, 방광 무게에는 차이가 없었다. 감작군에서는 4, 5, 6군간에 체중에는 차이가 없었으나, 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 6군에서 4, 5군에 비하여 방광 무게가 더 무거웠다.

B. 방광근 수축력

1. Bethanechol에 의한 수축력의 차이

Bethanechol을 배양액 내 최종 농도가 $3 \times 10^{-7}M$ 에서 $10^{-4}M$ 까지 되도록 투여하여 수축력을 측정하였다. 대조군에서 bethanechol에 의한 반응은 sham 수술을 시행한 1군에서 2, 3군에 비하여 수축력이 더 큰 것으로 관찰되며, $10^{-5}M$ 농도에서는 유의하였다(Fig. 1). 감작군에서는 난소절제군인 5군에서 4, 6군에 비하여 수축력이 더 작은 것으로 관찰되며 $10^{-6}M$ 농도에서 유의하였다(Fig. 1).

대조군에서는 난소절제술을 시행한 군이나 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 군 모두에서 sham 수술만 시행한 군에 비하여 수축력이 감소된 경향을 보였다. 감작군에서는 sham 수술을 시행한 군과 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 군은 수축력이 유사한 반면, 난소절제술을 시행한 군에서는 다른 두 군에 비하여 수축력이 작은 소견이 관찰되었다.

Sham 수술군과 난소절제군에서는 일부 유의하게 대조군에서 감작군에 비해 수축력이 더 큰 소견을 보이며, 난소절제술 후 여성호르몬 투여군에서는 감작군에서 수축력이 더 큰 경향이 관찰되었다(Fig. 2).

2. 전기 자극(Field Stimulation:FS)에 의한 수축력의 차이

전기 자극을 1, 10, 30, 50, 100Hz로 변화하여 수축력을 측정한 결과, 대조군에서 sham 수술을 시행한 1군과 비교하여 난소절제술을 시행한 2군에서 수축력이 증가하며, 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 3군에서는 어느정도 다시 감소되는 양상을 보이며 1Hz 자극에서 유의하였다(Fig. 3). 감작군에서는 4, 5, 6군에서 수축력에 유의한 차이를 보이지 않아 감작군에서는 여성호르몬 유무에 따른 차이는 보이지 않았다(Fig. 3).

Sham 수술군에서는 감작군이 대조군에 비해 수축력이 더 큰 양상을 보이며 1Hz 자극에서 유의하였다. 난소절제군 및 난소절제술 후 여성호르몬 투여군에서는 전반적으로 대조군에서 수축력이 더 큰 경향을 나타내었다(Fig. 4).

C. 방광벽 비만세포의 수

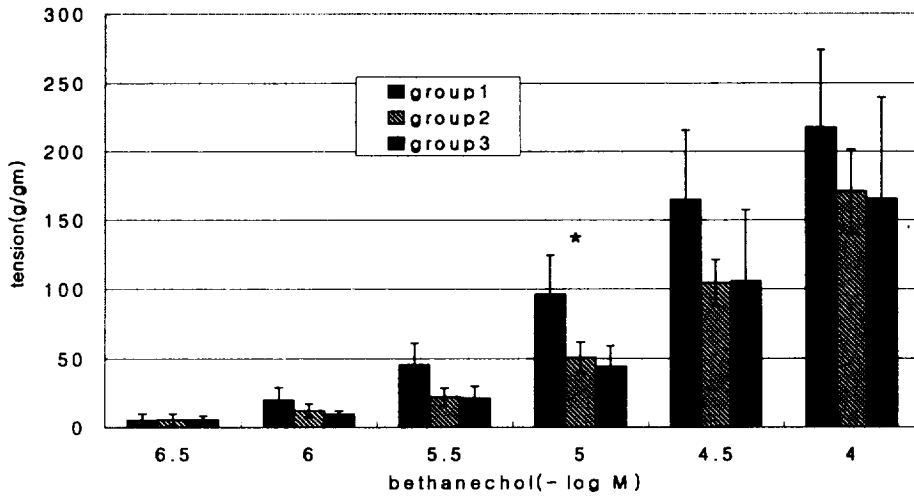
방광근층의 비만세포 수는 대조군에서 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 3군에서 1, 2군에 비하여 의미있게 높았으며, 감작군에서는 6군에서 4, 5군에 비하여 높았으나 유의하지는 않았다. 감작군에서 여성호르몬 전처치에 따라 대조군에 비하여 방광근층 비만세포 수가 높은 양상을 보이나 통계적 유의성은 없었다. 점막하층에서 비만세포 수는 모든 군에서 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 1. The grouping of the experimental rat model

	대조군			감작군		
	1군	2군	3군	4군	5군	6군
	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
처리	sham op.	ovariectomy	ovariectomy +estradiol	sham op.	ovariectomy	ovariectomy +estradiol
체중 (gm)	286 ± 17	342 ± 36*	285 ± 18	275 ± 24	315 ± 51	278 ± 22
방광 무게 (mg)	11.1 ± 2.7	12.6 ± 2.8	12.4 ± 0.7	10.0 ± 1.9	9.9 ± 1.0	12.7 ± 1.8*

Values are presented as mean ± S.D. * indicates significant difference compared with other two groups (p < 0.05).

Control group



Sensitized group

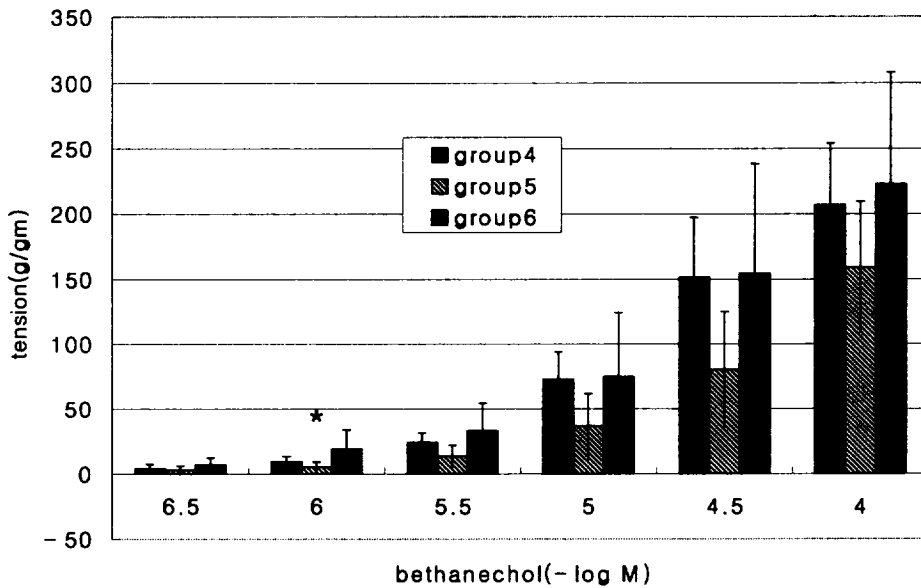
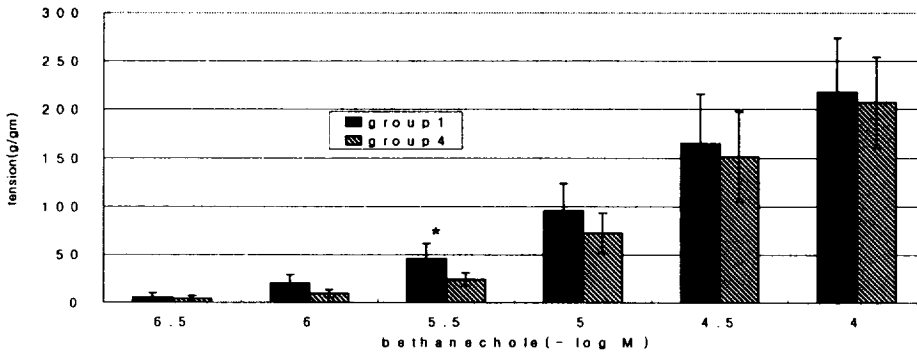
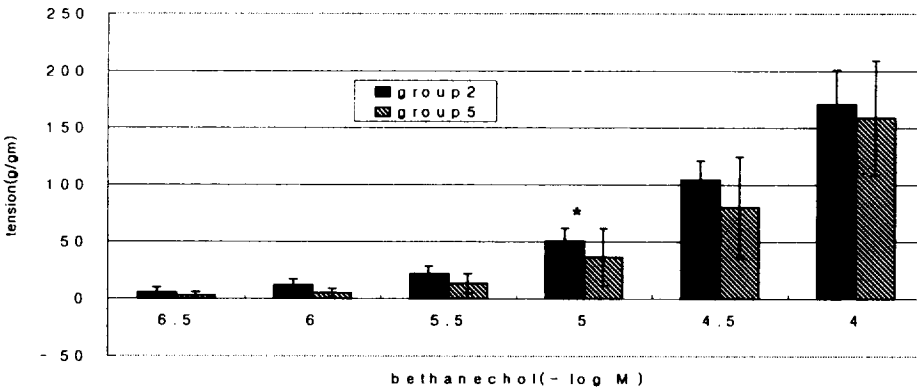


Fig. 1. Contractile response of bladder muscle strips to bethanechol in control and sensitized group. Values are presented as mean \pm S.D., * indicates significant difference compared with other two groups ($p < 0.05$).

Sham op.



Ovariectomy



Ovariectomy+estradiol

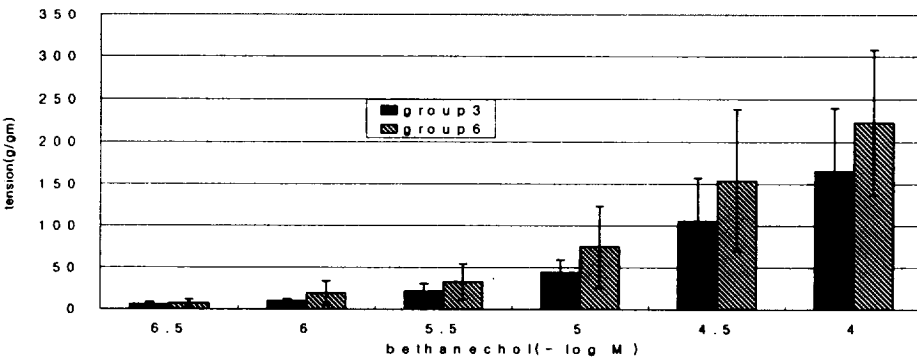


Fig. 2. Comparison between control group and sensitized group in contractile response of bladder muscle strips to bethanechol. Values are presented as mean \pm S.D., * indicates significant difference compared control group with sensitized group ($p < 0.05$).

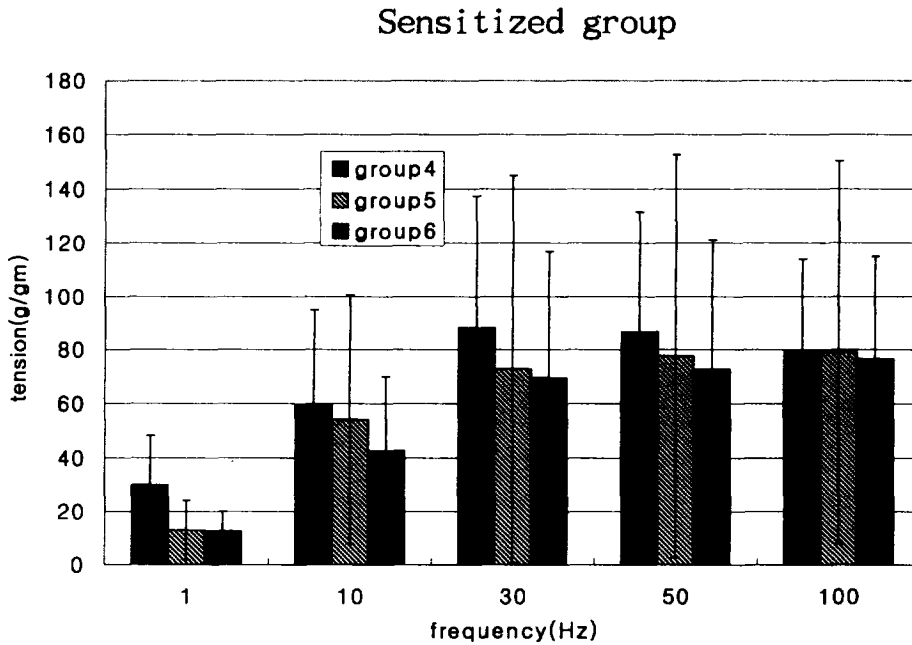
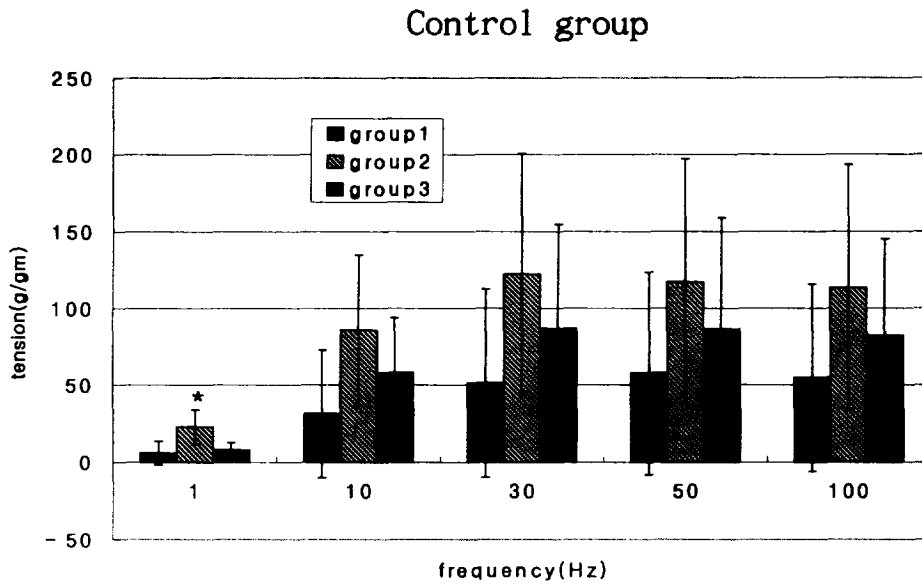
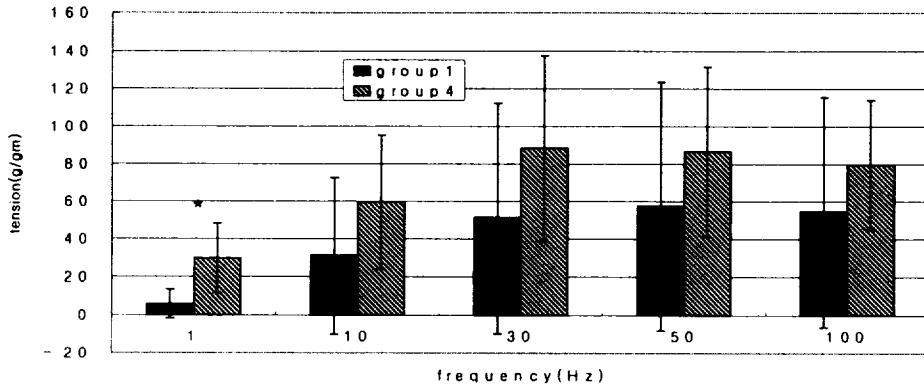
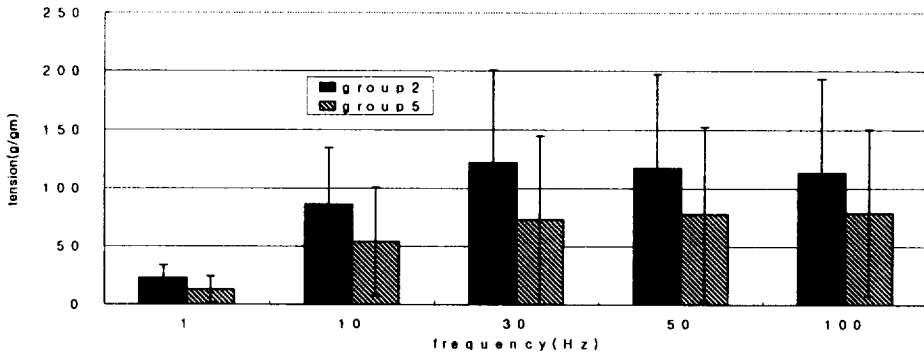


Fig. 3. Contractile response of bladder muscle strips to field stimulation in control and sensitized group. Values are presented as mean \pm S.D., * indicates significant difference compared with other two groups ($p < 0.05$).

Sham op.



Ovariectomy



Ovariectomy+estradiol

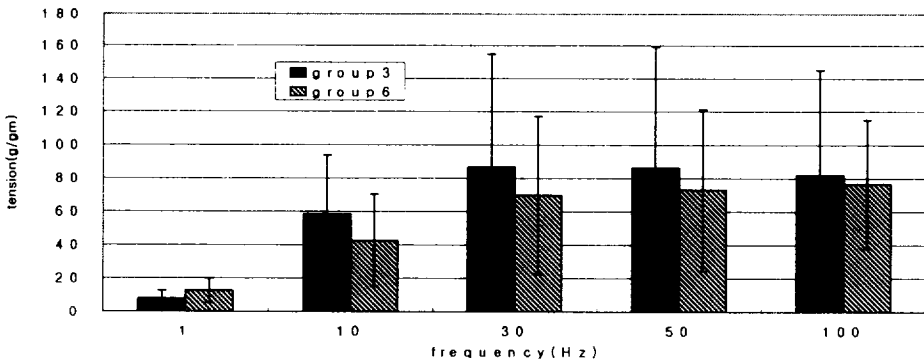


Fig. 4. Comparison between control group and sensitized group in contractile response of bladder muscle strips to field stimulation. Values are presented as mean±S.D., * indicates significant difference compared control group with sensitized group (p<0.05).

Table 2. The number of mast cell in submucosa and detrusor muscle

	대조군			감작군		
	1군	2군	3군	4군	5군	6군
처리	sham op.	ovariectomy	ovariectomy +estradiol	sham op.	ovariectomy	ovariectomy +estradiol
점막하층 비만세포 (개/1pf)	3.0±0.9	3.0±1.7	3.5±1.6	2.5±1.2	2.9±1.2	2.9±1.4
방광근층 비만세포 (개/1pf)	0.9±0.3	1.1±0.3	2.6±0.8*	1.6±0.9	1.4±1.4	3.4±2.8

Mast cells were counted in low power field (x200). Values are presented as mean±S.D. of mast cell count/0.785mm². * indicates significant difference compared with other two groups (p<0.05).

IV. 고찰

간질성 방광염의 발생 빈도는 남녀비가 1:10으로 여성에서 호발되는¹⁰ 것으로 보아 성호르몬이 발생 기전에 어떤 역할을 할 것으로 추정되고 있다. 여성호르몬의 방광에 대한 작용은 Liu 등¹⁶이 출혈성 방광염에서 치료에 이용하며 방광점막 미세혈관의 안정성을 높여 준다는 것을 보고하였고, Pang 등¹⁷은 간질성 방광염 환자에서 대조군에 비해 여성호르몬 수용체의 수가 많음을 보고하였다. 방광근에 대한 여성호르몬의 영향은 백서 실험에서 난소적출술 후 방광근 수축력이 감소하고 여성호르몬 투여 후 수축력이 다시 회복되는 결과가 보고되었다¹¹. 토끼를 이용한 다른 연구에서는 미성숙 토끼에 여성호르몬 투여 후 방광근의 수축반응이 증가하였다¹⁸.

난소절제술 후 방광근의 수축력이 감소하는 기전은 아직 명확치는 않다. estradiol이 자궁에 미치는 기전과 유사할 것으로 생각되는데 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 동물 실험에서 자궁활성도 및 수축력이 증가하는 것이 관찰되는데 이는 칼슘과 관계되는 것으로 생각되고 있다^{19,20}. 최근 Ratz 등이 토끼의 배뇨근에서 여러 성호르몬이 칼슘 채널에 영향을 미쳐 방광의 과반사를 억제할 수 있음을 보고하기도 하였다²¹.

Eika 등²²의 연구에서 암컷 백서에서 난소절제술 후 백서의 체중 증가 및 방광 무게가 증가된 것으로 보고하였는데 본 실험에서도 대조군에서 난소절제술 후 체중의 증가가 나타났으며, 방광의 무게도 통계학적으로 유의하지는 않았으나 증가된 양상을 보이고 여성호르몬 투여 후의 체중은 sham 수술을 한 군과 유사한 소견을 보였다. 그러나, 갑작군에서는 백서의 체중 증가는 약간 있으나 유의하지는 않았으며, 방광의 무게는 난소절제술 후 차이가 없었으며. 난소절제술 후 여성호르몬 투여군에서 방광 무게가 의미있게 증가하여 대조군과 차이를 보였다.

본 연구에서 대조군에서는 bethanechol에 의한 방광근육절편의 수축력이 sham 수술 군에 비하여 난소절제술 군에서 감소되어 있었으며 이는 백서로 실험한 다른 보고와 유사하였다^{11,22}. 난소절제술 후 여성호르몬 투여 군에서는 난소절제술 군과 비슷하게 수축력이 감소된 상태로 관찰되었다. Longhurst 등¹¹의 보고에서는 여성호르몬 투여 후 수축력이 sham 수술 군보다도 더 높게 나타났으며, 본 연구와의 차이는 여성호르몬 투여 방법의 차이 때문인 것으로 생각된다.

대조군에서 전기 자극에 의한 수축력의 차이는 본 실험에서 sham 수술을 시행한 1군에 비교하여 난소절제술을 시행한 2군에서 수축력이 감소하며, 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 3군에서는 어느정도 회복되는 양상을 보이며 일부 자극에서 유의하였는데, 다른 연구^{11,22}에서는 bethanechol에 대한 반응과 마찬가지로, 난소절제술 후 수축력이 감소하였으며, 여성호르몬 투여 후에는 회복되는 것으로 보고하였다¹¹. 이들은 bethanechol, 전기자극, ATP, KCl 에 대하여 비슷한 결과를 보고하였다^{11,22}. 본 연구에서 전기 자극에 대하여 수축력의 변화가 다르게 나왔는데, Eika 등²²의 보고에서도 전기 자극과 bethanechol에 의한 수축력의 변화는 정도의 차이를 보였다. 감작군에서 전기 자극에 의한 수축 반응을 비교하여 보면 4, 5, 6군에서 유의한 차이를 보이지 않아 감작군에서는 여성호르몬 유무에 따른 수축력이 변화하지 않았는데 이 결과만으로 감작군에서는 여성호르몬의 유무가 전기 자극에 대한 수축력에 영향이 없는 것으로 단정하기는 어려우나, bethanechol과 전기 자극에 의한 방광배뇨근 절편의 수축력은 다른 양상을 나타냄을 알수 있었다. Wu 등²³은 ATP와 carbachol에 의한 방광배뇨근 세포 수축시 세포내 칼슘을 측정하여 수축 반응은 유사하나 칼슘의 이동은 차이가 있음을 보고하였다. 이와 같은 차이가 bethanechol과 전기 자극에 대한 반응의 차이를 나타낼 수도 있을 것으로 생각된다.

전기 자극에 대하여 sham 수술군에서 감작군에서 대조군에 비하여 일부 유의하게 수축력이 더 큰 양상을 보이는데 이는 guinea pig을 이용한 다른 연구^{14,24}와 유사한 결과였으며, 같은 알려지성 방광염을 유발한 백서 모델에서 방광에서

요류역동학 검사 소견에서 감각 시 방광기저내압의 증가, 배뇨 직전의 방광내압 증가¹²를 설명할 수 있는 소견으로 생각된다. 난소절제군 및 난소절제술 후 여성호르몬 투여군에서는 유의하지는 않으나 전반적으로 대조군에서 수축력이 더 큰 것으로 관찰되었고 이는 여성호르몬이 정상적으로 있을 때 감각에 대한 효과가 있는 것으로 추정할 수 있다.

간질성 방광염 환자의 방광벽에서 비만세포의 수가 증가한다는 여러 보고가 1960년대 이후 있어 왔으나, 이 보고들은 대상군의 절대수가 부족하거나 대조군의 설정이 미흡하였다. 최근에는 간질성 방광염 환자와 대조군 사이에 비만세포의 수가 현저한 차이가 있다는 보고가 증가²⁵⁻²⁸하고 있고, 비만세포가 증가된 소견이 간질성 방광염의 특이한 소견이라고 특정지을 수는 없지만, 상당히 의미있는 소견으로 여겨진다^{9,27}. 본 실험에서도 방광근 비만세포 수는 감각군에서 여성호르몬 전처치에 따라 대조군에 비해 높은 양상을 보이거나 통계학적으로 유의하지는 않았다. 그러나 같은 백서 모델의 다른 연구¹²에서는 감각군에서 배뇨근 비만세포 수가 현저히 증가한 결과를 보고하였다. 본 연구에서 여성호르몬의 배뇨근층의 비만세포 수에 대한 영향을 보면 대조군에서 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 3군에서 1, 2군에 비하여 높았으며, 감각군에서도 배뇨근층의 비만세포 수는 6군에서 4, 5군에 비하여 높았으나 유의하지는 않았다. 이 결과로 비자극성 항원을 이용한 면역학적 백서 방광염 모델과 간질성 방광염이 관계가 있을 것으로 추정되나, 여성호르몬의 감각에 대한 영향은 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 백서의 방광에서도 면역학적 기전으로 방광염을 유도할 수 있고, 이는 간질성 방광염과 유사한 소견을 나타내며, 감각된 방광에서는 여성호르몬 투여가 수축력을 회복시킬 수 있음을 나타내었다. 또한, 여성호르몬이 알려지성 방광염 유발에도 영향을 미쳤다. 이는 정상적인 여성호르몬의 존재가 간질성 방광염 발생에 기여할 것으로 추정할 수 있다. 감각에 대한 여성호르몬의 영향을 이 실험만으로 규명하기는 어려웠으나, 여성호르몬 부족 시

bethanechol에 대한 수축력은 감소하고, 전기 자극에 의한 수축력은 증가하는 양상을 보였으며, 감각근과 대조근에서 bethanechol에 대한 차이는 없었으며, 전기 자극에 대한 차이는 감소한 양상을 보였다. 방광근 비만세포 수는 난소절제술 후 여성호르몬 투여 군에서 그 수가 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다.

V. 결 론

백서를 대상으로 하여 sham 수술, 난소적출술, 난소적출술 후 여성호르몬 투여의 세가지 전처치를 한 후, 방광에 화학적, 물리적 손상을 주지 않는 비자극성 항원인 난황알부민으로 알리지성 방광염을 유발하여 여성호르몬이 방광근육 수축력에 미치는 영향을 알아보고, 여성호르몬이 알리지성 방광염 동물모델에서 어떠한 작용을 하는지 확인하여, 간질성 방광염의 발생에 여성호르몬의 역할을 규명하고자 연구를 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

대조군에서 bethanechol에 대한 방광근육절편의 수축력은 난소절제술 시행 후 감소하는 양상을 보였으며, 이는 여성호르몬 투여 후에도 회복되지 않았다. 감작군에서는 난소절제술 후 감소하는 양상이 관찰되며, 여성호르몬 투여 후 sham 수술 만 시행한 군 만큼 회복되었다. 전기 자극에 의한 수축력은 대조군에서 sham 수술 군에 비하여 난소절제술 후 수축력이 증가하였으며, 이는 여성호르몬 투여 후 어느 정도 다시 감소되었다. 감작군에서는 sham 수술, 난소절제술 및 난소절제술 후 여성호르몬 투여 군에서 수축력에 유의한 차이를 보이지 않았다. 배뇨근층의 비만세포 수는 대조군에서 난소절제술 후 여성호르몬을 투여한 3군에서 1, 2군에 비하여 높았으며, 감작군에서는 배뇨근층의 비만세포 수는 6군에서 4, 5군에 비하여 높았으나 유의하지는 않았다. 점막하층의 비만세포 수는 모든 군에서 차이를 보이지 않았다. 대조군과 감작군을 비교해 보면 감작군에서 처치에 따라 비만세포 수가 높은 양상을 보이나 유의하지는 않았다.

이상의 결과에서 백서의 방광에서도 면역학적 기전으로 방광염을 유도할 수 있었으며, 이는 간질성 방광염과 유사한 소견을 나타내는 것을 알 수 있었으며, 감작된 방광에서는 여성호르몬 투여가 수축력을 회복시킬 수 있음을 알았다. 또한, 여성호르몬의 유무가 알리지성 방광염 유발에도 영향을 미쳤다. 이는 정상적인 여성호르몬의 존재가 간질성방광염 발생에 기여를 할 것으로 추정할 수 있

다. 감각에 대한 여성호르몬의 역할을 이 실험만으로 규명하기는 어려웠다. 향 후 여성호르몬의 투여 방법 및 용량의 차이에 따른 변화에 대한 실험 및 투여 기간에 차이에 대한 영향, 그리고 감각시킨 후 여성호르몬 상태의 변화를 유발 하여 감각 후의 영향에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. P.Hanno: Interstitial cystitis and related disease: Campbell's Urology 7th ed. (ed. Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED Jr, Wein AJ) Philadelphia, WB Saunders, 1998, pp 631-635
2. Ochs RL, Stein TW Jr, Peebles CL, Gittes RF, Tan EM: Autoantibodies in interstitial cystitis. J Urol 151:587-591, 1994
3. 신현철, 김영수, 김동석: 백서에서 면역기전으로 유도된 방광염이 방광 조직과 그의 투과성에 미치는 영향. 대한비뇨회지 35:451-457, 1994
4. Gorden HL, Rosen RD, Hersh EH, Yium JJ: Immunologic aspects of interstitial cystitis. J Urol 109:228-233, 1973
5. Hanash KA, Pool TH: Interstitial and hemorrhagic cystitis: viral, bacterial and fungal studies. J Urol 104:705-706, 1970
6. Silk MR: Bladder antibodies in interstitial cystitis. J Urol 103:307-309, 1970
7. Holm-Bentzen M, Lose G: Pathology and pathogenesis of interstitial cystitis. Urology 29(suppl 4):8-13, 1987

8. Weaver RG, Dougherty TF, Natoli C: Recent concepts of interstitial cystitis. J Urol 89:377-383, 1963
9. Bullock AD, Becich MJ, Klutke CG, Ratliff TL: Experimental autoimmune cystitis: potential murine model for ulcerative interstitial cystitis. J Urol 148:1951-1956, 1992
10. Camille AJ, Leroy N: Epidemiology of interstitial cystitis. Urology 49(suppl 5A):2-9, 1997
11. Longhurst PA, Kauer J, Leggett RE, Levin RM: The influence of ovariectomy and estradiol replacement on urinary bladder function in rats. J Urol 148:915-919, 1992
12. 서무영, 김영수: Ovalbumin으로 유도된 백서의 알러지성 방광염의 요류역동학적 검사 소견. 대한비뇨회지 35:937-943, 1994
13. Kim YS, Longhurst PA, Wein AJ, Levin RM: Effects of sensitization on female guinea pig urinary bladder function: In vivo and in vitro studies. J Urol 146:454-457, 1991
14. Kim YS, Levin RM, Wein AJ, Longhurst PA: Effects of sensitization on the permeability of urothelium in guinea pig urinary bladder. J Urol 147:270-273, 1992

15. 윤철용, 이동수, 이정구: 평활근에 대한 Tiropramide 및 Propiverine HCl(BUP-4)의 수축 억제 효과: 흰쥐의 방광근육절편을 이용한 실험. 대한비뇨회지 38:455-462, 1997
16. Liu YK, Harty JI, Steinbock GS, Holt HA Jr, Goldstein DH, Amin M: Treatment of radiation or cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis using conjugated estrogen. J Urol 144:41-43, 1990
17. Pang X, Cotreau-Bibbo MM, Sant GR, Theoharides TC: Bladder mast cell expression of high affinity oestrogen receptors in patients with interstitial cystitis. Br J Urol 75:154-161, 1995
18. Levin RM, Shofer FS, Wein AJ: Estrogen-induced alterations in the autonomic responses of the rabbit urinary bladder. J Pharmacol Exp Ther 215:614-618, 1980
19. Barta S: Effects of estrogen and progesterone treatment on calcium uptake by the myometrium and smooth muscle of the lower urinary tract. Eur J Pharmacol 127:37-42, 1986
20. Barta S: Increased by oestrogen of calcium entry and calcium channel density in uterine smooth muscle. Br J Pharmacol 92:389-392, 1987

21. Ratz PH, Mccammon KA, Altstatt D, Blackmore PF, Schnfeld OZ, Schlossberg ST: Differential effects of sex hormones and phytoestrogens on peak and steady state contractions in isolated rabbit detrusor. J Urol 162:1821-1828, 1999
22. Eika B, Levin RM, Longhurst PA: Modulation of urinary bladder function by sex hormones in streptozocin-diabetic rats. J Urol 152:537-543, 1994
23. Wu C, Bayliss M, Newgreen D, Mundy AR, Fry CH: A comparison of the ATP and carbachol on isolated human detrusor smooth muscle. J Urol 162:1840-1847, 1999
24. Christensen MM, Keith I, Rhodes PR, Grazian FM, Madsen PO, Bruskwitz RC, Saban R: A guinea pig model of bladder mast cell function: Histamine release and smooth muscle contraction. J Urol 144:1293-1300, 1990
25. Larsen S, Thompson SA, Hald T, Barnard RJ, Gilpin CJ, Dixon JS, Gosling JA: Mast cells in interstitial cystitis. Br J Urol 54:283-286, 1982
26. Kastrup J, Hald T, Larsen S, Nielsen VG: Histamine content and mast cell count of detrusor muscle in patients with interstitial cystitis and other types of chronic cystitis. Br J Urol 55:495-500, 1983

27. Feltis JT, Prerez-Marrero R, Emerson LE: Increased mast cells of the bladder in suspected cases of interstitial cystitis: a possible disease marker. J Urol 138:42-43, 1987
28. Letourneau R, Pand X, Sant GR, Theoharides TC: Intragranular activation of bladder mast cells and their association with nerve processes in interstitial cystitis. Br J Urol 77:41-54, 1996

-Abstract-

Effects of Estrogen on Detrusor Contractility of Bladder in Rats
with Immune-induced Cystitis

Hyun Soo Ahn

Department of Medicine

The Graduate School, Ajou University

(Directed by Professor Young Soo Kim)

Interstitial cystitis is possibly one of the most challenging diseases in the urologic spectrum. It encompasses a major portion of the "painful bladder" disease complex. It principally affects middle-aged women, especially white, but recently the incidence in Korea has increased. The knowledge that there is a 10:1 female-to-male preponderance immediately makes the role of the hormonal milieu potentially important. We have used the sensitized rat model to study the effects of ovariectomy and estradiol replacement on contractile response of bladder muscle strips.

Sprague-Dawley rats were ovariectomized or sham operated and treated with oil or β -estradiol(10 μ g/day). Rats were sensitized by intraperitoneal injection of ovalbumin(10mg/ml) given on days 1, 3 and 5. The experiments were performed 3 weeks after last injection. Sensitized rats were treated with intravesical ovalbumin for one hour(antigen challenge) and controls were run

simultaneously with the sensitized rats by normal saline. The bladders were removed for the bladder muscle strip studies.

In the control group, ovariectomy caused decreases in contractile responsiveness to bethanechol, but increases in contractile responsiveness to field stimulation. Estradiol treatment had no effect on responsiveness to bethanechol, but decreased contractile responsiveness to field stimulation. In the sensitized group, ovariectomy caused decreases in contractile responsiveness to bethanechol, but had no effect on responsiveness to field stimulation. Estradiol treatment caused increased responsiveness to bethanechol, but had no effect on responsiveness to field stimulation. The contractile responsiveness to bethanechol was lower in both sham operated and ovariectomized rats of the sensitized group than in those of the control group. The contractile responsiveness to field stimulation was higher in sham operated rats of the sensitized group than in those of the control group. We also measured mast cell density in the submucosa and detrusor muscle layer with light microscope(x200). There was no statistical difference in submucosal mast cell densities among the groups. There was a significant difference in detrusor mast cell density in the control groups treated with estradiol. In the sensitized group, there was a slight increase in detrusor mast cell density compared to the control group.

With the method employed in this study, we were able to successfully induce cystitis in rats by immunologic methods that depended on an allergic response to the bladder mucosa. This experimental cystitis expressed histologic features similar to interstitial cystitis of humans. The ovariectomy and

estradiol treatment affected contractile responsiveness of bladder muscle strips to bethanechol and field stimulation. Our results suggest that ovariectomy and estradiol treatment may affect sensitization to ovalbumin but further studies are required.

Key words: Urinary bladder, Sensitization, Ovalbumin, Ovariectomy, Estradiol, Interstitial cystitis