creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

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

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 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

dCollection

A DISSERTATION FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY IN HUMAN ECOLOGY

Effect of the Fermented Red Ginseng on Depression Marker, Blood Glucose, Free Fatty Acids, and Hormones in Postmenopausal Women by Structural Equation Models

폐경기 이후 여성에서 발효홍삼섭취가 우울지표, 혈당, 유리지방산 및 호르몬들에 대한 영향의 구조방정식모형에 의한 분석

February, 2014

by Kwang Jo Lee

Department of Food and Nutrition
Graduate School
Seoul National University

생활과학박사학위논문

Effect of the Fermented Red Ginseng on Depression Marker, Blood Glucose, Free Fatty Acids, and Hormones in Postmenopausal Women by Structural Equation Models

폐경기 이후 여성에서 발효홍삼섭취가 우울지표, 혈당, 유리지방산 및 호르몬들에 대한 영향의 구조방정식모형에 의한 분석

2014 년 2 월

서울대학교 대학원
식품영양학과
이광조

Effect of the Fermented Red Ginseng on Depression Marker, Blood Glucose, Free Fatty Acids, and Hormones in Postmenopausal Women by Structural Equation Models

폐경기 이후 여성에서 발효홍삼섭취가 우울지표, 혈당, 유리지방산 및 호르몬들에 대한 영향의 구조방정식모형에 의한 분석

지도교수 지근억

이 논문을 생활과학박사 학위논문으로 제출함
2014 년 2 월

서울대학교 대학원
식품영양학과
이광조

이 광 조의 생활과학박사 학위논문을 인준함
2014 년 2 월

위원장
부위원장
위원
위원
위원

Effect of the Fermented Red Ginseng on Depression Marker, Blood Glucose, Free Fatty Acids, and Hormones in Postmenopausal Women by Structural Equation Models

Advisor: Geun Eog Ji, Ph.D

by

Kwang Jo Lee

February, 2014

Department of Food and Nutrition
Graduate School
Seoul National University

Abstract

인삼과 홍삼은 혈당, 면역계, 신경계, 지질 대사 등의 조절에 영향을 미친다고 알려져 있다. 인삼의 주요성분에 해당하는 진세노사이드들은 스테로이드 골격을 가지며 몇몇 핵수용체의 리간드로 작용한다. 이러한 진세노사이드들은 발효를 통하여 인체에서의 흡수율이 증가하고 생리활성이 증가한다고 보고되었다. 본 연구에서는 발효홍삼을 섭취한 폐경기 여성을 대상으로 하여 구조방정식과 경로분석을 이용하여 혈당, 유리지방산, 우울지표를 각각 결과변수로 설정한 후에 호르몬들을 중심으로 한 원인변수의 상대적인 그리고 절대적인 효과들을 정량적으로 분석하였다.

50~73세의 폐경기 여성 93명을 이중맹검법으로 무작위로 2그룹을 나눈 후, 한 그룹 (49명)에는 발효홍삼분말이 함유되어 있는 캡슐을, 또 다른 한 그룹 (44명)에는 동일한 형태의 위약을 2주간 섭취토록 하였고, 2주간의 실험 전과 후에 오전 8시부터 10시 사이에 인체계측과, 혈액 그리고 소변 (채취전날 24시간 소변)을 채취하여 생화학적 지표들을 측정하였다. 또한 Beck depression inventory (BDI)를 자기기입방식으로 입력하도록 하였다. 측정되지 못한 변수값들과 이상치들은 완전무작위결측치로 간주한 후 다중대체법 (multiple imputation)으로 Mplus 6.11 (Muthe´n & Muthe´n, Los Angeles, CA, USA)을 이용하여 분석하였다.

“혈당모형”에서는 두가지 경로가 두 그룹간에 유의한 차이가 났는데, 하나는 aldosteron→glucose 경로에서 위약군 (0.695 (<0.05))과 발효홍삼군 (-0.110)이 차이가 났고, 다른 하나는 growth hormone→HbA1c 경로에서 위약군 (-0.354)과 발효홍삼군 (0.663 (<0.001))이 유의하게 차이가 났다. “유리지방산모형”에서는 cortisol→유리지방산 경로 (위약군: 0.494 (<0.01), 발효홍삼군: -0.229)와 팔맥박→유리지방산경로 (위약군: 0.135, 발효홍삼군 0.651 (<0.001))가 유의하게 차이가 났다. 구조방정식모형을 이용한 ″BDI모형“에서는 Energy factor→Cognitive factor 요인경로계수가 두 그룹간에 유의한 차이가 났다. 모형적합도는 ”

혈당모형“과 ”유리지방산 모형“이 모두 root mean square error of approximation (RMSEA)는 0.000, 그리고 comparative fit index (CFI)는 1.000으로 우수하였다. ”BDI모형“은 RMSEA가 0.034 그리고 CFI가 0.883이었다.

경로모형과 구조방정식모형의 분석에 의하면, 발효홍삼섭취는 내분비계와 핵수용체들을 경유하여 혈당, 유리지방산, 우울지표들에 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

Key words

Blood Glucose, Depression, Fermented Red Ginseng, Free Fatty Acid, Hormones, Path Analysis, Structure Equation Model

Table of Contents

Abstract..... I
Table of Contents..... Ⅲ
List of Tables..... Ⅷ
List of Figures..... X
List of Abbreviations..... Ⅻ

Chapter 1. Introduction..... 1
References..... 5

Chapter 2. Literature Review..... 9
2.1 Ginseng and ginsenosides 10
2.1.1 Etymology and history of ginseng 10
2.1.2 Beneficial effects of ginseng..... 10
2.1.3 Side effects of ginseng..... 11
2.1.4 Red ginseng and ginsenosides..... 12
2.1.5 Fermented red ginseng and ginsenoside..... 14
2.1.6. Function of ginsenoside as ligands of nuclear receptors..... 18
2.1.7 Flavonoids of ginseng..... 19
2.2 Redundancy of nuclear receptors and stochastic analysis..... 21
2.3 Neuroendocrine system, nuclear receptor and depression..... 24
2.3.1 Prevalence and definition of depression..... 24
2.3.2 Classical drug treatment of depression and limitation..... 25
2.3.3 Limbic-HPA axis and depression..... 26
2.3.4 Cortex, energy supply and depression..... 29
2.3.5 Postmenopausal women and depression..... 30
2.4 Neuroendocrin system and metabolic syndrome..... 31

2.4.1. Stress, hormones and metabolic syndrome.....31
2.4.2 Definitions of metabolic syndrome.....34
2.5 Path analysis and structure equation model.....40
2.5.1 Path analysis.....40
2.5.2 Normality of observed variables.....43
2.5.3 Model's goodness of fit.....46
2.5.4 Multiple imputation.....47
2.5.5 Structure equation model.....53
2.5.6 Natural phenomena and structure equation model.....56
2.5.7 Structure equation model and metabolic syndrome.....59
References.....61

Chapter 3. The Blood Glucose Ameliorating Effects of Fermented Red Ginseng and Causal Effects on Hormonal Interactions: The Test Hypothesis by Multiple Group Path Analysis......89
3.1 Introduction.....90
3.2 Materials and methods.....94
3.2.1 Participants and study design.....94
3.2.2 Statistical analyses.....97
3.3 Results.....99
3.3.1 Anthropometric data.....99
3.3.2 Mean comparison.....100
3.3.3 The results of path model.....103
3.4 Discussion.....114
3.4.1 Hormones.....114
3.4.2 Hormones and blood glucose.....114
3.4.3 Aldosterone and blood glucose.....116
3.5 Conclusion.....117
References.....118

Chapter 4. The Multiple Group Path Analysis of Hormones and Autonomic Nervous System's Effects on the Release of Free Fatty Acids, and Fermented Red Ginseng.....125
4.1 Introduction.....126
4.1.1 Hyperlipidemia and metabolic syndrome.....126
4.1.2 Lipolysis and hormones.....128
4.1.3 Lipolysis and autonomic nervous system.....130
4.1.4 Heart rate variability and metabolic syndrome.....130
4.1.5 Ginsenosides and lipolysis.....131
4.1.6 Aim and hypotheses.....132
4.2 Materials and methods.....133
4.2.1 Participants and study design.....133
4.2.2 Statistical analysis.....133
4.3 Results.....135
4.3.1 Anthropometric data.....135
4.3.2 Mean comparison.....135
4.3.3 Path analysis.....137
4.4 Discussion.....142
4.4.1 Dyslipidemia and oxidation competition.....142
4.4.2 Estrogen and free fatty acids.....147
4.4.3 Cortisol, growth hormone and free fatty acids.....148
4.4.4 Heart rate and free fatty acids.....149
4.5 Conclusion.....150
References.....152

Chapter 5. The Multiple Group Structural Equation Model Analysis of the Effect of Fermented Red Ginseng on Beck Depression Inventory in Postmenopausal Women.....161
5.1 Introduction.....162

5.1.1 Definition of depression.....162
5.1.2 Papez circuit and limbic system.....162
5.1.3 Circumventricular organs and limbic system.....166
5.1.4 Lipid in brain function and depression.....168
5.1.5 Minerals and depression.....173
5.1.6 The effects of red ginseng on hormones, energy sources, minerals, and depression.....173
5.1.7 Aims and hypotheses.....174
5.2 Methods.....175
5.2.1 Psychological variables.....175
5.2.2 Statistical analyses.....176
5.3 Results.....179
5.3.1 Mean comparison of psychological variables.....179
5.3.2 Mean comparison of biochemical variables.....179
5.3.3. The multiple group structural regression models.....183
5.3.3.1 Factor analysis for construction of the model.....183
5.3.3.2 The consecutive steps for the final model.....183
5.3.3.3 Estimates derived from the final model.....186
5.4 Discussion.....189
5.4.1 Hormone factor and BDI factors.....189
5.4.2 Energy factor and BDI factors.....190
5.4.3. Ketone body as a major energy source in brain.....191
5.5 Conclusion.....191
References.....193

Chapter 6. Overall Discussion and Conclusion.....203
6.1 Hypothesis and hypothesis test in this study.....204
6.2 FFA model and BDI model.....204
6.3 Seesaw effects and redundancy of NRs in path analysis.....207

6.4 Analysis of interaction between external and internal environment in cell and human body.....211
6.5 Considerations about P-value.....215
6.6 Fraction of missing information and multiple imputation.....215
6.7 Ginseng as combination therapy of SERMs and SGRMs.....217
6.8 The effect of dietary nutritions on the endocrine system.....218
6.9 Overall conclusion.....220
Reference.....221

Chapter 7 Appendix.....223
Appendix 1. Reagents and Instruments.....224
Appendix 2. Beck Depression Inventory (Korea).....236
Appendix 3. Mean comparison of biochemical variables.....239
Appendix 4. Standardized coefficients comparison between multiple imputation and single regression analysis.....243
Appendix 5. Nuclear receptor.....247
1 NRs' role as ligand-activated transcription factors.....249
2 Nuclear receptor's groups.....251
3 Redundancy of nuclear receptor and stochastic analysis.....255
4 Evolution and diverse functions of NRs.....256
References.....261
Appendix 6. Hypothalamus-pituitary-target hormone organ.....269
1. Hypothalamus.....269
2. Pituitary.....271
3. Three tiers of hormone axis.....272
4. Negative feedback and nuclear receptors.....273
References.....275

English Abstract......277

List of Tables

Chapter 2

Table 2-1. The various variables on the activity of nuclear receptors.....23
Table 2-2. Limbic and PFC areas implicated in depression.....29
Table 2-3. Behavioral and physical adaptation during acute stress.....32
Table 2-4. Criteria of metabolic syndrome.....35
Table 2-5. Classification of diabetes and glucose intolerance.....39
Table 2-6. Strengths and weaknesses of path analysis.....42
Table 2-7. Path model and structure equation model.....55
Table 2-8. Structure equation model and multivariate methods.....56

Chapter 3

Table 3-1. Ingredients of fermented red ginseng in this study.....95
Table 3-2. Missing value in “blood glucose” path model.....98
Table 3-3. Anthropometric parameters of 93 participants 99
Table 3-4. Anthropometric parameters of 40 participants after matching....100
Table 3-5. Mean comparison of hormone and diabetes markers.....102
Table 3-6. Precedent studies in the path model.....104
Table 3-7. The path coefficients of unconstrained baseline model.....107
Table 3-8. R-square of unconstrained baseline model.....110
Table 3-9. The path coefficients of equality constrained final model 111

Chapter 4

Table 4-1. The numbers of missing value in “free fatty acid” model.....134
Table 4-2. Mean comparison of hormones and FFA between groups.....136
Table 4-3. Path coefficients of unconstrained baseline model.....138
Table 4-4. Path coefficients of equality constrained final model.....140

Chapter 5

Table 5-1. Cerebrospinal fluid and plasma composition.....166
Table 5-2. Environmental components and depression.....168
Table 5-3. Number of missing value of BDI in BDI model.....177
Table 5-4. Number of missing value of biochemical variables in BDI model.....178
Table 5-5. Mean comparison between the groups.....180
Table 5-6. The correlation coefficients between BDI item and biochemical markers.....182
Table 5-7. The contents of equality constraints in five models.....185
Table 5-8. The goodness-of-fit statistics comparison of five models.....186

Chapter 6

Table 6-1. Basic mental representations and emotions.....214

Appendix 5

Table A5-1. Comparison of nuclear receptors.....254

List of Figures

Chapter 1

Figure 1-1. The possible interactions between phycho-neuro-endo -immuno metabolism and ginsenosides are mediated by nuclear receptors.....4

Chapter 2

Figure 2-1. The chemical structures of ginsenosides.....13
Figure 2-2. Metabolic pathway of protopanaxadiol ginsenosides.....16
Figure 2-3. Metabolic pathway of protopanaxatriol ginsenosides 17
Figure 2-4. The structures of the major classes of flavonoids.....20
Figure 2-5. Mechanism of action of steroid hormones.....22
Figure 2-6. Neurobiology of depression.....28
Figure 2-7. Chronic stress and metabolic syndrome.....33
Figure 2-8. Metabolic syndrome interrelation.....36
Figure 2-9. Estrogenic control of energy homeostasis.....38
Figure 2-10. Normal distribution of variables in this study.....44
Figure 2-11. Process of multiple imputation.....49
Figure 2-12. The effect of increasing the number of variables.....51
Figure 2-13. Components of structural equation modeling.....53
Figure 2-14. Progress of the scientific method.....58

Chapter 3

Figure 3-1. Age-specific prevalence of the metabolic syndrome.....91
Figure 3-2. Pharmacological effects of *Panax ginseng* on various organs related to diabetes.....93
Figure 3-3. Flowchart of this experiment.....96
Figure 3-4. Final model of “blood glucose” model.....113

Chapter 4

Figure 4-1. The relationship between age/aging and type 2 diabetes mellitus and cardiovascular diseases.....127
Figure 4-2. Equality constrained final model of FFA.....141
Figure 4-3. Mechanism of inhibition of glucose utilization by fatty acid oxidation.....143
Figure 4-4. The flows of free fatty acid in fasting state.....145

Chapter 5

Figure 5-1. The major pathways of the limbic system 164
Figure 5-2. The triune brain of the brain.....165
Figure 5-3. The ventricular system of the brain.....167
Figure 5-4. Nerve conduction in myelinated and unmyelinated axons.....170
Figure 5-5. Oligodendrocyte defects may lead to cognitive impairment.....171
Figure 5-6. Final “BDI” model.....188

Chapter 6

Figure 6-1. Seesaw effects and redundancy of NRs for homeostasis.....208
Figure 6-2. Structure equation model of hierarchical nature and human.....210
Figure 6-3. Developmental stage of emotions.....212
Figure 6-4. The internalization of such exogenous signals.....219

Appendix 5

Figure A5-1. Nuclear receptors in action.....249
Figure A5-2. DNA binding modes by nuclear receptors.....253
Figure A5-3. Tree of life and potential ligand precursors for nuclear receptors.....258
Figure A5-4. Evolution of ligands and nuclear receptors.....260

Appendix 6

Figure A6-1. Hypothalamic-pituitary-peripheral gland system.....270

List of Abbreviations

AACE : American association of clinical endocrinologists
ABP : arterial blood pressure
ACC : anterior cingulated cortex
ACTH: adrenocorticotropic hormone
ADA : American Diabetes Association
ADH : antidiuretic hormone
AGT : Abnormality of Glucose Tolerance
AMPK : AMP-activated protein kinase
ANCOVA : analysis of covariance
ANOVA : analysis of variance
APR : acute-phase reactants
AR : androgen receptor
ATGL : adipose triglyceride lipase
ATP : adenosine triphosphate
ATP III : Adult Treatment Panel III
AVP : arginine vasopressin

β-AR : β-adrenergic receptors
BBB : blood-brain barrier
BDI : Beck Depression Inventory
BDNF : brain-derived neurotrophic factor
BMD : bone mineral density:
BMI : body mass index

cAMP : cyclic adenosine monophosphate
CBG : cortisol binding globulin
CFI : comparative fit index

CHD : coronary heart disease
CK : compound K
CM : chylomicron
CNS : central nervous system
CRE : cAMP-responsive elements
CRH : corticotropinreleasing hormone
CSF : cerebrospinal fluid
CVOs : circumventricular organs

DBD : DNA binding domain
DHEAS : dehydroepiandrosterone-sulfate
D.F. : degree of freedom
DLFPC : dorsolateral prefrontal cortex
DSM-IV : diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-4th Edition

E : epinephrine
E2 : estradiol
EGF : epidermal growth factor
EGIR : European Group for the Study of Insulin Resistance
ER : estrogen receptor
ERE : estrogen response element
ERR : estrogen related receptor

FFA : free fatty acids
fMRI : functional magnetic resonance imaging
FRG : fermented red ginseng
FSH : follicle stimulating hormone

GDM : Gestational Diabetes

GH : growth hormone
GLUT : glucose transporter
GHRH : growth hormonereleasing hormone
GnRH : gonadotrophin-releasing hormone
GR : glucocorticoid receptor
GRE : glucocorticoid-response element

HAT : histone acetyltransferase
HbA1c : glycosylated haemoglobin A1c
HDL : high-density lipoprotein
hGR : human glucocorticoid receptor
HOMA-IR : homeostasis model of insulin resistance
HP : hypothalamic-pituitary
HPA: hypothalamus-pituitary-adrenal
HPG : hypothalamus-pituitary-gonad
HPS : hypothalamus-pituitary-somatotroph
HPT : hypothalamus-pituitary-thyroid
HRE : hormone-response element
HRT : hormone replacement therapy
HRV : heart rate variability
HSL : hormone sensitive lipase
HSP : heat shock protein

IBD : inflammatory bowel disease
iCRH : immune CRH
IDDM : Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM), Type I
IDF : International Diabetes Federation
IGF-I : insulin-like growth factor-I
IGT : impaired glucose tolerance

IL-6 : interleukin 6
IP3 : inositol 1,4,5-triphosphate

LBD : ligand binding domain
LC : locus ceruleus
LDL : low-density lipoprotein
LH : luternizing hormone
LPL : lipoprotein lipase

MAGL : monoacylglycerol lipase
MAPK : mitogen-activated protein kinase
MD : major depression
M.I. : multiple imputation
ML : Maximum Likelihood
MR : mineralcorticoid receptor
mRNA : messenger RNA
MtS : metabolic syndrome

NCEP : National Cholesterol Education Program
NcoR : nuclear receptor corepressor
NCS-R : National Comorbidity Replication Survey
NE : norepinephrine
NIDDM : non-insulin-dependent diabetes mellitus
NRs : nuclear receptors

OGTT : oral glucose tolerance test
OT : oxytocin

PAI-1 : plasminogen activator inhibitor-1
PCA : principla components analysis
PI3-kinase : phosphatidylinositol 3-kinase
PKA : protein kinase A
PKC : protein kinase C
PPAR-γ : peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PPD : protopanaxadiols
PPT : protopanaxatriols
PRH : prolactinreleasinghormone
PRL : prolactin
PTSD : post-traumatic stress disorder

RAR : retinoid acid receptor
RMSEA : root mean square error of approximation
RXR : retinoid X receptor

SEM : structure equation model
SERM : selective estrogen receptor modulator
SERT : serotonin transporter
SGRM : selective glucocorticoid receptor modulators
SMC : squared multiple correlations
SMRT : silencing mediator for retinoid and thyroid hormones
SNPs : single nucleotide polymorphisms
SR : steroid receptor
SRC : steroid receptor coactivator
SSCP : Single Stranded Conformation Polymorphisms

T : testosterone
T3 : triiodothyronine

TG : triglycerides
TLC : thin-layer chromatography plate
TLI : Tucker - Lewis index
TR : thyroid hormone receptor
TRH : thyrotropin-releasing hormone
TSH : thyroid-stimulating hormone

VDR : vitamin D receptor
VEGF : vascular endothelial growth factor
VIF : variance inflation factor
VMPFC : ventromedial prefrontal cortex
VLDL : very low-density lipoprotein

WHO : World Health Organization
WLSMV : weighted least squares means and variance adjusted

1. Introduction

인삼은 2천년전부터 아시아, 특히 한국, 중국 그리고 일본 등에서 대중적으로 널리 사용되던 약초이다. 현대과학의 다양한 연구들에 의하면 인삼은 당뇨 [1,2], 고혈압 [1], 비만 [3], 신장질환 [4], 지질이상혈증 [5], 암 [6,7] 과 면역계 [8] 등 인체에서뿐만 아니라 우울증과 불안 등과 같은 심리작용들에서도 유익한 효과들을 보이고 있다 [9].

인삼의 주요성분에는 플라보노이드들, 펩티드들, 지방산들, 폴리아세틸렌 알콜들, 그리고 진세노사이드들 등이 있다 [10]. 특히, 스테로이드 골격을 가진, 40여종의 진세노사이드 (ginsenoside)들이 약리적으로 중요한 성분들로 연구되고 있다 [11]. 인삼의 발효과정은 비활성 형태인 진세노사이드 Rb1, Rc, Rb2, Rb3 그리고 Rd를 생물학적으로 활성형태인 compound K (CK)와 Rg3로 변환한다. 연구들은 진세노사이드 Rh1과 Rg3가 여성호르몬 수용체 (estrogen receptor: ER)의 리간드로 작용하고 [12,13], Rh2와 CK는 글루코코르티코이드 수용체 (glucocorticoid receptor: GR)의 리간드로 작용한다고 보고하였다 [12,14,15].

Chrousos는 인체의 혈당이나 지방산 그리고 골다공증과 같은 인체 대사와 질병에 신경내분비계가 영향을 준다고 하였다 [16]. 그러나 그 연구들은 대부분 단변량적인 결과들의 서술적 종합이었으며 다양한 원인변수들을 포함한 동시적 정량적 비교분석은 아니었다.

많은 연구들이 홍삼이 당조절과 인슐린 저항성뿐만 아니라, 지질대사 그리고 우울증 등에도 유익한 효과가 있다고 보고하였다 [2,17]. 이러한 홍삼의 다양한 효과의 한가지 가능한 가설은 진세노사이드가 ER이나 GR과 같은 핵수용체를 매개로 하여 내분비계의 기능에 영향을 줌으로써 인체의 전반적인 생리와 심리에 영향을 줄 수 있다는 것이다. (Fig. 1-1) 왜냐하면 예를 들어 여성호르몬 수용체나 글루코코르티코이드 수용체와 같은 핵수용체는 뇌세포, 면역세포, 간세포, 지방세포 그리고 근육세포 등을 포함한 인체내의 거의 모든 세포에 존재하여 조직 특이적인 기능을 하기 때문이다.

이러한 관점에서 본 연구는 다변량분석법에 이용되는 경로분석을 이용하여 일차적으로 다양한 호르몬들의 상호작용들을 분석하였다.

그리고 두번째로 혈당과 당화혈색소 그리고 유리지방산에 대한 호르몬들과 자율신경계의 영향을 경로분석하였다. 그리고 Beck Depression Inventory를 결과요인으로 설정하고, 호르몬들, 미네랄, 그리고 혈당과 콜레스테롤 등을 원인요인으로 설정하여 요인들간의 효과를 구조방정식 모형으로 분석하였다. 그리고 세번째로, 다중그룹 경로분석과 구조방정식을 통하여 위약군과 홍삼군 간에 효과크기의 차이에 대한 유의도를 Wald test를 통하여 확인하였다.

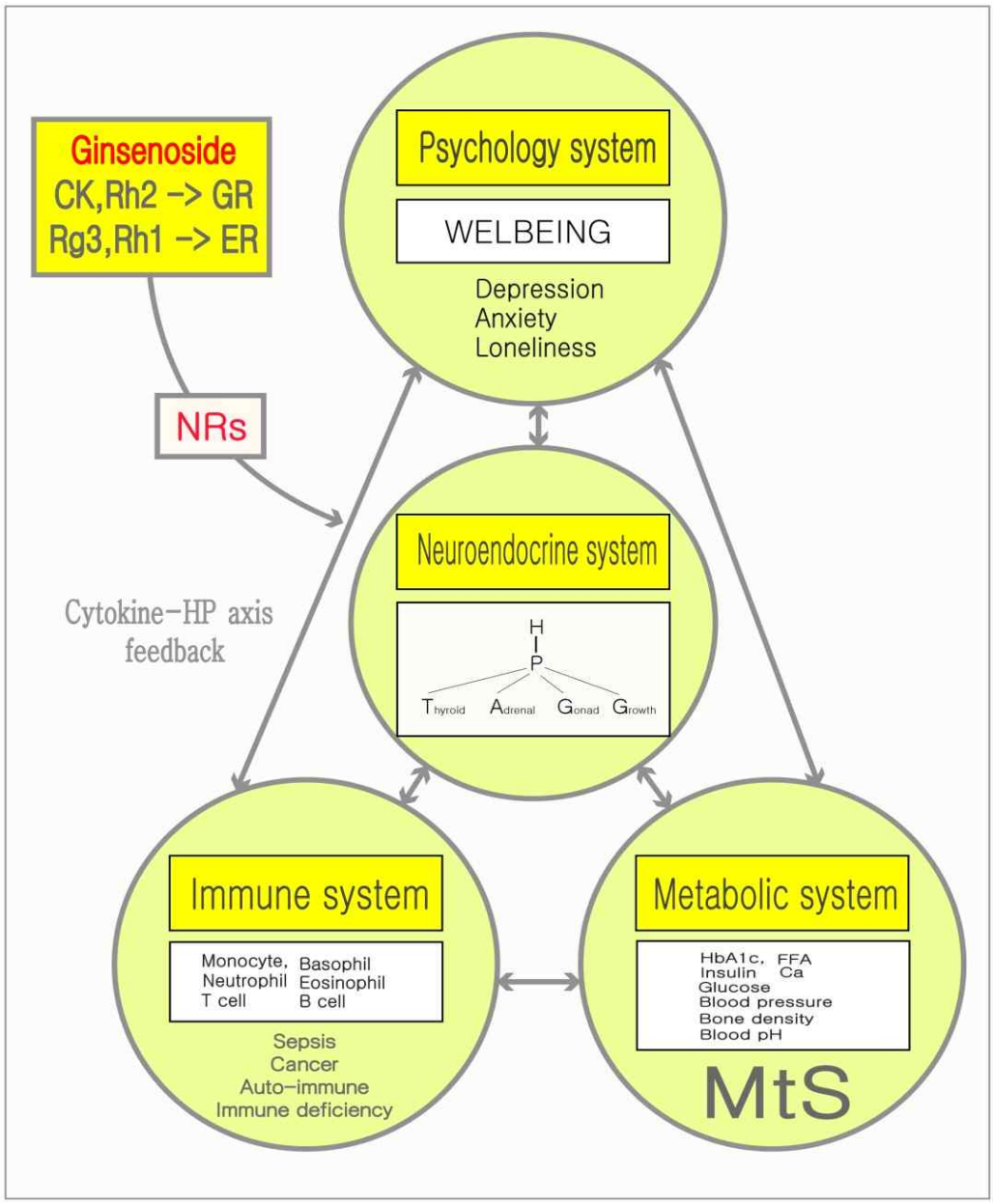


Figure 1-1. The possible interactions between phycho-neuro-endo-immuno metabolism and ginsenosides are mediated by nuclear receptors.

References

1. Rhee MY, Kim YS, Bae JH, Nah DY, Kim YK, Lee MM, Kim HY: Effect of Korean red ginseng on arterial stiffness in subjects with hypertension. J Altern Complement Med 2011, 17:45-49.

2. Vuksan V, Sung MK, Sievenpiper JL, Stavro PM, Jenkins AL, Di Buono M, Lee KS, Leiter LA, Nam KY, Arnason JT, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2008, 18:46-56.

3. Lee YS, Cha BY, Yamaguchi K, Choi SS, Yonezawa T, Teruya T, Nagai K, Woo JT: Effects of Korean white ginseng extracts on obesity in high-fat diet-induced obese mice. Cytotechnology 2010, 62:367-376.

4. Kalkan Y, Kapakin KA, Kara A, Atabay T, Karadeniz A, Simsek N, Karakus E, Can I, Yildirim S, Ozkanlar S, Sengul E: Protective effect of Panax ginseng against serum biochemical changes and apoptosis in kidney of rats treated with gentamicin sulphate. J Mol Histol 2012, 43:603-613.

5. Park Y, Kwon HY, Shimi MK, Rhyu MR, Lee Y: Improved lipid profile in ovariectomized rats by red ginseng extract. Pharmazie 2011, 66:450-453.

6. Yun TK, Zheng S, Choi SY, Cai SR, Lee YS, Liu XY, Cho KJ, Park KY: Non-organ-specific preventive effect of long-term administration of Korean red ginseng extract on

incidence of human cancers. J Med Food 2010, 13:489-494.

7. Li B, Zhao J, Wang CZ, Searle J, He TC, Yuan CS, Du W: Ginsenoside Rh2 induces apoptosis and paraptosis-like cell death in colorectal cancer cells through activation of p53. Cancer Lett 2011, 301:185-192.

8. Kang S, Min H: Ginseng, the 'Immunity Boost': The Effects of Panax ginseng on Immune System. J Ginseng Res 2012, 36:354-368.

9. Dang H, Chen Y, Liu X, Wang Q, Wang L, Jia W, Wang Y: Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced swimming test and chronic mild stress models of depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2009, 33:1417-1424.

10. Park SU, Ahn DJ, Jeon HJ, Kwon TR, Lim HS, Choi BS, Baek KH, Bae H: Increase in the contents of ginsenosides in raw ginseng roots in response to exposure to 450 and 470 nm light from light-emitting diodes. J Ginseng Res 2012, 36:198-204.

11. Yue PY, Mak NK, Cheng YK, Leung KW, Ng TB, Fan DT, Yeung HW, Wong RN: Pharmacogenomics and the Yin/Yang actions of ginseng: anti-tumor, angiomodulating and steroid-like activities of ginsenosides. Chin Med 2007, 2:6.

12. Hien TT, Kim ND, Pokharel YR, Oh SJ, Lee MY, Kang KW: Ginsenoside Rg3 increases nitric oxide production via increases in phosphorylation and expression of endothelial nitric oxide synthase: Essential roles of estrogen receptor-dependent PI3-kinase and AMP-activated protein kinase. Toxicol Appl

Pharmacol 2010.

13. Lee Y, Jin Y, Lim W, Ji S, Choi S, Jang S, Lee S: A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. J Steroid Biochem Mol Biol 2003, 84:463-468.

14. Yang CS, Ko SR, Cho BG, Shin DM, Yuk JM, Li S, Kim JM, Evans RM, Jung JS, Song DK, Jo EK: The ginsenoside metabolite compound K, a novel agonist of glucocorticoid receptor, induces tolerance to endotoxin-induced lethal shock. J Cell Mol Med 2008, 12:1739-1753.

15. Niu CS, Yeh CH, Yeh MF, Cheng JT: Increase of adipogenesis by ginsenoside (Rh2) in 3T3-L1 cell via an activation of glucocorticoid receptor. Horm Metab Res 2009, 41:271-276.

16. Chrousos GP: Stress and disorders of the stress system. Nat Rev Endocrinol 2009, 5:374-381.

17. Lee HJ, Lee YH, Park SK, Kang ES, Kim HJ, Lee YC, Choi CS, Park SE, Ahn CW, Cha BS, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves insulin sensitivity and attenuates the development of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Metabolism 2009, 58:1170-1177.

Chapter 2. Literature Review

2.1. Ginseng and ginsenosides

2.1.1 Etymology and history of ginseng

인삼은 2천년 이전부터 아시아 특히, 한국, 중국 그리고 일본에서 가장 인기있는 약초 중 하나로 영양제 (tonic)나 강장제 (adaptogen)로 여겨졌다 [1,2]. 한자로서 인삼 (人蔘)의 어원은 뿌리 부분이 사람의 모습과 닮은 것에서 “인 (人)”이, 우리 고유어 “심 (중심)”의 한자어 표현인 삼(蔘)에서 유래 한 것으로 추정된다 [3]. 영어식 이름 ginseng은 인삼의 중국어 발음인 “Jin-chen”, “Rén Shēn”, Schin-sen” 또는 일본식 발음 “진생”에서 유래하였다 [4].

인삼은 대략 60 cm정도 크기의 다년생 반음지성 숙근초 (宿根草: perennial herbaceous plant)로 겨울 동안 뿌리만이 남아 있다가 봄에 잎이 새로 피어나는데, 식물학적으로는 오갈피나무과(科) 인삼속(屬) 식물이다 [5].

고려인삼의 학명은 "*Panax ginseng* C.A. Meyer" 로 1843년 러시아의 “칼 안톤 본 메이어 (Carl Anton Von Meyer)”가 처음 발표하였다. 인삼의 속명 (generic name) “Panax”의 어원은 그리스어 “παγ (Pan: all)”와 “αχεομαι (Axos: cure)”에서 온 것으로 그 뜻은 “만병통치 (all-cure or all-heal)”이다 [4].

2.1.2 Beneficial effects of ginseng

동의보감에는 인삼의 효능을 다음과 같이 소개하고 있다. “주로 5장 (臟)의 기 (氣)가 부족한데 쓰며 정신 (精神)을 안정시키고 눈을 밝게 하며 마음속 깊은곳을 열어 주고 기억력을 좋게 한다. 허손 (虛損)된 것 (텅비고 상한것)을 보하며 곽란으로 토하고 딸꾹질하는 것을 멎게 하며 폐위 (肺痿: 폐가 비정상적으로 줄어들어 늘어나지 않는것)로 고름을 뱉는 것을 치료하며 담을 삭힌다 (主五藏氣不足 安精神 定魂魄明目開心 益智 療虛損 止霍亂 嘔噦 治肺痿 吐膿 消痰(本草)“ [3].

현대과학의 연구보고들에서도, 홍삼은 당뇨 [6-11], 고혈압 [7,12], 비만 [13,14], 신장질환 [15,16] 그리고 지질이상혈증 [17,18]과 같은 대사증후군의 요인들 [19-23] 뿐만 아니라 암 [24-31]과 면역계 [32-37] 등 인체전반의 생리와 병리작용에 효과를 보여 왔다. 인삼의 효능은 인체에서 뿐만 아니라 우울증과 불안 등 심리작용들에서도 보이고 있다 [38-40].

2.1.3 Side effects of ginseng

동의보감에는 인삼을 다음과 같은 사람에게는 쓰지 말라고 하고 있다. “인삼은 폐화 (肺火)를 동하게 하므로, 피를 토하거나 오랫동안 기침을 하거나 얼굴빛이 검고 기가 실하며 혈이 허하고 음이 허해진 사람에게는 쓰지 말고 더덕 (사삼)을 대용으로 쓰는 것이 좋다 (人參動肺火. 凡吐血久嗽 面黑 氣實血虛 陰虛之人 勿用 代以沙參可也)”.

뿐만 아니라 계절에 따라서도 사용량을 변화해야 한다고 하며 여름에 그 사용량을 줄어야 한다고 하였는데 그것은 심현 (心痃: 가슴이 조이는 통증)이 생기기 때문이라 하였다 “夏月少 使發心痃之患也(本草)” [3].

현대에 인삼은 약물로서 이기보다는 건강보조물 (food supplement)로 널리 이용되며, 현대과학의 연구에서 인삼의 사용은 비교적 안전하다고 알려져 있다. 하지만 체질에 맞지 않거나 부적절한 사용으로 인한 부작용도 보고되고 있는데, 불면증 (sleeplessness), 피부발진 (eruptions), 설사 (diarrhea), 유방통 (mastalgia), 그리고 고혈압 등이 포함된다 [41]. Siegel은 인삼을 장기간 섭취할 때, 중추신경계의 흥분이나 각성 (arousal)이 발생할 수 있다고 하였으며 이를 인삼오용증후군 (ginseng abuse syndrome: GAS)이라 이름 붙였다 [42].

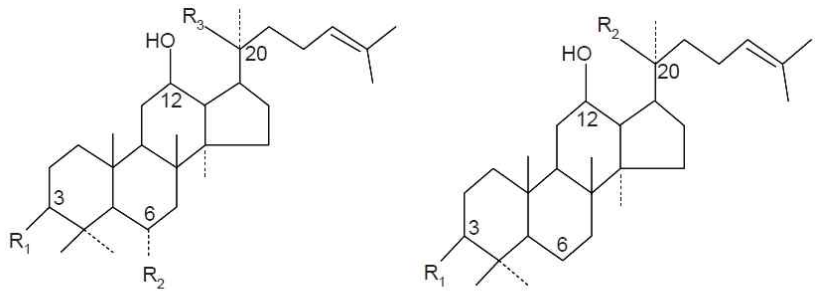
2.1.4 Red ginseng and ginsenosides

인삼의 주요한 성분들에는 플라보노이드들, 펩티드들, 지방산들, 폴리아세틸렌 알콜들, 그리고 진세노사이드들 등이 포함된다 [5]. 특히, 사포닌 글리코시드 (saponin glycoside)인 40여종의 진세노사이드 (ginsenoside)들이 약리적으로 가장 중요한 성분들이다 [43]. 진세노사이드는 이소프렌 (CH_2=C(CH_3)CH=CH_2)단위가 중합하는 이소프레노이드 (isoprenoid) 경로를 통하여 생성되는데, 사이토크롬 (cytochrome) P450s와 우리딘 이인산-당전이효소들 (uridine diphosphate glycosyltransferases) 등이 관여한다 [44].

진세노사이드의 화학적 구조는 비당기 (non-sugar group) 구조와 (aglycone) 당기 (glycosyl group)의 두 부분으로 나뉠 수 있다. 즉, 네개의 트랜스 링 (trans-ring)으로 구성된 스테로이드 골격 (skeleton)과 그 골격주위에 당 (D-glucose, L-rhamnose, D-xylose, L-arabinofuranoside 그리고 L-arabinopyranoside)과 수산기 (hydroxyl group: -OH)가 붙는 개수와 위치 (C-3, C-6 또는 C-20)에 따라 진세노사이드의 종류가 달라진다. 진세노사이드들의 명칭은 Rx로 명명한다. 여기서 x는 0, a, b, c, d, e, f, 20-gluco-f, g, h등으로 박층 크로마토그래피 판 (thin-layer chromatography plate: TLC 판)에서의 이동속도에 따른 것으로 아래에서부터 위쪽으로 순서로 명명된 것이다 [45]. 진세노사이드는 비당기 (aglycone)의 구조에 따라 다마란형 (dammarane-type)과 올레아난형 (oleanane-type)으로 나뉠 수 있는데, 올레아난 형에는 Ro 한종류가 있다. 다마란형은 스테로이드에 붙은 당의 위치 -3, -6, 그리고 -20에 따라 프로토파낙사디올 (protopanaxadiols (PPD): Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rh2, Rg3 그리고 compound K (CK))과 프로토파낙사트리올 (protopanaxatriols (PPT): Re, Rf, Rg1, Rg2 그리고 Rh1)로 나뉘기도 한다 [5,45] (Fig. 2-1).

진세노사이드의 이러한 독특한 구조는 세포막 지질의 통과에 매우 유리하다. 즉, 스테로이드 골격의 곁에 붙은 수산기는 인지질 막의 극성머리와 잘 반응하도록 하며 다른 한편으로 스테로이드의 친유성 구조

는 세포막의 소수성 지방산 사슬과 잘 반응하게 된다. 진세노사이드의 물리화학적 그리고 생화학적 특성은 스테로이드 골격에 붙은 당과 수산기에 의해 영향을 받는다 [46]. 이로 인해 진세노사이드들은 이온채널들 [47-49]과 수용체들 [50-52]을 포함한 다양한 막단백질들에 작용할 수 있다.



Protopanaxadiol Protopanaxatriol

Compound	R1	R2	R3
Protopanaxadiol			
Rb1	-O-Glc^{2}-Glc	-O-Glc^{6}-Glc	-H
Rc	-O-Glc^{2}-Glc	-O-Glc^{6}-Araf	-H
Rg3	-O-Glc^{2}-Glc	-O-H	-H
Rh2	-O-Glc	-O-H	-H
Compound K	-O-H	-O-Glc	-H
Protopanaxatriol			
Re	-O-H	-O-Glc^{2}-Rha	-O-Glc
Rg1	-O-H	-O-Glc	-O-Glc

Araf: α-L-arabinose (furanose); Glc: β-D-glucose; Rha: α-L-rhamnose

Figure 2-1. The chemical structures of ginsenosides [53]. Cited from Dong H. et al. (2011)

미생물발효, 가수분해, 열처리 그리고 효소전환 등의 과정은 인체에 쉽게 흡수되지 않는 비활성상태의 진세노사이드인 Rb1, Rc, Rb2, Rb3 그리고 Rd를 생물학적으로 쉽게 흡수되어 작용하는 활성상태의 진세노사이드인, CK나 Rg3로 바꾼다 [54,55] (Fig. 2-3). 전체 진세노사이드들 중 80%는 비활성형이기 때문에 [56] 구조변환 과정들은 시판되는 인삼이나 홍삼의 효능에 차이가 있는 중요한 이유가 될 수 있다 [54,55].

연구들은 진세노사이드 Rh1 과 Rg3가 여성호르몬 수용체 (estrogen receptor: ER)의 리간드로 작용하고 [57,58], Rh2 와 CK는 글루코코르티코이드 수용체 (glucocorticoid receptor: GR)의 리간드로 작용한다고 보고하였다 [57,59-61]. 핵수용체 (nuclear receptors: NRs)의 리간드로서의 진세노사이드의 기능들은 인삼의 다양한 생리활성 (Panax) 메커니즘들에 대한 이해에 중요한 단서가 될 수 있다.

2.1.5 Fermented red ginseng and ginsenoside

인체의 소화기 (intestine) 내에는 500여종 이상, 10조개 (ten trillion)의 미생물들이 생태계를 형성하여 존재하고 있다. 장내미생물들의 유전자는 인간의 100배 이상 다양하며, 미생물들은 역동적인 상호작용 속에서 균형을 이루고 있다 [62,63]. 따라서 장내미생물들은 대사와 면역을 포함한 인체의 다양한 생리기능과 매우 밀접한 관련을 갖게 되며 [64-66], 비만, 당뇨 그리고 암 등 다양한 질환의 발달과도 관계된다 [67,68].

인류의 발달과정에서 경험적으로 사용되어 온 약초는 대부분 입을 통해 섭취된다 [69]. 따라서 필연적으로 입으로 섭취된 약초의 약리성분들은 장내미생물들과 접촉하며, 화학적 구조가 변형될 수 있다. 즉, 장내미생물들에 의한 대사는 약리활성을 증강시키거나 독성을 약화시킬 수 있다 [70,71].

다른 대부분의 약초들과 마찬가지로 인삼도 입으로 섭취를 하며 주요 약리성분인 진세노사이드는 낮은 생체이용률을 보이는데 그 주된 이유는 그 구조에 의해 장내세포로 흡수가 불완전하기 때문이다 [72]. 하

지만 in vitro와 in vivo 실험에 의하면, 장내 미생물들에 의해 흡수가 용이한 상태로 변환될 수 있다 [73,74]. 미생물들에 의한 대사경로는 대부분 가수분해에 의한 탈당화반응들 (deglycosylation reactions)이다. PPD 그룹에서는 Rb1, Rc, Rb2, Rb3, 그리고 Rd가 주요한 생리활성형인 CK로 변환된다 [54,75] (Fig. 2-2). 반면 PPT그룹에서는 Rg1과 Re가 Rh1과 F1으로 변환된다 [76,77] (Fig. 2-3). 4%의 진세노사이드가 함유된 인삼 캡슐을 사람에게 입으로 섭취하게 하였을 때, CK, F1 그리고 Rh1 또는 Rg1이 순환계 내에서 검출되었다 [77]. CK의 경우 섭취한 후 24시간 이내에 순환계에 나타났다. Rb1에서 CK로의 변환율은 사람들마다 상당히 다르며 [78], 이는 사람들마다 인삼섭취의 효능이 다른 원인 중 하나가 될 수 있다.

전통적으로 홍삼은 백삼을 찌거나 가열하는 과정을 통해 얻어진다. 백삼과 홍삼은 화학적 조성이 다르며 [30,79], 약리적 효과들도 홍삼이 백삼보다 우수하다고 보고된다 [29]. 이는 홍삼제조과정에서 인삼의 탈당화반응을 통하여 극성 사포닌들이 감소하고 대신 극성이 보다 약한 사포닌들로 변환되는 것과 관련이 있다.

인체에서 발효과정의 산물은 알코올이나 락산 (lactic acid)이며 인체생리와 대사에 중요하다. 발효과정은 대규모로 산업적 생산에서도 이용되는데 *Bifidobacterium* sp.나 *Lactobacillus* sp.와 같은 락산 박테리아와 *Saccharomyces* sp.와 같은 효모가 널리 이용된다 [80,81]. 인삼을 이용한 홍삼의 제조에서도 미생물들을 이용한 발효가 연구되고 있다. 미생물의 글루코스가수분해효소를 이용한 것이 대표적인 예이다. 흡수가 용이한 약리적 진세노사이드로 전환하는 미생물들로 처음 관심을 받은 것은 인체의 장내 서식하는 미생물들로서 *Bacteroides* sp., *Bifidobacterium* sp. 그리고 *Leuconostoc paramesenterioides* 등이었다 [55]. 이는 무엇보다 장내서식으로 인한 안전성이라는 장점이 있었기 때문이다. 그러나 이들 미생물들의 변환효율이 낮아서 토양서식 균류와 미생물들에 대한 연구가 진행되었으며 *Rhizopus stolonier*와 *Microbacterium* sp. 등 다양한 종이 포함된다 [55].

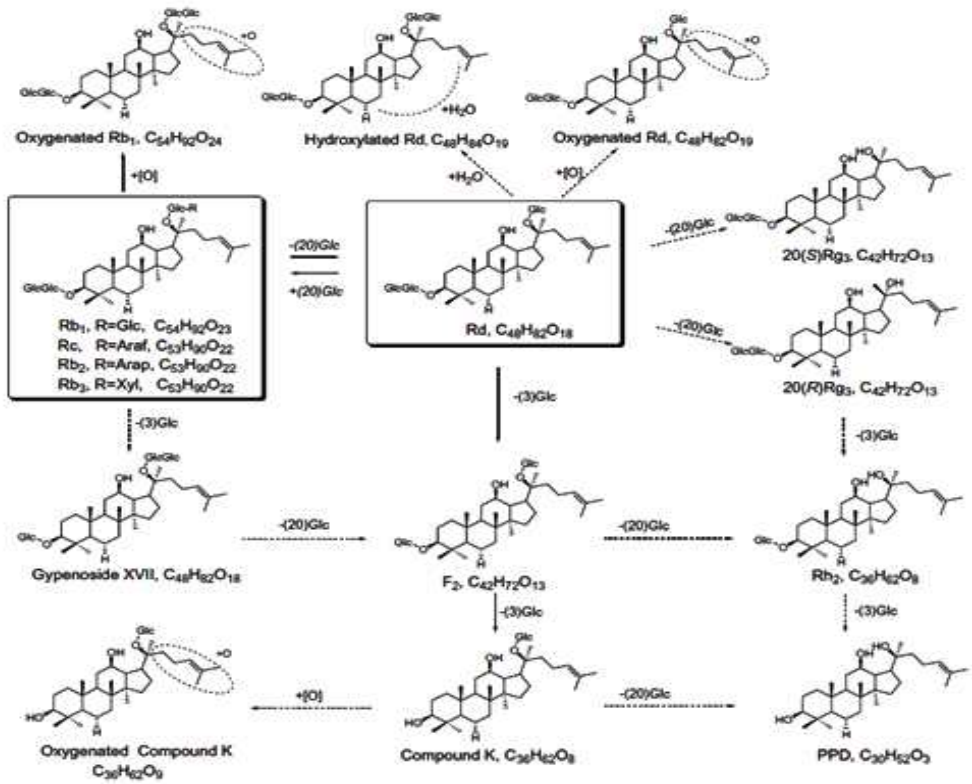


Figure 2-2. Metabolic pathway of protopanaxadiol ginsenosides in ginseng by intestinal microbiota. "→" denotes major pathways; "⇢" denotes additional pathways. [54,75] Cited from Yang L. et al. (2007)

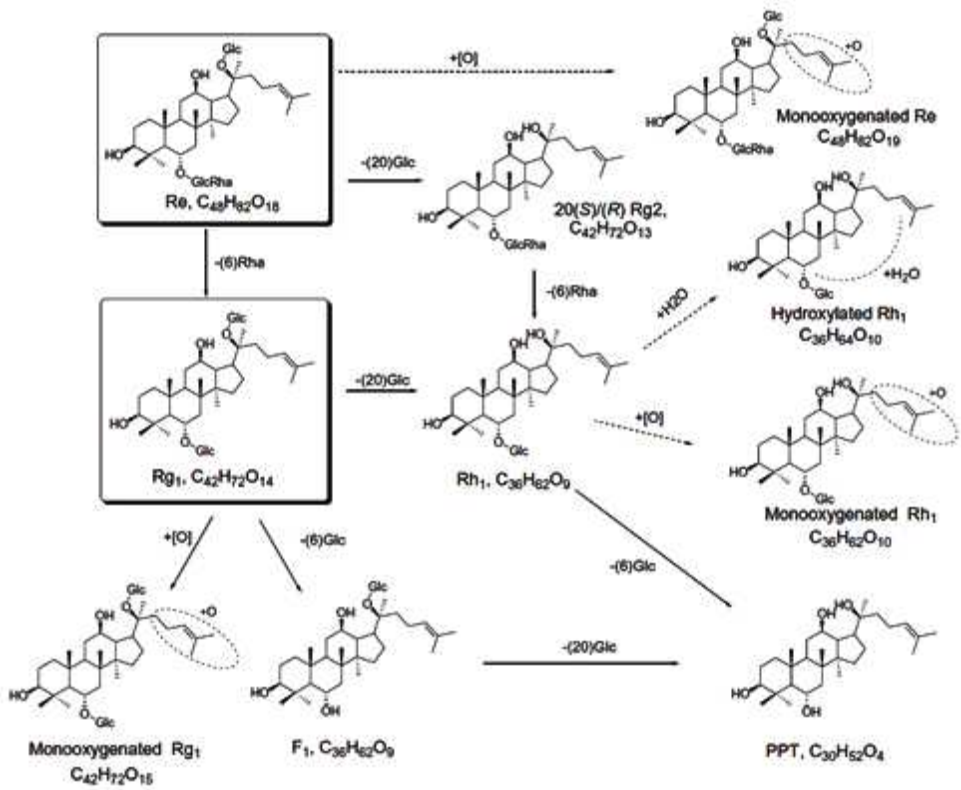


Figure 2-3. Metabolic pathway of protopanaxatriol ginsenosides from ginseng by intestinal microbiota "→"denotes major pathways; "⇢" denotes additional pathways. [76,77] Cited from Yang L. et al. (2007)

2.1.6 Function of ginsenoside as ligands of nuclear receptors

진세노사이드의 NRs의 리간드로서의 특성은 계속해서 보고되고 있다. 박 등은 LPS를 처리하여 활성화한 단핵구 세포주에 CK를 처리하였을 때 면역작용이 억제됨을 보고하였다. Trinh 등에 의하면, 패혈증모델 마우스에 지모산 (zymosan)으로 패혈증 자극 (septic shock)을 준 후 CK를 구강으로 처리하였을 때 IL-10을 제외하고, TNF-α와 IL-6와 같은 염증성 사이토카인들의 수치가 낮아졌다. 그리고 지모산에 의해 자극된 mitogen-activated protein kinases (MAPKs)의 활성화를 억제하였는데, 이것은 GR의 작용을 매개로 한 것이었다 [61].

Tran 등에 의하면 Rg3를 내피세포주 (endothelial cells)에 처리하고, ERE-Luc와 GRE-Luc를 이용하여 ER과 GR의 활성을 확인하였다. 그 결과 Rg3처리는 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase), c-Jun N-terminal kinase (JNK), 그리고 p38 kinase의 활성을 촉진시켰는데 이는 ER과 GR 두가지 모두의 reporter gene 전사를 경유하고 있었다 [82]. 한편 Kwok 등은 분극이방성 (polarization anisotropy)을 이용하여 NRs에 대한 리간드의 결합친화도를 측정하였을 때, Rg3와 Rb1이 ER-α에는 결합하지 않았고, peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-ɣ)에 대한 친화도를 보였음을 보고하였다 [83].

Estrogen response element (ERE)를 포함한 리포터 플라스미드인, estrogen-responsive luciferase 유전자를 이용한 연구에 의하면 Rb1을 유방암 세포주인 MCF-7에 처리하였을 때, 농도 의존적으로 ER-α와 ER-β가 모두 활성화 되었다. 이어서 이들은 AP-1 luciferase reporter plasmids를 이용하여, Rb1을 처리하였을 때, ER을 매개로 하여 AP-1이 활성화함을 보고하였다. 이 연구진들은 ER에 대한 친화도를 확인하기 위해 E2와 ER이 결합한 상태에서 Rb1 (20～50 μM)과 Rh1 (50 μM)을 1시간 동안 투여하였는데, Rb1은 효과가 거의 없었으나, Rh1은 E2와 ER의 결합을 약 44% 대체하여 약한 파이토에스트로겐의 활성이 있음을 확인하였다 [84].

진세노사이드는 ER와 GR 뿐만 아니라 PPAR의 리간드로서의 활성도 보이고 있었다. Hwang 등에 의하면 Rg3를 3T3-L1이라는 지방선구세포 (preadipocyte)에 투여하였을 때 지방세포로의 분화가 억제되었는데, 이것은 AMPK와 PPAR-γ 신호경로를 매개로 한 것이었다 [23].

전통적인 리간드 의존성 유전자조절경로뿐만 아니라, 리간드 비의존성 경로를 통한 NRs의 조절에도 진세노사이드는 영향을 준다. Rg1은 picomolar 범위에서 인체 유방암세포의 증식을 자극하는 유력한 파이토에스트로겐이다 [85]. Wai-sum 등은 ER-α의 리간드-비의존성활성화가 인슐린유사성장인자 (insulin-like growth factor-I: IGF-I)나 [86], epidermal growth factor (EGF) [87] 등에 의해 자극되는 것에 주목하고 Rg1과 ER-α에 대한 효과를 비교하였다. MCF-7 세포주에 1 pM의 Rg1 처리는 50 ng/ml의 IGF-1처리와 ER-α의 Ser 118 위치에서 인산화에 대해 비슷한 효과를 보였다 [88].

2.1.7 Flavonoids of ginseng

플라보노이드들 (flavonoids)은 폴리페놀 화합물로 다양한 화학적구조와 특성을 가지고 있다 (Fig. 2-4). 과일이나 채소뿐만 아니라 종실류나 견과류 등에도 풍부하게 존재하여, 인체내에서 항박테리아 [89], 항바이러스 [90], 항염증 [91], 혈관이완 [92] 등을 포함하여 다양한 효과를 나타낸다. 특히 항산화제로서 자연적으로 생성된 라디칼들을 제거하며 (scanvenger) [93], 지질의 과산화 (peroxidation)를 억제한다 [94].

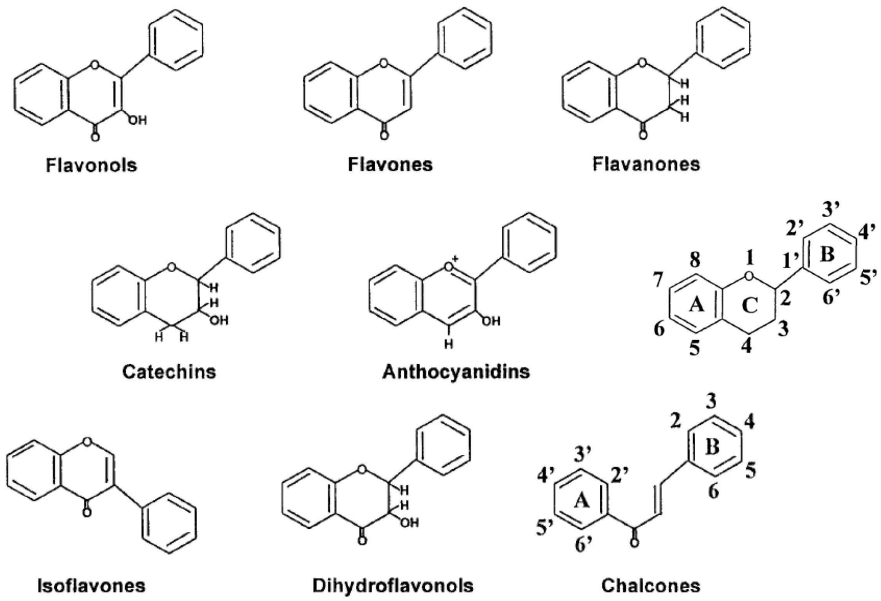


Figure 2-4. The structures of the major classes of flavonoids [95]. Cited from Cook NC. et al. (1996)

자유라디칼은 인체의 세포들을 공격하여 염증을 만들어냄으로써 암, 심혈관질환 그리고 당뇨 등을 유발할 수 있다. Kim 등은 발효홍삼의 총 플라보노이드 성분이 18.42±3.97 ㎍/mg으로 함량에서는 보통 홍삼과 유의한 차이를 보이지 않았으나, 항산화력은 보다 우수하였다고 보고하였다. 그리고 당뇨 쥐에 발효홍삼을 투여하였을 때 항산화효과와 당뇨개선에 유익한 효과를 보였다고 하였다 [96]. 본 연구에서 사용된 홍삼분말에서도 플라보노이드가 포함되어 있었을 수 있으나, 함량이 측정된 것은 진세노사이드 종류들이었고, 따라서 본 연구의 가설과 해석은 진세노사이드들과 관련된 영역에 한정되어 있다.

2.2 Redundancy of nuclear receptors and stochastic analysis

NRs는 전통적으로 리간드-활성화 전사인자들 (ligand-activated transcription factors)로 정의되며, 작은 친유성 분자들 (lipophilic molecules)에 의해 표적 유전자를 조절한다. GR과 같은 steroid receptor의 경우, 자극이 없을 때 세포질 내에서 열충격단백질들 (heat shock proteins: HSP)과 같은 샤페론 (chaperons)들과 결합하여 비활성상태로 있다. 호르몬 리간드가 이들 NRs에 결합하게 되면 구조변형 (conformational change)이 일어나면서 샤페론 복합체와 분리가 되고 핵내로 위치를 이동하게 된다. (Fig. 2-5) 그리고 크로마틴 (chromatin)과 결합하여 관련된 유전자를 활성화 또는 억제하면서 조절하게 된다. 인체에서는 현재까지 48종류의 NRs이 발견되었으며 [97,98], 이중 절반 정도는 아직 그 리간드가 밝혀지지 않은 고아 핵수용체들 (orphans NRs)이다 [99]

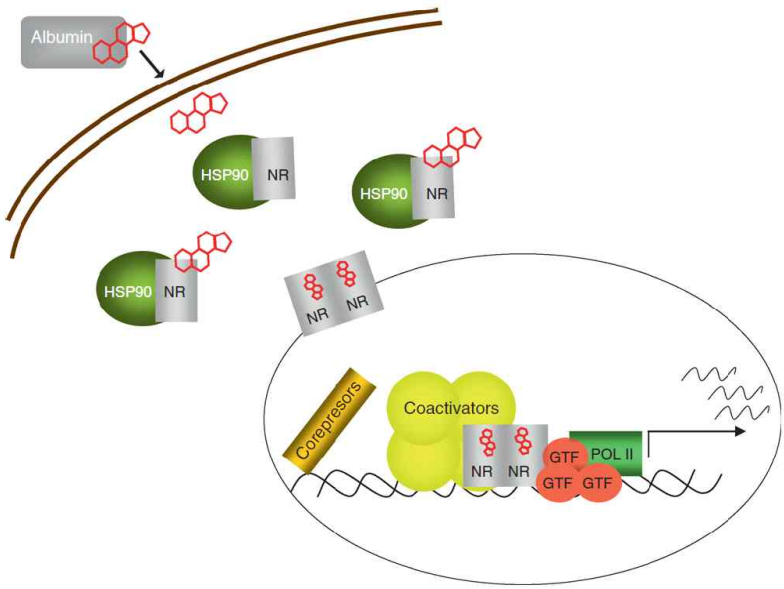


Figure 2-5. Mechanism of action of steroid hormones. Steroid hormones are transported in the blood bound to carrier protein (albumin). Steroid hormones are liposoluble molecules that freely translocate through cell membrane. Once inside the cell, steroid hormone binds to nuclear receptors (NR) that are located in the cytosol and is bound to heat shock protein 90 (HSP90). Upon binding of steroid hormone to the receptor, the receptor is released from HSP90, dimerizes and translocates to the nucleus. In the nucleus, NR binds to DNA and initiates transcription by recruiting coactivators, general transcription factors (GTF) and RNA polymerase II (RNA pol II) [100]. Cited from Stanisic V. et al. (2010)

NRs은 시간적, 공간적, 조직특이적 그리고 상황특이적으로 작용함으로써 인체의 다양한 유전자를 조절하게 된다. 이러한 특이성은 Table 2-1에서 제시되는 것과 같이 다양한 요인들에 의해서 활성이 조절된다 [101].특히 NR들 사이의 redundancy적 특성에 대한 관심이 필요하다. 유전적으로

redundancy는 두 개 이상의 유전자가 동일한 기능을 일부 겹쳐서 (overlapping) 수행하는 것으로 [133,134], 초기의 한 유전자가 또 다른 위치에 중복 (duplication)되어 생성됨으로써 가능해진다. Redundancy는 진화론적으로 생물의 생존에 매우 유리한 작용을 한다. 예를 들어 중복된 두 단백질은 음성 되먹임 (negative feedback)으로 상호억제 (mutual repression)를 하곤 하는데, 이것은 한 단백질의 기능이 손상될 때 보상적으로 다른 유전자가 더욱 활성화되는 결과를 얻게 한다 [135]. 이는 곧 다변량적 (multivariate)인 신호들과 표적간의 연결 (linkage)의 느슨함을 의미하며, NRs의 생물학적 현상의 해석에 있어서 "통계적 (stochastic)인 관점의 이해"라는 필요성을 제시한다 [136]. (보다 자세한 내용은 Appendix 5를 참조)

Table 2-1. The various variables on the activity of nuclear receptors.

Target	Effector on the activity of NRs	References
DNA	(1) Promoter of NRs' gene	[102,103]
	(2) Polymorphism of NRs	[104]
RNA	(3) Alternative splicing in transcription	[104]
	(4) 핵수용체 mRNA의 전사와 안정성 조절	[105,106]
Protein	(5) 핵수용체 단백질들의 안정성과 degradation	[107,108]
	(6) 전사후 변형 (post-translational modifications)	[109-111]
Cytopla	(7) 다양한 리간드에 의한 조절	[112,113]
sm	(8) 샤페론들에 의한 조절	[114,115]
	(9) 다른 단백질과의 상호작용들 (crosstalk)	[116,117]
	(10) 핵수용체들의 다양한 이합체 조합들	[118,119]
	(11) 핵수용체들간의 redundancy적 특성들	[120,121]
	(12) 막결합 핵수용체들에 의한 조절들	[114,122]
Nucleus	(13) 다양한 보조조절자들 (coregulators)	[100,123-126]
	(14) 다른 유전자조절인자들과의 상호작용	[127-129].
	(15) 핵수용체의 DNA response elements	[130]
etc.	(16) 리간드를 만드는 효소들에 의한 조절	[131,132]

2.3 Neuroendocrine system, nuclear receptor and depression

2.3.1 Prevalence and definition of depression

세계보건기구 (World Health Organization: WHO)에서는 우울증을 다음과 같이 정의하고 있다. “우울한 기분, 흥미나 즐거움의 상실, 죄나 낮은 자신의 가치에 대한 느낌, 잠이나 식욕의 혼란, 낮은 에너지 그리고 낮은 집중력이 나타나는 흔한 정신장애” [137]. 세계적으로 우울증으로 진단받는 사람의 수가 늘어나면서 우울증의 발생의 원인에 대한 관심이 증가하고 있다 [138]. 우울증은 생애 유병률이 20%나 되며 높은 사망률(mortality)이 관련되어 있다 [139]. 그리고 우울증은 정신적인 곤란뿐만 아니라 다른 신체적인 질병들, 관상동맥질환이나 제 2형 당뇨 등 다른 질병들과도 관련을 갖는다 [140]. 세계보건기구의 발표에 의하면 2008년 현재 세계적으로 1억 2천만명이 우울증에 걸려 있으며 질병리스트에서 그 유병률은 네번째 자리를 차지하고 있다. 그리고 2020년이 되면 우울증은 비용적으로 질병부담 중 서열 2위의 자리를 차지하게 될 것으로 추정한다 [141].

우울증은 크게 내생적/임상적 우울증 (endogenous/clinical depression)과 반응성 우울증 (reactive depression)으로 나뉜다. 내생적 우울증은 생애의 사건과 관련이 없는 우울증으로서 심각한 장기간의 과잉행동으로 이어지지 않는 우울증이다. 내생적 우울증은 다시 단극성(unipolar)과 양극성 (bipolar)우울증으로 나뉠 수 있다 [142]. 단극성 우울증은 주요우울증 (major depression: MD)이라고도 불리며 비교적 안정적인 시기와 함께 가끔 우울증의 기간이 존재한다. 반면 양극성 우울증은 광적 우울증 (manic depression)으로 불리며 조증과 우울증이 반복된다. 양극성 우울증은 대개 20대 후반에 발생하며 100명중 한명 정도의 발병률을 갖는다. 주요우울증은 보다 빈번히 발생하며, 평균적인 발병의 시작 시기는 40대 이후이고, 남성보다 여성에게 빈번히 진단된다 [142].

주요우울증 환자에게는 종종 슬픔 (sadness), 무기력 (lethargy), 사회적 고립(social withdrawal)의 증상이 나타난다. 발병률에서 알 수 있듯이 주요우울증은 생애 중에서 가장 빈번한 정신 질환들 (psychiatric disorders) 중 하나이다. 미국 신경협회 (American Psychiatric Association)의 정신장애 진단과 통계 매뉴얼-IV (diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-4th Edition: DSM-IV)에서는 주요우울증의 우울증 증상을 최소 2주 동안 사회적인, 직업적인 기능 (occupational functioning)에서 임상적으로 중대한 손상이 있어야 한다고 정의하였다 [143]. 미국병존증조사 (National Comorbidity Replication Survey: NCS-R)에 의하면 DSM-IV의 기준으로 주요우울증의 생애발병률 (lifetime prevalence rate)은 16.2%였다 [143].

2.3.2 Classical drug treatment of depression and limitations

전통적으로 우울증은 하나 또는 그 이상의 신경전달계의 조절이상이 원인이 되어 발생한다고 간주되고, 이 때문에 일반적인 항우울약물의 타켓은 이들 신경전달계가 된다. 예를 들어 세로토닌 또는 노르아드레날린/도파민의 급격한 고갈은 우울증을 유발하고, 이 때문에 이들 신경전달물질을 재조절하는 것이 항 우울증약물의 주된 작용이 된다 [144]. 주요우울증 치료를 위한 몇 가지 약물이 전통적으로 널리 처방되어 왔지만 그 약효의 발생을 위해는 종장기간의 처리가 필요하며 종종 그 치료효과가 적거나 없다 [145]. 뿐만 아니라 이들 약물처리과정에서 부작용이 흔히 발생한다 [146]. 그리고 구토, 오심 그리고 성적인 기능의 손상과 같은 다양한 부작용이 모노아민 가설의 한계점으로 포함된다 [147]. 이러한 상황의 주된 이유 중 하나는 아직까지 우울증에 대한 원인과 기작이 명확히 규명되어 있지 않고, 따라서 그 치료원리도 불분명하기 때문이다.

2.3.3 Limbic-HPA axis and depression

1970년대 후반 사회심리학연구들은 생애중에 심리적인 스트레스가 시상하부-뇌하수체-부신축 (hypothalamus-pituitary-adrenal axis: HPA axis)을 매개로 하여 우울증과 관련이 됨을 보고하기 시작하였다. Carroll 등은 우울증 환자들에게서 높은 수치의 코티졸이 발견됨을 보고하였고 [148], 이후의 이어진 연구들에 의하면 우울증 환자의 50%에서 HPA축의 이상이 나타났다 [149]. HPA축의 이상과 우울증의 관계는 감정을 담당하는 변연계와 연결되어 있다.

1937년 제임스 파페즈 (James Papez)는 감정의 경험에서 중요한 역할을 하는 '감정의 시스템 (system of emotion)'으로 변연계를 제안하였다. 뇌구조상으로 변연계는 뇌간 (brain stem)을 둘러싸고 있으며 대상이랑 (cigulate gyrus), 편도 (amygdala), 해마, 시상하부와 그 전방의 시상핵 (anterior thalamic nuclei)을 포함한다. 이들 시스템은 대뇌와 같은 상위의 뇌구조와 함께 기능적인 커뮤니케이션을 통해 기억의 저장과 함께, 감정을 조절할 수 있게 된다 [150].

우울증에서는 신경화학/호르몬의 비정상적인 수치의 변화가 나타난다. 가장 대표적인 예 중 하나가 일관되게 관찰되는 높은 수치의 스트레스 호르몬인 당질코르티코이드 (코티졸)로서, 이는 신경가소성 (neuroplasticity)과 세포 저항성 (cellular resistance)의 손상의 원인이 될 수 있다 [151].

변연계와 HPA축의 일부 영역은 뇌실주변부기관 (circumventricular organs: CVOs)이다. CVOs는 혈관-뇌 장벽 (blood-brain barrier: BBB)이 감소되어 있어서 순환계의 호르몬, 에너지원 그리고 미네랄들에 의해 영향을 받는다 [152]. 그리고 편도와 해마는 매우 높은 농도의 GRs을 가지고 있다 [153]. 따라서 고밀도의 GRs과 함께 나타나곤 하는 높은 수치의 당질코르티코이드와 무기질코르티코이드 (mineralcorticoid; 알도스테론(aldosterone))는 해마를 쉽게 손상되게 할 수 있다 [154]. 그리고 만성적인 스트레스 상태에서 GRs의 감수성의 감소는 GRs의 음성되먹임 신호를 약화시키고, 이 때문에 HPA축의 과잉활

성화로 당질코르티코이드 수치는 다시 높아지는 악순환이 반복될 수 있다 [155].

병리적으로 높은 수치의 코티졸은 아폽토시스 (apoptosis) 신호를 통해 변연계의 뉴런들에게 손상을 줄 수 있으며 [151,156], 손상된 변연계는 우울증을 유도할 수 있다. 우울증이 있는 환자에게서는 편도의 부피가 감소되어진 것이 관찰되고 [157], 해마의 부피가 수축된 정도는 우울증의 증상의 기간에 비례하였다 [158]. 이미지연구들에 의해서도, 주요우울증 환자에게서 해마의 부피는 일관되고 유의하게 감소하고 있었다 [159]. 학습과 기억에 중요한 역할을 하는 해마는 해부학적으로 생리적으로 축삭돌기다발 (axon bundle)과 뇌궁 (fornix)을 통해 시상하부와 매우 긴밀히 연결되어 있고, 풍부한 GR의 존재에서 알 수 있듯이 코티졸을 중심으로 한 HPA축의 음성 되먹임의 조절과 긴밀한 관련을 갖는다 [153].

HPA축의 호르몬들 뿐만 아니라 다양한 인자들이 우울증과 관련된다. 예를 들어, 뇌유래성장인자 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF)는 뇌세포의 성장인자로, 특히 해마에서 풍부하며, 스트레스는 BDNF의 합성을 억제시킨다 (Fig 2-6). 항우울증 약물은 BDNF의 합성을 증가시켜서 우울증에 효과가 있을 수 있다 [160]. 우울증환자들에게서 BDNF의 수치는 낮으며, 우울증의 정도와 BDNF농도는 양의 상관관계를 갖는다 [161]. BDNF 유전자 변이 (genetic variation)중 메타이오닌 대립형질 보인자 (Met-allele carriers: val/met and met/met)는 발린 동형형질 보인자 (carrier)에 비해 해마가 작고 이것이 우울증 등의 감정변이와 관련이 있을 수 있다 [162].

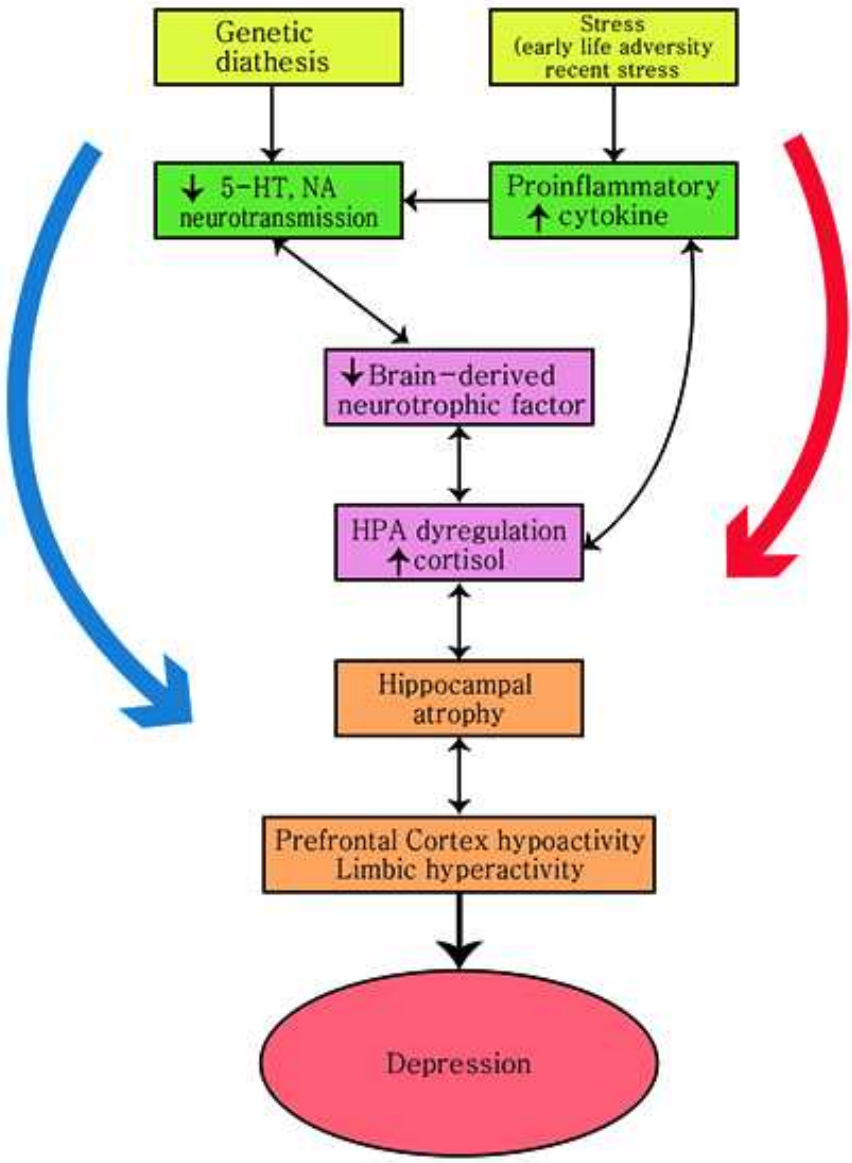


Figure 2-6. Neurobiology of depression [163]. Cited from Palazidou E. (2012)

2.3.4 Cortex, energy supply and depression

변연계와 함께 대뇌의 특정부위도 우울증에 중요한 역할을 한다. 국부적인 혈류흐름연구에 의하면, 정상인에 비해서 주요우울증 환자들에게서 복내측 전전두엽 (ventromedial prefrontal cortex: VMPFC)에서 과잉활동성 (hyperactivity)이 보이는 반면 등가쪽 전전두엽 (dorsolateral prefrontal cortex: DLFPC)에서는 저활동성 (hypoactivity)이 관찰된다 [164]. 복내측 전전두엽의 과잉활동성은 고통, 불안, 우울증, 긴장에 대한 감수성을 증강시키고, 반면 등가쪽 전전두엽의 저활동성은 심리운동지체 (psychomotor retardation), 무관심 (apathy), 그리고 작동기억 (working memory)의 결핍 (deficits)을 낳는다 (Table 2-2).

기능성 자기공명영상기록법 (functional magnetic resonance imaging: fMRI)를 이용한 연구에 의하면 편도와 전대상회 (anterior cingulated cortex: ACC) 부위 사이의 연결 (communication)의 감소가 보여진다 [165]. 이것은 감정조절을 억제하는 ACC의 기능손상 때문으로 추정되며 [166] 동기 (motivation)와 감정손상 (affective disruption)의 결과를 낳는다 [167]. (Table 2-2)

Table 2-2. Limbic and PFC areas implicated in depression [150]. Cited from Palazidou E. (2012)

Sustrate	Volume	Histological change	Metabolic activity	Antidpressant Effects
Orbital/VMPFC	↓	↓	↑	
Anterior cingulate cortex	↓			↓ Metabolic activity
Hippocampus	↓	↓		↑ Volume
Amygdala	↓ ?			↓ Metabolic activity
DLPFC	↓	↓	↓	

PFC: prefrontal cortex, VM: ventral medial, DL: dorsal lateral

2.3.5 Postmenopausal women and depression

폐경기는 여성호르몬의 감소라는 특징을 가지며, 여러 호르몬축들이 상호작용한다는 것을 고려해볼 때, 폐경기 여성에서 내분비계와 주요우울증의 관계에 관심을 가지게 한다. 실제로 우울증이 없는 폐경기 여성에 비해 증상이 있는 폐경기 여성은 보다 낮은 여성호르몬 수치를 보인다 [168]. 그리고 우울증을 가진 폐경기 여성은 낮은 수치의 배란촉진 호르몬 (luternizing hormone: LH)과 높은 수치의 난포자극호르몬 (follicle stimulating hormone: FSH)의 상태를 보인다 [169,170].

몇몇 연구에 의하면 갱년기 우울증 (climacteric depression)을 보이는 폐경기 여성에게 호르몬대체요법을 하였을 때 기분 (mood)의 유의한 경감이 보여졌다 [171]. 에스트라디올은 세로토닌 전달물질 (serotonin transporter: SERT)의 전령 RNA (messenger RNA: mRNA)를 억제하며 이는 항 우울증 약물과 동일한 타켓이다 [170,172]. 뿐만 아니라 에스트라디올은 다른 신경조절과정에 영향을 준다. 난소를 제거하면 전뇌 (forebrain)와 해마에서 BDNF의 수치를 감소시키며, 반면 에스트라디올을 처리하면 그 수치가 증가한다 [173]. 그러나 또 다른 몇가지 종단적, 커뮤니티 기반의 (longitudinal, community-based) 연구에 의하면, 폐경기 여성에서 우울증 발생과의 상관관계는 관찰되지 않는다 [174].

2.4 Neuroendocrine system and metabolic syndrome

2.4.1 Stress, hormones and metabolic syndrome

Chrousos는 신경내분비계가 혈당, 지방산, 골다공증 등 인체의 전반적인 대사에 영향을 줄 수 있고, 다양한 병리적인 현상들과도 관련이 있다고 주장하였다 [175]. 그것은 생명체의 기본적인 속성인 항상성의 유지에 신경내분비계가 밀접히 관련된 것에 근거한다. 항상성이란 유기체 내부와 유기체 외부의 끊임없이 변화하는 환경에 대응한, 역동적인 동적평형을 의미한다. 그리고 항상성의 유지를 위협하는 인자들을 총칭하여 스트레스라고 정의한다 [175]. 신경내분비계는 다양한 호르몬들을 통하여 인체의 항상성을 유지하도록 하며, 스트레스인자들에 반응을 하여 항상성을 조절한다 (Table 2-3). 따라서 신경내분비계의 교란은 인체대사를 포함한 다양한 생리적 요소들에게 영향을 줄수 있다 (Fig. 2-7). 특히 만성적인 스트레스는 대사증후군의 발달과 관련이 되는데 [176], 이것은 신경내분비계의 교란을 매개로 한다.

Table 2-3. Behavioral and physical adaptation during acute stress [177]. Cited from Charmandari E. et al. (2005)

Behavioral adaptation: adaptive redirection of behavior	Physical adaptation: adaptive redirection of energy
Increased arousal and alertness	Oxygen and nutrients directed to the CNS and stressed body site(s)
Increased cognitin, vigilance, and focused attention	Altered cardiovascular tone, increased blood pressue and heart rate
Euphoria (or dysphoria)	Increased respiratory rate
Heightened analgesia	Increased gluconeogenesis and lipolysis
Increased temperature	Detoxification from toxic products
Suppression of appetite and feeding behavior	Inhibition of growth and reproduction
Suppression of reproductive axis	Inhibition of digestion-stimulation of colonic motility
Containment of the stress response	Containment of the inflammatory/immune response

CNS: central nervous system

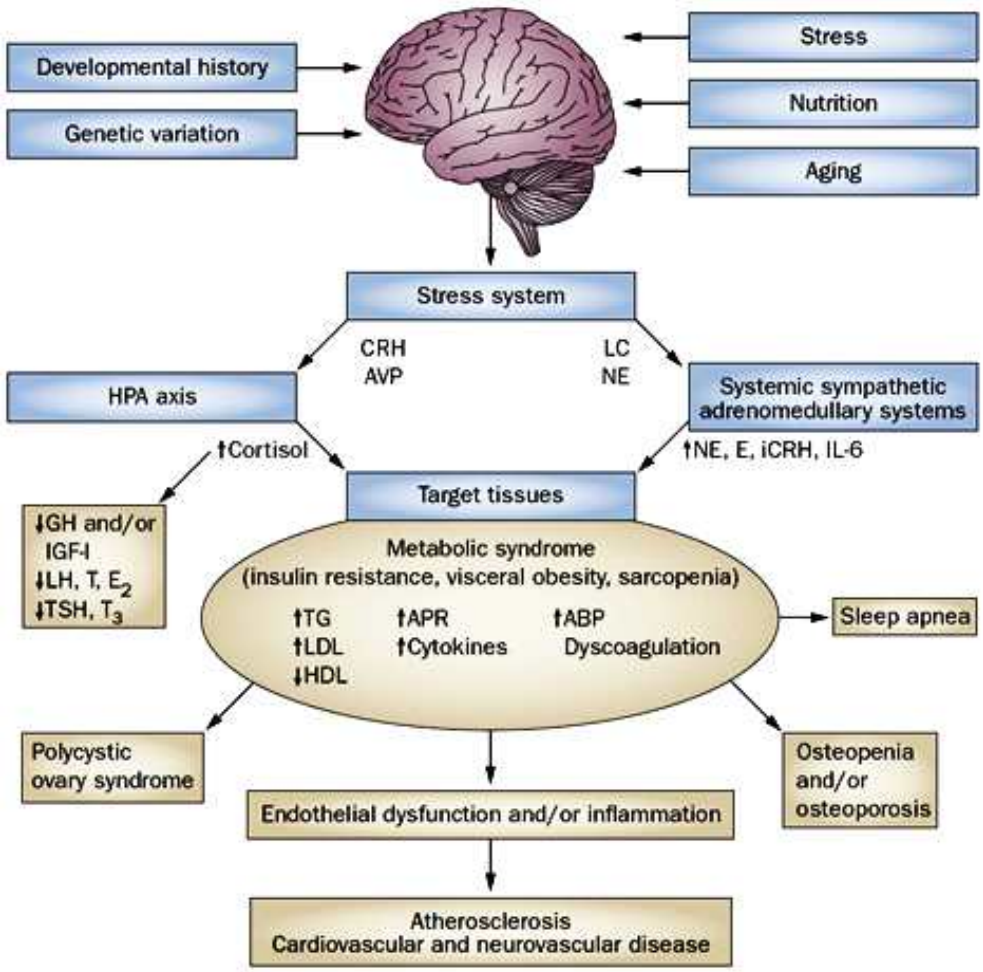


Figure 2-7. Chronic stress and metabolic syndrome. Abbreviations: ABP, arterial blood pressure; ACTH, adrenocorticotropic hormone; APR, acute-phase reactants; AVP, arginine vasopressin; CRH, corticotropinreleasing hormone; iCRH, immune CRH; E, epinephrine; E2, estradiol; GH, growth hormone; HPA, hypothalamic-pituitary -adrenal; IGF-I, insulin-like growth factor I; IL-6, interleukin 6; LC, locus ceruleus; LH, luteinizing hormone; NE, norepinephrine; T, testosterone; TG, triglycerides [175]. Cited from Crousos GP (2009)

2.4.2 Definitions of metabolic syndrome

세계보건기구 (world health organization: WHO)에서는 대사증후군 (metabolic syndrome)을 다음과 같이 정의하고 있다. “당 불내성, 손상된 당내성 또는 당뇨 그리고/또는 인슐린저항성과 함께 동맥혈압의 상승, 혈장의 중성지방 수치의 상승, 복부비만, 미세알부민뇨증, 그리고 몇 가지 다른 요소들 (예. 고요소뇨증, 혈액응고장애, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)의 상승 등) 중 두가지 이상의 요소가 나타날 때 대사증후군이라 한다 (Table) [178].

대사증후군에 관하여 세계적으로 알려진 진단기준으로는 WHO 이외에도 성인 치료패널 III (Adult Treatment Panel III: ATP III) [179], 인슐린 저항성 연구를 위한 유럽그룹 (European Group for the Study of Insulin Resistance: EGIR) [180], American association of clinical endocrinologists (AACE) [181], 국제 당뇨 협회 (International Diabetes Federation: IDF) [182], 미국 당뇨협회 (American Diabetes Association: ADA) [183], 그리고 국제 콜레스테롤 교육 프로그램 (National Cholesterol Education Program: NCEP) [182] 등이 있다.

이들 기관들 사이에서 대사증후군에 대한 기준은 다양한 스펙트럼을 가지고 있고 강조점도 제각기 다르다. 하지만 이들은 공통적으로 인슐린저항성, 높은 수치의 공복혈당 (>110 mg/dl), 이상지혈증 (중성지방 >150 mg/l or >180 mg/l), 고밀도지단백 콜레스테롤 (high density lipoprotein cholesterol: HDL-cholesterol)<40 mg/dl (남), <50 mg/dl (여)), 그리고 고혈압 (>140/90 mmHg (EGIR) or >130/85 mmHg (ATP III, AACE))을 포함하고 있으며, 여기에 WHO는 미세알부민뇨 (>20 mg/min), 비만 (허리/엉덩이둘레비 >0.9 (남), >0.85 (여)), 체질량지수 (body mass index: BMI >30 kg/m^2)을 더하고 있다 (Table 2-4).

Table 2-4. Criteria of metabolic syndrome of institutions

WHO, 1999 [178]	ATP III, 2001 [179]	EGIR, 2002 [180]	AACE, 2003 [181]
제2형당뇨, 공복혈당장애, 내당능장애 및 인슐린저항성 중 1가지 이상 + 아래 항목 중 2가지 이상	아래 항목 중 3가지 이상	인슐린저항성 + 아래 항목 중 2가지 이상	임상적 판단에 의함
1.비만 허리엉덩이 둘레비 >0.09 (남), >0.85 (여) and/or 체질량지수>30 kg/m^2	1. 공복혈당 >110 mg/dl (>6.1 mmol/l)	1. 공복혈당 >110 mg/dl	1.공복혈당 >110~125 mg/dl
2.이상지혈증 중성지방>150 mg/Dl and/or HDL-콜레스테롤 <35 mg/dl (남), <40 mg/dl (여)	2. 복부비만 허리둘레 >102cm (40in 남) >88cm (35in 여)	2. 복부비만 허리둘레 >94 cm (남) >80 cm (여)	2. 75g 당 부하 후 혈당 140~199 mg/dl
3. 혈압 >140/90 mmHg	3. 중성지방혈증 중성지방 >150 mg/dl (1.5 mmol/l)	3. 이상지혈증 중성지방 >180 mg/dl and/or HDL-콜레스테롤< 40 mg/dl	3. 고중성지방혈증 중성지방 >150 mg/dl
4. 미세알부민뇨 요중 알부민 >20 mg/min or 알부민/크레아티닌 >30 mg/g	4. 낮은 수치의 혈중HDL-콜레스테롤 <40 mg/dl (1 mmol: 남), <50 mg/dl (1.3 mmol: 여)	4. 고혈압 >140/90 mmHg	4. 낮은 수치의 혈중 HDL-콜레스테롤 <40 mg/dl (남) <50 mg /dl (여)
	5. 높은혈압 >130/85 mmHg		5. 높은혈압 >130/85 mmHg

기관들마다 대사증후군에 대한 정의기준과 강조점이 차이가 나는 중요한 이유는, 비록 당뇨와 고혈압 등에 관한 규명은 이루어지고 있지만, 무엇보다 대사증후군의 원인들이 아직 명확히 밝혀지지 못하였기 때문이다. 이와 함께 대사증후군의 원인변수들에 대한 효과의 정량적인 분석도 매우 드문 현실이다 [184]. 세계 당뇨협회 (International Diabetes Foundation: IDF)는 이러한 문제가 '증후군 (syndrome)'이라는 용어자체에 기인한다고 설명한다. 즉, 증후군이란 "물리적이거나 화학적인 실체의 인식 가능한 증상의 복합체로서 아직 직접적인 원인이 이해되지 않은 것"을 의미한다 [6].

비만, 인슐린저항성, 고혈압, 고지질혈증, 고인슐린혈증 그리고 증가하는 죽상동맥경화증 등은 대사증후군의 요인들에 포함되며 복잡한 상호작용을 한다 (Fig. 2-8). 따라서 이들에 대한 규명작업은 더욱 쉽지 않게 된다.

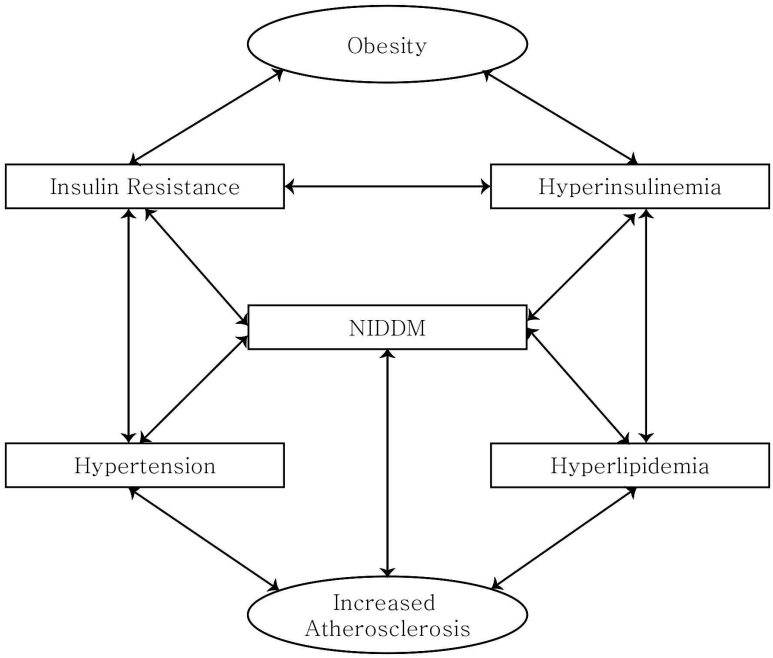


Figure 2-8. Metabolic syndrome interrelation. Interrelationships between Insulin Resistance, Hyperinsulinemia, Diabetes Mellitus, Hypertension, Hyperlipidemia, and Obesity in Patients with

non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) [185]. Cited from Powers MA. (1996)

그럼에도 불구하고 대사증후군은 진단도구로서 의미를 가진다. 예를 들어 대사증후군으로 진단받지 않은 사람에 비해 대사증후군으로 진단받은 환자는 관상심장질환 (coronary heart disease: CHD)의 발생이 3배 증가한다 [178].

인체는 다양한 변수들의 복잡한 상호작용의 시스템으로 존재한다. 그리고 인체대사는 다양한 호르몬들에 의해서도 영향을 받는다. 특히 여성호르몬은 간, 근육, 지방세포 등 다양한 인체조직의 대사과정에 관여한다 (Fig. 2-9). 예를 들어, 다양한 연구들은 폐경기 이후 여성들에서 대사증후군의 발생이 증가한다고 보고한다. 라틴 아메리카 35.1%, 브라질 47%, 포르투갈 35%, 미국 33% [186] 그리고 중국 27.3%이다 [187]. 폐경기 이후에 여성의 몸은 여러 가지 호르몬의 변화와 대사의 변화를 겪게 된다. 여성호르몬을 포함한 여러 가지 호르몬들의 변화는 대사증후군의 발생에 있어 중요한 인자로서 작용하게 된다. 예를 들어 호르몬대체요법을 받은 폐경기 여성의 경우, 대사증후군의 위험이 감소한다. 호르몬대체요법 (hormone replacement therapy: HRT)을 받은 폐경기 이후 여성들은 인슐린 저항성이 12.9% 그리고 당뇨의 발생이 35.8% 감소하였다 [188].

당뇨는 (diabetes mellitus)는 탄수화물, 지질 그리고 단백질들이 포함된 대사적 이상과 고혈당으로 특징지어지는 만성질환이라 정의한다. 장기간의 대사이상과 고혈당은 혈관과 신장뿐만 아니라 눈과 뇌신경 등의 정상적인 작용에까지 합병증을 만들어내게 된다. 사람들의 유전적인 그리고 환경적인 요인들이 다르기에 그 합병증의 양상은 균일하지 않고 다양하게 나타난다. 고혈당의 정도와 인슐린저항성 그리고 비만 등의 다양한 요소들의 기준에 따라 당뇨와 당내성의 다양한 분류가 가능하다 [185]. (Fig. 2-9)

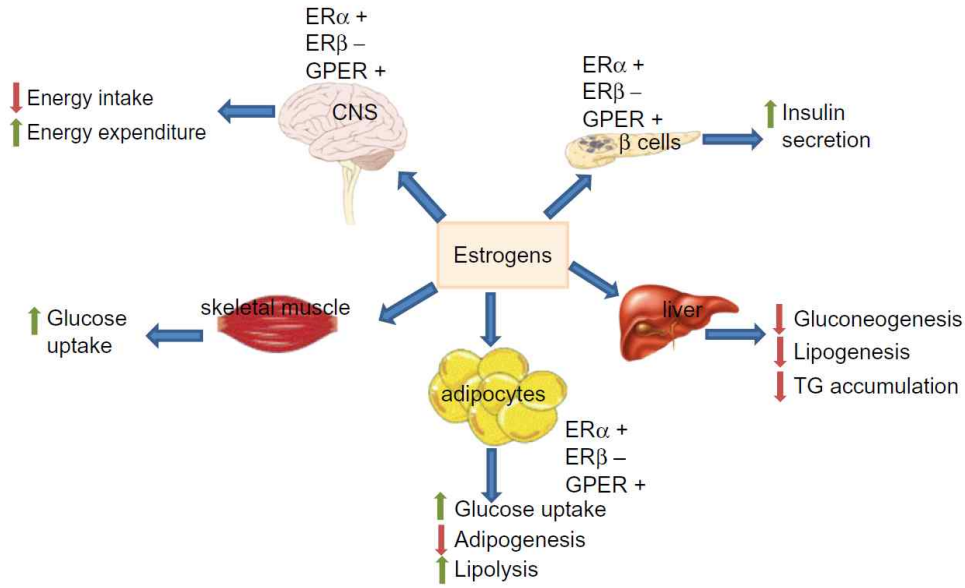


Figure 2-9. Estrogenic control of energy homeostasis, glucose, and lipid metabolism by regulatory actions in the CNS, adipose tissue, pancreatic β cells, skeletal muscles, and liver. Deficiency in estrogenic action leads to opposite events and subsequent disturbances in metabolic tissues. ERα, ERβ, and GPER play roles to regulate energy balance and glucose homeostasis. ERα and ERβ generally mediate opposing effects, while GPER generally has similar roles as ERα in the brain, adipose tissues, and pancreas [189]. Cited from Shi H. et al. (2013)

Table 2-5. Classification of diabetes and glucose intolerance [185]. Cited from Powers MA (1996)

Classification	Former Terms	Characteristics
A. Diabetes		
I. Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM), Type I	Juvenile-onset diabetes Ketosis-prone diabetes Brittle diabetes	Low or abset endogenous insulin Onset generally in youth Dependent on exogenous insulin for life Ketosis prone
II. Non-insulin -dependent diabetes mellitus (NIDDM), Type II, Obese, Nonobese	Adult-onset diabetes Maturity onset diabetes Ketosis resistant diabetes Stable diabetes	Insulin levels normal, elevated, or depressed/ Not ketosis prone Onset generally after age 40 Majority obese/Insulin resistant Insulin resistant May require OHA or insulin for control of symptoms
III. Diabetes associated with certain conditions or syndromes	Secondary dibetes	Hyperglycemia present at a level diagnostic of diabetes Cause of diabetes may be result of drugs, pancreatic disease, hormonal disease, or unkonwn
B. Gestational Diabetes (GDM)	Gestational diabetes	Elevated glucose with onset in pregnancy Associated with increased risk of congenital malformations Increased risk for later developing DM
C. Impaired Glucose Tolerance (IGT)	Borderline diabetes Chemical diabetes	Defined by plasma glucose criteria and OGTT Plasma glucose levels greater than normal, but less than diabetic
D. Previous Abnormality of Glucose Tolerance (Pre AGT)	Subclinical diabetes Prediabetes Latent diabetes	Previous hyperglycemia or IGT, but currently has normal glucose tolerance May develop DM
E. Potential Abnormality of Glucose Tolerance (Pot AGT)	Prediabetes Potential diabetes	Never had IGT or DM, but is at great risk Strong family history of DM or obesity

2.5 Path analysis and structure equation model

2.5.1 Path analysis

과학적 개념으로 인과관계에서 원인은 유일한 확정적 (deterministic)인 것이 아니라 인과관계를 결정하는 요인 중의 하나로서 확률적 (probabilistic)으로 해석한다. 따라서 어떤 현상의 원인은 결코 증명할 수 없으며 다만 추론이 가능할 뿐이다 [190].

두개 이상의 예측변인 (독립변인)이 동일한 하나의 준거변인 (종속변인)의 원인으로 설정될 경우 이를 경로모델이라 한다. 수학적으로 경로분석은 회귀분석과 동일한 분석방법을 이용한다. 하지만 경로분석 (path analysis)은 회귀분석에 비해 몇 가지 장점이 있는데, 첫째, 여러개의 상호종속관계를 동시에 추정할 수 있고 둘째, 효과분해 (effect decomposition)를 쉽게 할 수 있으며, 셋째, 모형이 데이터에 잘 부합하는지를 알 수 있는 모형적합도지수를 얻을 수 있다는 점이다. 효과분해란 한 변수가 다른 변수에 작용하는 총 효과크기를 직접효과와 간접효과로 분해하는 것이다. 그리고 간접효과 (indirect effect)란 다른 변수에 의해 매개되어 두 변수들 간의 효과가 나타나는 것을 말하며 직접효과란 다른 변수의 매개 없이 직접적으로 두 변수간에 효과가 나타나는 것이다. 무엇보다 강력한 경로분석의 장점은 두개이상의 그룹, 즉 다중그룹을 동시에 분석할 수 있고, 그룹들간에 동일한 경로의 차이에 대한 유의도를 분석할 수 있다는 점이다. 본 연구에서도 다중그룹분석을 한 후, 각 경로들에 대해 두 그룹간의 경로계수의 차이가 유의한지를 Wald test를 통해 확인할 수 있었다.

그러나 경로분석을 하는데 있어서 제약점들도 있다. 첫째, 경로모형내의 경로는 만들기 이전에 그 경로에 대한 상관관계와 인과관계, 즉 사전에 경로설정에 대한 근거 (priori)가 있어야 한다 [191]. 즉, 경로모델 내에서 설정된 각 경로의 인과관계는 단순히 데이터의 통계적 상관에 근거해서가 아니라, 이론적, 경험적 근거에 의해서 이루어져야 한다 [194]. 경로설정에서 근거는 두가지로, 첫째 원인변인이 시간적으로 먼저

발생하여야 하고, 둘째, 두 변인의 상관은 이론적인 그리고 경험적인 근거가 있어야 한다는 것이다. 그리고 변인들 간의 개별적인 관계, 경로들이 설정된 다음에 이들은 하나의 통합된 모델로 만들어진다. 이렇게 유기적으로 설정된 모델의 타당성검증은 크게 두가지로 이루어진다. 첫째, 모델자체의 타당성과 정확성을 모델부합도 (모델적합도)로 검증하고, 둘째 모델내의 개별경로의 타당성과 정확성을 유의도 (모수치의 유의성검증)를 통해 확인하는 것이다 [195].

선행연구의 결과가 없이 경로모형을 만들 수는 있겠지만 그 의미의 해석에서 제약이 있을 수밖에 없다. 그러나 경로분석은 탐색적도구로서의 의미가 전혀 없는 것은 아니다. 예를 들어, 보고되지 않은 새로운 경로가 유의하게 포함될 때, 또는 모형적합도가 우수하게 될 때, 그 경로에 대한 관심이 요구되는 계기가 될 수도 있다 [191].

두번째 제약점은 경로분석을 하기 위해서는 상당한 양의 분석과정이 요구된다는 점이다. 즉, 컴퓨터의 도입이 있기 전에 경로분석과정은, 특히 샘플의 수가 많을 때에 매우 많은 계산과정과 시간을 필요로 했기에 제약점으로 작용하였다. 하지만 최근의 컴퓨터의 발전에 힘입어서 이러한 제약은 상당히 감소하였다.

세번째 제약점은 하나의 시스템 내에서도 다양한 경로모형이 만들어질수 있다는 것이다 [192] (Table 2-6). 이 때문에 다양한 모형들 중에서 어떤모형이 적절한가에 대한 선택이 쉽지 않을 수도 있다. 이때 연구자는 모형적합도와 선행연구들의 결과에 근거하여 다각적인 해석의 가능성을 열어 놓고 사려 깊게 판단을 내려야 한다.

네번째 발생 가능한 문제는 독립변수들간의 다중공선성 (multicolinearity)이 생길 수 있다는 부분이다 [193]. 다중회귀분석에서와 마찬가지로 많은 변수를 동시에 분석하는 경로분석에서는, 하나의 동일한 종속변수에 영향을 미치는 두개이상의 독립변수들이 서로 상관관계를 갖게 될 수도 있다. 이렇게 되면 그 독립변수의 종속변수에 대한 경로계수와 유의성이 낮아짐으로써, 그 독립변수의 중요성이 간과될 수 있다. 그리고 Wald test를 통하여 다중그룹 비교에서 어떤 경로가 그룹들간에

유의한지를 비교 확인할 때에도 다중공선성으로 인하여 검정력이 낮아지는, 즉, 유의도가 낮아지는 결과를 낳을 수도 있다. 다중공선성의 확인과 의미를 분석하기 위해서 분산팽창계수 (variance inflation factor: VIF) [194]와 같은 통계적 진단방법들과 함께, 다양한 모형들을 만들어서 그 모형들의 결과들을 서로 비교해 볼 수 있다. 그러나 인체내의 다양한 변수들은 생체내에서 실제로 존재하는 변수들이며, 이들간의 다중 공선성이 어떤 의미를 갖는지는 케이스마다 다를 것이며, 연구자는 이의 해석과 분석과정에, 선행연구들의 결과와의 비교를 포함하여, 신중한 접근이 필요하다.

이상에서 보듯이 경로분석에는 여러 단점들이 있을 수 있지만 다양한 변수들간의 인과관계를 정량적으로 이해하는데 있어서 경로분석은 유용하게 이용되고 있다. 그리고 경로분석 방법은 전통적인 단변량적인 실험결과들과 배타적이기 보다는 상호 보완적이다. 특히, 생물학적 복잡성 (bio-complexity)에 대한 이해의 필요성은 다양한 영역에서 제기되고 있다.

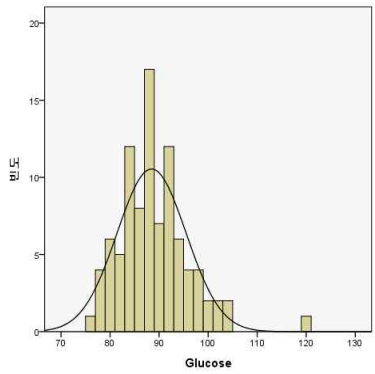
Table 2-6. Strengths and weaknesses of path analysis [194]

Strengths	Weaknesses or limitations
다중 종속변수를 동시에 분석가능	경로를 만들기 위해 선행연구들의 철저한 문헌 조사가 필요
직접, 간접효과 측정가능	경로분석결과만의 의미는 매우 제한됨
전체모델적합도 측정가능	대량의 계산과정이 필요→컴퓨터의 도입
다중그룹을 동시분석, 비교가능	복수의 모델이 가능→모델적합도와 선행연구의 결과들과 함께 해석이 필요

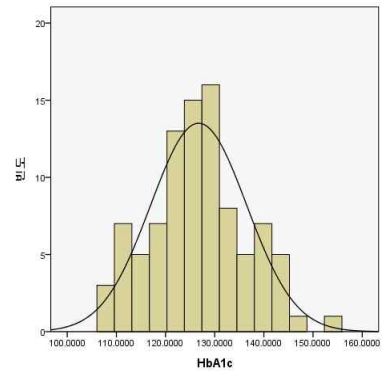
2.5.2 Normality of observed variables

경로분석은 회귀분석과 동일한 분석방법을 사용할 뿐만 아니라 회귀분석의 기본가정을 포함한다. 회귀분석을 하기 위한 두가지 기본 가정은 종속변인의 정규분포 가정과 동분산성 가정이다. 즉, 종속변인의 측정치들은 정규분포를 이루어야 하며 분산도가 같아야 한다. 그리고 χ^2을 포함한 대개의 모델적합도 지수는 관찰변수들의 정규성을 근거로 하고 있다. 만약 변수의 분포가 정규성에 벗어나면 편향분포에 의해 χ^2값이 작아서 신뢰할 수 없는 유의성 검정이 될 수 있다. 본 연구의 경로분석에서 이용된 통계방법인 최대우도법 (Maximum Likelihood: ML)은 내생변수가 다변량 정규분포임을 가정하고 있다. 최대우도추정량 (ML estimator)은 관찰된 표본에 대한 우도함수 (likelihood function)를 최대화 할 때 얻어지는 추정량이다 [196]. 대부분의 모수추정에서는 ML추정법을 이용하며 특별히 다른 방법을 이용할 때에는 그 이유를 제시해야 한다.

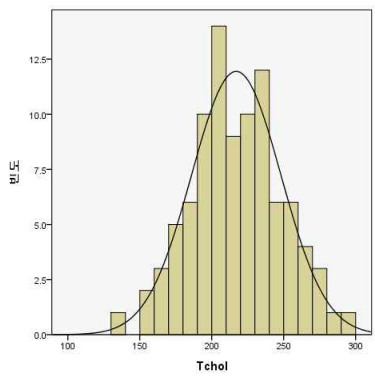
다변량분포의 정규성은 일변량분포의 정규성으로 확인할 수 있으며 대개 왜도와 첨도가 기준이 된다. 일반적으로 왜도의 절대값이 3.0 보다 크면 '극단적'인 왜도이며 첨도의 절대값은 8.0~20.0 까지를 '극단적'인 첨도라고 한다. SPSS에서 분석된 첨도값은 표준화된 첨도지수의 값에서 3을 빼고 보고하는 것으로 해석시에는 3을 더한 후에 정규성을 해석한다 [194]. 본 연구에서 측정된 혈액과 인체지표의 수치들을 분석해 본 결과 본 경로모형에서 이용된 모든 변인의 왜도는 절대값 3.0 미만이었고, 첨도도 대부분 절대값 8.0 미만이어서 일변량 정규성을 확보하였다고 간주하였다. 몇가지 변수들의 분포를 Fig. 2-10에 제시하였다. 다만 성장호르몬 (GH), 비타민 D_3 그리고 중성지방 (Triglyceride), 이들 세가지는 첨도가 절대값 8.0 이상 10 이하로 기준보다 약간 높았다. 이 세가지 변수들을 각각 로그변환하여 정규분포로 만든 후 경로분석을 하였을 때 모델적합도와 개별경로계수에 있어서 변환전과 차이값을 거의 보이지 않았다. 본 연구에서는 chapter 3과 chapter 4의 경로모형들에서 GH를 사용하였다. 본 연구분석에서는 해석의 편의성 등을 감안하여 이들 세가지 변수를 로그변환하지 않고 원자료 그대로 분석하였다.



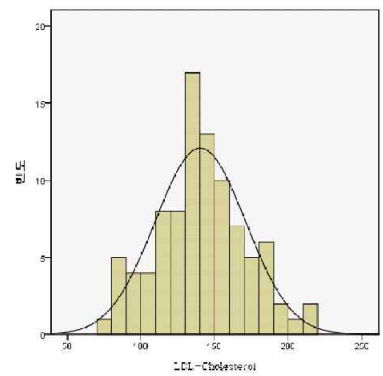
Glucose



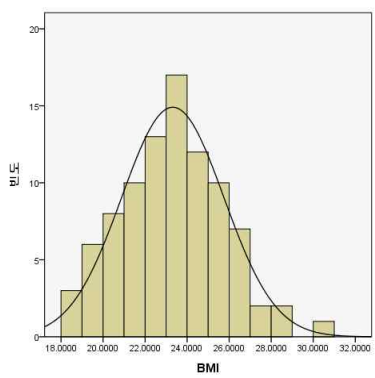
HbA1c



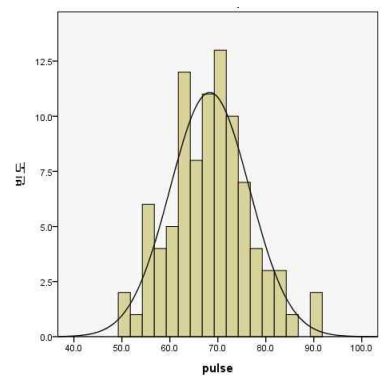
Total cholesterol



LDL-cholesterol

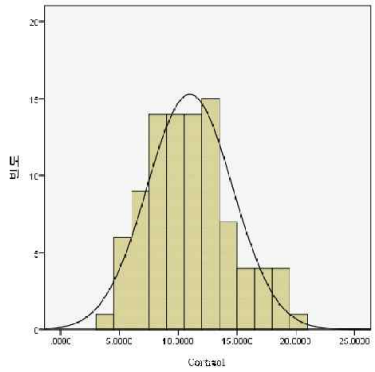


BMI

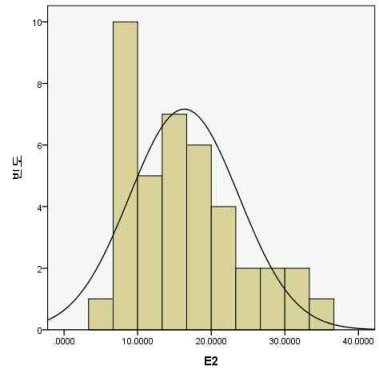


Brachial pulse

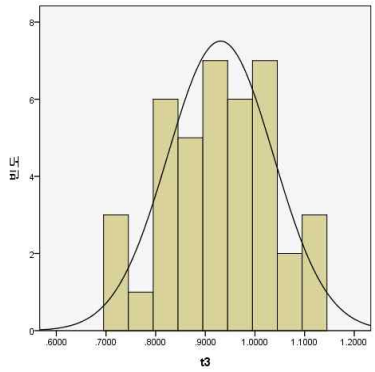
Figure 2-10. Normal distribution of variables in this study



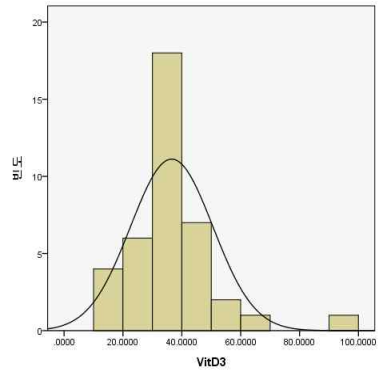
Cortisol



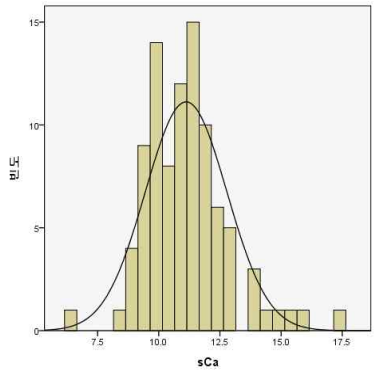
Estradiol (E2)



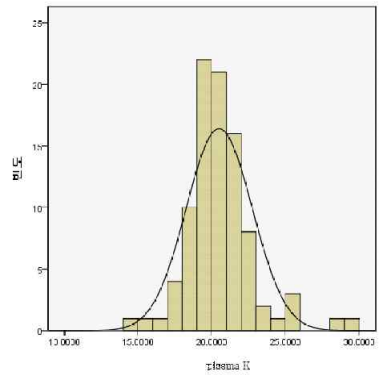
Triiodothyronine (T3)



Vitamin D_3



plasma Ca



plasma K

Figure 2-10. Normal distribution of variables which is used in model analysis (continue)

2.5.3 Model's goodness of fit

모형의 적합도는 경로모형과 경험적 자료인 데이터가 평균적으로 일치하는가를 평가하는 수치이다. 따라서 전체의 적합도가 우수하여도 모형의 특정경로는 데이터에 일치하지 않을 수 있다. 본 연구에서 모델의 적합도는 카이제곱 (Chi-Square Test of Model Fit), 근사치 오차평균 제곱근 (Root Mean Square Error of Approximation: RMSEA), 상대적합지수 (Comparative fit index: CFI) 그리고 터커 루이스지수 (TLI: Tucker Lewis Index)로 확인하였다.

카이제곱 검정 (CMIN)은 모델적합도 기준 중에서 통계적 유의성을 유일하게 검정할 수 있는 측정치이다 [197]. χ^2값이 작고 확률값이 크면 (P>0.10) 모델이 적합하다고 평가한다. 만약 자유도에 비해 χ^2값이 크다면 표본공분산행렬과 적합행렬이 유의적인 차이가 있다. 그리고 이때 설정된 모델이 자료를 잘 반영하지 못한 것이거나 표본이 모집단을 잘 대표하지 못한 것일 수 있다. 그러나 χ^2값은 표본크기에 비례하여 커지는 경향성으로 인하여 다른 적합지수를 함께 고려하여 결론을 내려야 한다.

RMSEA는 절대적합도지수 (absolute indices of fit)의 카테고리에 속한다 [198]. 이것은 표본이 아닌 모집단에서 모형을 추정할 경우 기대되는 적합도를 의미하며 0에서 1사이의 값을 가진다. RMSEA는 0에 가까울수록 우수한 모형이 되는데 0.05 이하의 수치(value)일 때 good fit이고 0.05에서 0.08사이일 때 수용할 수 있다 [199]. 그리고 0.08에서 0.10은 mediocre fit, 0.10 이상은 poor fit으로 간주한다 [200].

RMSEA의 신뢰구간은 샘플크기와 모델 복잡성 (complexity)에 의해 영향을 받는다. 만약 샘플수가 적거나 추정된 모수들 (estimated parameters)의 수가 크다면 신뢰구간 (confidence interval)의 간격은 커진다. 그리고 RMSEA 추정치 (estimate)가 작더라도 그 신뢰구간이 넓으면 그 수치는 매우 부정확하고, 반면 신뢰구간이 매우 좁으면 RMSEA value는 매우 좋은 정확성 (good precision)으로 간주된다 [200].

CFI는 증분적합지수 (incremental fit index) 또는 비교적합도지

수 (comparative fit index)로 이는 기저모형 (기초모형, baseline model)에 비해 연구자의 제안모형이 얼마나 향상되었는지를 비교하는 것이다. 기저모형이란 모든 관측변수의 상관관계가 0이라고 가정한 것으로 이때 관측변수간에는 공분산이 존재하지 않게 된다 [201].

경로분석에서 경로계수 (path coefficient)는 주어진 원인변인이 결과변인에 미치는 고유한 인과적 영향력을 의미한다. 경로분석에서 비표준화경로계수 (non-standardized path coefficient)는 회귀분석 (regression analysis)의 B계수이며, 표준화경로계수 (standardized path coefficient)는 베타계수 (beta coefficient)와 같다. 즉, 즉 비표준화경로계수의 수치는 원인변인이 한 단위 변화할 때 영향을 받는 결과변인의 변화량을 의미한다. 그리고 하나의 결과변인에 두개 이상의 원인변인이 존재한다면, 계수는 다른 원인변인들의 효과를 통제한 상태에서, 한 원인이 변화할 때 영향을 받는 결과변인의 정도를 말한다. 즉, 원인변인의 고유한 직접효과크기를 의미한다.

표준화경로계수는 비표준화계수를 평균이 0이고 표준편차가 1.0이 되도록 변환한 것이다. 즉 원인변인이 1표준편차 단위만큼 증가할 때 결과변인은 표준화계수와 같은 수치의 표준편차만큼 변화하게 된다. 이론적, 실증적 근거가 충분히 없을 경우 표준화경로계수는 1.0 이하는 작은 효과, 0.3 정도는 보통 효과, 0.5 이상은 큰 효과로 본다 [167].

2.5.4 Multiple imputation

본 연구에서는 홍삼군 49명과 위약군 45명의 샘플을 1차로 36가지 생화학지표를 분석하였고, 이중에서 연령, BMI, 몸무게 등을 기준으로 match한 후 각 그룹당 20명씩을 선발하였다. 선발된 각 그룹의 20명은 다음의 호르몬들을 추가로 분석하였으며, 부신피질자극호르몬유리호르몬 (Corticotropin releasing hormone: CRH), arginine vasopressin (AVP; antidiuretic hormone (ADH)), 코티졸 결합 글로블린 (cortisol binding globulin: CBG), 갑상선 자극호르몬 (thyroid stimulating hormone:

TSH), 유리 티록신 (free thyroxine: free T4), LH, FSH, E2, GH, insulin like growth factor-1 (IGF-1), T3, 비타민 D3 그리고 부갑상선 호르몬 (parathyroid hormone: PTH)이 포함된다. 경로분석에서는 93명에서 선발된 40명을 제외한 나머지 53명을 결측치가 응답자의 상태와 관련이 없고 다른 변수의 점수와도 관련이 없는 완전무작위결측 (missing at completely random: MCAR)으로 간주하였다. 그리고 다중대체법 (multiple imputation: M.I.)으로 결측값 (missing data)이 포함된 데이터 세트 10개를 생성한 후 분석하였다. 본 연구에서 몇몇 변수들은 결측치가 많았지만 M.I.방법에서 경로모델의 적합도는 대체된 자료를 바탕으로 계산하는 것으로 대체에 문제가 없다면 모델설정에서 결측치의 수가 문제가 되지 않는다 [202].

결측치는 설문조사 (survey)와 종단연구 (longitudinal research)에서 보편적으로 발생하게 되는 문제이다. 설문조사에서 참가자 중 어떤 이들은 특정한 질문에 의도적으로 응답을 하지 않을 수 있고 또는 비의도적으로 (inadvertently)로 응답하지 않고 넘어갈 수 있다 (skip). 결측치를 해결하는 방법에는 전통적으로 몇 가지 방법이 있다.

최근의 이론과 컴퓨터의 발달에 의해 가장 현저하게 (notably) 이용되는 결측치 해결방법 중 하나는 다중대체법이다 [202]. 이 방법은 결측값의 불확실성을 보존하면서, 기존의 데이터를 사용하여 결측값을 실제값 (real value)으로 추정된 몇 개의 값 (approximating)으로 만들어 (또는 대체) 내어 분석하는 방법이다 [203]. Mplus에서 다중대체법의 첫 번째 과정은 기존의 데이터를 근거로 하여 몇 개의 데이터 셋을 만들어 내고 그것들을 각각 분석하는 것이다. 그런 다음 그 결과의 추정치 (estimates)와 표준오차 (standard errors)를 평균공식을 통해 결측치가 채워진 모수세트 (parameter set)를 만든다 (Fig. 2-11).

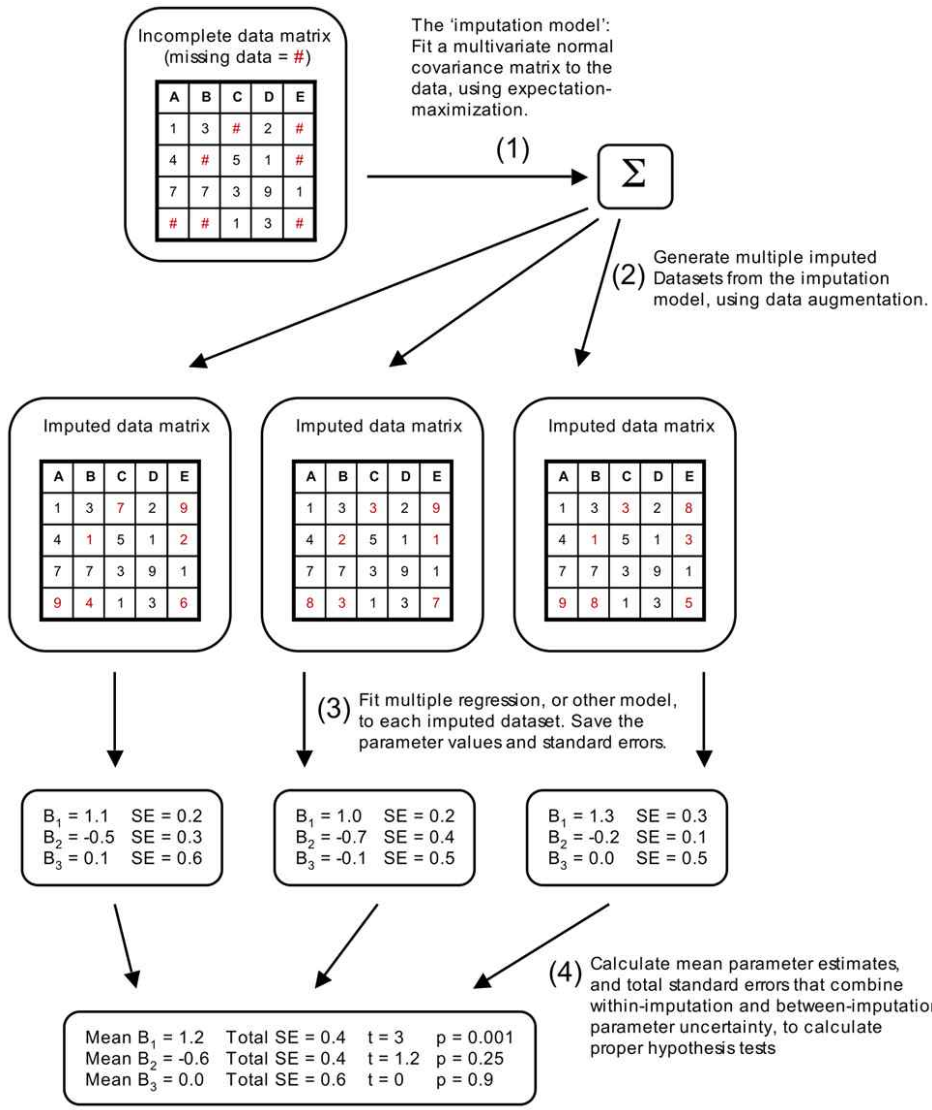


Figure 2-11. Process of multiple imputation [204]. Cited from Edards KF et al. (2011)

변수데이타의 범위는 대체될 데이터세트의 수치를 결정하며, 대체되는 데이터 세트는 보통 3~5개면 충분하다 [205,206]. 하지만, John 등의 연구에 의하면 어떤 경우에, 다중대체법을 포함한 단순회귀분석과정에서 대체횟수는 검정력에 영향을 줄 수 있다. 즉, 결측치의 비율이 증가할 경우에는 다중대체횟수를 증가시키는 것이 검정력 (power)을 증가시키고, 표준편차 (standard deviation)의 범위를 감소하게 하였다 [207]. 본 연구에서는 보다 안정적으로 10개의 데이터세트를 만든 후 분석하였다.

본 연구에서 사용한 Mplus 통계프로그램에서는 다중대체와 경로분석, 또는 다중대체와 구조방정식모형의 분석이 동시에 진행되며, 최종결과가 산출된다. 다중대체법의 장점은 결측치를 버리지 않고 완전한 데이터를 사용할 수 있으며, 대체하는 값들에 대한 불확실성에 대한 정보를 사용할 수 있다는 점에 있다. 그리고 단일대체법에 비해 다중대체법은 대체를 데이터의 분포에 기반하여 대체를 무작위로 반복한 후 합계를 내므로 추정의 효율성을 높일 수 있다 [208].

Fig. 2-12은 다변량분석법에서, 다중대체법과 완전케이스분석법을 비교한 것이다. 완전케이스 분석법 (complete case analysis)은 불완전한 데이터, 즉 결측치 (missing value)를 가진 케이스들을 제거하고 결측치가 없는 완전한 케이스들만으로 분석하는 방법이다. 완전케이스분석법의 경우, 변수들의 수가 증가할수록 제거되는 케이스가 많아져서 변수가 7개만 되어도 분석할 수 있는 케이스는 원래의 20% 이하가 된다. 그리고 변수가 7개가 되었을 때 원래의 (truth) 결과치와 완전케이스분석법의 결과는 비슷하지만 95% 신뢰구간은 급격히 증가한다. 변수가 13개로 증가하게 되면 신뢰구간의 증가뿐만 아니라 결과값들도 달라진다. 하지만 다중대체법을 시행하게 되면 변수가 13개가 되어도 그 결과들은 결측치가 없는 원래의 결과값과 95%신뢰구간이 거의 차이가 없는 것을 알 수 있다.

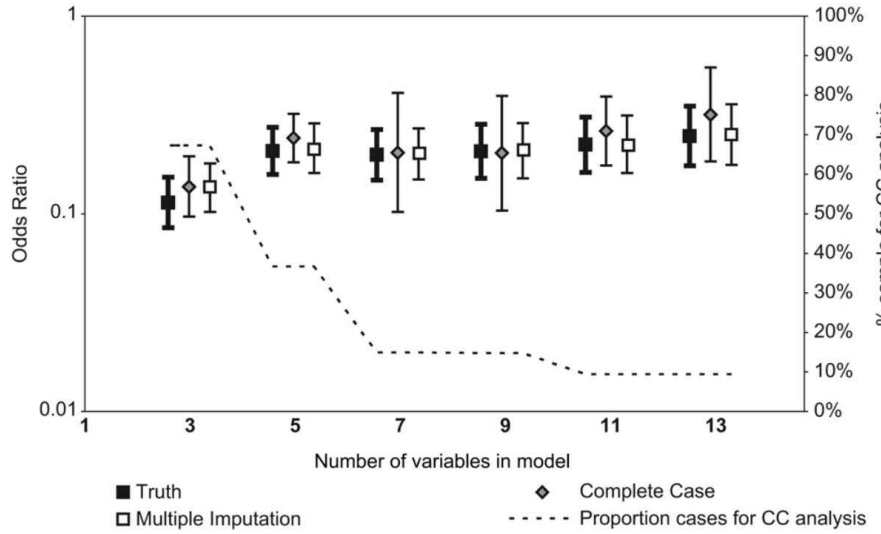


Figure 2-12. The effect of increasing the number of variables. This multivariable logistic regression model on results for restraint use in motor vehicle crashes (n=38,167). In this example, the proportion of cases with censored restraint data remains fixed at 30%, with a missing at random mechanism of censoring. Restraint use was included in all models. Additional variables included factors known to be associated with serious injury Results for the "truth" represent identical analyses in an otherwise identical data set with no censored values. Vertical bars are 95% confidence intervals. CC = complete case [209]. Cited from Newgard CD and Houkoos JS (2007)

이상과 같은 장점들로 인해 다중대체법은 널리 사용되고 있지만 두가지 단점이 있을 수 있다. 첫째, 다중대체법은 시뮬레이션을 사용하고 데이터에 불규칙 잡음 (random noise)들을 더하기 때문에 초기에 M.I.가 받아들여지지 않게 될 수 (unacceptable) 있다 [210,211]. 둘째, 다중대체법은 분석과정 중에 무작위성 (randomness)이 포함되므로 생성(imputed)되는 각 데이터 셋의 추정값 (estimate)이 계산할 때 마다 약간 다를 수 있고 이로 인해 완벽히 동일한 답을 내지는 않는다는 것이다 [211]. 본 연구에서 이용한 구조방정식 프로그램인 Mplus에서는 다중대체법을 베이지안분석 (Bayesian analysis) 방법을 이용한다. 그 과정은 3단계로 다음과 같다. (1) Bayes를 이용하여 모델을 측정한다. (2) 사후분포로부터 paramter값 세트 (sets)의 선들을 그린다. (3) 모델에 따라 missing data를 산출해내서 완전한 데이타값들을 만들어 낸다 [212].

다중대체법의 단점 이외에 경로분석과정에서 발생할 수 있는 문제는 최대우도법의 수렴과정에서 있을 수 있다. 본 연구의 통계분석에서 이용된 최대우도법은 모형내의 모든 모수를 동시에 추정하는 M.L. 동시추정법 (stimultaneous estimation)이며, 그 방법이 매우 복잡하기에 반복추정 (iterative estimation)을 한다. 즉, 초기해를 얻은 후에 다시 보다 정확하고 개선된 추정치를 얻는 과정을 반복하는 것이다. 반복추정 과정 중에 모형적합도의 개선이 일정 최소기준 이하가 될 때 반복추정은 정지되며 이때 모형의 적합도는 완벽해진다. 그러나 무작위로, 임의적으로 설정되는 초기추정치가 지나치게 부정확하면 반복추정이 안정된 해로 수렴되지 않을 수 있다. 대표적인 예로 관찰변수들의 분산이 서로 너무 큰 차이가 나서 공분산행렬의 변수척도가 매우 달라지게 되면 반복추정 결과가 수렴되지 않을 수 있다 [194].

본 연구분석에서 설정된 모델분석에서는 변수에 일정한 수를 곱하거나 나누어서 분산 (variance)을 1에서 10사이의 값으로 조정(rescaling)하였다. 변수의 분산 중 큰 값과 작은 값의 차이가 너무 크면 원자료의 공분산행렬이 불균형하게 척도화되고 이때 반복추정이 실패하기 쉽기 때문이다 [194]. 그런 다음 진행된 본 모델의 분석에서 수차례의

반복된 M.I.분석을 통해서도 분석이 받아들여지지 않는 경우는 없었고 chi-square, RMSEA와 CFI 값은 동일하였다. 그리고 몇회를 반복한 분석의 최종결과들의 비교에서도 각 경로에서 추정값의 변화는 거의 없었다.

2.5.5 Structure equation model

구조방정식의 기본골격은 요인분석 [213]과 경로분석 [214,215]의 두가지 축으로 구성된다. 1967년 Joreskog는 요인분석과 경로분석의 두가지 측정법을 결합하여 보다 일반적인 통계적 분석법을 생성해 냈고 이를 구조방정식모형 (structure equation model: SEM)이라고 이름을 지었다 [216]. (Fig. 2-13)

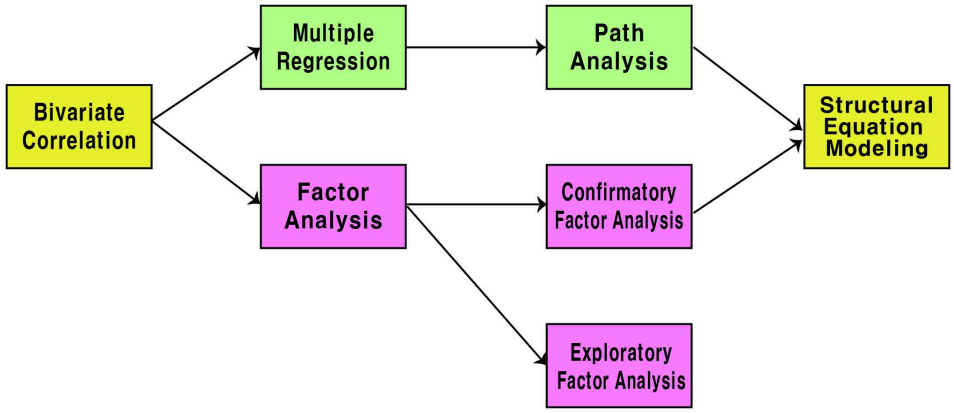


Figure 2-13. Components of structural equation modeling (SEM). SEM is composed of path analysis and factor analysis [217]. Cited from Daniel S.

구조방정식은 관찰할 수 있는 지시변수들 (관찰변수들)로부터 관찰할 수 없는 잠재변수들 (constructs) 또는 요인들 (factors)을 추정할 수 있다. 예를 들어 사회과학에서는 지적능력, 진실, 자기확신, 동기, 성공, 야망, 편견 등과 같은 직접 측정하기 어려운 개념들이 종종 사용되는데 구조방정식은 이들 개념을 측정할 수 있는 변수를 통하여 추정할 수 있도록 하는 것이다 [218]. 따라서 잠재변수 (요인)는 기본적으로 가설적 개념이고 단위가 없으며, 관찰변수를 측정할 때 발생하는 오차의 영향으로부터 자유롭게 된다. 그러나 구조방정식모형에서 세우는 가설은 단순히 통계적 분석에 의해서 이루어지는 것은 아니다. 오히려 구조방정식모형은 선행적으로 알려진 정보와 지식에서 근거를 얻는다. 그리고 관찰된 데이터가 세워진 모형에 일치 (match)되지 않을 때 모형의 가설은 기각 (reject) 된다.

다중 회귀분석, 분산분석 (analysis of variance: ANOVA), 그리고 경로분석 등과 같은 전통적인 통계방법들에서는 잠재적인 측정오차를 무시한다. 그러나 SEM은 요인들 사이에서 인과관계를 측정하고 검사함으로써 이들 측정오차를 제거한다. 뿐만 아니라 구조방정식 모형은 다중 종속변수들을 동시에 모형으로 만들 수 있고, 전체적인 모델 적합도를 측정할 수 있으며, 직접효과와 간접효과를 알아낼 수 있고, 계산하기 어려운 데이터들 (eg: 자동상관오류가 있는 시계열 (time series with autocorrelated error), 비정규분포 (non-normal), 그리고 범주형 변수들 (categorical outcomes) 등)을 다룰 수 있다는 다양한 장점을 가진다 [218]. 경로분석은 잠재변수가 없이 관찰변수로만 이루어진 구조방정식이라 볼 수 있으며, 넓은 의미에서 구조방정식에 포함된다. 하지만 몇가지 점에서 경로분석과 엄밀한 의미의 구조방정식은 서로 다른 특징들이 있으며 이를 표 Table 2-7에 제시하였다.

Table 2-7. Path model and structure equation model [220]. Cited from Lee (2012)

	Path model	Structure equation model
관찰변수의 측정오차	허용 안함	허용함
오차,잔차 상관관계	허용 안함	허용함
변수들간 상호관계	허용 안함	허용함
경로계수 추정법	최소자승법 (Least Square Method)	최대우도추정법 (Maximum Likelihood Estimation Method)

Grace는 주성분분석이나 군집분석들과 같은 다른 다변량분석법들을 1세대 다변량분석법으로 그리고 SEM을 2세대 다변량분석법으로 분류하고 차이점을 다음과 같이 설명하였다 [219]. 첫째 1세대 다변량분석법은 보다 서술적이고 탐색적임에 비해 SEM은 확정적이며 다변량 가설의 측정에 보다 적합하다. 둘째, 1세대 다변량분석법들은 일반적으로 고정된 모델을 측정하지만 SEM은 특정상황에 보다 유연하게 맞출수 있다. 셋째, 1세대 다변량분석법들은 net effects에 집중하지만 SEM은 인과관계의 네트워크를 측정한다 (Table 2-8).

Table 2-8. Structure equation model and multivariate methods [219]. Cited from Grace JB (2006)

	SEM	DA	RT	PCA	MR
Include measures of absolute model fit	V				
User can specify majority of relationships	V				
Capable of including latent variables	V			V	
Able to address measurement error	V				
Allows evaluation of alternative models	V				
Examines networks of relationships	V				V
Can be used for model building	V	V	V	V	V

SEM: structural equation modeling, DA: discriminant analysis, RT: regression trees, PCA: principla components analysis, MR: multiple regression

2.5.6 Natural phenomena and structure equation model

구조방정식의 핵심요소인 경로분석이 유전학자였던 Sewall Wright에 의해 고안되었음에도 [214,215], 현대의 경로분석을 포함한 구조방정식이 주로 이용되는 분야는 사회과학분야이다. 하지만 자연계의 현상을 분석하고 이해하는데 있어서 경로분석과 구조방정식은 중요한 장점을 가지고 있다.

James B. Grace는 자연계현상의 이해에서 전통적인 단변량 분석법만으로는 제한이 있다고 하였다 [219]. 그 본질적인 이유는 자연계가 "다변량적 시스템"으로 존재하기 때문이다. 단변량 분석법은 복잡한 상호작용속에 있는 "다변량시스템 (자연계)"를 이해하는데 있어서 "한조각 이론 (theories of pieces)"에 불과하다 [219]. 따라서 단변량 분석결과에

근거한 해석은 흔히 적절하지 못하며 (inadequate) 오류를 가져올 수 있다 (misleading). 특히 변화하는 환경에 대한 자연계의 현상의 이해의 분석에 직면했을 때 단변량분석법의 한계는 더욱 명확해진다. 그러함에도 많은 과학자들이 단변량 분석법에 집중하는 이유는 무엇인가? James는 자연계의 복잡한 현상들에 대한 의문에 답할 수 있는 과학적인 해석도구가 제한되어 있었기 때문이라 추정한다 [219].

그러나 과학계에서 다변량적 자연계에 대한 이해의 요구는 점점 커지고 있다. 미국 국립과학재단의 Rita Colwell은 다음과 같이 말한다. “The fundamental and underlying principle is that we must move from strictly reductionist research to research that synthesizes information and work toward a holistic approach to understanding and wisely managing the environment” [219].

이러한 상황에서 경로분석과 구조방정식은 복잡계 자연의 이해를 위한 도구로서 주목을 받고 있다. 생태계나 사회현상 뿐만 아니라 인체생리나 병리적 현상의 이해를 위해서도 다변량적인 인과적 관점의 해석과 이해는 필요하다. 예를 들어 다양한 약물에 대한 저항성 (multidrug resistance)의 원인들 중 하나는 인체의 다변량적인 상호네트워크와 중복을 통한 redundancy적 특성들과 관련되어 있을 수 있다. 따라서 이의 해결을 위해서도 복잡계의 이해는 필수적이다.

그러나 잠재변수가 포함된 구조방정식모형을 이용한 자연계의 이해과정에서 제한점이 있을 수 있다. 예를 들어, 추상성을 내포한 "요인"계수의 크기는 어떤 의미를 가질 것인가? 실례로, 본 연구 분석 중 4장의 우울증관련 연구에서, 관찰변수이자 연속변수로 구성된 호르몬들, 미네랄들, 그리고 에너지원들을 이용하여 원인요인으로 하고, 범주변수들 (categorical variables)인 우울증인자들을 이용하여 결과요인으로 한 후 분석하였다. 이때 요인들간의 계수치에 대한 상대적인 비교가 가능했지만 우울지표에서 그 수치들이 어떤 의미를 갖는지에 대한 해석은 제한되며 추가적인 연구들이 필요해진다. 이처럼 자연계의 해석에서 구조방정식과 함께 경로분석 그리고 전통적인 평균비교 등이 병행하여 다각적인

면에서 분석하고 해석될 필요가 있다. 즉, 자연현상계를 보다 정확하고 합리적으로 이해하기 위해 다양한 통계기법들과 경로분석, 그리고 구조방정식은 배타적관계이기보다는 상호보완적이고, 연속적인 단계로 이해할 수 있다 (Fig. 2-14).

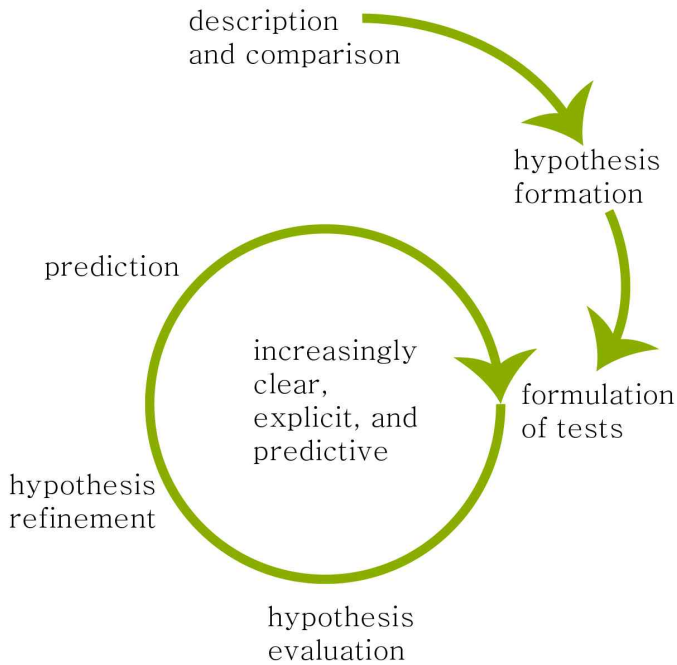


Figure 2-14. Progress of the scientific method [219]. Cited from Grace JB (2006)

2.5.7 Structure equation model and metabolic syndrome

Wenli 등은 복합적인 요소들의 상호작용으로 발생하는 대사증후군을 규명하는데 구조방정식이 유용함을 주장하였다 [221]. 왜냐하면 구조방정식은 요인분석과 경로분석을 결합한 통계적 도구로서, 연속적인 관계들, 상호 영향들, 그리고 상대적인 효과크기를 비교하는데 있어서 유용하기 때문이다. 즉, 구조방정식은 생물학적인 현상이나 인간의 질병을 이해하기 위해, 전통적인 실험이나 코호트 (cohort) 연구들을 보완할 수 있다 [221]. 이러한 관점에서 다양한 연구들이 구조방정식과 다변량분석법들을 통하여 대사증후군의 원인을 규명하려고 하였다.

Wei 등은 다중그룹 경로분석으로 연령, BMI, 인슐린, 혈당, 그리고 콜레스테롤 등을 대사증후군의 요소로 설정한 후 분석하였다. 흑인과 백인 그리고 어린이, 청소년 그리고 어른의 총 6개 그룹으로 분석이 진행되었고, 흑인에 비해 백인들의 경로계수가 대부분 높았다 [222].

Mark 등은 아디포사이토카인 (adipocytokines)이 대사증후군에 얼마나 위험인자로 관련되어 있는지를 확인하고자 확인적 요인분석 (confirmatory factor analysis)을 진행하였다. 이들은 관찰변수들로 중성지방, HDL-콜레스테롤, 혈압, 공복혈당, 허리둘레, 그리고 BMI 등을 설정한 후 이들의 다양한 조합으로 몇가지 요인들과 기저모형들을 만들었다. 그런 다음 몇가지 아디포카인들, 사이토카인들 그리고 염증성 단백질들을 여분의 변수 (extra variable)로 기초모형에 포함시키고 모형적합도를 측정하였다 [223].

Wenli 등은 요산의 증가와 대사증후군의 네가지 주요 특징들인, 비만, 고혈압, 지질이상혈증 (dyslipidemia) 그리고 공복혈당의 상승이 상관관계가 있음 [224-226]에 주목하고, 구조방정식을 이용하여 요산과 대사증후군간의 관계를 확인하고자 하였다 [221]. 이들 연구진들은 관찰변수들을 이용하여 몇가지 요인들을 만들었다. 즉, BMI와 허리둘레 관찰변수를 결합하여 '비만'요인을, 이완기혈압과 수축기 혈압을 결합하여 '고혈압'요인을, 중성지방, LDL-콜레스테롤 그리고 HDL-콜레스테롤로 '이상지질혈증'요인을, 그리고 요산만으로 'HU'요인을, 공복혈당만으로 'HG'요

인을 만들었다. 그리고 각 요인들간의 경로를 설정한 후 분석하였다. 이들은 남성과 여성 그룹으로 나눈 후 개별적으로 분석을 하였는데, 여성에서는 요산이 네개의 대사증후군 요인과 관련이 있었고, 남성에서는 지질과 비만이 양의 관계를 보였다 [221].

이상에서 보듯이 다양한 연구들이 구조방정식과 경로분석 그리고 요인분석 등을 통하여 대사증후군의 원인을 규명하려 하였다. 하지만, 이들의 연구는 대부분 이미 알려진 대사증후군의 진단기준 요인들 간의 상호작용에 초점이 있었다. 예를 들어 Wei 등의 모형에서 인슐린에서 중성지방으로 경로를 설정하였으나, 그 이유는 단지 대사증후군의 인자이기 때문이었고, 분자론적인 원인에 대한 선행연구에 대한 근거나, 중성지방의 농도에 영향을 미치는 호르몬과 같은 다른 근본적인 원인들에 대한 설정은 모델내에 없었다. 특히나 혈당이나 유리지방산의 혈중 농도를 조절하는 스위치들로서 호르몬을 원인변수로 한 분석은 아니었다. 따라서 본 연구는 기존의 연구들에서 더 나아가 보다 근본적인 조절인자들의 상호작용으로서 내분비계를 설정 한 후 경로분석을 이용하여 호르몬 원인변수들을 중심으로 혈당과 유리지방산의 방출에 대한 그 효과의 차이를 비교하고자 하였다.

References

1. KC H: Herbs with multiple action in the pharmacology of Chinese herbs,. FL: CRC Press; 1999.
2. Yun TK: Brief introduction of Panax ginseng C.A. Meyer. J Korean Med Sci 2001, 16 Suppl:S3-5.
3. Huh Joon: Donguibogam. 1st edn. Seoul: Deulneuk; 1999.
4. Court WE: 1. Introduction. in ginseng: The genus Panax. Volume 15. Edited by Court WE. Amsterdam Netherland: Harwood academic publishers; 2000: 1
5. Park SU, Ahn DJ, Jeon HJ, Kwon TR, Lim HS, Choi BS, Baek KH, Bae H: Increase in the contents of ginsenosides in raw ginseng roots in response to exposure to 450 and 470 nm light from light-emitting diodes. J Ginseng Res 2012, 36:198-204.
6. Jeon WJ, Oh JS, Park MS, Ji GE: Anti-hyperglycemic effect of fermented ginseng in type 2 diabetes mellitus mouse model. Phytother Res 2013, 27:166-172.
7. Rhee MY, Kim YS, Bae JH, Nah DY, Kim YK, Lee MM, Kim HY: Effect of Korean red ginseng on arterial stiffness in subjects with hypertension. J Altern Complement Med 2011, 17:45-49.
8. Lee HJ, Lee YH, Park SK, Kang ES, Kim HJ, Lee YC, Choi CS, Park SE, Ahn CW, Cha BS, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves insulin sensitivity and attenuates the development of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Metabolism 2009, 58:1170-1177.
9. Mucalo I, Rahelic D, Jovanovski E, Bozikov V, Romic Z, Vuksan V: Effect of American ginseng (Panax quinquefolius L.) on glycemic control in type 2 diabetes. Coll Antropol 2012,

36:1435-1440.

10. Vuksan V, Sung MK, Sievenpiper JL, Stavro PM, Jenkins AL, Di Buono M, Lee KS, Leiter LA, Nam KY, Arnason JT, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2008, 18:46-56.
11. Yuan HD, Kim JT, Kim SH, Chung SH: Ginseng and diabetes: the evidences from in vitro, animal and human studies. J Ginseng Res 2012, 36:27-39.
12. Sung J, Han KH, Zo JH, Park HJ, Kim CH, Oh BH: Effects of red ginseng upon vascular endothelial function in patients with essential hypertension. Am J Chin Med 2000, 28:205-216.
13. Oh JS, Lee SR, Hwang KT, Ji GE: The anti-obesity effects of the dietary combination of fermented red ginseng with levan in high fat diet mouse model. Phytother Res 2013.
14. Lee YS, Cha BY, Yamaguchi K, Choi SS, Yonezawa T, Teruya T, Nagai K, Woo JT: Effects of Korean white ginseng extracts on obesity in high-fat diet-induced obese mice. Cytotechnology 2010, 62:367-376.
15. Kalkan Y, Kapakin KA, Kara A, Atabay T, Karadeniz A, Simsek N, Karakus E, Can I, Yildirim S, Ozkanlar S, Sengul E: Protective effect of Panax ginseng against serum biochemical changes and apoptosis in kidney of rats treated with gentamicin sulphate. J Mol Histol 2012, 43:603-613.
16. Qadir MI, Tahir M, Lone KP, Munir B, Sami W: Protective role of ginseng against gentamicin induced changes in kidney of albino mice. J Ayub Med Coll Abbottabad 2011, 23:53-57.
17. Song YB, An YR, Kim SJ, Park HW, Jung JW, Kyung JS,

Hwang SY, Kim YS: Lipid metabolic effect of Korean red ginseng extract in mice fed on a high-fat diet. J Sci Food Agric 2012, 92:388-396.

18. Park Y, Kwon HY, Shimi MK, Rhyu MR, Lee Y: Improved lipid profile in ovariectomized rats by red ginseng extract. Pharmazie 2011, 66:450-453.

19. Huang YC, Lin CY, Huang SF, Lin HC, Chang WL, Chang TC: Effect and mechanism of ginsenosides CK and Rg1 on stimulation of glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. J Agric Food Chem 2010, 58:6039-6047.

20. Han GC, Ko SK, Sung JH, Chung SH: Compound K enhances insulin secretion with beneficial metabolic effects in db/db mice. J Agric Food Chem 2007, 55:10641-10648.

21. Han KH, Choe SC, Kim HS, Sohn DW, Nam KY, Oh BH, Lee MM, Park YB, Choi YS, Seo JD, Lee YW: Effect of red ginseng on blood pressure in patients with essential hypertension and white coat hypertension. Am J Chin Med 1998, 26:199-209.

22. Kim HJ, Kang HJ, Seo JY, Lee CH, Kim YS, Kim JS: Antiobesity effect of oil extract of ginseng. J Med Food 2011, 14:573-583.

23. Hwang JT, Lee MS, Kim HJ, Sung MJ, Kim HY, Kim MS, Kwon DY: Antiobesity effect of ginsenoside Rg3 involves the AMPK and PPAR-gamma signal pathways. Phytother Res 2009, 23:262-266.

24. Yun TK: Panax ginseng, a non-organ-specific cancer preventive? Lancet Oncol 2001, 2:49-55.

25. Yun TK, Zheng S, Choi SY, Cai SR, Lee YS, Liu XY, Cho KJ, Park KY: Non-organ-specific preventive effect of

long-term administration of Korean red ginseng extract on incidence of human cancers. J Med Food 2010, 13:489-494.

26. Li XL, Wang CZ, Mehendale SR, Sun S, Wang Q, Yuan CS: Panaxadiol, a purified ginseng component, enhances the anti-cancer effects of 5-fluorouracil in human colorectal cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 2009, 64:1097-1104.

27. Fishbein AB, Wang CZ, Li XL, Mehendale SR, Sun S, Aung HH, Yuan CS: Asian ginseng enhances the anti-proliferative effect of 5-fluorouracil on human colorectal cancer: comparison between white and red ginseng. Arch Pharm Res 2009, 32:505-513.

28. Hwang JW, Oh JH, Yoo HS, Lee YW, Cho CK, Kwon KR, Yoon JH, Park J, Her S, Lee ZW, et al: Mountain ginseng extract exhibits anti-lung cancer activity by inhibiting the nuclear translocation of NF-kappaB. Am J Chin Med 2012, 40:187-202.

29. Wang CZ, Aung HH, Ni M, Wu JA, Tong R, Wicks S, He TC, Yuan CS: Red American ginseng: ginsenoside constituents and antiproliferative activities of heat-processed Panax quinquefolius roots. Planta Med 2007, 73:669-674.

30. Sun S, Qi LW, Du GJ, Mehendale SR, Wang CZ, Yuan CS: Red notoginseng: higher ginsenoside content and stronger anticancer potential than Asian and American ginseng. Food Chem 2011, 125:1299-1305.

31. Li B, Zhao J, Wang CZ, Searle J, He TC, Yuan CS, Du W: Ginsenoside Rh2 induces apoptosis and paraptosis-like cell death in colorectal cancer cells through activation of p53. Cancer Lett 2011, 301:185-192.

32. Kang S, Min H: Ginseng, the 'Immunity Boost': The Effects

of Panax ginseng on immune system. J Ginseng Res 2012, 36:354-368.

33. Biondo PD, Robbins SJ, Walsh JD, McCargar LJ, Harber VJ, Field CJ: A randomized controlled crossover trial of the effect of ginseng consumption on the immune response to moderate exercise in healthy sedentary men. Appl Physiol Nutr Metab 2008, 33:966-975.

34. Hong YJ, Kim N, Lee K, Hee Sonn C, Eun Lee J, Tae Kim S, Ho Baeg I, Lee KM: Korean red ginseng (Panax ginseng) ameliorates type 1 diabetes and restores immune cell compartments. J Ethnopharmacol 2012, 144:225-233.

35. Jang HI, Shin HM: Wild Panax ginseng (Panax ginseng C.A. Meyer) protects against methotrexate-induced cell regression by enhancing the immune response in RAW 264.7 macrophages. Am J Chin Med 2010, 38:949-960.

36. Larsen MW, Moser C, Hoiby N, Song Z, Kharazmi A: Ginseng modulates the immune response by induction of interleukin-12 production. APMIS 2004, 112:369-373.

37. Zhai L, Li Y, Wang W, Hu S: Enhancement of humoral immune responses to inactivated Newcastle disease and avian influenza vaccines by oral administration of ginseng stem-and-leaf saponins in chickens. Poult Sci 2011, 90:1955-1959.

38. Lee B, Kim H, Shim I, Lee H, Hahm DH: Wild ginseng attenuates anxiety- and depression-like behaviors during morphine withdrawal. J Microbiol Biotechnol 2011, 21:1088-1096.

39. Dang H, Chen Y, Liu X, Wang Q, Wang L, Jia W, Wang Y: Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced

swimming test and chronic mild stress models of depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2009, 33:1417-1424.
40. Lee KJ, Ji GE: The effect of fermented red ginseng on depression is mediated by lipids. Nutr Neurosci 2013.
41. Nocerino E, Amato M, Izzo AA: The aphrodisiac and adaptogenic properties of ginseng. Fitoterapia 2000, 71 Suppl 1:S1-5.
42. Siegel RK: Ginseng abuse syndrome. Problems with the panacea. JAMA 1979, 241:1614-1615.
43. Yue PY, Mak NK, Cheng YK, Leung KW, Ng TB, Fan DT, Yeung HW, Wong RN: Pharmacogenomics and the Yin/Yang actions of ginseng: anti-tumor, angiomodulating and steroid-like activities of ginsenosides. Chin Med 2007, 2:6.
44. Liang Y, Zhao S: Progress in understanding of ginsenoside biosynthesis. Plant Biol (Stuttg) 2008, 10:415-421.
45. Kim MK, Lee BS, In JG, Sun H, Yoon JH, Yang DC: Comparative analysis of expressed sequence tags (ESTs) of ginseng leaf. Plant Cell Rep 2006, 25:599-606.
46. DV B: Terpenoid. in natural product. Edited by Essex MJ: Longmann Scientific and Technical; 1994: 331-339
47. Lee BH, Choi SH, Shin TJ, Hwang SH, Kang J, Kim HJ, Kim BJ, Nah SY: Effects of ginsenoside metabolites on GABAA receptor-mediated ion currents. J Ginseng Res 2012, 36:55-60.
48. Choi SH, Shin TJ, Lee BH, Hwang SH, Lee SM, Lee BC, Park CS, Ha TS, Nah SY: Ginsenoside Rg3 enhances large conductance Ca2+-activated potassium channel currents: a role of Tyr360 residue. Mol Cells 2011, 31:133-140.
49. Choi SH, Shin TJ, Lee BH, Chu DH, Choe H, Pyo MK,

Hwang SH, Kim BR, Lee SM, Lee JH, et al: Ginsenoside Rg3 activates human KCNQ1 K+ channel currents through interacting with the K318 and V319 residues: a role of KCNE1 subunit. Eur J Pharmacol 2010, 637:138-147.

50. Lee BH, Hwang SH, Choi SH, Kim HJ, Lee JH, Lee SM, Ahn YG, Nah SY: Inhibitory effects of ginsenoside metabolites, compound K and protopanaxatriol, on GABAC receptor-mediated ion currents. Korean J Physiol Pharmacol 2013, 17:127-132.

51. Chen WF, Zhou LP, Chen L, Wu L, Gao QG, Wong MS: Involvement of IGF-I receptor and estrogen receptor pathways in the protective effects of ginsenoside Rg1 against Abeta(2)(5)(-)(3)(5)-induced toxicity in PC12 cells. Neurochem Int 2013, 62:1065-1071.

52. Hargrove AE, Reyes RN, Riddington I, Anslyn EV, Sessler JL: Boronic acid porphyrin receptor for ginsenoside sensing. Org Lett 2010, 12:4804-4807.

53. Dong H, Bai LP, Wong VK, Zhou H, Wang JR, Liu Y, Jiang ZH, Liu L: The in vitro structure-related anti-cancer activity of ginsenosides and their derivatives. Molecules 2011, 16:10619-10630.

54. Yang L, Deng Y, Xu S, Zeng X: In vivo pharmacokinetic and metabolism studies of ginsenoside Rd. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2007, 854:77-84.

55. Park CS, Yoo MH, Noh KH, Oh DK: Biotransformation of ginsenosides by hydrolyzing the sugar moieties of ginsenosides using microbial glycosidases. Appl Microbiol Biotechnol 2010, 87:9-19.

56. Noh KH, Oh DK: Production of the rare ginsenosides

compound K, compound Y, and compound Mc by a thermostable beta-glycosidase from Sulfolobus acidocaldarius. Biol Pharm Bull 2009, 32:1830-1835.

57. Hien TT, Kim ND, Pokharel YR, Oh SJ, Lee MY, Kang KW: Ginsenoside Rg3 increases nitric oxide production via increases in phosphorylation and expression of endothelial nitric oxide synthase: Essential roles of estrogen receptor-dependent PI3-kinase and AMP-activated protein kinase. Toxicol Appl Pharmacol 2010.

58. Lee Y, Jin Y, Lim W, Ji S, Choi S, Jang S, Lee S: A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. J Steroid Biochem Mol Biol 2003, 84:463-468.

59. Yang CS, Ko SR, Cho BG, Shin DM, Yuk JM, Li S, Kim JM, Evans RM, Jung JS, Song DK, Jo EK: The ginsenoside metabolite compound K, a novel agonist of glucocorticoid receptor, induces tolerance to endotoxin-induced lethal shock. J Cell Mol Med 2008, 12:1739-1753.

60. Niu CS, Yeh CH, Yeh MF, Cheng JT: Increase of adipogenesis by ginsenoside (Rh2) in 3T3-L1 cell via an activation of glucocorticoid receptor. Horm Metab Res 2009, 41:271-276.

61. Cuong TT, Yang CS, Yuk JM, Lee HM, Ko SR, Cho BG, Jo EK: Glucocorticoid receptor agonist compound K regulates Dectin-1-dependent inflammatory signaling through inhibition of reactive oxygen species. Life Sci 2009, 85:625-633.

62. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE: Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome.

Science 2006, 312:1355-1359.

63. Holmes E, Loo RL, Stamler J, Bictash M, Yap IK, Chan Q, Ebbels T, De Iorio M, Brown IJ, Veselkov KA, et al: Human metabolic phenotype diversity and its association with diet and blood pressure. Nature 2008, 453:396-400.

64. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO: Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol 2007, 5:e177.

65. Fishbein T, Novitskiy G, Mishra L, Matsumoto C, Kaufman S, Goyal S, Shetty K, Johnson L, Lu A, Wang A, et al: NOD2-expressing bone marrow-derived cells appear to regulate epithelial innate immunity of the transplanted human small intestine. Gut 2008, 57:323-330.

66. Jia W, Li H, Zhao L, Nicholson JK: Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. Nat Rev Drug Discov 2008, 7:123-129.

67. Ruseler-van Embden JG, Schouten WR, van Lieshout LM: Pouchitis: result of microbial imbalance? Gut 1994, 35:658-664.

68. Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL: A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. Nature 2008, 453:620-625.

69. Gim GT, Kim HM, Kim J, Kim J, Whang WW, Cho SH: Antioxidant effect of tianwang buxin pills a traditional chinese medicine formula: double-blind, randomized controlled trial. Am J Chin Med 2009, 37:227-239.

70. Shin JE, Bae EA, Lee YC, Ma JY, Kim DH: Estrogenic effect of main components kakkalide and tectoridin of Puerariae Flos and their metabolites. Biol Pharm Bull 2006, 29:1202-1206.

71. Li H, Zhou M, Zhao A, Jia W: Traditional Chinese medicine:

balancing the gut ecosystem. Phytother Res 2009, 23:1332-1335.
72. Qi LW, Wang CZ, Yuan CS: American ginseng: potential structure-function relationship in cancer chemoprevention. Biochem Pharmacol 2010, 80:947-954.
73. Kong H, Wang M, Venema K, Maathuis A, van der Heijden R, van der Greef J, Xu G, Hankemeier T: Bioconversion of red ginseng saponins in the gastro-intestinal tract in vitro model studied by high-performance liquid chromatography-high resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. J Chromatogr A 2009, 1216:2195-2203.
74. Ruan JQ, Leong WI, Yan R, Wang YT: Characterization of metabolism and in vitro permeability study of notoginsenoside R1 from Radix notoginseng. J Agric Food Chem 2010, 58:5770-5776.
75. Qian T, Jiang ZH, Cai Z: High-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applied for metabolic study of ginsenoside Rb1 on rat. Anal Biochem 2006, 352:87-96.
76. Wang Y, Wang BX, Liu TH, Minami M, Nagata T, Ikejima T: Metabolism of ginsenoside Rg1 by intestinal bacteria. II. Immunological activity of ginsenoside Rg1 and Rh1. Acta Pharmacol Sin 2000, 21:792-796.
77. Tawab MA, Bahr U, Karas M, Wurglics M, Schubert-Zsilavecz M: Degradation of ginsenosides in humans after oral administration. Drug Metab Dispos 2003, 31:1065-1071.
78. Lee J, Lee E, Kim D, Lee J, Yoo J, Koh B: Studies on absorption, distribution and metabolism of ginseng in humans after oral administration. J Ethnopharmacol 2009, 122:143-148.

79. Wang CZ, Yuan CS: Potential role of ginseng in the treatment of colorectal cancer. Am J Chin Med 2008, 36:1019-1028.
80. Divya JB, Varsha KK, Nampoothiri KM: Newly isolated lactic acid bacteria with probiotic features for potential application in food industry. Appl Biochem Biotechnol 2012, 167:1314-1324.
81. Regmi PR, Metzler-Zebeli BU, Ganzle MG, van Kempen TA, Zijlstra RT: Starch with high amylose content and low in vitro digestibility increases intestinal nutrient flow and microbial fermentation and selectively promotes bifidobacteria in pigs. J Nutr 2011, 141:1273-1280.
82. Hien TT, Kim ND, Pokharel YR, Oh SJ, Lee MY, Kang KW: Ginsenoside Rg3 increases nitric oxide production via increases in phosphorylation and expression of endothelial nitric oxide synthase: Essential roles of estrogen receptor-dependent PI3-kinase and AMP-activated protein kinase. Toxicology and Applied Pharmacology 2010, 246:171-183.
83. Kwok KC, Cheung NH: Measuring binding kinetics of ligands with tethered receptors by fluorescence polarization and total internal reflection fluorescence. Anal Chem 2010, 82:3819-3825.
84. Cho J, Park W, Lee S, Ahn W, Lee Y: Ginsenoside-Rb1 from Panax ginseng C.A. Meyer activates estrogen receptor-alpha and -beta, independent of ligand binding. J Clin Endocrinol Metab 2004, 89:3510-3515.
85. Chan RY, Chen WF, Dong A, Guo D, Wong MS: Estrogen-like activity of ginsenoside Rg1 derived from Panax notoginseng. J Clin Endocrinol Metab 2002, 87:3691-3695.
86. Lee YJ, Chung E, Lee KY, Lee YH, Huh B, Lee SK: Ginsenoside-Rg1, one of the major active molecules from

Panax ginseng, is a functional ligand of glucocorticoid receptor. Mol Cell Endocrinol 1997, 133:135-140.

87. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, Kitamoto T, Uchiyama S, Sasaki H, Masushige S, Gotoh Y, Nishida E, Kawashima H, et al: Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. Science 1995, 270:1491-1494.

88. Lau WS, Chan RY, Guo DA, Wong MS: Ginsenoside Rg1 exerts estrogen-like activities via ligand-independent activation of ERalpha pathway. J Steroid Biochem Mol Biol 2008, 108:64-71.

89. Salem MZ, Ali HM, El-Shanhorey NA, Abdel-Megeed A: Evaluation of extracts and essential oil from Callistemon viminalis leaves: antibacterial and antioxidant activities, total phenolic and flavonoid contents. Asian Pac J Trop Med 2013, 6:785-791.

90. Cai SQ, Wang R, Yang X, Shang M, Ma C, Shoyama Y: Antiviral flavonoid-type C-glycosides from the flowers of Trollius chinensis. Chem Biodivers 2006, 3:343-348.

91. Johnson JL, de Mejia EG: Flavonoid apigenin modified gene expression associated with inflammation and cancer and induced apoptosis in human pancreatic cancer cells through inhibition of GSK-3beta/NF-kappaB signaling cascade. Mol Nutr Food Res 2013, 57:2112-2127.

92. Bertin R, Chen Z, Martinez-Vazquez M, Garcia-Argaez A, Froldi G: Vasodilation and radical-scavenging activity of imperatorin and selected coumarinic and flavonoid compounds from genus Casimiroa. Phytomedicine 2013.

93. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S: The correlation between

active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. Free Radic Biol Med 1994, 16:845-850.

94. Ratty AK, Das NP: Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. Biochem Med Metab Biol 1988, 39:69-79.

95. Cook NC, Samman S: Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. The Journal of Nutritional Biochemistry 1996, 7:66-76.

96. Kim HJ, Lee SG, Chae IG, Kim MJ, Im NK, Yu MH, Lee EJ, Lee IS: Antioxidant effects of fermented red ginseng extracts in streptozotocin- induced diabetic rats. J Ginseng Res 2011, 35:129-137.

97. Keay J, Thornton JW: Hormone-activated estrogen receptors in annelid invertebrates: implications for evolution and endocrine disruption. Endocrinology 2009, 150:1731-1738.

98. Robinson-Rechavi M, Carpentier AS, Duffraisse M, Laudet V: How many nuclear hormone receptors are there in the human genome? Trends Genet 2001, 17:554-556.

99. Benoit G, Malewicz M, Perlmann T: Digging deep into the pockets of orphan nuclear receptors: insights from structural studies. Trends Cell Biol 2004, 14:369-376.

100. Stanisic V, Lonard DM, O'Malley BW: Modulation of steroid hormone receptor activity. Prog Brain Res 2010, 181:153-176.

101. Cho S, Kagan BL, Blackford JA, Jr., Szapary D, Simons SS, Jr.: Glucocorticoid receptor ligand binding domain is sufficient for the modulation of glucocorticoid induction properties by homologous receptors, coactivator transcription intermediary factor 2, and Ubc9. Mol Endocrinol 2005, 19:290-311.

102. Breslin MB, Vedeckis WV: The human glucocorticoid receptor

promoter upstream sequences contain binding sites for the ubiquitous transcription factor, Yin Yang 1. J Steroid Biochem Mol Biol 1998, 67:369-381.

103. Webster JC, Oakley RH, Jewell CM, Cidlowski JA: Proinflammatory cytokines regulate human glucocorticoid receptor gene expression and lead to the accumulation of the dominant negative beta isoform: a mechanism for the generation of glucocorticoid resistance. Proc Natl Acad Sci U S A 2001, 98:6865-6870.

104. Breslin MB, Geng CD, Vedeckis WV: Multiple promoters exist in the human GR gene, one of which is activated by glucocorticoids. Mol Endocrinol 2001, 15:1381-1395.

105. Kowalik MK, Slonina D, Rekawiecki R, Kotwica J: Expression of progesterone receptor membrane component (PGRMC) 1 and 2, serpine mRNA binding protein 1 (SERBP1) and nuclear progesterone receptor (PGR) in the bovine endometrium during the estrous cycle and the first trimester of pregnancy. Reprod Biol 2013, 13:15-23.

106. Akanuma S, Hori S, Ohtsuki S, Fujiyoshi M, Terasaki T: Expression of nuclear receptor mRNA and liver X receptor-mediated regulation of ABC transporter A1 at rat blood-brain barrier. Neurochem Int 2008, 52:669-674.

107. Hoang T, Fenne IS, Madsen A, Bozickovic O, Johannessen M, Bergsvag M, Lien EA, Stallcup MR, Sagen JV, Moens U, Mellgren G: cAMP response element-binding protein interacts with and stimulates the proteasomal degradation of the nuclear receptor coactivator GRIP1. Endocrinology 2013, 154:1513-1527.

108. Itoh Y, Kitaguchi R, Ishikawa M, Naito M, Hashimoto Y: Design, synthesis and biological evaluation of nuclear

receptor-degradation inducers. Bioorg Med Chem 2011, 19:6768-6778.

109. Likhite VS, Stossi F, Kim K, Katzenellenbogen BS, Katzenellenbogen JA: Kinase-specific phosphorylation of the estrogen receptor changes receptor interactions with ligand, deoxyribonucleic acid, and coregulators associated with alterations in estrogen and tamoxifen activity. Mol Endocrinol 2006, 20:3120-3132.

110. Lannigan DA: Estrogen receptor phosphorylation. Steroids 2003, 68:1-9.

111. Thomas RS, Sarwar N, Phoenix F, Coombes RC, Ali S: Phosphorylation at serines 104 and 106 by Erk1/2 MAPK is important for estrogen receptor-alpha activity. J Mol Endocrinol 2008, 40:173-184.

112. Stygar D, Muravitskaya N, Eriksson B, Eriksson H, Sahlin L: Effects of SERM (selective estrogen receptor modulator) treatment on growth and proliferation in the rat uterus. Reprod Biol Endocrinol 2003, 1:40.

113. Scafonas A, Reszka AA, Kimmel DB, Hou XS, Su Q, Birzin ET, Kim S, Chen HY, Tan Q, Roher SP, et al: Agonist-like SERM effects on ERalpha-mediated repression of MMP1 promoter activity predict in vivo effects on bone and uterus. J Steroid Biochem Mol Biol 2008, 110:197-206.

114. Zhang D, Trudeau VL: Integration of membrane and nuclear estrogen receptor signaling. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 2006, 144:306-315.

115. Adachi H, Katsuno M, Minamiyama M, Sang C, Pagoulatos G, Angelidis C, Kusakabe M, Yoshiki A, Kobayashi Y, Doyu M, Sobue G: Heat shock protein 70 chaperone overexpression

ameliorates phenotypes of the spinal and bulbar muscular atrophy transgenic mouse model by reducing nuclear-localized mutant androgen receptor protein. J Neurosci 2003, 23:2203-2211.

116. Ansems M, Hontelez S, Karthaus N, Span PN, Adema GJ: Crosstalk and DC-SCRIPT: expanding nuclear receptor modulation. Biochim Biophys Acta 2010, 1806:193-199.

117. Luecke S, Wincent E, Backlund M, Rannug U, Rannug A: Cytochrome P450 1A1 gene regulation by UVB involves crosstalk between the aryl hydrocarbon receptor and nuclear factor kappaB. Chem Biol Interact 2010, 184:466-473.

118. Huppunen J, Aarnisalo P: Dimerization modulates the activity of the orphan nuclear receptor ERRgamma. Biochem Biophys Res Commun 2004, 314:964-970.

119. Grossmann C, Ruhs S, Langenbruch L, Mildenberger S, Stratz N, Schumann K, Gekle M: Nuclear shuttling precedes dimerization in mineralocorticoid receptor signaling. Chem Biol 2012, 19:742-751.

120. Oakley RH, Sar M, Cidlowski JA: The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. J Biol Chem 1996, 271:9550-9559.

121. Bamberger CM, Bamberger AM, de Castro M, Chrousos GP: Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. J Clin Invest 1995, 95:2435-2441.

122. Kelder J, Azevedo R, Pang Y, de Vlieg J, Dong J, Thomas P: Comparison between steroid binding to membrane progesterone receptor alpha (mPRalpha) and to nuclear progesterone receptor: correlation with physicochemical properties assessed

by comparative molecular field analysis and identification of mPRalpha-specific agonists. Steroids 2010, 75:314-322.

123. Green KA, Carroll JS: Oestrogen-receptor-mediated transcription and the influence of co-factors and chromatin state. Nat Rev Cancer 2007, 7:713-722.

124. Kassabov SR, Zhang B, Persinger J, Bartholomew B: SWI/SNF unwraps, slides, and rewraps the nucleosome. Mol Cell 2003, 11:391-403.

125. Chiba H, Muramatsu M, Nomoto A, Kato H: Two human homologues of Saccharomyces cerevisiae SWI2/SNF2 and Drosophila brahma are transcriptional coactivators cooperating with the estrogen receptor and the retinoic acid receptor. Nucleic Acids Res 1994, 22:1815-1820.

126. Ichinose H, Garnier JM, Chambon P, Losson R: Ligand-dependent interaction between the estrogen receptor and the human homologues of SWI2/SNF2. Gene 1997, 188:95-100.

127. De Bosscher K, Haegeman G: Minireview: latest perspectives on antiinflammatory actions of glucocorticoids. Mol Endocrinol 2009, 23:281-291.

128. De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G: The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappaB or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. Endocr Rev 2003, 24:488-522.

129. Liberman AC, Druker J, Perone MJ, Arzt E: Glucocorticoids in the regulation of transcription factors that control cytokine synthesis. Cytokine Growth Factor Rev 2007, 18:45-56.

130. Gomperts BD, Kramer IM, Tatham PER: Signal transduction. 2nd edn. MA. USA: Elsevier; 2009.

131. Luu-The V: Assessment of steroidogenesis and steroidogenic enzyme functions. J Steroid Biochem Mol Biol 2013, 137:176-182.
132. Galeati G, Forni M, Spinaci M, Zannoni A, Govoni N, Ribeiro LA, Seren E, Tamanini C: Fasting influences steroidogenesis, vascular endothelial growth factor (VEGF) levels and mRNAs expression for VEGF, VEGF receptor type 2 (VEGFR-2), endothelin-1 (ET-1), endothelin receptor type A (ET-A) and endothelin converting enzyme-1 (ECE-1) in newly formed pig corpora lutea. Domest Anim Endocrinol 2005, 28:272-284.
133. Tautz D: Redundancies, development and the flow of information. Bioessays 1992, 14:263-266.
134. Nowak MA, Boerlijst MC, Cooke J, Smith JM: Evolution of genetic redundancy. Nature 1997, 388:167-171.
135. Haldar M, Karan G, Tvrdik P, Capecchi MR: Two cell lineages, myf5 and myf5-independent, participate in mouse skeletal myogenesis. Dev Cell 2008, 14:437-445.
136. Kafri R, Springer M, Pilpel Y: Genetic redundancy: new tricks for old genes. Cell 2009, 136:389-392.
137. WHO: What is depression? ; 2012.
138. WHO: Depression, Vol. 2010. World Health Organization; 2010.
139. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE: Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. Arch Gen Psychiatry 2005, 62:593-602.
140. Knol MJ, Twisk JW, Beekman AT, Heine RJ, Snoek FJ, Pouwer F: Depression as a risk factor for the onset of type 2 diabetes mellitus. A meta-analysis. Diabetologia 2006, 49:837-845.

141. Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad S: Association of polymorphisms in the estrogen receptors alpha, and beta (ESR1, ESR2) with the occurrence of male infertility and semen parameters. J Steroid Biochem Mol Biol 2010, 122:193-203.
142. Aijanseppa S, Kivinen P, Helkala EL, Kivela SL, Tuomilehto J, Nissinen A: Serum cholesterol and depressive symptoms in elderly Finnish men. Int J Geriatr Psychiatry 2002, 17:629-634.
143. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR, Rush AJ, Walters EE, Wang PS, National Comorbidity Survey R: The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). JAMA 2003, 289:3095-3105.
144. Booij L, Van der Does AJ, Riedel WJ: Monoamine depletion in psychiatric and healthy populations: review. Mol Psychiatry 2003, 8:951-973.
145. Berton O, Nestler EJ: New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. Nat Rev Neurosci 2006, 7:137-151.
146. Salisbury AL, Ponder KL, Padbury JF, Lester BM: Fetal effects of psychoactive drugs. Clin Perinatol 2009, 36:595-619.
147. Ruhe HG, Mason NS, Schene AH: Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. Mol Psychiatry 2007, 12:331-359.
148. Carroll BJ: The dexamethasone suppression test for melancholia. Br J Psychiatry 1982, 140:292-304.
149. Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F: The combined dexamethasone/CRH test: a refined laboratory test for

psychiatric disorders. J Psychiatr Res 1994, 28:341-356.

150. Palazidou E: The neurobiology of depression. Br Med Bull 2012, 101:127-145.

151. Manji HK, Quiroz JA, Sporn J, Payne JL, Denicoff K, N AG, Zarate CA, Jr., Charney DS: Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. Biol Psychiatry 2003, 53:707-742.

152. Gold PW, Chrousos GP: Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. Mol Psychiatry 2002, 7:254-275.

153. Fanselow MS: Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. Behav Brain Res 2000, 110:73-81.

154. de Kloet ER, Derijk RH, Meijer OC: Therapy Insight: is there an imbalanced response of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in depression? Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2007, 3:168-179.

155. Raison CL, Miller AH: When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. Am J Psychiatry 2003, 160:1554-1565.

156. Noguchi KK, Lau K, Smith DJ, Swiney BS, Farber NB: Glucocorticoid receptor stimulation and the regulation of neonatal cerebellar neural progenitor cell apoptosis. Neurobiol Dis 2011, 43:356-363.

157. Hamilton JP, Siemer M, Gotlib IH: Amygdala volume in major depressive disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. Mol Psychiatry 2008, 13:993-1000.

158. Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC: Untreated depression and hippocampal volume loss. Am J Psychiatry 2003, 160:1516-1518.

159. Videbech P, Ravnkilde B: Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies. Am J Psychiatry 2004, 161:1957-1966.
160. Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M: Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. Biol Psychiatry 2003, 54:70-75.
161. Piccinni A, Del Debbio A, Medda P, Bianchi C, Roncaglia I, Veltri A, Zanello S, Massimetti E, Origlia N, Domenici L, et al: Plasma brain-derived neurotrophic factor in treatment-resistant depressed patients receiving electroconvulsive therapy. Eur Neuropsychopharmacol 2009, 19:349-355.
162. Frodl T, Moller HJ, Meisenzahl E: Neuroimaging genetics: new perspectives in research on major depression? Acta Psychiatr Scand 2008, 118:363-372.
163. Palazidou E: The neurobiology of depression. British Medical Bulletin 2012, 101:127-145.
164. Drevets WC: Functional neuroimaging studies of depression: the anatomy of melancholia. Annu Rev Med 1998, 49:341-361.
165. Anand A, Li Y, Wang Y, Wu J, Gao S, Bukhari L, Mathews VP, Kalnin A, Lowe MJ: Activity and connectivity of brain mood regulating circuit in depression: a functional magnetic resonance study. Biol Psychiatry 2005, 57:1079-1088.
166. Whittle S, Allen NB, Lubman DI, Yucel M: The neurobiological basis of temperament: towards a better understanding of psychopathology. Neurosci Biobehav Rev 2006, 30:511-525.
167. MacDonald AW, 3rd, Cohen JD, Stenger VA, Carter CS:

Dissociating the role of the dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex in cognitive control. Science 2000, 288:1835-1838.

168. Brambilla F, Maggioni M, Ferrari E, Scarone S, Catalano M: Tonic and dynamic gonadotropin secretion in depressive and normothymic phases of affective disorders. Psychiatry Res 1990, 32:229-239.

169. Altman N, Sachar EJ, Gruen PH, Halpern JS, Eto S: Reduced plasma LH concentration in postmenopausal depressed women. Psychosom Med 1975, 37:274-276.

170. Huerta R, Mena A, Malacara JM, Diaz de Leon J: Symptoms at perimenopausal period: its association with attitudes toward sexuality, life-style, family function, and FSH levels. Psychoneuroendocrinology 1995, 20:135-148.

171. Studd J, Panay N: Hormones and depression in women. Climacteric 2004, 7:338-346.

172. Pecins-Thompson M, Brown NA, Bethea CL: Regulation of serotonin re-uptake transporter mRNA expression by ovarian steroids in rhesus macaques. Brain Res Mol Brain Res 1998, 53:120-129.

173. Sohrabji F, Miranda RC, Toran-Allerand CD: Estrogen differentially regulates estrogen and nerve growth factor receptor mRNAs in adult sensory neurons. J Neurosci 1994, 14:459-471.

174. Avis NE, Brambilla D, McKinlay SM, Vass K: A longitudinal analysis of the association between menopause and depression. Results from the Massachusetts Women's Health Study. Ann Epidemiol 1994, 4:214-220.

175. Chrousos GP: Stress and disorders of the stress system. Nat

Rev Endocrinol 2009, 5:374-381.

176. Chrousos GP, Kino T: Intracellular glucocorticoid signaling: a formerly simple system turns stochastic. Sci STKE 2005, 2005:pe48.

177. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G: Endocrinology of the stress response. Annu Rev Physiol 2005, 67:259-284.

178. Alberti KG, Zimmet PZ: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med 1998, 15:539-553.

179. Talwalkar PG, Sreenivas CG, Gulati A, Baxi H: Journey in guidelines for lipid management: From adult treatment panel (ATP)-I to ATP-III and what to expect in ATP-IV. Indian J Endocrinol Metab 2013, 17:628-635.

180. Hills SA, Balkau B, Coppack SW, Dekker JM, Mari A, Natali A, Walker M, Ferrannini E, Group E-RS: The EGIR-RISC STUDY (The European group for the study of insulin resistance: relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease risk): I. Methodology and objectives. Diabetologia 2004, 47:566-570.

181. American association of clinical endocrinologists polycystic ovary syndrome writing C: American association of clinical endocrinologists position statement on metabolic and cardiovascular consequences of polycystic ovary syndrome. Endocr Pract 2005, 11:126-134.

182. Aekplakorn W, Chongsuvivatwong V, Tatsanavivat P, Suriyawongpaisal P: Prevalence of metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation and National Cholesterol Education Program criteria among Thai adults.

Asia Pac J Public Health 2011, 23:792-800.
183. Cheta DM: The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes: response to Kahn et al. Diabetes Care 2006, 29:176-177; author reply 177-178.
184. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J: Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. Diabet Med 2006, 23:469-480.
185. Powers MA: Handbook of diabetes medical nutrition therapy. Gaithersburg, Md: Aspen Publishers; 1996.
186. Ford ES: Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. Diabetes Care 2005, 28:2745-2749.
187. Ding QF, Hayashi T, Zhang XJ, Funami J, Ge L, Li J, Huang XL, Cao L, Zhang J, Akihisa I: Risks of CHD identified by different criteria of metabolic syndrome and related changes of adipocytokines in elderly postmenopausal women. J Diabetes Complications 2007, 21:315-319.
188. Schmoll D, Allan BB, Burchell A: Cloning and sequencing of the 5′ region of the human glucose-6-phosphatase gene: transcriptional regulation by cAMP, insulin and glucocorticoids in H4IIE hepatoma cells. FEBS Lett 1996, 383:63-66.
189. Shi H, Kumar SP, Liu X: G protein-coupled estrogen receptor in energy homeostasis and obesity pathogenesis. Prog Mol Biol Transl Sci 2013, 114:193-250.
190. Byung R. Bae: Structural equation modeling with Amos 19. 1st ed edn: Seoul, ChengRam; 2011.
191. Kingsolver JG, Schemske DW: Path analyses of selection.

Trends Ecol Evol 1991, 6:276-280.

192. Structural equation modeling/Path analysis [http://userwww.sfsu.edu/efc/classes/biol710/path/SEMwebpage.htm]

193. Petraitis PS, Dunham AE, Niewiarowski PH: Inferring multiple causality: The limitations of path analysis. Functional Ecology 1996, 10:421-431.

194. Kline RB: Principles and practice of structural equation modeling. 2nd edn: Guilford; 2005.

195. Soo Back Moon: Basic concepts and applications of structural equation modeling with AMOS 17.0. Seoul: Hakjisa; 2009.

196. Winer BJ, Brown DR, Michels KM: Statistical principles in experimental design. Boston: McGraw-Hill; 1991.

197. Joreskog KG, Sorbom D: LISREL 8: Structural equation modeling with the simplis command language. Science Software International; 1993.

198. Steiger JH, Lind JC: Statistically based tests for the number of common factors. Paper presented at the Psychometric Society annual meeting. Iowa City, IA; 1980, June.

199. Browne MW, Cudeck R: Alternative ways of assessing model fit. Testing structural equation models. ewbury Park CA: Sage; 1993.

200. MacCallum RC, Browne MW, Sugawara HM: Power analysis and determination of sample size for covariance structure modeling. Psychological Methods; 1996.

201. Hu L-T, Bentler PM: Cutoff criteria for fit indices in covariance structure analysis: Conventional criteria versus new alternatives. In Structural Equation Modeling. 1999: 1-55

202. Rubin DB: Illustrating the use of multiple imputations to

handle nonresponse in sample surveys. Proceedings of the 42nd Session of the International Statistical Institute; 1979.
203. Schafer JL: Analysis of incomplete multi-variate data. Boca Raton, FL: Champman & Hall/CRC; 2000.
204. Edwards KF, Klausmeier CA, Litchman E: Evidence for a three-way trade-off between nitrogen and phosphorus competitive abilities and cell size in phytoplankton. Ecology 2011, 92:2085-2095.
205. Allison.P.D: Missing data. Thousand Oaks, CA.: Sage Publications; 2000.
206. Freedman VA, Wolf DA: A case study on the use of multiple imputation. Demography 1995, 32:459-470.
207. Graham JW, Olchowski AE, Gilreath TD: How many imputations are really needed? Some practical clarifications of multiple imputation theory. Prev Sci 2007, 8:206-213.
208. Rubin DB: Multipl Imputation for nonresponse in surveys. New York: JOHN WILEY & SONS; 1987.
209. Newgard CD, Haukoos JS: Advanced statistics: Missing data in clinical research—Part 2: Multiple imputation. Academic Emergency Medicine 2007, 14:669-678.
210. Rubin DB: Multiple imputation after 18+ years. Journal of the American Stastical Association 1996, 91:473-515.
211. Patrician PA: Multiple imputation for missing data. Res Nurs Health 2002, 25:76-84.
212. Asparouhov T, Muth´en B: Bayesian Analysis Using Mplus. 2010.
213. The proof and measurement of association between two things. The American Journal of Psychology 1904, 15:72-101.
214. Wright S: On the Nature of Size Factors. Genetics 1918,

3:367-374.
215. S W: Correlation and causation. 1921, 20:557-595.
216. KG J: Some contributions to maximum likelihood factor analysis. 1967, 32:443-482.
217. Introduction to path analysis and structural equation modelling with AMOS [http://www.kcl.ac.uk/iop/depts/biostatistics/teaching/previouslecturenotes/amos/amosweek2.pdf]
218. J W, X W: Structural equation modeling: Applications using Mplus. John Wiley & Sons Ltd; 2012.
219. Grace JB: Structural equation modeling and natural systems. Edinburgh, UK: Cambridge University Press; 2006.
220. Hoon Young Lee: Research methodology. Seoul: ChengRam; 2009.
221. Lu W, Song K, Wang Y, Zhang Q, Li W, Jiao H, Wang G, Huang G: Relationship between serum uric acid and metabolic syndrome: an analysis by structural equation modeling. J Clin Lipidol 2012, 6:159-167.
222. Chen W, Srinivasan SR, Berenson GS: Path analysis of metabolic syndrome components in black versus white children, adolescents, and adults: the Bogalusa Heart Study. Ann Epidemiol 2008, 18:85-91.
223. Smits MM, Woudstra P, Utzschneider KM, Tong J, Gerchman F, Faulenbach M, Carr DB, Aston-Mourney K, Chait A, Knopp RH, et al: Adipocytokines as features of the metabolic syndrome determined using confirmatory factor analysis. Ann Epidemiol 2013, 23:415-421.
224. Perlstein TS, Gumieniak O, Williams GH, Sparrow D, Vokonas PS, Gaziano M, Weiss ST, Litonjua AA: Uric acid and the development of hypertension: the normative aging

study. Hypertension 2006, 48:1031-1036.

225. Nakanishi N, Okamoto M, Yoshida H, Matsuo Y, Suzuki K, Tatara K: Serum uric acid and risk for development of hypertension and impaired fasting glucose or Type II diabetes in Japanese male office workers. Eur J Epidemiol 2003, 18:523-530.

226. Tsouli SG, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, Athyros VG, Elisaf MS: Elevated serum uric acid levels in metabolic syndrome: an active component or an innocent bystander? Metabolism 2006, 55:1293-1301.

Chapter 3. The Blood Glucose Ameliorating Effects of Fermented Red Ginseng and Causal Effects on Hormonal Interactions: The Test Hypothesis by Multiple Group Path Analysis

3.1 Introduction

세계보건기구에서는 대사증후군을 다음과 같이 정의하고 있다. “당 불내성, 손상된 당내성 또는 당뇨 그리고/또는 인슐린저항성과 함께 동맥혈압의 상승, 혈장의 중성지방 수치의 상승, 복부비만, 미세알부민뇨증, 그리고 몇 가지 다른 요소들 (예. 고요소뇨증, 혈액응고장애, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)의 상승 등) 중 둘 이상의 요소가 나타날 때 대사증후군이라 한다 [1]. 비록 여러 전문기관들에서 대사증후군에 대한 정의가 넓은 스펙트럼을 가지고 강조점이 다를지라도 [2,3], 몇 가지 중요한 공통점이 있는데 여기에는 혈당과 인슐린 저항성이 포함된다.

대사증후군은 세계적으로 급속히 증가하고 있다. 라틴 아메리카 여성을 대상으로 한 연구에 의하면 ATP III 기준으로 대사증후군의 유병률이 40～44세 여성은 28.1%였지만 폐경기 이후인 60～64세 여성의 경우에는 42.9%로 증가한다 [5]. 중국 성인 전체의 대사증후군 유병률은 14 내지 18%이지만, 폐경기 여성의 대사증후군 유병률은 33.7%였다 [6]. 노르웨이의 Nord-Trøndelag Health Study 1995 - 97 (HUNT 2)에서 20～89세의 10,206명을 대상으로 한 연구에서도 연령이 증가함에 따라 남녀 모두 대사증후군은 증가하고 있었으며, 여성의 경우에는 폐경기를 전후로 하여 유병률의 차이가 더욱 커진다 [4] (Fig. 3-1).

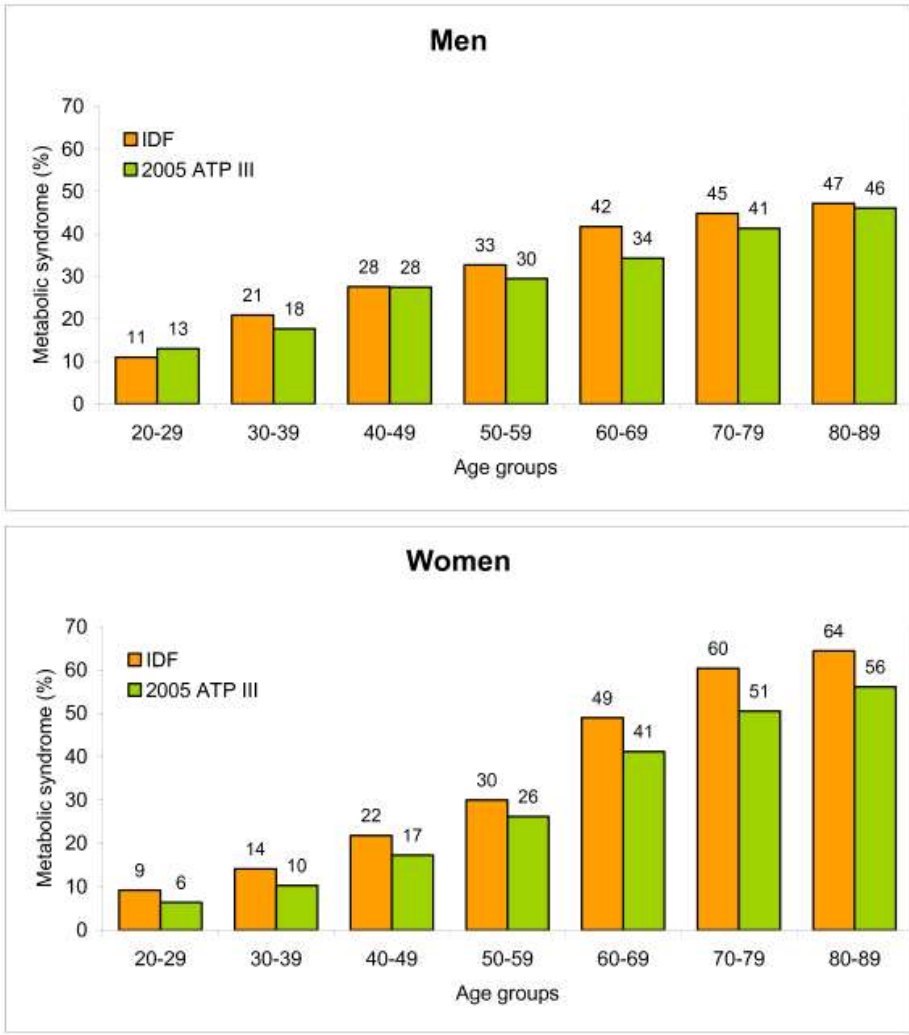


Figure 3-1. Age-specific prevalence of metabolic syndrome according to the definition by the International Diabetes Federation (IDF), compared to the revised definition by the National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III (2005 ATP III), among men and women in the HUNT 2 population. [4] Cited from Hildrum et al. (2007)

연구들에 의하면 낮은 수치의 여성호르몬이 대사증후군의 주요 원인들 중 하나로 간주되고 있고 실제로 여성호르몬을 포함한 호르몬요법은 폐경기 여성에게서 대사증후군의 위험을 감소시킨다. 예를 들어 호르몬대체요법을 받은 폐경기 여성은 인슐린 저항성이 12.9% 그리고 당뇨 유병률이 35.8% 감소하였다 [7]. 하지만 여성보건기관의 연구는 호르몬대체요법은 생식기관련 암과 비만의 위험을 증가시키며, 심혈관질환에 대한 유익한 효과는 무시할만하다고 보고하였다 [8]. 이러한 여성호르몬 대체요법의 부작용이 심각한 상황에서 선택적 여성호르몬 수용체 조절인자들 (selective estrogen receptor modulator: SERM)과 같은 여성호르몬 유사체에 대한 연구가 대사증후군치료영역에서 중요한 주제로 등장하고 있다 [9]. 하지만 많은 연구들은 대사증후군의 시작이 단지 여성호르몬수치뿐만 아니라 다른 호르몬들의 수치에 의해서도 영향을 받음을 보고하고 있다 [10].

인삼은 아시아, 특히 한국, 중국 그리고 일본에서 가장 대중적으로 애용되어 온 약초의 하나로 그 기록은 2천년전까지 거슬러 올라간다 [11]. 현대에는 인삼의 인기가 서구국가들에게까지 증가하고 있다. 예를 들어, 인삼은 2003년에 미국에서 상위 10위로 팔린 약초 중 하나로 기록되었다 [12].

인삼의 주요 약리성분들 중 하나는 진세노사이드로서 그 화학적인 구조는 스테로이드 골격을 가지고 있다. 인삼의 발효과정은 비활성형태인 진세노사이드 Rb1, Rc, Rb2, Rb3, 그리고 Rd를 생물학적으로 활성형태인 compound K (CK)나 Rg3로 변환한다. 연구들은 Rh1과 Rg3가 에스트로겐 수용체 (estrogen receptor: ER)의 리간드로 작용하고, Rh2와 CK는 글루코코르티코이드 수용체 (glucocorticoid receptor: GR)의 리간드로서 작용한다고 보고하고 있다 [13,14]. 많은 연구들이 홍삼이 혈당조절과 인슐린 저항성에 유익한 효과가 있다고 보고하였다 [15,16] (Fig. 3-2). 이러한 효과들의 한가지 가능한 가설은 진세노사이드가 ER이나 GR과 같은 핵수용체를 매개로 하여 내분비계의 기능과 당뇨와 관련된 변수들에게 영향을 줄 수 있다는 것이다.

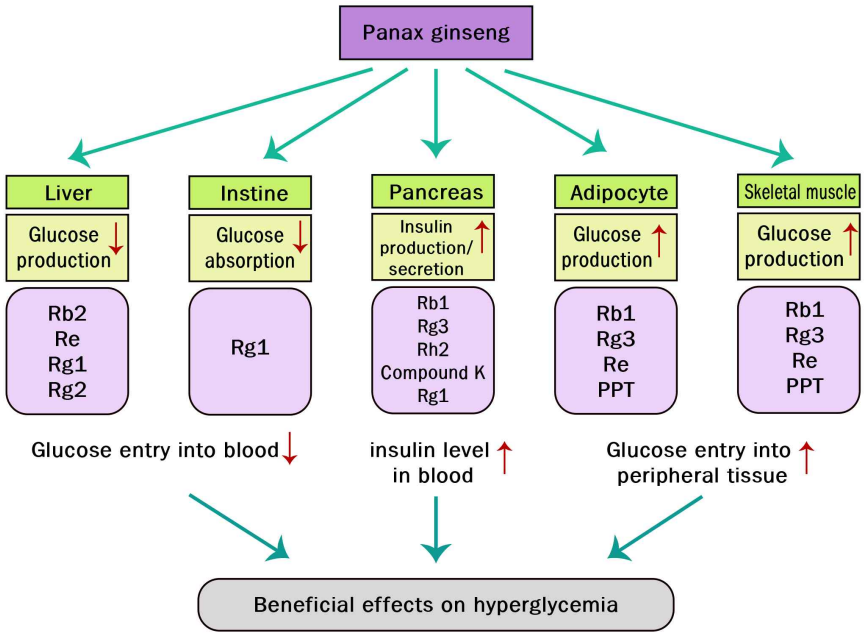


Figure 3-2. Pharmacological effects of *Panax ginseng* on various organs related to diabetes. Ginsenosides known to work on each organ are listed underneath. PPT, protopanaxatriol. [17] Cited from Yuan HD et al. (2012)

Chrousos는 인체의 신경내분비계가 혈당이나 지방산 그리고 골다공증과 같은 인체 대사와 질병에 영향을 줌을 보고하였다 [10,18,19] (Fig. 2-7). 그러나 그 원인들에 대한 규명작업은 대부분 단변량적인 결과들의 서술적 종합이었으며, 여러 변수들을 동시에 정량적으로 비교분석한 연구는 아니었다. 특히 혈당이나 당화혈색소의 혈중 수치에 대한 원인규명에 있어서 호르몬 등의 원인인자의 효과크기에 대한 정량적인 분석은 매우 드물었으며 원인인자들 간의 효과 크기 비교에 대한 연구는 거의 없었다. 이러한 관점에서 본 연구는 일차적으로 경로분석을 이용하

여 다양한 호르몬축들의 3단계 연속적 인과관계를 포함하여, 호르몬들의 상호작용들을 분석하였다. 그리고 두번째로 호르몬들에 의한 혈당과 당화혈색소 등의 수치에 대한 효과크기를 정량적으로 분석하였다. 이어서 세번째로, 다중그룹 경로분석을 통하여 위약군과 홍삼군 간에 효과크기의 차이에 대한 유의도를 Wald test를 통하여 확인하였다.

즉, 연구의 첫 번째 목적은 경로분석에 의해 당뇨관련 마커들과 몇 가지 호르몬들 사이에 유의한 인과적 상호작용이 있는지의 여부를 가설검정을 하는 것이다. 두 번째 목적은 발효홍삼의 섭취가 이들 인과적 관계에 영향을 줄 것인지의 여부를 평균비교와 같은 전통적인 통계분석법들과 함께 다중그룹 경로분석으로 가설검정하는 것이다.

본 연구의 연구가설들은 다음과 같다.

● 발효홍삼섭취는 ER과 GR에 대한 진세노사이드의 효과를 매개로 하여 혈당의 방출과 당화혈색소의 수치에 영향을 준다.

● 발효홍삼섭취는 ER과 GR을 매개로 하여 시상하부-뇌하수체-부신(hypothalamus-pituitary-adrenal: HPA) 축과 시상하부-뇌하수체-성선(hypothalamus-pituitary-gonad: HPG) 호르몬축에 영향을 준다.

● 발효홍삼섭취로 인하여 변화된 HPA축과 HPG호르몬축은 시상하부-뇌하수체-성선 (hypothalamus-pituitary-thyroid: HPT)축과 시상하부-뇌하수체-성장호르몬 (hypothalamus-pituitary-somatotroph: HPS)축과 같은 다른 호르몬축들에게 영향을 준다. 그리고 영향을 받은 HPT축과 HPS호르몬축의 호르몬들은 혈당과 당화혈색소의 수치에 영향을 준다.

3.2 Materials and Methods

3.2.1 Participants and study design

이 연구는 삼육대학교 (Seoul, Korea) 윤리위원회 (IRB)의 승인을 받았

다. 50~73세의 여성을 몇 개의 카톡릭 성당 (Seoul, Korea)에서 모집을 하였다. 고혈압이나 당뇨가 있는 참가자 그리고 다른 약물을 섭취하고 있는 참자가는 본 실험에서 제외하였다. 식이보조제들도 실험기간동안 섭취가 허용되지 않았다. 117명의 자원자를 제비뽑기를 통하여 무작위 이중맹검으로 두 그룹으로 나누었다. 발효홍삼 분말은 비피도 회사 (Gangwon-do, Korea)에서 제공받았다. 한 그룹 (홍삼군)은 발효홍삼 캡슐을 2주 동안, 하루 세 번, 한번에 세알씩 섭취하도록 하였는데 하루에 섭취한 분말의 양은 총 2.1 g이 된다.

발효홍삼캡슐의 성분은 다음과 같다.: crude saponin, 258.6 mg/g; Compound K (CK), 57.05 mg/g; Rg3, 53.85 mg/g; Rh2, 11.97 mg/g; Rg2, 5.72 mg/g; Rh1, 2.99 mg/g; and Rb1, 0.023 mg/g. (Table 3-1)

Table 3-1. Ingredients of fermented red ginseng in this study

Ingredient	Amount (mg/g)
Compound K	57.05
Rg3	53.85
Rh2	11.97
Rg2	5.72
Rh1	2.99
Rb1	0.023
Crude saponin	258.6
Total	390.203

실험 2주 전후로 밤사이 8시간 공복후에 혈액샘플이 채취되었다. 혈액 샘플은 아침 8시에서 10시 사이에 채취하였다. 소변 샘플은 혈액을 채취하기 전 24시간 동안 모았다. 첫번째 혈액 채취에서 참여한 117명의 여성 참가자들은 이차 혈액 샘플 채취 때에는 93명이었다. (Fig. 3-3) 93명의 참가자들 중 90명은 폐경기 이후 여성이었고, 3명은 폐경기 부근 (perimenopausal)의 여성이었다.

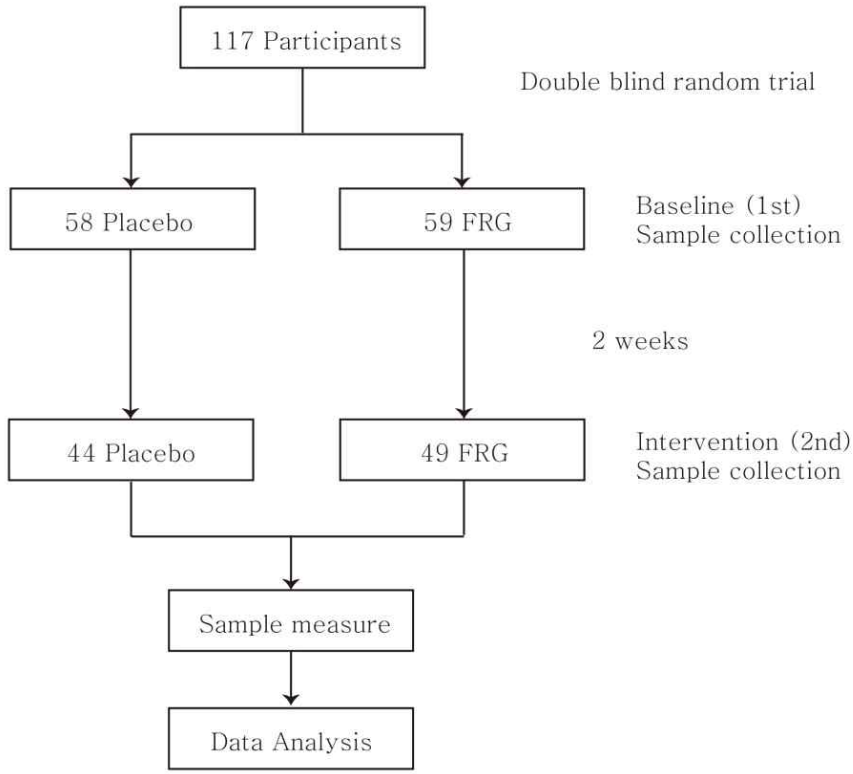


Figure 3-3. Flowchart of this experiment

Forty subjects were selected from both groups (20 subjects per group) after matching age, height, weight and BMI. Those were further analyzed for several hormones (Table 3-2). All biochemical components were measured by the Green Cross Reference Lab (Gyeonggi-do, Korea). The analysis methods are shown in Appendix 1.

3.2.2 Statistical analyses

여성호르몬의 혈중 수치가 폐경기 이후 5년 동안 서서히 감소한다는 점을 감안하여, 3명의 폐경기 주위 여성들은 이번 분석에 포함하였다. 평균값의 비교는 두가지 방법으로 분석하였다. 하나는 각 참가자의 1차 기초 샘플과 2차 간섭후의 값들 사이의 차이값을 구하였다. 그리고 그 차이값의 평균이 두 그룹간에 차이가 있는지를 독립 t-test (independent t-test)로 유의성을 확인하였다. 다른 하나는 2주동안 간섭한 2차 샘플의 평균도 홍삼군과 위약군간에 공분산분석 (analysis of covariance: ANCOVA)을 통해 비교하였다. 분석은 SPSS 18.0 (SPSS Inc. IL, USA)으로 진행하였다. $P<0.05$를 통계의 유의한 수준으로 $P<0.1$을 통계적으로 유의한 경향성이 있다고 간주하였다.

일반적인 회귀분석과정에서와 같이, 여성호르몬, 인슐린 그리고 인슐린저항성수치 (homeostasis model of insulin resistance : HOMA-IR) 변수 중에서, 평균값에서 표준편차의 3배 이상 차이가 나는 값들은 이상치 (outlier)로 간주하고 평균분석에서 제외하였다. 인슐린의 경우, 홍삼군에서 1명 그리고 위약군에서 2명이 제외되었다. HOMA-IR 지수는 다음과 같은 방법으로 계산되었다.

$$\text{HOMA-IR index} = \frac{fasting\,serum\,glucose\,(mmol/L) \times r fasting\,serum\,insulin\,(\mu U/ml)}{22.5}$$

몇가지 호르몬들 중에서 측정되지 않은 53명의 참가자들과, 기기의 검출한계에 의해 측정되지 못한 값들은 무작위 결측치로 간주하였다. 그 다음에 Mplus 6.11 (Muthén & Muthén, CA, USA)를 이용하여 다중대체법 (multiple imputation)으로 각각 93명의 데이터가 포함된 총 10개의 데이터 세트를 만들어냈다. 이때 새로 생성된 10개의 데이터 세트는 다시 경로분석 과정에 이용되었다. Table 3-2 에는 “혈당”경로모형에 사용된 변수들의 결측치의 수와 그 비율을 제시하였다.

Table 3-2. Missing value in “blood glucose” path model

Category	Marker	Group	Raw data	Missing value	Ratio of missing value (%)
HPA axis	CRH	Placebo	20	24	54.5
		FRG	20	29	59.1
	ADH	Placebo	20	24	54.5
		FRG	20	29	59.1
	ACTH	Placebo	44	0	0.00
		FRG	49	0	0.00
	Cortisol	Placebo	44	0	0.00
		FRG	49	0	0.00
	Free Cortisol	Placebo	41	3	6.80
		FRG	47	2	4.10
HPG axis	LH	Placebo	20	24	54.5
		FRG	20	29	59.1
	FSH	Placebo	20	24	54.5
		FRG	20	29	59.1
	Estradiol	Placebo	19	25	56.8
		FRG	19	30	61.2
HPS axis	GH	Placebo	20	24	54.5
		FRG	20	29	59.1
	DHEAS	Placebo	44	0	0.00
		FRG	49	0	0.00
	Aldosterone	Placebo	20	24	54.5
		FRG	20	29	59.1
Diabetes related markers	Insulin	Placebo	43	1	2.30
		FRG	48	1	2.00
	Glucose	Placebo	44	0	0.00
		FRG	49	0	0.00
	HbA1c	Placebo	44	0	0.00
		FRG	49	0	0.00
	HOMA-IR	Placebo	43	1	2.30
		FRG	48	1	2.00

ACTH, Adrenocorticotropic hormone; CRH, Corticotropin-releasing hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone-sulfate; E2, estradiol; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone

3.3 Results

3.3.1 Anthropometric data

Table 3-3은 홍삼군 49명과 위약군 44명의 참가자의 인체계측적인 변수들을 제시한 것이다. 홍삼군과 위약군 사이에 연령, 몸무게, 키, 체질량지수 (body mass index: BMI), 허리둘레 그리고 엉덩이둘레에서 유의한 차이가 없었다.

Table 3-3. Anthropometric parameters of 93 participants (2nd)

	Placebo group (44명)	FRG group (49명)
Age (yrs.)	58.4 ± 5.9	58.4 ± 5.5
Weight (kg)	57.6 ± 6.6	57.1 ± 6.7
Height (cm)	156.5 ± 5.3	157.7 ± 5.3
BMI (kg/m^2)	23.6 ± 2.5	22.9 ± 2.4
Waist circumstance (cm)	33.4 ± 2.3	32.8 ± 2.4
Hip circumstance (cm)	37.4 ± 2.0	37.0 ± 1.9
Waist/Hip	0.9 ± 0.0	0.9 ± 0.0

Data are mean ± standard deviation values, BMI, body mass index

Table 3-4는 연령, 키, 몸무게, 그리고 BMI를 기준으로 하여 1대 1로 matching한 후 각 그룹별로 20명을 추출한 후의 신체계측치를 나타낸 표이다.

Table 3-4. Anthropometric parameters of 40 participants after matching

	Placebo group (20명)	FRG group (20명)	P*
Age (yrs.)	59.3 ± 4.8	59.3 ± 4.6	0.97
Weight (kg)	55.4 ± 4.4	56.7 ± 5.9	0.52
Height (cm)	155.9 ± 6.0	158.6 ± 4.4	0.11
BMI (kg/m^2)	22.8 ± 1.6	22.5 ± 1.8	0.59

* Independent t-test

3.3.2 Mean comparison

Table 3-5는 2주 동안 간섭한 이후의 2차 샘플로부터 측정된 변수들의 평균값과, 2차 샘플에서 1차 샘플의 차이값을 구한 후, 그룹간에 그 차이값의 평균을 나타낸 것이다. 2주간 간섭후의 2차 샘플로부터의 결과에서 성장호르몬 (growth hormone: GH, 1.8 vs. 0.9 ng/ml), estradiol (E2, 18.3 vs. 14.5 pg/ml) 그리고 dehydroepiandrosterone-sulphate (DHEAS, 66.2 vs. 65.2 μg/dl)에서 홍삼군이 $P<0.1$ 수준에서 높은 수치를 나타냈다.

당뇨관련 마커에서 인슐린 (6.2 vs. 6.4 μU/ml), 당화헤모글로빈 (glycosylated haemoglobin: HbA1c, 5.70 vs. 5.77%) 그리고 HOMA-IR (1.36 vs. 1.42) 지수는 홍삼군이 위약군보다 낮은 수치를 보였다.

2차 샘플에서 1차 샘플의 값을 뺀 차이값을 구하고, 그 차이값의 평균을 그룹간에 비교하였을 때에 E2 (1.0 vs. -7.4 pg/ml), DHEAS (0.6 vs. -6.2 μg/dl)가 홍삼군에서 위약군보다 높았으며, 인슐린 (-0.2 vs. 1.0 μU/ml), HbA1c (0.06 vs. 0.09%), 그리고 HOMA-IR (-0.09 vs. 0.17)는 홍삼군에서 낮았다 (Table 3-5).

각 그룹에서 1차와 2차 값을 이용하여 paired t-test를 사례별 결측치제거 옵션을 선택한 후 시행하였다. 그 결과 홍삼군과 위약군에서

각기 다른 몇가지 변수들이 유의한 통계값의 차이를 보이고 있었으나 특정한 경향이나 선행연구들의 결과들과는 관련이 없었다. 이러한 결과에 대한 이유들 중에는 다음의 두가지가 포함될 수 있다. 첫째, 본 실험이 8월 중순에서 말까지, 한여름의 휴가기간을 전후로 한 2주간 진행되었기에 음식섭취의 종류와 환경이 달라질 수 있었다. 둘째, 생화학적 변수들의 측정이 1차 샘플과 2차 샘플의 동시에 진행되지 않은 것으로 인하여 측정조건이 매우 민감한 변수들은 차이가 났기 때문일 수 있다. 따라서 본 논문에서는 paired t-test를 통한 평균값의 그룹별로 비교한 결과를 나타내지 않았다.

Table 3-5. Mean comparison of hormones and diabetes markers between groups

Category	Marker	Group	2nd sample		Δ2nd-1st	
			Mean ± S.D*1(n)	P	Mean*2	P
HPA axis	CRH (ng/ml)	Pbo.	0.2 ± 0.1 (20)	0.17	0.0	0.04
		FRG	0.5 ± 1.0 (20)		0.2	
	ADH (AVP) (pg/dl)	Pbo.	0.8 ± 0.2 (20)	0.93	-0.1	0.45
		FRG	0.8 ± 0.2 (20)		0.0	
	ACTH (pg/ml)	Pbo.	20.4 ± 10.1 (44)	0.34	2.3	0.52
		FRG	22.7 ± 11.8 (49)		0.9	
	Cortisol (μg/dl)	Pbo.	11.2 ± 3.5 (44)	0.52	-0.2	0.13
		FRG	10.8 ± 3.8 (49)		0.9	
	Free Cortisol (μg/day)	Pbo.	22.5 ± 15.8 (41)	0.96	-5.5	0.32
		FRG	19.8 ± 14.0 (47)		-2.1	
HPG axis	LH (mIU/ml)	Pbo.	38.8 ± 14.8 (20)	0.30	1.0	0.56
		FRG	30.3 ± 9.0 (20)		-0.3	
	FSH (mIU/ml)	Pbo.	74.0 ± 24.3 (20)	0.68	0.1	0.44
		FRG	68.0 ± 18.5 (20)		2.4	
	Estradiol (pg/ml)	Pbo.	14.5 ± 7.3 (19)	0.06	-7.4	0.06
		FRG	18.3 ± 7.3 (19)		1.0	
HPS axis	GH (ng/ml)	Pbo.	0.9 ± 1.2 (20)	0.06	-0.4	0.50
		FRG	1.8 ± 1.4 (20)		-0.1	
	DHEAS (μg/dl)	Pbo.	65.2 ± 31.4 (44)	0.05	-6.2	0.03
		FRG	66.2 ± 29.1(49)		0.6	
	Aldosterone (ng/dl)	Pbo.	6.2 ± 3.5 (20)	0.12	0.2	0.48
		FRG	8.4 ± 3.6 (20)		0.9	
Diabetes related markers	Insulin (μU/ml)	Pbo.	6.4 ± 3.6 (43)	0.04	1.0	0.01
		FRG	6.2 ± 2.9 (48)		-0.2	
	Glucose (mg/dl)	Pbo.	89.6 ± 6.8 (44)	0.31	2.2	0.85
		FRG	87.4 ± 7.1 (49)		2.5	
	HbA1c (%)	Pbo.	5.8 ± 0.3 (44)	0.04	0.1	0.06
		FRG	5.7 ± 0.3(49)		0.1	
	HOMA-IR	Pbo.	1.4 ± 0.8 (43)	0.06	0.2	0.03
		FRG	1.4 ± 0.7 (48)		-0.1	

Data expressed as a mean SD. *1: ANCOVA, *2: Independent t-test). (n): sample number. AVP (ADH)

3.3.3 The results of path Model

본 연구에서 만들어진 모델에서 모든 경로들은 저널등을 통하여 선행적으로 보고된 연구들의 결과에 근거하여 설정되었으며, 통계적 상관의 결과에 근거해서만 이루어지지 않았다 [20] 이들 경로설정을 위한 선행연구들의 출처는 Table 3-6에 제시하였다.

경로분석은 다변량분석을 위해 통계적으로 유용한 분석법으로 동시에 다양한 변수들 사이의 인과적 관계를 분석할 수 있다. 뿐만 아니라 다중그룹 경로분석은 두 그룹 이상의 사이에 경로계수들의 비교를 가능하게 한다. 즉, 두 그룹의 경로계수의 차이에 대한 유의성을 통계적으로 확인할 수 있다. 그러므로 다중그룹 경로분석은 호르몬들과 당뇨관련 변수들 사이의 복잡한 상호관련성을 분석할 수 있는 유용한 도구가 될 수 있다. 본 다중그룹 경로모형의 분석에서 중요한 목적들 중 하나는 두 그룹 사이에 경로계수의 차이에 대한 유의성 여부를 확인하는 것이었다.

이를 위하여 경로계수들의 동등성 검정은 다음의 두 단계로 진행되었다. 첫째, 보고된 선행연구들에 근거하여 기저모형을 만들었다. 그런 다음에 두 그룹간의 경로들을 하나씩 동일화제약을 하였다. 기저모형의 경로계수와 Wald test의 결과는 Table 3-7에, 그리고 동일화제약을 한 이후의 최종모형은 Table 3-8과 Fig. 3-3에 제시하였다.

Table 3-6. Precedent studies in “blood glucose" path model

Path	Contents	Ref.
ACTH → Aldosterone	When ACTH was treated to rat, the level of 11 beta-hydroxylase, mRNA in the adrenal gland and in the cerebral cortex was increased, and aldosterone synthease mRNA increased in all central nerves except the cerebral cortex, and decreased in the adrenal gland.	[21]
ACTH → Cortisol	ACTH was released after the administration of CRH and followed by the release of GCs.	[22]
ACTH → DHEAS	When ACTH was treated, the DHEA in serum and brain was increased.	[23]
ADH → ACTH	In a study of sheep, CRH and ADH (AVP) stimulated the release of ACTH.	[24]
Aldosterone → Glucose	When aldosterone was given to mice, the level of blood glucose was increased. When aldosterone was administered to liver cells, the promoter activity of glucose-6-phosphatase was increased.	[25]
Cortisol → Free cortisol	In normal circulatory condition, 80~90% of cortisol strongly binded with CBG, 10~15% of the cortisol binded with low affinity, and 5~10% was unbinding free form.	[26]
Free cortisol → Glucose	The gene of G6Pase has two glucocorticoid response elements. When glucocorticoid was administrated to a liver cell in vivo, the activity of G6Pase was increased by 40%.	[27]
CRH → ACTH	ACTH was released after the administration of CRH	[22]
CRH → DHEAS	When CRH was treated, the DHEA in serum and brain was increased.	[23]
DHEAS → Aldosterone	The administration of DHEAS to rats increased the level of aldosterone.	[28]
DHEAS → Cortisol	When DHEAS was treated to rats, the level of cortisol showed a significant increase	[28]

Table 3-6. Precedent studies in the path model (continue)

Path	Contents	Ref.
DHEAS → E2	When DHEAS was ingested by a human, the level of serum E2 and IGF-1 was increased.	[29]
E2 → GH	When the level of estrogen increased during the menstrual cycle, the level of GH also increased.	[30]
FSH → E2	FSH receptor was expressed in follicle cells only, FSH was a decisive element for estrogen production in the ovary.	[31]
FSH → LH	Administration of FSH suppressed the release of LH in the hypothalamus and was independently mediated by ovary dose dependently.	[32]
GH → Glucose	When GH was treated, the mean level of blood glucose was increased.	[33]
GH → HbA1c	The administration of growth hormone increased fasting blood glucose in patient deficient in growth hormone.	[34]
Glucose → HbA1c	Glycated hemoglobin represents the mean value of blood glucose	[1]
Insulin → Glucose	Insulin decreased the activity of G6Pase and the level of mRNA.	[35]
LH → E2	LH stimulated the production of estrogen in the ovary.	[36]

ACTH, Adrenocorticotropic hormone; CRH, Corticotropin-releasing hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone-sulfate; E2, estradiol; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone

비표준화경로계수는 원인변수가 한 단위 증가할 때 결과변수의 변화값을 의미한다. 예를 들어, Table 3-7에 제시한 비제약 기저모형의 결과들에서, 통계적 유의도를 감안하지 않는다면, E2가 1 pg/ml 증가할 때, GH가 홍삼군에서는 0.160 ng/ml (P=0.52) 증가하며 반면, 위약군에서는 0.301 ng/ml (P=0.02) 감소한다.

하나의 결과변수에 대한 몇 개의 원인변수들간의 효과크기를 비교하기 위해서는 표준화 경로계수를 이용한다. 표준화 경로계수는 원인변수가 1표준편차만큼 변화할 때, 결과변수는 표준화경로계수의 수치만큼 변화한다는 의미이다. 예를 들어 Table 3-7에서 위약군에서, 알도스테론→혈당 경로의 표준화경로계수는 0.604 (P=0.000)이고, GH→혈당 경로의 표준화경로계수는 -0.398 (P=0.031)이다. 즉, 위약군에서 알도스테론이 1표준편차만큼 증가할 때 (3.5 ng/dl), 혈당은 표준편차의 0.604 배 (6.80 mg/dl × 0.604 = 4.11 mg/dl)만큼 증가한다. 반면 위약군에서 GH가 1 표준편차 (1.2 ng/ml)만큼 증가할 때 혈당은 혈당의 표준편차의 0.398배 (6.80 mg/dl × 0.398 = 2.71 mg/dl)만큼 감소한다 (Table 3-7).

기저모형을 만든 후, 그룹간의 경로들의 차이가 있는지를 알아보기 위해, 경로마다 그룹간 동일화제약을 하고 Wald 테스트를 시행하였다. 이것은 동일화제약을 하기 전의 카이자승값과 동일화제약을 한 이후의 카이자승값이 차이를 비교하는 것으로, 그 차이가 3.84보다 크면 그룹간 동일화가설은 기각되며 두 그룹간의 경로가 통계적으로 유의한 차이가 있음을 의미한다.

알도스테론에서 혈당에 대한 경로에서, 두 그룹간의 경로계수를 동일화제약을 하고 Wald 테스트를 하였을 때 그 값은 6.90이었고 P값은 0.009였다. 그러므로 두 그룹간의 경로계수는 유의한 차이가 있었다 (Table 3-7). 이상과 같은 동일화제약과 Wald 테스트를 한 이후의 결과들에 근거하여 동일화제약을 한 최종모형이 만들어졌고 그 결과들을 Fig. 3-4와 Table 3-9에 제시하였다. 최종모형의 모형적합도는 RMSEA가 0.00이었고 CFI가 1.00 로 우수하였다.

Table 3-7. The path coefficients of unconstrained baseline model and Wald test

Path		Group	Unstandardized Estimate		Standardized Estimate		Wald test
From	To		Estimates ± S.E.	P	Estimates ± S.E.	P	$\chi^2_D(1)$
CRH	ACTH	Pbo.	0.141 ± 0.723	0.845	0.059 ± 0.271	0.827	0.04
		FRG	0.324 ± 0.499	0.516	0.169 ± 0.252	0.503	
CRH	DHEAS	Pbo.	0.356 ± 0.317	0.261	0.215 ± 0.189	0.254	0.05
		FRG	0.275 ± 0.164	0.095	0.279 ± 0.161	0.083	
ACTH	DHEAS	Pbo.	-0.015 ± 0.097	0.879	-0.024 ± 0.156	0.879	0.69
		FRG	0.086 ± 0.070	0.220	0.175 ± 0.141	0.214	
ADH	ACTH	Pbo.	-0.041 ± 0.357	0.908	-0.024 ± 0.256	0.924	0.06
		FRG	0.071 ± 0.280	0.800	0.056 ± 0.217	0.794	
ACTH	Cortisol	Pbo.	0.413 ± 0.114	0.000	0.480 ± 0.116	0.000	0.03
		FRG	0.441 ± 0.098	0.000	0.547 ± 0.103	0.000	
DHEAS	Cortisol	Pbo.	-0.048 ± 0.183	0.794	0.035 ± 0.132	0.793	0.19
		FRG	0.068 ± 0.198	0.730	0.042 ± 0.121	0.730	
Cortisol	free Cortisol	Pbo.	0.373 ± 0.169	0.028	0.316 ± 0.136	0.020	2.30
		FRG	0.051 ± 0.128	0.691	0.057 ± 0.142	0.690	
ACTH	Aldo	Pbo.	-0.289 ± 0.148	0.050	-0.398 ± 0.171	0.020	0.51
		FRG	-0.080 ± 0.140	0.566	-0.125 ± 0.215	0.561	
DHEAS	Aldo	Pbo.	0.031 ± 0.251	0.902	0.039 ± 0.213	0.855	0.16
		FRG	0.250 ± 0.266	0.347	0.182 ± 0.189	0.335	
FSH	E2	Pbo.	-0.345 ± 0.229	0.131	-0.409 ± 0.271	0.132	1.28
		FRG	-0.451 ± 0.377	0.231	-0.387 ± 0.295	0.190	
FSH	LH	Pbo.	0.375 ± 0.192	0.050	0.407 ± 0.205	0.048	0.00
		FRG	0.361 ± 0.189	0.050	0.456 ± 0.237	0.054	
LH	E2	Pbo.	0.203 ± 0.212	0.338	0.220 ± 0.216	0.310	0.30
		FRG	-0.061 ± 0.454	0.893	-0.062 ± 0.294	0.834	
DHEAS	E2	Pbo.	0.058 ± 0.301	0.847	0.062 ± 0.229	0.786	0.33
		FRG	0.383 ± 0.307	0.213	0.238 ± 0.174	0.171	
E2	GH	Pbo.	-0.301 ± 0.130	0.022	-0.395 ± 0.169	0.018	2.42
		FRG	0.160 ± 0.249	0.521	0.178 ± 0.253	0.481	
Insulin	Glucose	Pbo.	0.211 ± 0.175	0.227	0.153 ± 0.132	0.246	0.10
		FRG	0.237 ± 0.187	0.205	0.230 ± 0.172	0.182	

Table 3-7. The Path Coefficients of unconstrained baseline model and Wald test (continued)

Path		Group	Unstandardized Estimate		Standardized Estimate		Wald test
From	To		Estimates ± S.E.	P	Estimates ± S.E.	P	$\chi^2_D(1)$
GH	Glucose	Pbo.	-0.775 ± 0.425	0.069	-0.398 ± 0.184	0.031	0.60
		FRG	-0.144 ± 0.282	0.609	-0.143 ± 0.250	0.566	
free Cortisol	Glucose	Pbo.	0.232 ± 0.140*	0.098	0.200 ± 0.115	0.081	0.56
		FRG	0.036 ± 0.228	0.876	0.032 ± 0.199	0.872	
Aldo	Glucose	Pbo.	1.005 ± 0.348	0.004	0.604 ± 0.142	0.000	6.90 ***
		FRG	-0.180 ± 0.370	0.626	-0.147 ± 0.295	0.618	
Glucose	HbA1c	Pbo.	0.545 ± 0.152	0.000	0.560 ± 0.134	0.000	0.09
		FRG	0.511 ± 0.167	0.002	0.512 ± 0.157	0.001	
GH	HbA1c	Pbo.	-0.358 ± 0.299	0.231	-0.192 ± 0.160	0.229	7.81 ***
		FRG	0.701 ± 0.157	0.000	0.628 ± 0.144	0.000	
Glucose	HOMA	Pbo.	0.168 ± 0.014	0.000	0.230 ± 0.055	0.000	0.75
		FRG	0.150 ± 0.010	0.000	0.160 ± 0.026	0.000	
Insul	HOMA	Pbo.	0.936 ± 0.016	0.000	0.929 ± 0.032	0.000	2.26
		FRG	0.909 ± 0.009	0.000	0.950 ± 0.029	0.000	

S.E.: standard error. Pbo. : plabeco

Table 3-8은 비제약 기저모형에서 종속변수들의 결정계수 (R-square: r^2)를 나타낸 것으로 각 종속변수의 분산 (변화)을 원인변수들이 설명하는 비율을 나타낸다. 예를 들어, 위약군에서 glucose의 결정계수는 0.612 (P=0.002)였는데, 이는 glucose의 인슐린, 성장호르몬, 유리 코티졸 그리고 알도스테론이 glucose의 분산중 61.2%를 설명할 수 있다는 의미이다. Glucose에 대한 원인변수들인, 인슐린, 성장호르몬, 유리 코티졸, 그리고 알도스테론 각각의 설명력은 glucose에 대한 표준화경로계수의 제곱을 하면 되며, 그 총합은 glucose의 결정계수가 된다. 예를 들어 Table 3-8에서 인슐린→glucose (0.153^2=0.023), 성장호르몬→glucose (-0.398^2=0.158), 유리 코티졸→glucose (0.200^2=0.04) 그리고 알도스테론→glucose (0.604^2=0.365)이고 이들을 모두 합하면 0.023+0.158+0.04+0.365=0.586이 되어 Table 3-8에 제시된 glucose의 R-square 값인 0.612와 비슷한 값을 얻게 된다.

Table 3-8. R-square of unconstrained baseline model

Variable	Group	Estimates ± S.E.	Est./S.E.	Two-Tailed P-value
Cortisol	Pbo.	0.231 ± 0.111	2.073	0.038
	FRG	0.311 ± 0.110	2.831	0.005
Free Cortisol	Pbo.	0.100 ± 0.086	1.162	0.245
	FRG	0.003 ± 0.016	0.199	0.842
LH	Pbo.	0.187 ± 0.171	1.093	0.274
	FRG	0.244 ± 0.195	1.253	0.210
E2	Pbo.	0.215 ± 0.164	1.311	0.190
	FRG	0.316 ± 0.186	1.696	0.090
ACTH	Pbo.	0.049 ± 0.071	0.691	0.490
	FRG	0.065 ± 0.103	0.636	0.525
GH	Pbo.	0.166 ± 0.136	1.225	0.221
	FRG	0.068 ± 0.110	0.619	0.536
Glucose	Pbo.	0.612 ± 0.198	3.082	0.002
	FRG	0.202 ± 0.158	1.276	0.202
HOMA-IR	Pbo.	0.991 ± 0.005	181.743	0.000
	FRG	0.997 ± 0.001	742.575	0.000
HbA1c	Pbo.	0.453 ± 0.167	2.722	0.006
	FRG	0.547 ± 0.142	3.841	0.000
Aldosterone	Pbo.	0.193 ± 0.148	1.306	0.191
	FRG	0.071 ± 0.098	0.725	0.469
DHEAS	Pbo.	0.056 ± 0.081	0.686	0.493
	FRG	0.128 ± 0.101	1.259	0.208

Table 3-9. The path coefficients of equality constrained final model

Path		Group	Unstandardized Estimate		Standardized Estimate	
From	To		Estimate ± S.E.	P	Estimate ± S.E.	P
CRH	ACTH	Pbo.	0.299 ± 0.395	0.449	0.109 ± 0.147	0.456
		FRG			0.158 ± 0.205	0.441
CRH	DHEAS	Pbo.	0.297 ± 0.138	0.032	0.177 ± 0.088	0.043
		FRG			0.303 ± 0.136**	0.026
ACTH	DHEAS	Pbo.	0.054 ± 0.057	0.339	0.087 ± 0.091	0.337
		FRG			0.111 ± 0.116	0.341
ADH	ACTH	Pbo.	0.044 ± 0.230	0.847	0.034 ± 0.167	0.841
		FRG			0.034 ± 0.181	0.850
ACTH	Cortisol	Pbo.	0.433 ± 0.074	0.000	0.498 ± 0.085	0.000
		FRG			0.542 ± 0.086	0.000
DHEAS	Cortisol	Pbo.	0.009 ± 0.134	0.949	0.006 ± 0.096	0.949
		FRG			0.005 ± 0.083	0.949
Cortisol	free Cortisol	Pbo.	0.167 ± 0.106	0.113	0.147 ± 0.096	0.124
		FRG			0.180 ± 0.110	0.102
ACTH	Aldo	Pbo.	-0.182 ± 0.098	0.062	-0.262 ± 0.132	0.047
		FRG			-0.262 ± 0.129	0.043
DHEAS	Aldo	Pbo.	0.140 ± 0.163	0.390	0.132 ± 0.149	0.376
		FRG			0.106 ± 0.122	0.382
FSH	Estradiol	Pbo.	-0.374 ± 0.174	0.032	-0.427 ± 0.206	0.038
		FRG			-0.367 ± 0.181	0.043
FSH	LH	Pbo.	0.378 ± 0.127	0.003	0.412 ± 0.160	0.010
		FRG			0.475 ± 0.180	0.008
LH	Estradiol	Pbo.	0.105 ± 0.185	0.572	0.104 ± 0.180	0.564
		FRG			0.079 ± 0.142	0.575
DHEAS	Estradiol	Pbo.	0.220 ± 0.178	0.218	0.175 ± 0.141	0.213
		FRG			0.155 ± 0.128	0.227
Estradiol	GH	Pbo.	-0.131 ± 0.121	0.280	-0.187 ± 0.175	0.286
		FRG			-0.122 ± 0.109	0.266
Insulin	Glucose	Pbo.	0.221 ± 0.119	0.063	0.200 ± 0.110	0.068
		FRG			0.212 ± 0.115	0.066
GH	Glucose	Pbo.	-0.283 ± 0.210	0.178	-0.178 ± 0.131	0.174
		FRG			-0.255 ± 0.185	0.168
free Cortisol	Glucose	Pbo.	0.121 ± 0.109	0.266	0.128 ± 0.115	0.268
		FRG			0.106 ± 0.095	0.264

Table 3-9. The path coefficients of equality constrained final model (continued)

Path		Group	Unstandardized Estimate		Standardized Estimate	
From	To		Estimate ± S.E.	P	Estimate ± S.E.	P
Aldo	Glucose	Pbo.	0.695 ± 0.293	0.018	0.501 ± 0.181	0.006
		FRG	-0.110 ± 0.352	0.754	-0.104 ± 0.282	0.713
Glucose	HbA1c	Pbo.	0.514 ± 0.123	0.000	0.473 ± 0.107	0.000
		FRG			0.538 ± 0.130	0.000
GH	HbA1c	Pbo.	-0.354 ± 0.290	0.223	-0.203 ± 0.161	0.208
		FRG	0.697 ± 0.151	0.000	0.655 ± 0.149	0.000
Glucose	HOMA	Pbo.	0.154 ± 0.009	0.000	0.176 ± 0.028	0.000
		FRG			0.167 ± 0.026	0.000
Insul	HOMA	Pbo.	0.916 ± 0.008	0.000	0.944 ± 0.018	0.000
		FRG			0.950 ± 0.018	0.000

S.E.: standard error, Pbo.: plabeco

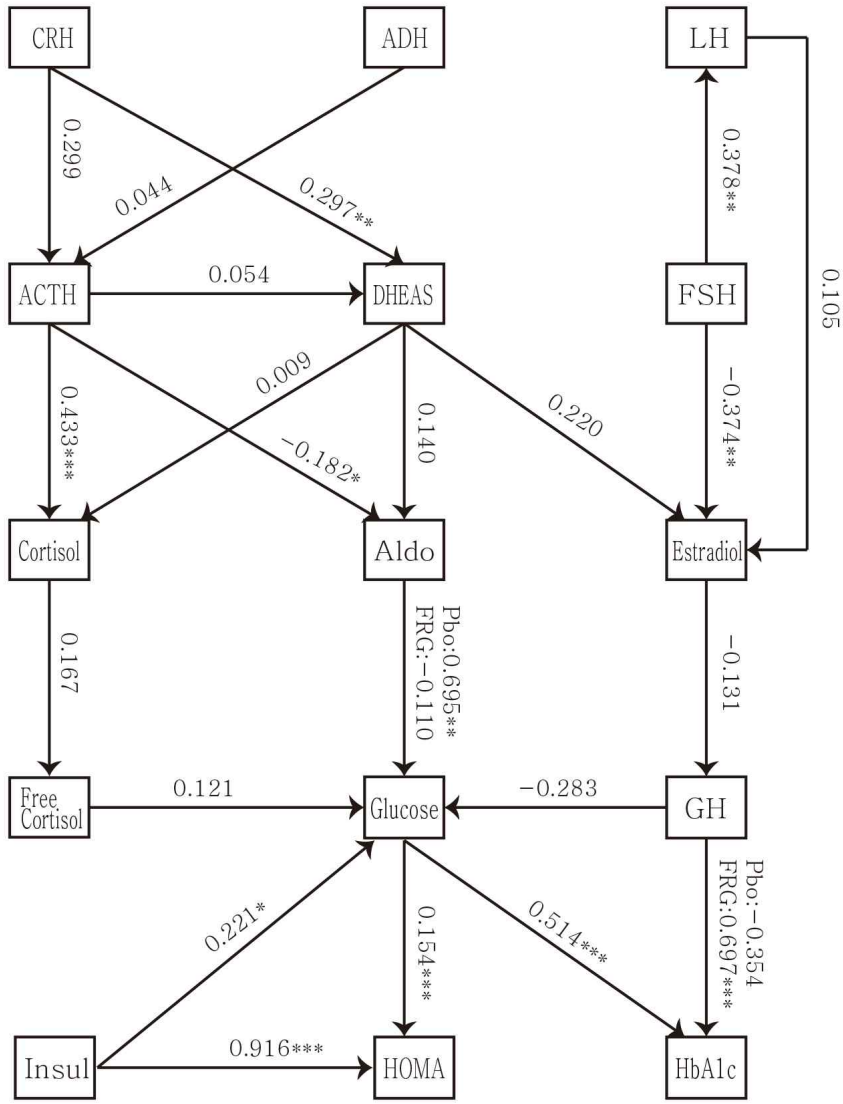


Fig 3-4. Final model of "blood glucose" model.

The numbers on the arrow line represent the unstandardized estimates of paths. Values are significantly different (* P<0.1, ** P<.05, *** P<.01), Pbo., placebo; ACTH, Adrenocorticotropic hormone; CRH, Corticotropin-releasing hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone-sulfate; E2, estradiol; FSH, follicle stimulating

hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone

3.4 Discussion

3.4.1 Hormones

본 연구에서 이용된 홍삼캡슐에서 가장 높은 비율의 진세노사이드는 CK와 Rg3이었으며 이들은 각각 GR과 ER의 리간드로 작용한다. 그러므로 본 연구에서 초점에 되는 호르몬들은 HPA축과 HPG축의 호르몬들이었다. 그리고 당뇨의 중심 변수들은 혈당과 당화혈색소, 인슐린 그리고 HOMA-IR이었다.

인체에서 DHEAS의 최대 생성시기는 20대에서 30대 사이이며, 이후로 매년 2%씩 감소하여 70대가 되면 최대치의 10 내지 20%가 된다 [37]. 연구들은 DHEAS, E2 그리고 GH가 연속적인 인과관계를 가지고 있다고 보고하였다. Pluchino와 동료들은 DHEAS를 폐경기여성에게 투여 하였을 때, 여성호르몬의 농도가 증가한다고 보고 하였고 [38], 이는 본 연구에서 동일화제약을 한 상태에서 DHEAS의 E2에 대한 경로계수가 0.307로 양의 값인 것과 일치하는 보고들이었으나 그 P값은 0.218로 낮았다 (Fig. 3-4).

연구의 보고에 의하면 월경기간 동안 여성호르몬 수치가 증가할 때, GH의 수치도 증가한다 [30]. 본 연구의 기초모형에 의하면 홍삼군에서 E2에서 GH에 대한 양의 경로계수 0.160과 일치하였으나 P값이 낮았으며, 반면 위약군에서는 그 경로계수가 -0.301로 음의 값으로 보고들과 일치하지 않았으나 P값은 0.022로 유의도가 높았다 (Table 3-7).

3.4.2 Hormones and blood glucose

연구들은 GH의 수치가 인슐린저항성의 발생과 음의 상관관계가 있다고

보고하였다. Annamaria 등은 GH를 처리한 후에, 대상자들에게서 인슐린 저항성이 유의하게 감소하였다고 보고하였다 [39]. Table 3-9의 최종모형에서 GH의 혈당에 대한 경로계수는 음의 값 (-0.283)이었다.

Nam 등은 홍삼군과 위약군 사이에 GH의 수치에 차이가 없었으나, 유산소운동과 함께 홍삼을 섭취하면 GH의 수치가 유의하게 증가함을 발견하였다 [40]. Nam의 연구는 유산소 운동을 함께 하였다는 점에서 해석상에 제한점이 있다. 본 연구의 Table 3-7의 비제약 기초모형의 E2→GH의 비표준화 경로계수는 위약군이 -0.301이었고 P=0.022였으나, 홍삼군에서는 그 값이 양으로 바뀌어 0.160이었고 P=0.521이었다.

Salpeter와 그 동료들은 메타분석에서 폐경기 이후여성에서 호르몬대체요법은 인슐린저항성 (HOMA-IR)을 12.9% 감소시키고, 당뇨의 위험을 35.8% 감소시켰다고 보고하였다 [41]. E2, GH 그리고 DHEAS는 노화와 폐경기이후 기간과 함께 점차 감소하기에, 비록 그룹간 비교에서 평균의 차이가 매우 작을지라도, 홍삼군에서 이들 호르몬들의 차이의 누적효과는 당뇨진행에서 잠재적인 효과가 있을 가능성이 있다.

Vuksan과 그 동료들은 90명의 잘 조절된 제 2형 당뇨 환자에게서 홍삼섭취가 당과 인슐린 조절을 개선하였다고 보고하였다. 홍삼섭취는 공복혈장의 인슐린을 8 pmol/L 그리고 75g-OGTT-plasma glucose를 8~11% 감소시키고, 반면 fasting-HOMA-insulin sensitive index는 33%를 증가시켰다고 보고하였다 [15]. 본 연구에서 ANCOVA로 2차 샘플의 평균을 비교하였을 때, 인슐린과 HOMA-IRs의 수치가 홍삼군에서 유의하게 낮았다. 그리고 2차와 1차 샘플 사이의 차이를 독립 t-test로 분석하였을 때, 홍삼군에서 $p<0.05$기준에서 유의하게 낮았다 (Table 3-5). Vogeser 등은 공복상태에서 HOMA-IR 의 수치는 인슐린농도의 높은 변동율 때문에 혈당수치보다는 인슐린에 의해 주로 결정된다고 보고하였다. 본 기초모형에서, HOMA-IR에 대한 인슐린과 혈당의 기여비율은 표준화경로계수에 의하면 홍삼군이 각각 0.950과 0.160 이었고 위약군은 0.929와 0.230이었다 (Table 3-7).

임상적으로 당화혈색소의 수치는 두달이나 세달 동안의 혈당의

평균적인 농도를 반영한다. 미국 당뇨협회에서는 당화혈색소를 당뇨의 진단 기준 중 하나로 고려하고 있다. 대개, 당화혈색소는 40세 이후로 매년 0.1% 씩 증가한다 [42]. 본 연구에서 2차와 1차 샘플 사이의 차이값은 위약군에 비해 홍삼군에서 유의하게 낮았다.

3.4.3 Aldosterone and blood glucose

본 연구의 경로분석에 의하면, 홍삼군의 혈당감소에서 가장 큰 인자는 알도스테론이었다. 알도스테론은 GLUT4와 GLUT2와 관련한 미네랄코르티코이드 수용체 의존성과, 인슐린 수용체와 관련한 MR-비의존성 메카니즘, 두가지 경로를 통해 혈당을 조절한다 [43]. GLUT4는 골격근과 지방조직에서 고도로 발현되는 당 이동인자이다 [44]. 인슐린이 세포를 자극할 때 세포질에 있던 GLUT4는 세포막으로 이동하고, 세포막을 가로질러 당이 이동할 수 있도록 한다. 그러므로, GLUT4의 기능손상은 제2형 당뇨혼자들에게서 보듯이 인슐린 저항성의 중요한 원인이 된다 [45].

연구들의 보고에 의하면 알도스테론을 rats에 처리할 때, 근육세포에서 GLUT4 단백질은 급격히 감소하며, 반면, 글루코코르티코이드를 처리하면 GLUT4의 발현은 증가한다 [46]. GLUT4에 대한 알도스테론의 효과가 MR-MR 동형이합체와 MR-GR 이형이합체와 관련이 있기에, GR의 리간드인 코티졸의 수치는 GLUT4의 조절 메카니즘과 관련이 있다. Huang과 그 동료들은 CK나 Rg1을 지방 세포주에 처리하였을 때, GLUT4 mRNA의 발현과 당 흡수가 증가하였다고 보고하였다. 이것은 GLUT4의 세포내 vesicles에서 세포막으로의 이동이 증가하였음을 의미한다 [47].

알도스테론의 혈당조절에서 MR-비의존성 메카니즘은 인슐린 수용체의 유전자발현과 관련이 있다. 인슐린 수용체 유전자의 프로모터 부위에 있는 글루코코르티코이드 반응부위 (glucocorticoid response element: GRE)는 MR-MR 동형이합체나 MR-GR 이형이합체에 의해 조절된다. 알도스테론을 췌장세포주인 MIN6 beta세포들에게 처리하였을

때, 인슐린의 방출은 억제되었다 [48]. 알도스테론과 글루코코르티코이드가 GR과 MR을 공유하기에 [49], 진세노사이드 특히 CK가 알도스테론의 기능과 상호작용에 대한 추정이 가능하다. 이에 대한 추가 연구가 필요할 것이다.

3.5 Conclusion

평균값 비교에 의하면, 홍삼군에서 DHEAS, GH 그리고 E2수치는 증가하였고, 당화혈색소, 인슐린 그리고 HOMA-IR의 수치는 감소하였다.

본 연구의 경로모형의 가설에서, 선행연구들의 보고에 근거하여, DHEAS, E2, GH, 혈당 그리고 당화혈색소의 인과적 관계가 설정되었다. 본 경로모형분석에 의하면 홍삼군의 혈당감소효과는 알도스테론의 혈당에 대한 음의 효과와 관련이 있었다. 참가자들이 건강한 폐경기 이후 여성들이었음을 감안해 볼 때, 그리고 호르몬들이 미량으로 작용하며 과잉증과 결핍증이 나타남을 감안해 볼때, 위약군에 비해 홍삼군의 몇 가지 변수들의 작은 변화는 타당하고 일면 바람직할 수 있다. 그리고 홍삼군에서 몇 가지 변수들의 축적된 합은 폐경기 이후 여성들에서 당뇨발달의 위험에 대한 잠재적인 예방효과로서 무시할 수만은 없을 것이다.

홍삼의 효과는 진세노사이드의 처리 용량, 기간, 비율, 형태에 따라 변화할 수 있다. 그러므로, 홍삼효과의 보다 진전된 이해를 위해서, 단일 종류의 진세노사이드와 당뇨나 심혈관질환자 등을 포함한 건강하지 않은 대상자들에 대한 연구가 필요하다. 그리고 신체 외적인 소득수준과 같은 외부적인 환경조건들과의 관계에 대한 cross-talk연구가 필요할 것으로 보인다.

References

1. Alberti KG, Zimmet PZ: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med 1998, 15:539-553.
2. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J: Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus statement from the International Diabetes Federation. Diabet Med 2006, 23:469-480.
3. Royer M, Castelo-Branco C, Blumel JE, Chedraui PA, Danckers L, Bencosme A, Navarro D, Vallejo S, Espinoza MT, Gomez G, et al: The US National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III): prevalence of the metabolic syndrome in postmenopausal Latin American women. Climacteric 2007, 10:164-170.
4. Hildrum B, Mykletun A, Hole T, Midthjell K, Dahl AA: Age-specific prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation and the National Cholesterol Education Program: the Norwegian HUNT 2 study. BMC Public Health 2007, 7:220.
5. Royer M, Castelo-Branco C, Blumel JE, Chedraui PA, Danckers L, Bencosme A, Navarro D, Vallejo S, Espinoza MT, Gomez G, et al: The US National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III): prevalence of the metabolic syndrome in postmenopausal Latin American women. Climacteric 2007, 10:164-170.
6. Ruan X, Jin J, Hua L, Liu Y, Wang J, Liu S: The prevalence of metabolic syndrome in Chinese postmenopausal women and the optimum body composition indices to predict it. Menopause 2010, 17:566-570.

7. Petri Nahas EA, Padoani NP, Nahas-Neto J, Orsatti FL, Tardivo AP, Dias R: Metabolic syndrome and its associated risk factors in Brazilian postmenopausal women. Climacteric 2009, 12:431-438.
8. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, et al: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 2002, 288:321-333.
9. Prakash C, Johnson KA, Schroeder CM, Potchoiba MJ: Metabolism, distribution, and excretion of a next generation selective estrogen receptor modulator, lasofoxifene, in rats and monkeys. Drug Metab Dispos 2008, 36:1753-1769.
10. Chrousos GP: Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. Ann N Y Acad Sci 1998, 851:311-335.
11. Huang KC: Herbs with multiple action. In the pharmacology of Chinese herbs. Boca Raton, FL: CRC Press; 1999
12. Mintel: Complementary and alternative medicines-US-July 2008. Chicago, Ill.: Mintel Intl; 2008.
13. Yang CS, Ko SR, Cho BG, Shin DM, Yuk JM, Li S, Kim JM, Evans RM, Jung JS, Song DK, Jo EK: The ginsenoside metabolite compound K, a novel agonist of glucocorticoid receptor, induces tolerance to endotoxin-induced lethal shock. J Cell Mol Med 2008, 12:1739-1753.
14. Hien TT, Kim ND, Pokharel YR, Oh SJ, Lee MY, Kang KW: Ginsenoside Rg3 increases nitric oxide production via increases in phosphorylation and expression of endothelial nitric oxide

synthase: Essential roles of estrogen receptor-dependent PI3-kinase and AMP-activated protein kinase. Toxicol Appl Pharmacol 2010.

15. Vuksan V, Sung MK, Sievenpiper JL, Stavro PM, Jenkins AL, Di Buono M, Lee KS, Leiter LA, Nam KY, Arnason JT, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2008, 18:46-56.
16. Lee HJ, Lee YH, Park SK, Kang ES, Kim HJ, Lee YC, Choi CS, Park SE, Ahn CW, Cha BS, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves insulin sensitivity and attenuates the development of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Metabolism 2009, 58:1170-1177.
17. Yuan HD, Kim JT, Kim SH, Chung SH: Ginseng and diabetes: the evidences from in vitro, animal and human studies. J Ginseng Res 2012, 36:27-39.
18. Chrousos GP: Stress and disorders of the stress system. Nat Rev Endocrinol 2009, 5:374-381.
19. Chrousos GP, Kino T: Intracellular glucocorticoid signaling: a formerly simple system turns stochastic. Sci STKE 2005, 2005:pe48.
20. Kline RB: Principles and practice of structural equation modeling. 2nd edn: Guilford; 2005.
21. Ye P, Kenyon CJ, Mackenzie SM, Nichol K, Seckl JR, Fraser R, Connell JM, Davies E: Effects of ACTH, dexamethasone, and adrenalectomy on 11beta-hydroxylase (CYP11B1) and aldosterone synthase (CYP11B2) gene expression in the rat central nervous system. J Endocrinol 2008, 196:305-311.

22. Kling MA, DeBellis MD, O'Rourke DK, Listwak SJ, Geracioti TD, Jr., McCutcheon IE, Kalogeras KT, Oldfield EH, Gold PW: Diurnal variation of cerebrospinal fluid immunoreactive corticotropin-releasing hormone levels in healthy volunteers. J Clin Endocrinol Metab 1994, 79:233-239.
23. Torres JM, Ortega E: DHEA, PREG and their sulphate derivatives on plasma and brain after CRH and ACTH administration. Neurochem Res 2003, 28:1187-1191.
24. Matthews SG, Challis JR: CRH and AVP-induced changes in synthesis and release of ACTH from the ovine fetal pituitary in vitro: negative influences of cortisol. Endocrine 1997, 6:293-300.
25. Yamashita R, Kikuchi T, Mori Y, Aoki K, Kaburagi Y, Yasuda K, Sekihara H: Aldosterone stimulates gene expression of hepatic gluconeogenic enzymes through the glucocorticoid receptor in a manner independent of the protein kinase B cascade. Endocr J 2004, 51:243-251.
26. Lewis JG, Bagley CJ, Elder PA, Bachmann AW, Torpy DJ: Plasma free cortisol fraction reflects levels of functioning corticosteroid-binding globulin. Clin Chim Acta 2005, 359:189-194.
27. Lin B, Morris DW, Chou JY: Hepatocyte nuclear factor 1alpha is an accessory factor required for activation of glucose-6-phosphatase gene transcription by glucocorticoids. DNA Cell Biol 1998, 17:967-974.
28. Song L, Tang X, Kong Y, Ma H, Zou S: The expression of serum steroid sex hormones and steroidogenic enzymes following intraperitoneal administration of dehydroepiandrosterone (DHEA) in male rats. Steroids 2010,

75:213-218.

29. Jankowski CM, Gozansky WS, Kittelson JM, Van Pelt RE, Schwartz RS, Kohrt WM: Increases in bone mineral density in response to oral dehydroepiandrosterone replacement in older adults appear to be mediated by serum estrogens. J Clin Endocrinol Metab 2008, 93:4767-4773.

30. Ovesen P, Vahl N, Fisker S, Veldhuis JD, Christiansen JS, Jorgensen JO: Increased pulsatile, but not basal, growth hormone secretion rates and plasma insulin-like growth factor I levels during the periovulatory interval in normal women. J Clin Endocrinol Metab 1998, 83:1662-1667.

31. Fogle RH, Stanczyk FZ, Zhang X, Paulson RJ: Ovarian androgen production in postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab 2007, 92:3040-3043.

32. Gordon A, Garrido-Gracia JC, Sanchez-Criado JE, Aguilar R: Involvement of rat gonadotrope progesterone receptor in the ovary-mediated inhibitory action of FSH on LH synthesis. J Physiol Biochem 2011, 67:145-151.

33. Qian K, Wan Z, Hao LS, Zhang MM, Zhou Y, Wu XT: Effects of short-term application of low-dose growth hormone on trace element metabolism and blood glucose in surgical patients. World J Gastroenterol 2007, 13:6259-6263.

34. Woodmansee WW, Hartman ML, Lamberts SW, Zagar AJ, Clemmons DR, International Hypo CCSAB: Occurrence of impaired fasting glucose in GH-deficient adults receiving GH replacement compared with untreated subjects. Clin Endocrinol (Oxf) 2010, 72:59-69.

35. Argaud D, Zhang Q, Pan W, Maitra S, Pilkis SJ, Lange AJ: Regulation of rat liver glucose-6-phosphatase gene expression

in different nutritional and hormonal states: gene structure and 5′-flanking sequence. Diabetes 1996, 45:1563-1571.

36. Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC: The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. Endocr Rev 2006, 27:170-207.

37. Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelman JH: Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. J Clin Endocrinol Metab 1984, 59:551-555.

38. Pluchino N, Ninni F, Stomati M, Freschi L, Casarosa E, Valentino V, Luisi S, Genazzani AD, Poti E, Genazzani AR: One-year therapy with 10mg/day DHEA alone or in combination with HRT in postmenopausal women: effects on hormonal milieu. Maturitas 2008, 59:293-303.

39. Colao A, Di Somma C, Spiezia S, Savastano S, Rota F, Savanelli MC, Lombardi G: Growth hormone treatment on atherosclerosis: results of a 5-year open, prospective, controlled study in male patients with severe growth hormone deficiency. J Clin Endocrinol Metab 2008, 93:3416-3424.

40. Nam Y-SK, Lee K-T, Chung-Moo: Effects of aerobic exercise and red ginseng supplementation on hormone of female elders. The Korea Journal of Sports Science 2006, 15:777-787.

41. Salpeter SR, Walsh JM, Ormiston TM, Greyber E, Buckley NS, Salpeter EE: Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women. Diabetes Obes Metab 2006, 8:538-554.

42. Davidson MB, Schriger DL: Effect of age and race/ethnicity on HbA1c levels in people without known diabetes mellitus:

implications for the diagnosis of diabetes. Diabetes Res Clin Pract 2010, 87:415-421.

43. Connell JM, Davies E: The new biology of aldosterone. J Endocrinol 2005, 186:1-20.

44. Ryder JW, Chibalin AV, Zierath JR: Intracellular mechanisms underlying increases in glucose uptake in response to insulin or exercise in skeletal muscle. Acta Physiol Scand 2001, 171:249-257.

45. Kahn BB, Rosen AS, Bak JF, Andersen PH, Damsbo P, Lund S, Pedersen O: Expression of GLUT1 and GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle of humans with insulin-dependent diabetes mellitus: regulatory effects of metabolic factors. J Clin Endocrinol Metab 1992, 74:1101-1109.

46. Hajduch E, Hainault I, Meunier C, Jardel C, Hainque B, Guerre-Millo M, Lavau M: Regulation of glucose transporters in cultured rat adipocytes: synergistic effect of insulin and dexamethasone on GLUT4 gene expression through promoter activation. Endocrinology 1995, 136:4782-4789.

47. Huang YC, Lin CY, Huang SF, Lin HC, Chang WL, Chang TC: Effect and mechanism of ginsenosides CK and Rg1 on stimulation of glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. J Agric Food Chem 2010, 58:6039-6047.

48. Luther JM, Luo P, Kreger MT, Brissova M, Dai C, Whitfield TT, Kim HS, Wasserman DH, Powers AC, Brown NJ: Aldosterone decreases glucose-stimulated insulin secretion in vivo in mice and in murine islets. Diabetologia 2011, 54:2152-2163.

49. Zennaro MC, Caprio M, Feve B: Mineralocorticoid receptors in the metabolic syndrome. Trends Endocrinol Metab 2009, 20:444-451.

Chapter 4. The Multiple Group Path Analysis of Hormones and Autonomic Nervous System's Effects on the Release of Free Fatty Acids, and Fermented Red Ginseng

4.1 Introduction

4.1.1 Hyperlipidemia and metabolic syndrome

인체는 탄수화물, 단백질 그리고 지질을 주요 에너지원으로 사용한다. 지질은 저장에너지원으로서 높은 효율이 있기에 (9 kcal/g) 탄수화물이나 단백질 보다 에너지 저장형태로 보다 선호된다 [1]. 예를 들어 70 kg의 몸무게를 가진 보통성인은 대략 300 g의 혈당과 간의 글리코겐을 가지고 있다. 그리고 여기에 추가하여 400 내지 500 g의 글리코겐을 근육에 저장하고 있는데 운동을 하게 되면 거의 소모가 된다. 단백질의 경우에는 인체에 6 kg 정도가 있지만 대부분이 근육이나 효소의 형태로서 에너지원으로 이용하기 용이하기 않다. 특히나 3분의 1 정도의 단백질이 체내에서 소모되면 근육이 약해지게 되는데 이때 호흡과 같은 기본적인 대사가 위협을 받게 된다. 반면 지질은 15 kg 내외가 지방세포에 저장된다. 지방세포의 10%만이 수분이고 나머지 대부분은 지질로 저장되는데 비해 글리코겐은 1 g 당 2내지 3 g의 수분이, 단백질은 1 g당 3 내지 4 g의 물이 함께 저장된다 [1]. 따라서 지방은 탄수화물이나 단백질에 비해 더욱 높은 에너지효율을 가지게 되며, 지질방출의 과정은 인체의 에너지대사와 병리를 이해하는데 매우 중요한 요소가 된다.

인체 내에서 에너지원으로 저장되어 있는 지방의 높은 비율을 감안한다면, 혈액에서 유리지방산의 만성적인 과잉이 인체 에너지대사에서 위험인자가 됨은 쉽게 추정할 수 있다. 즉, 높은 수치의 FFA는 제2형 당뇨, 고혈압, 지질이상, 인슐린저항성, 고요산 그리고 비정상적인 혈전분해와 관련이 있다 [2]. 비만인들은 흔히 인슐린 저항성을 가지고 있으며, 동시에 그들의 지방산수치는 높아져 있다. 이들 관계의 주요한 원인들 중 하나는 과잉의 지방산과 탄수화물이 에너지산화과정을 두고 경쟁을 하는 것이다 [3]. Boden과 그 동료들은 지질을 투여한 후에 즉각적으로 지질산화가 증가하고 반면 탄수화물의 산화는 감소하였음을 보고하였다 [4]. 그리고 당뇨환자들은 인슐린-자극성 당 흡수율이 정상인에 비해 40~55% 감소하였다 [5].

다양한 연구들은 폐경기 여성에서 대사증후군의 유병률이 증가함을 보고하고 있고, 그것이 에스트로겐의 수치뿐만 아니라 다른 호르몬들의 수치에 의해서도 영향을 받고 있다고 보고하였다 [6]. 폐경기는 여성과 노화라는 두가지 측면에서 이해할 필요가 있다. 즉, 폐경기 전의 여성은 남성에 비해 높은 수치의 여성호르몬에 노출되어 있고, 인체의 항상성은 이에 맞추어져 있다. 폐경기가 진행되면서 여성호르몬의 수치는 점차 감소하게 되어 인체는 새로운 항상성의 상태로 적응되어야 한다. 이에는 인체의 에너지대사도 포함된다. 여성호르몬수용체 (estrogen receptor: ER)가 리간드가 없는 estrogen related receptor (ERR)에서 유래하였고, ERR은 원래 에너지 센서로서의 역할로 진화되었다는 것을 감안한다면 [7,8], 폐경기 이후 여성에게서 대사의 변화가 동반될 것임은 충분히 예상할 수 있다. (자세한 내용은 Appendix 5를 참조)

지질대사는 대사증후군의 발달과 관련하여 중요한 요인들 중 하나가 된다. Fig. 4-1에서 보듯이, 노화가 진행되면서 복부비만이 증가하게 되고, 이것은 곧 지방산 방출과 연결된다. 그리고 탄수화물과 산화경쟁을 하면서 인슐린의 분비는 증가하게 되고, 이어서 대사증후군과 최종적으로는 제 2형 당뇨와 심혈관질환으로 이어질 수 있다 [9].

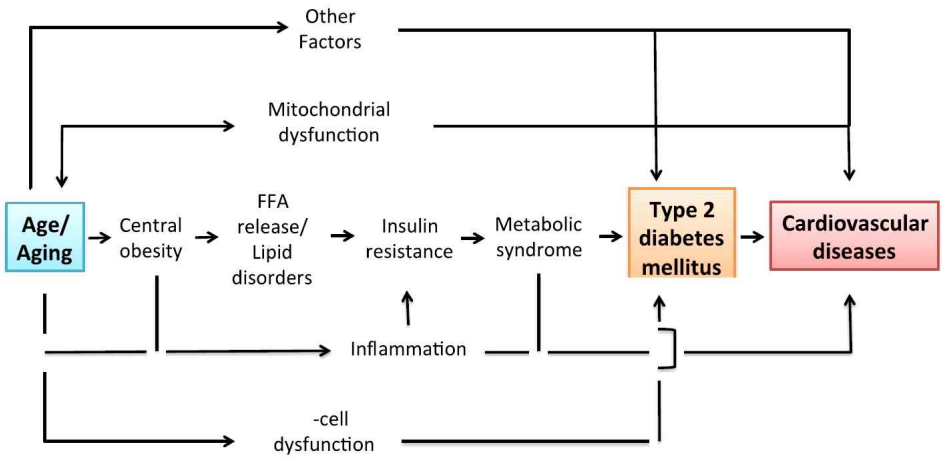


Figure 4-1. The relationship between age/aging and type 2 diabetes

mellitus and cardiovascular diseases [9]. Cited from Suastika K. et al. (2012)

4.1.2 Lipolysis and hormones

에너지대사는 식후와 공복상태에서 차이가 있다. 식후기간동안 인슐린은 방출되고 탄수화물이 주된 에너지원으로 이용된다. 하지만 공복상태에서는 지방세포에 저장되어 있던 중성지방이 글리세롤과 유리지방산으로 분해되고, 그런 다음 순환계로 방출된다. 하루 주기동안 유리지방산의 방출 크기는 밤사이의 단식기간동안 최대화 된다 [10].

지방분해과정은 크게 두가지 흐름, 기초 대사성 지질분해 (장기간)와 급성의 지질분해 (단기간)로 나뉘어질 수 있다. 기초 대사성 지질분해는 단식상태에서 인슐린과 카테콜아민의 수치가 감소한 후에 발생한다. 한편, 급성 지질분해는 '싸우거나 도망가기 (fight or flight)'와 같은 위급한 상태에서 보여지며, 교감신경계의 활성화를 통한 카테콜아민 신호가 자극인자가 된다 [11]. 카테콜아민에 의해 세포막에서 자극되는 베타-아드레날린수용체 (β-adrenergic receptors: β-AR)는 G-protein couple receptors를 통해 아데닐 고리화효소 (adenylyl cyclase)를 활성화시킨다. 아데닐 고리화효소에 의해 아데노신 삼인산 (Adenosine triphosphate: ATP)은 고리형 아데노신 1인산 (cyclic adenosine monophosphate: cAMP)로 변환되고 이어서 cAMP는 단백질인산화효소 A (protein kinase A: PKA)의 조절부위에 결합한다. 활성화된 PKA는 호르몬민감성 지질분해효소를 인산화한다 [12]. (Fig. 1-40)

글루코코르티코이드 [13], Adrenocorticotropic hormone (ACTH) [14], 갑상선호르몬, DHEAS [15], 인슐린 [10] 그리고 에스트로겐 [16] 등 몇가지 호르몬들이 β-AR이나 아데닐 고리화효소나 G-protein couple receptors에 영향을 주며 이는 결과적으로 cAMP 생성과 지질분해의 결과를 낳는다. 예를 들어, 인체의 지방세포는 여성호르몬 수용체

알파와 베타 두가지를 모두 가지고 있다. 보통 만성적인 에스트로겐의 처리는 억제성 α2A-AR의 숫자를 증가시킨다 [17]. 반면 에스트로겐의 급속한 처리는 지질산화를 억제하고, 피하조직의 지질분해를 감소시킨다.

지방조직에서 지질대사는 크게 유전자의존성이나 유전자 비 의존성의 두가지로 나뉠 수 있다. 유전자의존성 메카니즘은 cAMP 세포신호과정과 이노시톨 1,4,5-삼인산 (inositol 1,4,5-triphosphate: IP_3) 세포신호과정으로 나뉜다.

연구의 보고에 의하면 ER-β 유전자제거 마우스 (knock out mouse)는 비만으로 발달하지 않았지만, ER-α 유전자제거 마우스는 비만으로 진행하였다. Lindberg 등의 연구에 의하면, ER-α는 지방세포의 수와 크기의 조절과정과 관련이 있었다. 에스트로겐 처리 후에 지질수치의 감소는 ER-α의 기능에 의해 매개되는 것으로 보여졌다 [18].

지질대사에서 에스트로겐에 의한 유전자작용의 또 다른 예는 지단백 지질가수분해효소 (lipoprotein lipase: LPL)이다. LPL은 지방세포에서 만들어지고, LPL은 지방세포에서 높은 활동성을 보이고 있었다 [19]. 순환계에서 지단백의 중성지방은 LPL에 의해 글리세롤과 유리지방산으로 가수분해되고 그런 다음 지방세포들내로 이동한다. LPL 유전자는 여성호르몬반응부위 (estrogen response element: ERE)를 가지고 있다. 에스트로디올 (estradiol: E2)에 의한 LPL발현의 조절은 용량의존적 (dose dependent)이고 비만의 정도에 영향받는다. 예를 들어, 고농도의 E2는 저밀도 지단백의 발현을 억제시켰다 [19]. 반면 낮은 수치의 E2는 LDL의 발현을 촉진시켰다 [20].

비만 여성에서, 에스트로겐과 LPL의 농도는 음의 관계를 보였다. 에스트로겐성 비-게놈활동은 IP_3를 포함한 이차 메신저들에 의해 매개된다. IP3는 비만전구세포의 분화와 증식을 자극한다. 난소절제 쥐는 낮은 수치의 PKC를 보이고 있으며, 에스트로겐을 처리하면 그 수치가 다시 정상화된다 [21].

4.1.3 Lipolysis and autonomic nervous system

중추신경계뿐만 아니라 자율신경계도 백색지방조직의 지질분해에 영향을 준다. 예를 들어, 교감신경계가 부신수질을 직접 자극할 때, 카테콜아민이 방출된다. 그런다음 카테콜아민은 지방세포들에게 지질분해를 촉진하게 된다. 카테콜아민 경로뿐만 아니라, 교감신경은 직접적으로 지방조직에 삽입되어 있다. Cousin 등은 배막의 신경을 제거한 후에 지질함량이 증가하였다고 보고하였다 [22]. 이것은 교감신경계가 백색지방세포들의 활동도나 분화에 영향을 주는 것을 의미한다.

교감신경과 함께 부교감신경도 지방조직과 관련을 보였다. Kreier와 그 동료들은 부교감신경을 제거할 때 백색지방조직에서 HSL의 활동성이 증가하였다고 보고하였다. 하지만 유리지방산의 흡수와 혈당은 감소하였다 [23]. 중추신경영역은 교감신경계를 경유하여 지질분해에 영향을 줄 수 있다. 사람환자에게서 복내측 시상하부를 제거하였을 때 지질의 무게와 음식섭취가 영향을 받았다 [24]. 다른 한편으로 미주신경이 자극을 받을 때, 심장박동수는 감소하고 [25], 지방조직의 크기는 증가하였다 [26].

4.1.4 Heart rate variability and metabolic syndrome

대규모 역학연구 등에서는 현미경적 관찰 (micrography)로는 자율신경계의 활동을 직접 측정하기 쉽지 않기에, 심박변이 (heart rate variability: HRV)로 자율신경계를 측정하는데 이용된다. HRV 는 박동과 박동간의 간격의 변이에 의해 측정되며, 평균 박동과 박동사이의 간격인 R-R 은 60을 분당평균박동속도로 나눈 것이다. 다양한 연구들이 심박변이와 대사증후군과의 관련성에 대해 보고하고 있다. Altuncu 등은 66명의 비만인들과 40명의 건강한 대조군을 대상으로 자율신경계의 활동지표로 심박변이를 측정하였을 때, 대조군에 비해 비만인은 낮은 빈도/높은 빈도 (low frequency/high frequency)의 비율이 유의하게 높았고, 이는 자율신경계의 균형이 손상된 것으로 추정되었다 [27].

혈당지수도 심박변이와 관련이 있었는데, Jarczok 등에 의하면 대사증후군에 대한 요소를 조정한 후에도 심박변이와 혈당상태는 유의한 음의 상관관계를 가지고 있었다 [28]. 유전적 요인과 심박변이 그리고 지질과 관련된 연구도 진행되었는데, Ren 등은 아포지단백질 E (apolipoprotein E), LPL, 그리고 혈관내피성장인자 (vascular endothelial growth factor: VEGF) 등의 다형성에 의해 심박변이가 영향을 받음을 보고하였다 [29]. 본 연구에서는 팔맥박수를 심장박동의 표지자로 간주하고 분석을 진행하였다.

4.1.5 Ginsenosides and lipolysis

인삼은 아시아, 특히 한국, 중국 그리고 일본에서 가장 대중적으로 애용되어 온 약초의 하나로 그 기록은 2천년전까지 거슬러 올라간다. 현대에는 인삼의 인기가 서구국가들에게까지 증가하고 있다. 예를 들어, 인삼은 2003년에 미국에서 상위 10위로 팔린 약초중 하나로 기록되었다 [30].

연구들은 Rh2와 compound K (CK)는 글루코코르티코이드의 수용체로서 작용하고 [31] Rh1과 Rg3는 에스트로겐 수용체의 리간드로 작용한다고 보고하고 있다 [32]. 이것은 호르몬을 경유하여 진세노사이드에 의한 지질분해의 가능성을 의미한다. 예를 들어 CK를 3T3-L1 지방세포주에 처리하였을 때, 중성지방의 저장은 억제되었다. 다른 한편으로 Rg1은 지방세포에서 중성지방의 저장을 촉진하였다 [33]. 또다른 연구에 의하면 3T3-L1에 Rg3, Rk1 그리고 Rg5를 처리하면 지질의 축적은 억제되었다. 특히 지방세포의 지질저장에서 Rg3의 억제효과는 주목할 만하다 [34].

마우스 실험에 의하면, 진세노사이드들은 콜린성뉴런들의 말단에서 아세틸콜린의 방출을 자극하였다 [35]. 120명의 남성을 대상으로 한 연구에서, 야생 인삼은 자율신경의 활성도를 증가시키고, 심장박동수를 증가시켰다 [36].

4.1.6 Aim and hypotheses

이 연구의 첫 번째 목적은 호르몬들과 자율신경계가 혈중의 유리지방산 수치에 영향을 주는가를 가설검정으로 확인하는 것이었다. 이 분석을 위해 선행연구들의 보고들에 근거하여 경로모형이 만들어졌고, 그런 다음 모형적합도의 추정과 가설검정이 진행되었다. 이 연구의 두 번째 목적은 발효홍삼섭취가 호르몬들과 자율신경계 그리고 유리지방산의 수치 사이의 관계에 영향을 주는지를 가설검정하는 것이었다.

본 연구의 연구가설들은 다음과 같다.

● ACTH, 성장호르몬, E2, cortisol, triiodothyronine (T3), thyroid stimulating hormone (TSH) 그리고/또는 인슐린이 유리지방산 방출에 영향을 준다.

● 자율신경계를 대표하는 팔의 맥박은 유리지방산방출에 영향을 준다.

● 발효홍삼섭취는 ER과 glucocorticoid receptor (GR)에 대한 진세노사이드의 효과를 매개로 하여 유리지방산의 방출의 변화시킨다.

4.2 Materials and methods

4.2.1 Participants and study design

3.2 Materials and Methods에 제시된 내용과 동일하다.

4.2.2 Statistical analysis

3.2.2에 제시된 내용과 동일하다. Table 4-1은 Fig 4-2의 유리지방산 경로모형에서 사용된 변수들 중 다중대체법에 사용된 결측치의 수와 비율을 나타낸 것이다. 그리고 다중대체로 생성된 데이터셋 중 5개의 평균값을 구한 것과 단순회귀분석을 하여 구한 값들을 Appendix 6에 제시하여 그 값들을 비교하였다.

Table 4-1. The numbers of missing values in “free fatty acid” model

Variable	Group	Raw data	Missing value	Ratio of missing value (%)
ACTH	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
Cortisol	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
E2	Placebo	19	25	56.8
	FRG	19	30	61.2
GH	Placebo	20	24	54.5
	FRG	20	29	59.2
DHEAS	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
Insulin	Placebo	43	1	2
	FRG	48	1	2
Glucose	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
FSH	Placebo	20	24	54.5
	FRG	20	29	59.2
LH	Placebo	20	24	54.5
	FRG	20	29	59.2
TSH	Placebo	20	24	54.5
	FRG	20	29	59.2
T3	Placebo	20	24	54.5
	FRG	20	29	59.2
FFA	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0

ACTH, Adrenocorticotropic hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone - sulfate; E2, estradiol; FFA, free fatth acidl; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone; T3, Triiodothyronine

4.3 Results

4.3.1 Anthropometric data

3.3.1 Anthropometric data와 동일하다.

4.3.2 Mean comparison

Table 4-2은 호르몬들과 FFA의 평균차이를 위약군과 홍삼군간에 비교한 것이다.

Table 4-2 Mean comparison of hormones and FFA between groups

Markers	Groups	2nd sample		Δ2nd - 1st		
		Mean ± S.D(n)	P	Mean	P	
ACTH	Pbo.	20.4 ± 10.1 (44)	0.34	2.3	0.52	
(pg/ml)	FRG	22.7 ± 11.8 (49)		0.9		
Cortisol	Pbo.	11.2 ± 3.5 (44)	0.52	-0.2	0.13	
(μg/dl)	FRG	10.8 ± 3.8 (49)		0.9		
Estradiol	Pbo.	14.5 ± 7.3 (19)	0.06*	-7.4	0.06*	
(pg/ml)	FRG	18.3 ± 7.3 (19)		1.0		
GH	Pbo.	0.9 ± 1.2 (20)	0.06*	-0.40	0.50	
(ng/ml)	FRG	1.8 ± 1.4 (20)		-0.06		
DHEAS	Pbo.	65.2 ± 31.4 (44)	0.05*	-6.2	0.03**	
(μg/dl)	FRG	66.2 ± 29.1 (49)		0.5		
Insulin	Pbo.	6.4 ± 3.6 (43)	0.04**	1.0	0.01	
(μU/ml)	FRG	6.2 ± 2.9 (48)		-0.2		
Glucose	Pbo.	89.6 ± 6.8 (44)	0.31	2.2	0.85	
(mg/dl)	FRG	87.4 ± 7.1 (49)		2.5		
FSH	Pbo.	74.0 ± 24.3 (20)	0.68	0.1	0.44	
(mIU/ml)	FRG	68.0 ± 18.5 (20)		2.4		
LH	Pbo.	38.8 ± 14.8 (20)	0.30	1.0	0.56	
(mIU/ml)	FRG	30.3 ± 9.0 (20)		-0.3		
TSH	Pbo.	2.8 ± 1.8 (20)	0.80	0.1	0.41	
(μIU/ml)	FRG	2.3 ± 1.2 (20)		0.4		
T3	Pbo.	912.1 ± 912 (20)	0.86	0.12	0.33	*
(pg/dl)	FRG	935.6 ± 123 (20)		0.06		
FFA	Pbo.	640.0 ± 223.7 (44)	0.61	-23.5	0.61	
(μEq/L)	FRG	660.3 ± 217.0 (49)		3.8		

* $p<0.1$; ** $p<0.05$; *** $p<0.01$; S.D., standard deviation; $\Delta 2^{nd}-1^{st}$, second sample minus first sample; (n), number of sample; ACTH, Adrenocorticotropichormone; GH, growth hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone

4.3.3 Path analysis

동일화 비 제약 기저모형은 이미 보고된 선행연구들에 근거하여 만들어졌다 (Table 4-3). 그런다음, 두 그룹 사이에 각 경로들이 유의한 차이가 있는지를 알아보기 위하여 Wald 테스트를 하였다. 분석결과 두 그룹 사이에 FFA에 대한 cortisol의 경로와 FFA에 대한 심장박동수의 경로가 유의한 차이를 보였다. (Table 4-3).

Table 4-3. Path coefficients of unconstrained baseline model and the values of Wald test

Path		Group	Unstandardized Estimate (Estimates ± S.E.)	Standardized Estimate (Estimates ± S.E.)	Wald test
From	To				$\chi^2_D(1)$
ACTH	Cortisol	FRG	0.448 ± 0.096***	0.556 ± 0.099***	0.056
		Pbo.	0.413 ± 0.114***	0.479 ± 0.116***	
TSH	T3	FRG	0.537 ± 0.202***	0.475 ± 0.168***	2.566
		Pbo.	0.135 ± 0.119	0.217 ± 0.194	
FSH	LH	FRG	0.610 ± 0.216***	0.506 ± 0.135***	0.712
		Pbo.	0.920 ± 0.269***	0.600 ± 0.128***	
FSH	Estradiol	FRG	-0.473 ± 0.309	-0.311 ± 0.195	0.091
		Pbo.	-0.328 ± 0.498	-0.252 ± 0.359	
LH	Estradiol	FRG	-0.208 ± 0.243	-0.160 ± 0.184	0.631
		Pbo.	0.102 ± 0.255	0.125 ± 0.271	
Insulin	FFA	FRG	-0.347 ± 0.114***	-0.338 ± 0.101***	2.644
		Pbo.	-0.007 ± 0.158	-0.007 ± 0.132	
Cortisol	FFA	FRG	-0.253 ± 0.144*	-0.250 ± 0.140*	10.133*
		Pbo.	0.457 ± 0.152***	0.386 ± 0.127***	
Estradiol	FFA	FRG	0.865 ± 0.153***	0.701 ± 0.106***	0.095
		Pbo.	0.795 ± 0.165***	0.667 ± 0.107***	
Growth hormone	FFA	FRG	-0.347 ± 0.186*	-0.298 ± 0.141**	3.304*
		Pbo.	0.144 ± 0.234	0.088 ± 0.140	
ACTH	FFA	FRG	0.068 ± 0.111	0.085 ± 0.139	0.452
		Pbo.	0.181 ± 0.128	0.177 ± 0.125	
T3	FFA	FRG	0.056 ± 0.291	-0.032 ± 0.178	0.188
		Pbo.	0.086 ± 0.273	0.037 ± 0.114	
DHEAS	FFA	FRG	0.296 ± 0.108***	0.240 ± 0.097**	2.287
		Pbo.	-0.016 ± 0.160	-0.016 ± 0.128	
TSH	FFA	FRG	-0.370 ± 0.282	-0.206 ± 0.165	3.147*
		Pbo.	0.196 ± 0.241	0.132 ± 0.168	
Brachial Pulse	FFA	FRG	0.677 ± 0.199***	0.462 ± 0.110***	5.152**
		Pbo.	0.107 ± 0.168	0.071 ± 0.111	
SMC of FFA		FRG		0.760***	
		Pbo.		0.733***	

* P<0.1, ** P<0.05, *** P<0.01, FFA, free fatty acid; T3, Triiodothyronine; SMC, Squared multiple correlations (R^2_{smc}).

Wald test의 결과들을 근거로 하여 동일화제약을 한 최종모형이 만들어졌다 (Table 4-4, Figure 4-2). 최종모형에서는 cortisol의 FFA에 대한 경로와 팔의 맥박수의 FFA에 대한 경로는 자유롭게 측정하고 이외의 다른 경로는 동일화제약을 한 후 분석하였다. 최종모형의 모형적합도는 RMSEA 0.000과 CFI 1.000으로 우수하였다. 동일화제약을 한 최종모형에서, FFA에 대한 독립변수들의 크기는 표준화 경로계수를 통해 비교되었다. E2의 FFA에 대한 경로가 가장 컷는데, 홍삼군에서는 0.678 (P=0.000)이었고 위약군에서는 0.656 (P=0.000)이었다. (Table 4-4, Fig. 4-2)

Cortisol의 FFA에 대한 표준화경로계수는 위약군에서 0.387 (P=0.001)인 반면 홍삼군에서는 -0.250 (P=0.083)이었다. 그러므로, 홍삼의 수치가 1표준편차만큼 증가할 때, FFA의 수치는 위약군에서는 0.387 표준편차만큼 증가하고, 홍삼군에서는 0.233 표준편차만큼 증가하였다. 팔의 맥박수의 FFA에 대한 표준화 경로계수는 위약군에서 0.081 (P=0.423) 인 반면 홍삼군에서는 0.464 (P=0.000)였다.

ACTH의 FFA에 대한 표준화경로계수와 T3의 FFA에 대한 표준화 경로계수는 모두 0.1 이하였고, 이는 FFA의 농도에 대한 유의미한 영향을 보여주지 않았다 (Table 4-4, Figure 4-2).

다중상관수의 제곱 (Squared multiple correlations: SMC) 또는 R-square (R^2)는 종속변수의 변동에 대한 독립변수의 설명력을 의미한다. FFA에 대한 각 독립변수들의 SMC는 각 독립변수들의 표준화경로계수값을 제곱한 것이다. 예를 들어, 동일화 제약을 한 최종모형에서, FFA에 대한 E2의 SMC는 홍삼군에서 0.460 (0.678^2)이 된다. FFA에 대한 9가지 변수들의 SMC의 합은 위약군에서 0.699였고 홍삼군에선 0.707이었다. FFA에 대한 팔이 맥박수의 SMC는 위약군에서 단지 0.7% (0.081^2)였지만 홍삼군에서는 21.5% (0.464^2)였다. 위약군에서, 최종모형에서 팔의 맥박수변수를 제외하였을 때, FFA의 SMC는 0.671로 유의한 변화를 보이지 않았다 (Table 4-4, Figure 4-2). 하지만 홍삼군에서는 0.500으로 감소하였는데 이는 홍삼군에서 FFA의 방출에 팔의 맥박이 중요함을 암시한다.

Table 4-4. Path coefficients of equality constrained final model.

Path		Group	Unstandardized Estimate		Standardized Estimate	
From	To		Estimates ± S.E.	P	Estimates ± S.E	P
ACTH	GC	Pbo.	0.433 ± 0.073***	0.000	0.497 ± 0.084***	0.000
		FRG			0.543 ± 0.085***	0.000
TSH	T3	Pbo.	0.267 ± 0.117**	0.022	0.383 ± 0.135***	0.005
		FRG			0.255 ± 0.134*	0.057
FSH	LH	Pbo.	0.722 ± 0.164***	0.000	0.504 ± 0.105***	0.000
		FRG			0.568 ± 0.105***	0.000
FSH	E2	Pbo.	-0.398 ± 0.329	0.227	-0.291 ± 0.242	0.230
		FRG			-0.276 ± 0.230	0.230
LH	E2	Pbo.	-0.007 ± 0.164	0.968	-0.002 ± 0.165	0.989
		FRG			-0.006 ± 0.142	0.967
Insulin	FFA	Pbo.	-0.245 ± 0.096**	0.011	-0.188 ± 0.074**	0.011
		FRG			-0.250 ± 0.097**	0.010
GC	FFA	Pbo.	0.494 ± 0.163***	0.002	0.387 ± 0.114***	0.001
		FRG	-0.229 ± 0.132*	0.082	-0.233 ± 0.135*	0.083
E2	FFA	Pbo.	0.824 ± 0.102***	0.000	0.656 ± 0.078***	0.000
		FRG			0.678 ± 0.081***	0.000
GH	FFA	Pbo.	-0.211 ± 0.169	0.213	-0.108 ± 0.087	0.215
		FRG			-0.188 ± 0.146	0.197
ACTH	FFA	Pbo.	0.061 ± 0.085	0.471	0.053 ± 0.077	0.485
		FRG			0.079 ± 0.110	0.469
T3	FFA	Pbo.	0.002 ± 0.209	0.994	0.002 ± 0.090	0.980
		FRG			0.000 ± 0.125	0.997
DHEAS	FFA	Pbo.	0.155 ± 0.104	0.136	0.114 ± 0.077	0.136
		FRG			0.131 ± 0.091	0.151
TSH	FFA	Pbo.	-0.197 ± 0.184	0.286	-0.122 ± 0.117	0.297
		FRG			-0.112 ± 0.107	0.294
Brachial Pulse	FFA	Pbo.	0.135 ± 0.171	0.428	0.081 ± 0.101	0.423
		FRG	0.651 ± 0.171***	0.000	0.464 ± 0.106***	0.000
SMC of FFA		Pbo.			0.699 ± 0.097***	0.000
		FRG			0.707 ± 0.087***	0.000

SMC, Squared multiple correlations (R^2); Pbo., placebo; S.E., standarderror, (*P<0.1, **P<.05, ***P<.01)

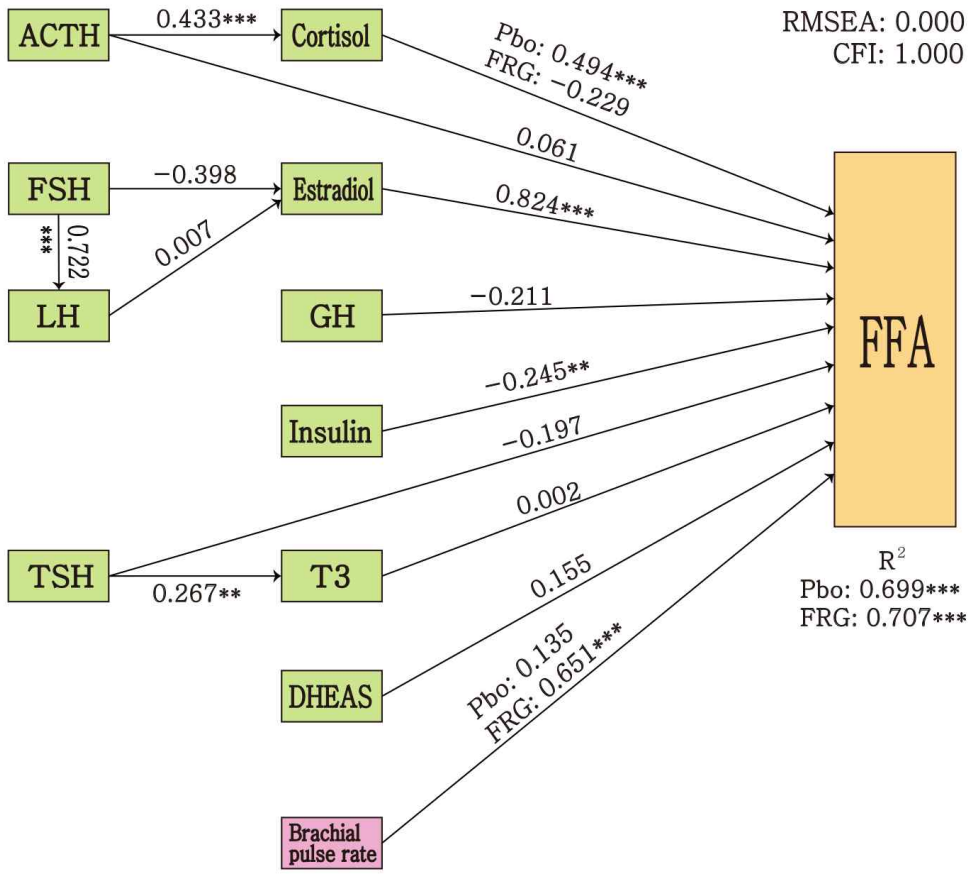


Figure 4-2. Equality constrained final model of FFA. The paths of the cortisol on the FFA and the path of heart rate on FFA were freely analyzed and the other paths were constrained for equality between FRG group and placebo group. The numbers on the arrow line represent the unstandardized estimates of path. Values are significantly different (* P<0.1, ** P<.05, *** P<.01). Pbo., placebo

4.4 Discussion

4.4.1 Dyslipidemia and oxidation competition

인체의 주요한 에너지원은 탄수화물, 단백질 그리고 지질이다. 이들 에너지원들 중에서, 탄수화물과 단백질은 4 kcal/g 를 방출하는 반면, 지질은 9 kcal/g를 방출한다. 지질의 이러한 높은 저장효율의 결과로 인하여, 심지어 과잉의 탄수화물이나 단백질이라 할지라도 지방세포 내에 지질의 형식으로 저장된다. 에너지로서 저장용량을 비교해볼 때, 탄수화물이나 단백질에 비해 지질은 많은 양이 된다. 예를 들어 앉아서 활동하는 70 kg의 몸무게를 가진 비만이 아닌 보통 남성의 경우, 인체 내에 글리코겐으로는 단지 300~400 g (1500 kcal)를 단백질의 형태로는 6~7 kg (25,000 kcal)을 저장하고 있지만 지질로는 13 kg (125,000 kcal)나 된다. 그러므로 지질산화의 과정은 인체의 에너지대사와 인체의 에너지 병리현상을 이해하는데 매우 중요한 인자가 된다.

1963년, 랜들 (Randle)과 그 동료들은 유리지방산의 수치가 증가할 때, 근육에서 인슐린저항성의 가능성이 증가한다고 제안하였다 (Fig. 4-3). 그 이유는 유리지방산의 산화와 탄수화물의 산화가 서로 경쟁을 하기 때문인데 이는 당-지방산 사이클이라는 이름으로 요약된다 [37,38].

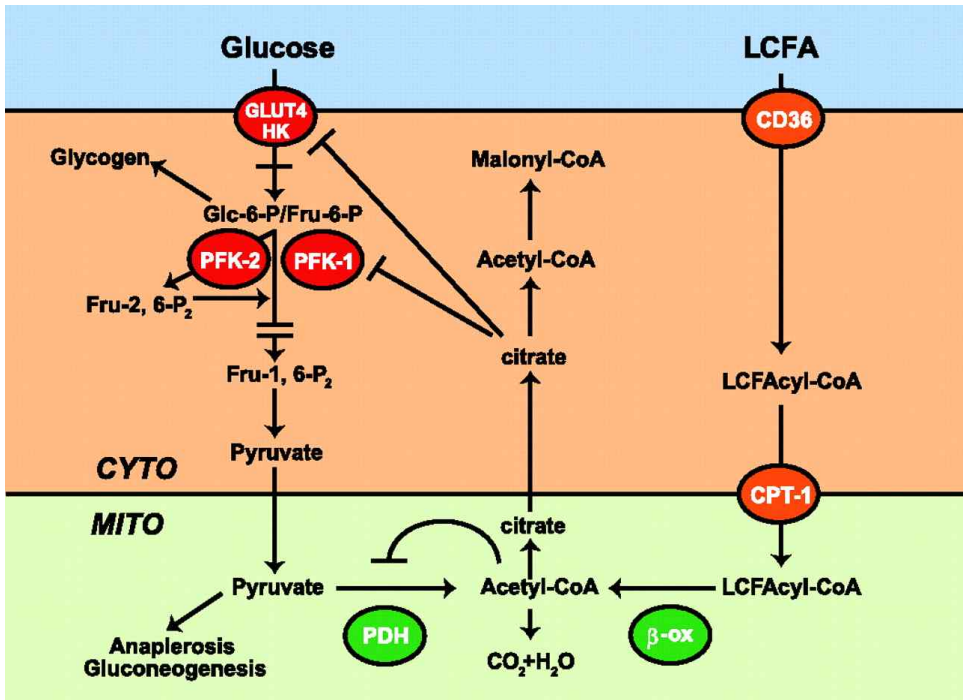


Figure 4-3. Mechanism of inhibition of glucose utilization by fatty acid oxidation. The extent of inhibition is graded and most severe at the level of pyruvate dehydrogenase (PDH) and less severe at the level of 6-phosphofructo-1-kinase (PFK) and glucose uptake. PDH inhibition is caused by acetyl-CoA and NADH accumulation resulting from fatty acid oxidation, whereas PFK inhbition results from citrate accumulation in the cytosol. The mechanism of inhibition of glucose uptake is not clear. These effects reroute glucose toward glycogen synthesis and pyruvate to anaplerosis and/or gluconeogenesis. See text for further details. CYTO, cytosol; MITO, mitochondria; GLUT4, glucose transporter 4; HK, hexokinase; Glc-6-P, glucose 6-phosphate; Fru-6-P, fructose 6-phosphate; CPT I, carnitine palmitoyltransferase I; β-ox, β-oxidation [37]. Cited from Hue L. and Taegtmeyer H. (2009)

지질의 생성과 이동과 관련이 있는 세가지 주요 기관은 지방조직, 내장 그리고 간이다. 지단백은 이들 기관들 사이에서 지질이 운반될 때 중요한 역할을 한다. 이들 지단백들은 아포지단백과 순환계에서 소수성 지질을 이동할 수 있도록 하는 수용성 복합체로 구성된다 [39].

지질의 흐름은 다음과 같다. 첫 번째, 음식의 형태로 섭취된 중성지방은 소화효소들에 의해 글리세롤과 지방산으로 분해된다. 그런 다음 글리세롤과 유리지방산은 내장의 세포들 안으로 흡수된다.

내장세포들은 다시 유리지방산과 글리세롤을 중성지방으로 결합시킨다. 그런 다음 중성지방들은 카일로마이크론 (chylomicron: CM)의 형태로 방출되고 CM은 간과 지방조직으로 이동한다. 단식상태에서 지질방울내의 중성지방은 가수분해되어 글리세롤과 유리지방산으로 된다. 그런 다음 유리 지방산은 간으로 이동하고 거기서 다시 중성지방으로 합성된다. 간에서 새롭게 합성된 중성지방은 초저밀도 지단백 (very low-density lipoprotein: VLDL)에 결합되고 그런 다음 순환계로 방출되어 말초조직들에게 이용된다 [40]. VLDL이 중성지방을 말초조직에 방출한 후에, VLDL은 LDL로 변환되고, 그런 다음 LDL은 간으로 돌아간다. HDL은 단백질의 비율이 높고, 반면 중성지방의 비율은 낮기 때문에, HDL은 말초조직에서 과잉의 중성지방과 콜레스테롤을 흡수한 후 간으로 이동한다 (Fig. 4-4) [41,42].

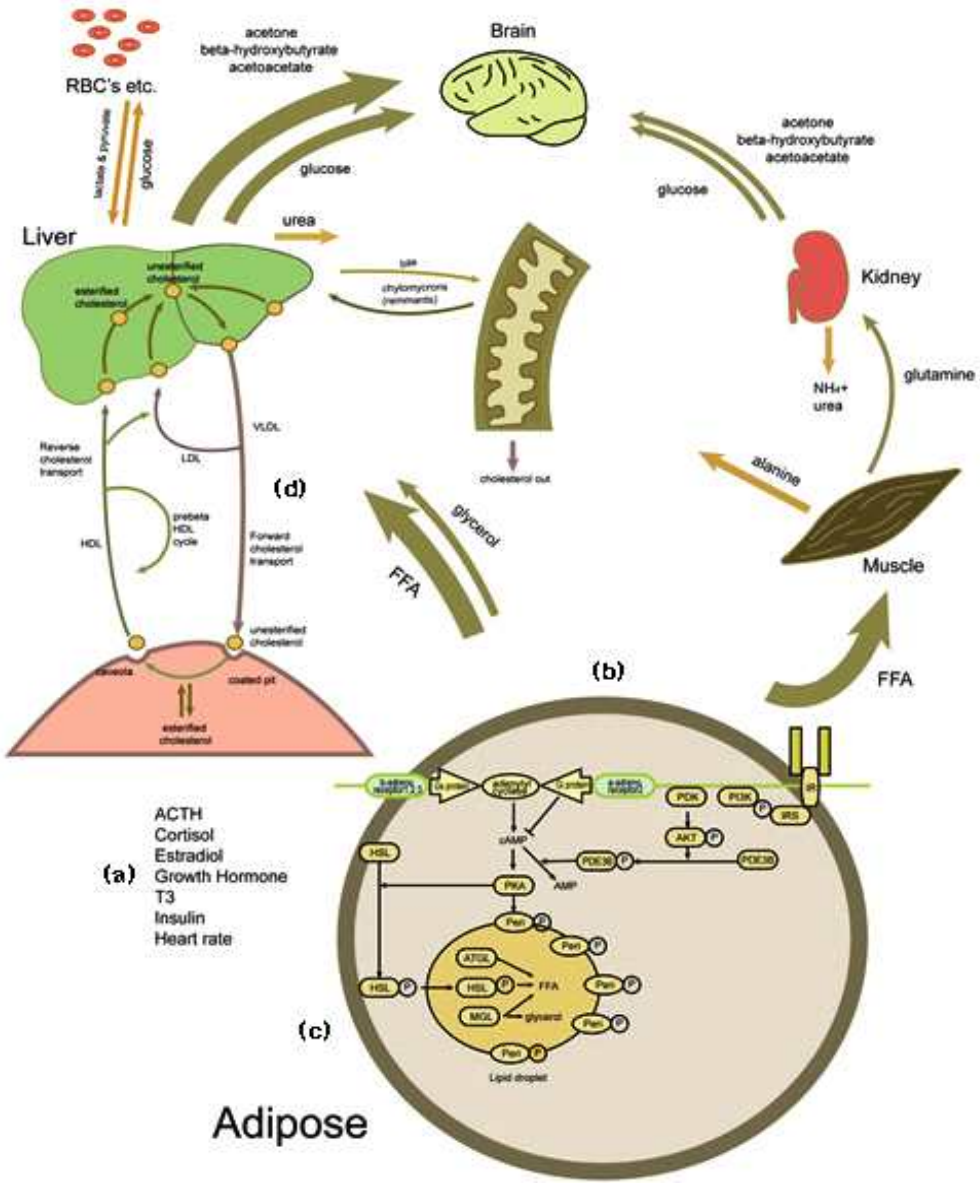


Figure 4-4. The flows of free fatty acid in fasting state.
(a) Several hormones (adrenocorticotrophic hormone (ACTH), cortisol, estradiol, growth hormone, thyroid stimulating hormone (TSH), thyroid hormone and insulin) and autonomous nerve system affect the cell signaling of lipolysis.

(b) Major pathway of lipolysis is regulated by a balance between simulative beta-adrenergic receptors and inhibitive alpha 2A-adrenergic receptors. The example cascade is as follows: First, the sympathetic nervous system is activated and then catecholamine is released in the adrenal medulla. Beta-adrenoreceptors in cell membranes activate adenylyl cyclase via simultaneous G-protein couple receptors. In the white adipocytes, ATP is transformed to cyclic AMP (cAMP) by adenylnyl cyclase and then cAMP binds to the regulatory module of protein kinase A (PKA). Activated PKA phosphates hormone-sensitive lipase (HSL) and perilipin are two major lipolysis enzymes in adipocytes. Phosphated and activated HSL hydrolyze the triglycerides and then newly free fatty acid is released into the circulatory system.

(c) The three major lipolysis enzymes are adipose triglyceride lipase (ATGL), HSL and monoacylglycerol lipase (MAGL). ATGL, HSL and MAGL decompose first, second and third fatty acid from triglyceride respectively. Right after free fatty acids are released into circulation, fatty acids are assembled with serum albumin and then moved to the liver, muscle and other peripheral tissues.

(d) And then the FFA moves to the liver and is synthesized into triglycerides. Newly formed triglycerides in the liver are assembled to very low-density lipoprotein (VLDL) and then are released into circulatory system and after that they are absorbed and utilized in peripheral tissue. After VLLD releases triglycerides into peripheral tissue, VDLD is transformed to low-density lipoprotein (LDL), and then LDL goes back to the liver. Since high-density lipoprotein (HDL) has a high ratio of protein and a low ratio of triglycerides, HDL can absorb surplus triglycerides and cholesterols from peripheral tissue, and then HDL moves to the liver [10-17,43]. Cieted from Vance D.E and Vance J.E. (2008)

지질분해는 중성지방분자가 한분자의 글리세롤과 세 개의 유리 지방산으로 가수분해되는 과정으로, 지방세포 중성지방 가수분해효소 (adipose triglyceride lipase: ATGL), 호르몬-민감성 지질분해효소 (hormone sensitive lipase: HSL) 그리고 단일아실글리세롤 지질분해효소 (monoacylglycerol lipase: MAGL)의 세 가지 주요한 가수분해 효소가 있다 [44-46] (Fig. 4-4).

ATGL, HSL 그리고 MAGL 은 각각 중성지방의 첫 번째, 두 번째 그리고 세 번째 지방산을 분해한다. 지방산이 순환계로 방출된 직후에, 지방산은 혈장의 알부민과 결합한 다음 간, 근육 그리고 다른 말초조직으로 이동한다 (Fig. 4-4). 연구들은 여성호르몬, cortisol 그리고 갑상선호르몬 등을 포함한 몇 가지의 호르몬들이 이들 지질분해효소들의 활성에 영향을 준다고 보고한다 [10-17].

4.4.2 Estrogen and free fatty acids

초기의 연구문헌들에 의하면, 폐경기 이후 여성들에게 에스트로겐의 처리는 억제성 α2A-ARs의 수를 감소시켰다. 하지만 좀 더 진전된 연구들은 억제성 교감신경수용체의 기능은 피하지방세포들과 복부비만세포들 사이에서 차이가 있음을 보였다. 예를 들어, E2처리는 지질분해의 수치를 감소시켰는데 이는 지방세포들에서 α2A-AR의 수가 증가하는 것을 매개로 한 것이었다. 반면, 에스트로겐의 처리는 복부 지방세포들에는 아무런 효과를 보이지 않았다 [47]. 게다가, 피하지방세포들에 비해 복부비만세포들은 낮은 수치의 α-ARs과 높은 수치의 β-ARs을 보인다 [48].

이러한 ARs의 비율에서의 차이는 폐경후 여성에서 인체내에 지방축적의 위치가 변화하는 이유를 설명한다. 즉, 폐경기 이후 여성에서 여성호르몬의 감소는 곧, 지질축적 패턴을 여성형에서 남성형으로 바뀌게 한다 [49]. 폐경기 전 여성에게서, 지방축적의 주요위치는 하체와 피하지방인 반면, 남성에서는 상체와 복부의 소화기관들이다. 그런데 복부 영역에서 지방축적은 당뇨를 포함한 대사증후군과 매우 강력하게 관련되

어 있다 [50]. 왜냐하면 복부 지방세포로부터의 유리지방산의 방출은 간문맥을 통하여 직접적으로 간으로 이동하기 때문에, 복부영역에서의 지질분해속도는 대사증후군에 영향을 준다. 상승된 FFA의 수치는 간의 기능을 포함한 정상적인 대사를 교란시키며, 결과적으로 인슐린청소를 감소시키고, 중성지방과 VLDL의 합성을 증가시킨다 [51]. 사실, FFA 반응곡선은 비만여성보다 비만 남성에서 세배나 높다 [52]. 즉, 폐경이 진행됨과 함께 여성의 피하지방축적은 감소하는 반면, 복부지방의 축적은 증가하고, 랜들 사이클에 근거하면, 간문맥을 통해 상승된 혈중 유리지방산은 말초조직에서 당의 흡수를 방해할 수 있다.

본 연구에 의하면 E2에 의한 지질분해효과에 대한 이해는 중요하다. 본 연구의 분석에서, E2와 FFA의 수치는 유의한 인과관계를 보였다. 동일화 제약을 한 최종모형에서, FFA에 대한 E2 경로의 SMC는 홍삼군에서 0.460 (0.678^2)이었다. 즉, 설명력인 SMC의 결과에 의한다면, FFA의 변화는 E2의 수치에 의해 43% (위약군)에서 46% (홍삼군)까지 영향을 받는다 (Table 3-3). E2와 FFA의 농도 사이의 양의 관계는 본 연구 디자인에서 폐경기 여성의 낮은 E2 수치와 공복상태에서의 샘플 채취와 관련이 있을 수 있다. 혈액 샘플링이 8시간 밤새 공복 후에 진행되었기 때문에, LPL에 의한 FFA의 순환계에서 지방세포로의 이동효과는 무시될 수 있다. 하지만 게놈 비의존성 지질분해가 HSL과 IP3의 활동을 자극할 가능성은 존재한다. 비록 Rg3가 ER에 대한 리간드임은 잘 알려져 있을지라도, FFA에 대한 E2의 효과는 홍삼군과 위약군, 두 그룹 사이에서 유의미한 차이를 보이지는 않았다.

4.4.3 Cortisol, growth hormone and free fatty acids

생리적으로 높은 수치의 cortisol을 지방조직에 주사하였을 때, 혈중 FFA의 수치는 60% 증가하는데 이는 지질분해자극을 매개로 된 것이다 [53]. 실재로, 이 연구에서 모형분석의 의하면, 위약군에서 cortisol의 FFA에 대한 경로계수는 양수였다. 하지만, 홍삼군에서, cortisol은 FFA

의 방출을 유의미하게 억제하였다. 본 연구에서 총 진세노사이드들 중 CK의 비율은 높았고 CK는 GR의 리간드로 작용한다고 많은 연구에서 보고하고 있다. 그러므로 CK는 GR에 대해 cortisol과 경쟁적 억제자로 작용하였을 수 있다.

식후 상태에서 인슐린은 방출되고, 지방세포에서 HSL의 기능과 지질분해는 억제된다. 하지만 공복상태에서, 인슐린수치는 감소하고, cortisol과 성장호르몬의 수치는 증가하는데 이는 HSL의 발현을 자극하게 된다 [54]. HSL의 적절한 발현은 혈당조절에 중요하다. HSL 결핍 마우스는 적절한 수치의 FFA를 방출하지 못하며, 인슐린 저항성 상태가 된다 [55]. 하지만 본 연구에서 성장호르몬과 FFA는 음의 상관관계를 보였다. 이러한 결과들은 공복시에 성장호르몬의 FFA에 대한 영향에서 방출보다는 흡수에 더욱 관련되어 있을 수 있다. 또는 폐경기 이후 노화과정에 있는 여성에서 GH의 수치가 감소하는 것에 기인한 것일 수 있다. 이에 대한 규명을 위해 보다 진척된 실험이 필요할 것이다. 본 연구에 의하면 FFA에 대한 GH의 설명력 (SMC)은 위약군에서 1.2% 그리고 홍삼군에서 3.5%였다.

4.4.4 Heart rate and free fatty acids

심장박동은 교감신경계와 부교감신경계 사이의 균형에 의해 조절된다. 본 연구의 디자인에서, 심장박동수 (팔의 맥박)는 자율신경계를 대표하였다. FFA에 대한 맥박의 설명력은 위약군에서 단지 0.6%에 지나지 않았다. 하지만 홍삼군에서 그 값은 21.5%나 되었다.

Jeon 등은 진세노사이드를 포함한 조사포닌을 rats에 정맥주사하였을 때, 심장박동수가 증가하였다고 보고하였다. GR과 ER은 뇌간에 존재하기에, 중추신경계를 경유하여, CK와 Rg3가 자율신경계를 조절할 수 있다 [56]. 만약 그렇다면, CK 또는 Rg3 중 어느것이 보다 심장박동수에 영향을 더 주었을까? 이에 대한 의문은 여성호르몬과 cortisol의 효과의 차이에 대한 이해에 의해 추론 될 수 있다.

즉, 뇌간의 자율신경센타에는 ER-α가 존재한다. 그리고 뇌간의 이들 영역은 또한 심혈관계를 조절한다. 에스트로겐을 이들 영역에 처리할 때, 심장에 대한 자율신경조절은 개선되고, 자율신경계의 활동을 감소시킨다. 게다가 에스트로겐이 난소적출 rat의 뇌에 주사될 때, 심장박동수는 감소한다 [57].

반면 GR은 고립속계의 핵을 포함한 배후 후뇌 영역 (dorsal hindbrain area)에서 고도로 발현된다 [58]. 이들 영역은 심혈관조절의 중심이다. cortisol을 고립계핵을 주사하였을 때, 3일 이내에 심장박동수는 증가하였다 [59].

위의 두가지 보고를 근거로 한다면, 여성호르몬의 투여는 심장의 박동을 증가시키는 것으로서 교감신경의 활동을 감소시키거나 부교감신경의 활동을 촉진하며, 반면 cortisol은 교감신경의 활동을 증가시키거나 부교감신경의 활동을 억제하는 것으로 해석할 수 있다. Bamshad 등은 viral transynaptic tract tracing 방법을 이용하여 중추신경계-교감신경계-백색지방의 회로를 확인하였다 [60]. 그리고 뇌에서 백색지방조직까지 연결된 교감신경을 제거하였을 때 지방분해가 감소하였다고 하였다 [60,61]. 그리고 또 다른 연구에 의하면 거식증 환자에서 운동을 시켜서 교감신경을 활발히 하게 되면 복부의 지방분해가 촉진된다 [62]. 따라서 본 연구에서 위약군에 비해 홍삼군에서 유리지방산에 대한 팔맥박수의 경로계수가 증가한 것은, 홍삼섭취로 인하여 자율신경계중 교감신경이 관련되었을 수 있다. 그리고 진세노사이드 중 CK나 Rg3 두가지 중 하나가 중요한 작용을 하였다고 가정한다면 본 연구에서 유리지방산에 대한 팔맥박수에 대한 경로는 Rg3와 연관되었을 가능성이 있다.

4.5 Conclusion

본 연구는 밤새 (overnight) 8시간 이상의 단식상태동안 호르몬수치들과 자율신경계가 혈중 FFA의 수치에 영향을 주는지 여부에 대한 검정을

위해 디자인 되었다. 원인 변수들 중, 에스트로겐은 FFA의 변동을 가장 잘 설명하였다. 이 연구의 두 번째 목적은 발효홍삼섭취가 호르몬들과 지방산 사이의 인과적 관계에 영향을 줄 수 있는지의 여부를 검정하는 것이었다. 심장박동은 팔맥박의 변동을 대표하였고, 홍삼군에서 FFA의 분산을 잘 설명하였다. 반면 위약군에서는 FFA의 방출에 cortisol이 잘 설명하였다.

FFA의 혈중수치는 대사증후군을 이해하는데 중요하다. 그러므로, FFA의 방출에 대한 조절인자들의 양적인 분석은 의미가 있다. 물론 FFA의 혈중 수치만으로 "대사증후군"을 모두 이해할수는 없다. 왜냐하면 대사증후군은 신체내적 요인들뿐만 아니라, 사회심리적, 그리고 외부환경적인 요인들, 예를 들면 식생활, 생활환경, 성별 그리고 학업 등 또한 중요한 지표로 이용되고 있기 때문이다. 따라서 신체 내적인 지방산, 혈당 등의 요인들과 함께 신체외적인 요인들을 통합한 follow-up 연구가 추가적으로 필요하며, 이것은 곧 홍삼효능에 대한 이해의 진전에 도움이 될 것이다.

본 연구의 분석에서, 9가지 변수들은 FFA의 변동을 FRG그룹에서는 70.7%, 위약군에서는 69.9% 설명하였다. 인체 생리에서 진세노사이드의 효과는 진세노사이드의 처리 비율, 투여량, 투여기관 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서 단일 성분의 진세노사이드를 이용한 임상 연구는 홍삼의 효능에 대한 이해를 보다 진전시킬 것이다.

References

1. Cahill GF, Jr.: Starvation in man. N Engl J Med 1970, 282:668-675.
2. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA: The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet 1963, 1:785-789.
3. Boden G, Jadali F, White J, Liang Y, Mozzoli M, Chen X, Coleman E, Smith C: Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men. J Clin Invest 1991, 88:960-966.
4. Boden G, Chen X: Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. J Clin Invest 1995, 96:1261-1268.
5. Chrousos GP: Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. Ann N Y Acad Sci 1998, 851:311-335.
6. Reaven GM: Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes 1988, 37:1595-1607.
7. Kamei Y, Ohizumi H, Fujitani Y, Nemoto T, Tanaka T, Takahashi N, Kawada T, Miyoshi M, Ezaki O, Kakizuka A: PPARgamma coactivator 1beta/ERR ligand 1 is an ERR protein ligand, whose expression induces a high-energy expenditure and antagonizes obesity. Proc Natl Acad Sci U S A 2003, 100:12378-12383.
8. Park W, Kim GJ, Choi HS, Vanacker JM, Sohn YC: Conserved properties of a urochordate estrogen receptor-related receptor (ERR) with mammalian ERRalpha. Biochim Biophys Acta 2009, 1789:125-134.

9. Suastika K, Dwipayana P, Semadi MS, Kuswardhani RT: Age is an important risk factor for type 2 diabetes mellitus and cardiovascular diseases. 2012.
10. Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, Ratheiser K, Zyck K, Ferrannini E, DeFronzo RA: Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. J Clin Invest 1989, 84:205-213.
11. Lafontan M, Berlan M: Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function. J Lipid Res 1993, 34:1057-1091.
12. Miyoshi H, Perfield JW, 2nd, Souza SC, Shen WJ, Zhang HH, Stancheva ZS, Kraemer FB, Obin MS, Greenberg AS: Control of adipose triglyceride lipase action by serine 517 of perilipin A globally regulates protein kinase A-stimulated lipolysis in adipocytes. J Biol Chem 2007, 282:996-1002.
13. Ottosson M, Lonnroth P, Bjorntorp P, Eden S: Effects of cortisol and growth hormone on lipolysis in human adipose tissue. J Clin Endocrinol Metab 2000, 85:799-803.
14. Katocs AS, Jr., Largis EE, Allen DO: Role of Ca2+ in adrenocorticotropic hormone-stimulated lipolysis in the perfused fat cell system. J Biol Chem 1974, 249:2000-2004.
15. Tagliaferro AR, Ronan AM, Payne J, Meeker LD, Tse S: Increased lipolysis to beta-adrenergic stimulation after dehydroepiandrosterone treatment in rats. Am J Physiol 1995, 268:R1374-1380.
16. D'Eon TM, Souza SC, Aronovitz M, Obin MS, Fried SK, Greenberg AS: Estrogen regulation of adiposity and fuel partitioning. Evidence of genomic and non-genomic regulation

of lipogenic and oxidative pathways. J Biol Chem 2005, 280:35983-35991.

17. Pedersen SB, Kristensen K, Hermann PA, Katzenellenbogen JA, Richelsen B: Estrogen controls lipolysis by up-regulating alpha2A-adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor alpha. Implications for the female fat distribution. J Clin Endocrinol Metab 2004, 89:1869-1878.

18. Lindberg MK, Weihua Z, Andersson N, Moverare S, Gao H, Vidal O, Erlandsson M, Windahl S, Andersson G, Lubahn DB, et al: Estrogen receptor specificity for the effects of estrogen in ovariectomized mice. J Endocrinol 2002, 174:167-178.

19. Homma H, Kurachi H, Nishio Y, Takeda T, Yamamoto T, Adachi K, Morishige K, Ohmichi M, Matsuzawa Y, Murata Y: Estrogen suppresses transcription of lipoprotein lipase gene. Existence of a unique estrogen response element on the lipoprotein lipase promoter. J Biol Chem 2000, 275:11404-11411.

20. Palin SL, McTernan PG, Anderson LA, Sturdee DW, Barnett AH, Kumar S: 17Beta-estradiol and anti-estrogen ICI:compound 182,780 regulate expression of lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in isolated subcutaneous abdominal adipocytes. Metabolism 2003, 52:383-388.

21. Segars JH, Driggers PH: Estrogen action and cytoplasmic signaling cascades. Part I: membrane-associated signaling complexes. Trends Endocrinol Metab 2002, 13:349-354.

22. Cousin B, Casteilla L, Lafontan M, Ambid L, Langin D, Berthault MF, Penicaud L: Local sympathetic denervation of white adipose tissue in rats induces preadipocyte proliferation without noticeable changes in metabolism. Endocrinology 1993, 133:2255-2262.

23. Kreier F, Fliers E, Voshol PJ, Van Eden CG, Havekes LM, Kalsbeek A, Van Heijningen CL, Sluiter AA, Mettenleiter TC, Romijn JA, et al: Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat--functional implications. J Clin Invest 2002, 110:1243-1250.
24. Gold RM: Hypothalamic obesity: the myth of the ventromedial nucleus. Science 1973, 182:488-490.
25. Matheny RG, Shaar CJ: Vagus nerve stimulation as a method to temporarily slow or arrest the heart. Ann Thorac Surg 1997, 63:S28-29.
26. Banni S, Carta G, Murru E, Cordeddu L, Giordano E, Marrosu F, Puligheddu M, Floris G, Asuni GP, Cappai AL, et al: Vagus nerve stimulation reduces body weight and fat mass in rats. PLoS One 2012, 7:e44813.
27. Altuncu ME, Baspinar O, Keskin M: The use of short-term analysis of heart rate variability to assess autonomic function in obese children and its relationship with metabolic syndrome. Cardiol J 2012, 19:501-506.
28. Jarczok MN, Li J, Mauss D, Fischer JE, Thayer JF: Heart rate variability is associated with glycemic status after controlling for components of the metabolic syndrome. Int J Cardiol 2013, 167:855-861.
29. Ren C, Baccarelli A, Wilker E, Suh H, Sparrow D, Vokonas P, Wright R, Schwartz J: Lipid and endothelium-related genes, ambient particulate matter, and heart rate variability--the VA Normative Aging Study. J Epidemiol Community Health 2010, 64:49-56.
30. Mintel: Complementary and alternative medicines-US-July 2008. Chicago, Ill.: Mintel Intl; 2008.

31. Yang CS, Ko SR, Cho BG, Shin DM, Yuk JM, Li S, Kim JM, Evans RM, Jung JS, Song DK, Jo EK: The ginsenoside metabolite compound K, a novel agonist of glucocorticoid receptor, induces tolerance to endotoxin-induced lethal shock. J Cell Mol Med 2008, 12:1739-1753.
32. Hien TT, Kim ND, Pokharel YR, Oh SJ, Lee MY, Kang KW: Ginsenoside Rg3 increases nitric oxide production via increases in phosphorylation and expression of endothelial nitric oxide synthase: Essential roles of estrogen receptor-dependent PI3-kinase and AMP-activated protein kinase. Toxicol Appl Pharmacol 2010.
33. Huang YC, Lin CY, Huang SF, Lin HC, Chang WL, Chang TC: Effect and mechanism of ginsenosides CK and Rg1 on stimulation of glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. J Agric Food Chem 2010, 58:6039-6047.
34. Kim SN, Lee JH, Shin H, Son SH, Kim YS: Effects of in vitro-digested ginsenosides on lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. Planta Med 2009, 75:596-601.
35. Su CF, Cheng JT, Liu IM: Increase of acetylcholine release by Panax ginseng root enhances insulin secretion in Wistar rats. Neurosci Lett 2007, 412:101-104.
36. Yook T, Yu J, Lee H, Song B, Kim L, Roh J, Shin J, Lim S: Comparing the effects of distilled Rehmannia glutinosa, Wild Ginseng and Astragali Radix pharmacopuncture with heart rate variability (HRV): a randomized, sham-controlled and double-blind clinical trial. J Acupunct Meridian Stud 2009, 2:239-247.
37. Hue L, Taegtmeyer H: The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009,

297:E578-591.
38. Li J, Stillman JS, Clore JN, Blackard WG: Skeletal muscle lipids and glycogen mask substrate competition (Randle cycle). Metabolism 1993, 42:451-456.
39. Lagrost L, Gambert P, Athias A, Lallemant C: Metabolic role of human apoprotein A-IV. Adv Exp Med Biol 1991, 285:109-115.
40. Tiwari S, Siddiqi SA: Intracellular trafficking and secretion of VLDL. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2012, 32:1079-1086.
41. Buttet M, Traynard V, Tran TT, Besnard P, Poirier H, Niot I: From fatty-acid sensing to chylomicron synthesis: Role of intestinal lipid-binding proteins. Biochimie 2013.
42. Black DD: Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. I. Development of intestinal lipid absorption: cellular events in chylomicron assembly and secretion. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2007, 293:G519-524.
43. Vance DE, Vance JE: Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes. 5th edn. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2008.
44. Yang X, Heckmann BL, Zhang X, Smas CM, Liu J: Distinct mechanisms regulate ATGL-mediated adipocyte lipolysis by lipid droplet coat proteins. Mol Endocrinol 2013, 27:116-126.
45. Langin D, Holm C, Lafontan M: Adipocyte hormone-sensitive lipase: a major regulator of lipid metabolism. Proc Nutr Soc 1996, 55:93-109.
46. Labar G, Wouters J, Lambert DM: A review on the monoacylglycerol lipase: at the interface between fat and endocannabinoid signalling. Curr Med Chem 2010, 17:2588-2607.
47. Lindberg UB, Crona N, Silfverstolpe G, Bjorntorp P,

Rebuffe-Scrive M: Regional adipose tissue metabolism in postmenopausal women after treatment with exogenous sex steroids. Horm Metab Res 1990, 22:345-351.

48. Lafontan M, Berlan M: Fat cell alpha 2-adrenoceptors: the regulation of fat cell function and lipolysis. Endocr Rev 1995, 16:716-738.

49. Mattiasson I, Rendell M, Tornquist C, Jeppsson S, Hulthen UL: Effects of estrogen replacement therapy on abdominal fat compartments as related to glucose and lipid metabolism in early postmenopausal women. Horm Metab Res 2002, 34:583-588.

50. Kissebah AH, Vydelingum N, Murray R, Evans DJ, Hartz AJ, Kalkhoff RK, Adams PW: Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. J Clin Endocrinol Metab 1982, 54:254-260.

51. Arner P: Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. Ann Med 1995, 27:435-438.

52. Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, Mauriege P, Despres JP: Gender difference in postprandial lipemia : importance of visceral adipose tissue accumulation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999, 19:2448-2455.

53. Djurhuus CB, Gravholt CH, Nielsen S, Mengel A, Christiansen JS, Schmitz OE, Moller N: Effects of cortisol on lipolysis and regional interstitial glycerol levels in humans. Am J Physiol Endocrinol Metab 2002, 283:E172-177.

54. Degerman E, Belfrage P, Manganiello VC: Structure, localization, and regulation of cGMP-inhibited phosphodiesterase (PDE3). J Biol Chem 1997, 272:6823-6826.

55. Haemmerle G, Zimmermann R, Hayn M, Theussl C, Waeg G, Wagner E, Sattler W, Magin TM, Wagner EF, Zechner R: Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis. J Biol Chem 2002, 277:4806-4815.

56. Jeon BH, Kim CS, Park KS, Lee JW, Park JB, Kim KJ, Kim SH, Chang SJ, Nam KY: Effect of Korea red ginseng on the blood pressure in conscious hypertensive rats. Gen Pharmacol 2000, 35:135-141.

57. Saleh MC, Connell BJ, Saleh TM: Autonomic and cardiovascular reflex responses to central estrogen injection in ovariectomized female rats. Brain Res 2000, 879:105-114.

58. Harfstrand A, Fuxe K, Cintra A, Agnati LF, Zini I, Wikstrom AC, Okret S, Yu ZY, Goldstein M, Steinbusch H, et al.: Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. Proc Natl Acad Sci U S A 1986, 83:9779-9783.

59. Bechtold AG, Scheuer DA: Glucocorticoids act in the dorsal hindbrain to modulate baroreflex control of heart rate. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2006, 290:R1003-1011.

60. Bamshad M, Aoki VT, Adkison MG, Warren WS, Bartness TJ: Central nervous system origins of the sympathetic nervous system outflow to white adipose tissue. Am J Physiol 1998, 275:R291-299.

61. Bartness TJ, Shrestha YB, Vaughan CH, Schwartz GJ, Song CK: Sensory and sympathetic nervous system control of white adipose tissue lipolysis. Mol Cell Endocrinol 2010, 318:34-43.

62. Bartak V, Vybiral S, Papezova H, Dostalova I, Pacak K, Nedvidkova J: Basal and exercise-induced sympathetic nervous

activity and lipolysis in adipose tissue of patients with anorexia nervosa. Eur J Clin Invest 2004, 34:371-377.

Chapter 5. The Multiple Group Structural Equation Model Analysis of the Effect of Fermented Red Ginseng on Beck Depression Inventory in Postmenopausal Women

5.1 Introduction

5.1.1 Definition of depression

세계보건기구의 발표는 우울증이 세계적으로 만연해 있으며, 그 증가추세는 더욱 가파라질 것으로 추정한다. 즉, 2008년 현재 세계적으로 1억 2천만명이 우울증에 걸려 있으며 질병리스트에서 네번째 자리를 차지하고 있지만, 2020년이 되면 우울증은 비용적으로 질병부담 중 서열 2위의 자리를 차지하게 될 것으로 추정한다 [1]. 생애중 특별한 경험과 관련이 없는 주요우울증은 심리적, 육체적 삶이 질과 함께 그리고 사회적인 활동의 질을 낮춘다 [2]. 그리고 사회심리적인 어려움들과 함께 넓은 범위의 질병들과도 관련되어 이른 사망으로 연결된다 [3]. 다른 한편으로는 노화, 다른 질병의 발생과 재발 사회적인 환경등 다양한 요소들이 우울증 증상의 심각도와 관련이 된다 [4].

전통적 신경의학에서 우울증은 하나 또는 그 이상의 신경전달계의 조절이상이 원인으로 간주되며, 항우울약물의 타켓은 이들 신경전달계이다. 예를 들어 세로토닌 또는 노르아드레날리/도파민의 급격한 고갈은 우울증을 유발하고, 이 때문에 이들 신경전달물질을 재조절하는 것이 항 우울증약물의 주된 작용이 된다 [5]. 그러나 이러한 항우울약물은 다양한 부작용을 나타낼 수 있다. 성기능과 소화기의 이상, 하지불안 증후군 [6] 그리고 배뇨곤란, 시력장애, 변비 등과 같은 말초성 무스카린성 수용체의 차단으로 인한 항콜린성부작용 등이 대표적인 예이다 [7].

5.1.2 Papez circuit and limbic system

1990년대 이래로 급속히 보급된 기능성 자기공명이미지 (Functional magnetic resonance image: fMRI)와 같은 이미지영상기법들은 인간의 감정을 포함한 다양한 심리작용에 뇌의 활동이 관련되어 있음을 밝혀내기 시작했는데, 그들의 연구에 의하면, 주요우울증은 신경생리학적인 이

상과 관련이 있다. 특히 시상하부와 뇌하수체를 포함한 변연계와 안와전두엽을 포함한 전두엽부위, 그리고 이들의 상호작용회로들(interconnected circuits)이 우울증과 관련하여 중요하다.

1937년 코넬대학의 신경해부학자였던 파페츠 (James Papez)는 특정한 신경회로들이 감정을 담당할 것이라는 가정하에 신경세포를 한쪽에서 염색하면서 염색약이 이동하는 경로를 확인하였다. 이 회로는 "해마 - 뇌궁 (fornix) - 유두체 (mammillary bodies) - 유두시상다발 (mammillothalamic tract) - 시상전위핵 (thalamus anterior nuclei) - 대상엽 (cingulate cortex) - 해마 (hippocampus)"로 연결되는 폐회로를 그리고 있었다 (Fig. 5-1). 이후 이 폐회로는 주변의 신경계로 더욱 확장된다는 것이 밝혀졌으며 이후 다양한 감정작용을 비롯한 여러가지 심리기능을 담당하는 변연계 (limbic system)라는 개념으로 발전하게 된다 [8-10].

변연계의 어원인 "limbic"은 라틴어 limbus에서 온 것으로 그 뜻은 경계 (border)이다. 즉, 변연계는 대뇌반구의 안쪽면의 주변부에 위치하고 있는데, 이 때문에 피질하구조 (subcortical structure)라고도 한다. 변연계는 시상하부, 해마, 편도, 그리고 중격핵 (septal nuclei)을 포함한다. 변연계는 단기간 또는 작동기억 (working memory), 장기기억, 감정기억, 불안, 우울, 두려움, 공포, 보상 그리고 중독현상 등 다양한 심리작용들과 관련되어 있다 [11-14].

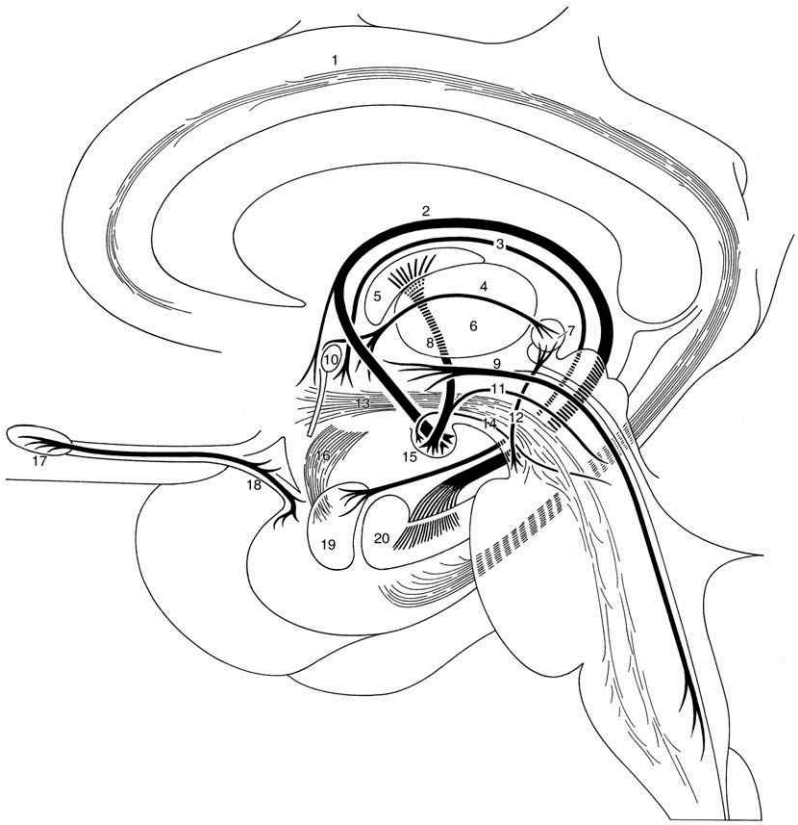


Figure 5-1. The major pathways of the limbic system. 1 Cingulum, 2 Fornix, 3 Stria terminalis, 4 Stria medullaris, 5 Anterior thalamic nucleus, 6 Mediodorsal thalamic nucleus, 7 Habenular nuclei, 8 Mamillothalamic tract, 9 Dorsal longitudinal fasciculus, 10 Anterior commissure, 11 Mamillotegmental tract, 12 Habenulo-interpeduncular tract, 13 Medial forebrain bundle, 14 Mamillary peduncle, 15 Mamillary body, 16 Ansa peduncularis, 17 Olfactory bulb, 18 Lateral olfactory stria, 19 Amygdaloid complex, 20 Hippocampus [15]. Cited from Rudolf (2008).

맥린 (Paul D. MacLean)의 삼위일체뇌 (triune brain) 가설에 의하면 인간의 뇌는 파충류뇌, 초기 포유류뇌 (변연계), 그리고 대뇌 신피질이라는 주요기능이 다른 세개의 껍질로 구성된다 (Fig. 5-2). 변연계는 진화론적으로 인간의 대뇌가 현재와 같이 팽창, 발달하기 이전에 나타났다. 초대륙인 판게아 (Pangaea)에서 대륙이 갈라지기 시작하던 2억 5천만년전, 중생대에 초기포유류가 변연계와 함께 진화하면서, 파충류들에서는 볼 수 없었던, 자식을 보호하고, 소리내며 놀아주는 것과 같은 감정반응들이 나타나게 되었다 [16]. 변연계는 이후 영장류단계에서 급속히 팽창한 대뇌신피질과 상호 긴밀히 연결되어 다양한 기능이 추가 되었다 [16].

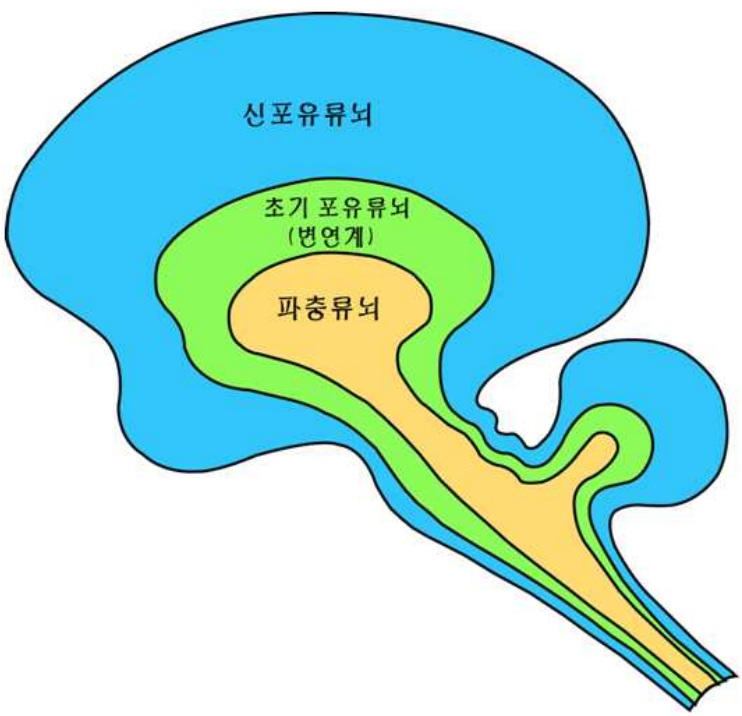


Figure 5-2. The triune brain [16]. Cited from MacLean PD. (1990)

5.1.3 Circumventricular organs and limbic system

인체의 호르몬들과 미네랄 영양소등이 변연계에 직접적으로 영향을 줄 수 있을까? 이에 대한 물음은 시상하부를 포함한 변연계가 뇌실구조와 밀접한 관련을 갖는다는 사실에 관심을 가지게 한다. 뇌실계 (ventricular system)는 뇌 안의 액체로 채워진 공간으로, 맥락막망 (choroid plexus)의 뇌실막 (ependymal) 세포로부터 방출된 뇌척수액 (cerebrospinal fluid: CSF)이 순환하는 공간이다 (Fig. 5-3). 뇌척수액의 성분은 단백질과 같은 몇몇 성분을 제외하고, 혈장 (plasma)과 유사한 수치를 보이며 (Table 5-1) 인체의 경우 혈액성분이 내피조직 (fenestrated endothelium)과 뇌실막 세포를 통과하여 매일 500 ml 정도가 뇌실계로 공급된다 [15].

Table 5-1. Cerebrospinal fluid and plasma composition [15].

	Cerebrospinal fluid	Serum (Arterial)
pH	7.33	7.41
Glucose	60 mg/dL	90 mg/Dl
Proteins	0.035 g/Dl	7.0 g/Dl
Sodium (Na^+)	135 mEq/L	135 mEq/L
Potassium (K^+)	2.8 mEq/L	5 mEq/L

뇌실계는 4개의 뇌실로 구성된다. 뇌의 좌우측 안쪽면에 두개의 측면뇌실 (lateral ventricles)이 있고 그 사이에 투명사이막 (septum pellucidum)이 있다. 제 3뇌실 (third ventricle)은 뇌실간공 (Monro)의 뇌실사이구멍 (interventricular foramen)과 연결된다. 제 3뇌실 양쪽측면에는 시상, 시상하부 그리고, 간뇌 (diencephalon)가 위치해 있다. 제 3뇌실은 다시 중간뇌수도관 (cerebral aqueduct)을 통하여 제 4뇌실과 연결되는데, 제 4뇌실은 소뇌 (cerebellum)와 뇌간 (brainstem)사이에 위치한다.

뇌실은 혈액뇌관문 (blood-brain barrier: BBB)가 없거나 희박하여 말초 혈액의 성분들이 접근할 수 있기에 뇌와 다른 신체기관들 사이의 정보를 전달하는 통로가 된다. 실제로 작은 아미노산이나 분자들은 BBB의 장벽을 통과하는 것 보다 CVOs의 혈관을 통과하는 속도가 200 내지 700배나 빠르다 [17]. 이 때문에 뇌실에 노출되어 있는 7개의 작은 조직으로 구성된 뇌실주변부의 기관들 (circumventricular organs: CVOs)은 전체 뇌 부피의 0.5%도 채 되지 않지만, 항상성유지에 매우 중요한 역할을 하게 된다 [18]. 뿐만 아니라 뇌실주변부기관들은 뇌실로 신경전달물질을 방출하여 광범위한 범위에 효과를 발생시킬 수 있다 [19-21].

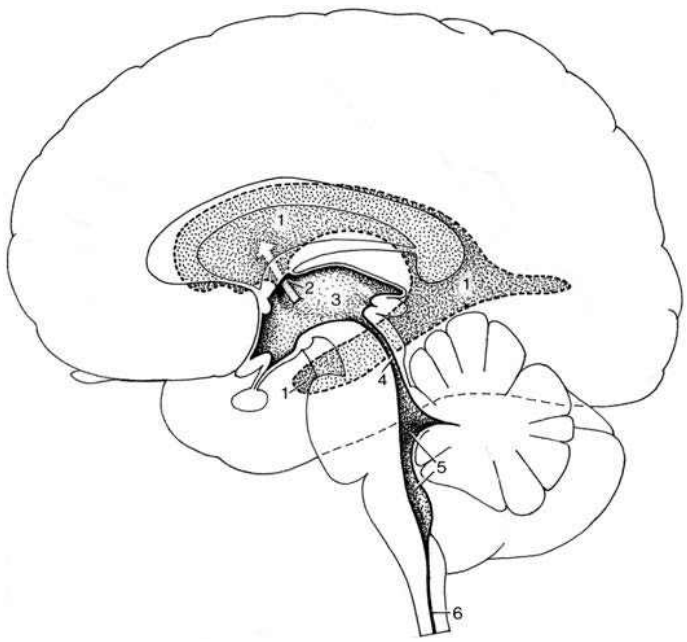


Figure 5-3. The ventricular system of the brain. The arrow passes through the interventricular foramen from the third ventricle to the lateral ventricle. 1 Lateral ventricle, 2 Interventricular foramen, 3 Third ventricle, 4 Mesencephalic aqueduct, 5 Fourth ventricle, 6 Central canal [15]. Cited from Rudolf (2008).

5.1.4 Lipid in brain and depression

우울증이 인간의 뇌의 작용과 관련이 있다면, 그리고 우울증을 인지하는 뇌의 능력과 관련이 있다면, 우울증 치료의 표적에는 뇌의 정상적인 기능유지와 관련된 인자들이 포함되어야 한다. 인간의 뇌를 중심으로 보았을 때, 뇌의 기능에 영향을 주는 환경은 두가지로, 인체 외부환경은 사회적인 관계가 포함되며, 인체 내부환경은 항상성과 관련된다. 따라서 우울증 치료는 인지적 치료들과 함께 뇌신경작용을 위한 영양적 요소들을 빼놓을 수 없다. (Table 5-2).

Table 5-2. Environmental components and depression

Environment	Components	Intervention targets
Outside of human body	Social and economic variables	Social support
	Individual events	Cognitive therapy
Inside of human body	Interaction between central and peripheral nervous system	Exercise and electric therapy
	Hormones, minerals, energy sources	Nutrients supply

신경계는 인간의 모든 정신적 그리고 신체적 활동과 함께, 호흡계, 순환계, 배설계 그리고 내분비계를 포함한 인체의 다른 시스템들과 상호작용함으로써 유기체에게 하나의 통일된 개체성을 부여한다. 이에 대한 이해를 위한 첫번째는 요소는 뇌의 기본적인 세포구조인 뉴런이 된다. 신경계는 중추신경계와 말초신경계로 나뉘며, 중추신경계는 다시 뇌와 척수로, 말초신경계는 체성신경계과 자율신경계로 나뉜다. 체성신경계는 감각신경과 운동신경으로 자율신경계는 교감신경계와 부교감신경계로 나뉜다 [15]. 이상과 같이 기능에 따라 다양한 신경계들이 존재하지만, 이들 신경계를 구성하는 주된 두가지 세포들은 뉴런과 글리아세포이다. 뉴런은 활동전위를 생성함으로써 신호전달을 담당하며, 글리아 세포는

영양소공급과 이물질제거 등으로 뉴런의 활동을 돕는다. 인체의 뇌의 경우 뉴런은 대략 1천억개이고 글리아세포는 이의 10배인 1조개 정도로 추산된다 [15].

뉴런의 구조는 크게 네 부분으로 수상돌기, 세포체, 축색돌기 그리고 축색돌기 말단이며 이 순서대로 전기적 신호가 전달된다. 뉴런과 뉴런 사이에는 시냅스를 통하여 신호가 전달되는데, 전기적 시냅스와 화학적 시냅스로 나뉘며, 대부분은 화학적 시냅스가 담당한다. 뉴런이 전기적 신호를 발생시킬 수 있는 구조적 핵심은 세포막을 사이에 둔 이온농도기울기이다. 뉴런의 세포막 안쪽에는 칼륨이온과 단백질 음이온들이, 그리고 세포막 바깥쪽에는 나트륨과 염화이온의 농도가 높고 이 때문에 세포밖을 기준으로 할 때 신경세포 내부는 -70 mV의 휴지기 전위를 갖는다. 이러한 농도기울기 생성은 이온펌프를 통한 능동수송으로 이루어진다 [15].

뉴런의 막 사이에는 몇가지 종류의 이온들을 특이적으로 통과시키는 채널이 존재하는데 크게 리간드에 의해 채널이 열리는 리간드 의존성과 전압의 변화에 의해 채널이 열리는 전압의존성 채널로 나뉜다. 어떠한 자극이 발생하게 되면 먼저 나트륨채널이 열리면서 세포밖의 나트륨양이온들이 세포내부로 이동하게 되고 세포내부의 전위는 +30 mV인 활동전위로 바뀐다. 곧 이어서 칼륨채널이 열리면서 세포내부의 칼륨 양이온이 세포밖으로 이동하고 뉴런 내부는 다시 휴지기 전위를 회복하게 되는데 이를 재분극이라 한다. 이 과정에서 활동전위는 역치, 실무율 그리고 불응기라는 세가지 특징을 가진다. 이온채널들은 열리거나 닫히는 두가지 신호만을 발생한다는 것이 실무율이며, 열리기 위한 최소한의 전위를 역치라고 하며, 열린 후 다시 닫히기까지는 다른 신호에 의해 열리지 않는 기간이 존재한다는 것이 불응기이다.

한편, 뉴런은 축색돌기에 지질 미엘린수초가 감싸 있는지의 여부에 따라 무수신경과 유수신경으로 나뉜다 (Fig. 5-4). 비록 지렁이(earthworm)과 새우 (shrimp)에서도 미엘린 수초가 발견되지만 [22], 발달한 유수신경은 턱을 가진 척추동물군에서부터 널리 등장하게 된다

[23,24]. 인체의 경우, 태어난 이후부터 중추신경의 경우, 글리아세포들에 의한 뉴런의 지질수초화가 진행되면서 50세에 지질수초화가 최대화가 된다 [25]. 신경의 굵기가 작으면 단지 지질막은 단지 몇회로 감싸지게 되지만, 신경이 굵어지면 수초화되어 감겨지는 횟수는 수백회까지 증가한다 [22,26].

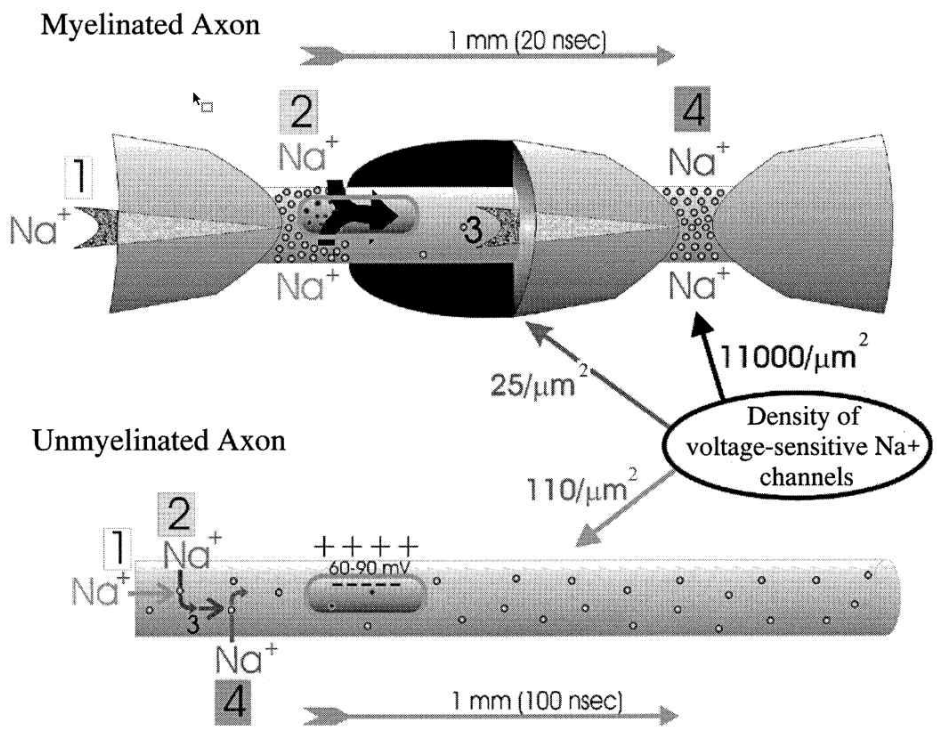


Figure 5-4. Nerve conduction in myelinated and unmyelinated axons. 1. Arrival of action potential in a form of a wave of sodium ions. 2 and 4. Entry of sodium ions by activation of sodium channels. 3. Passive dilusion of the wave of sodium ions along the axon following the concentration gradient [27]. Cited from Garbay B. (2000)

비포유류와 포유류 모두 수초의 주요성분은 지질로서, 말초신경의 경우 수초의 건조중량의 72~78%가 지질로 구성될 정도이다. 인체 말초신경의 연구에 의하면 수초지질의 23%는 콜레스테롤이, 22.1%는 당지질 그리고 나머지 58.2%가 인지질로 구성된다 [28].

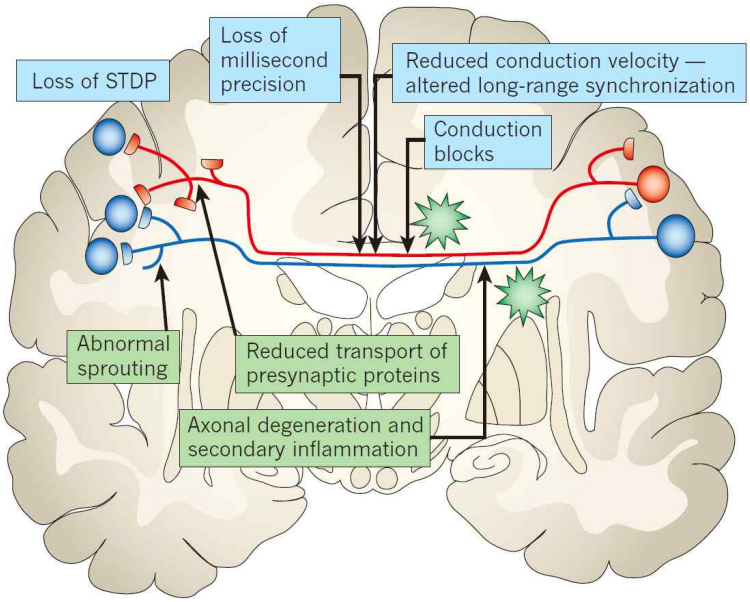


Figure 5-5. Oligodendrocyte defects may lead to cognitive impairment. A hypothetical model pointing to possible consequences of reduced myelination, altered axonal diameters, and/or fast axonal transport, when caused by oligodendroglial dysfunction (blue boxes). In this schema, transcallosal cortical projections are myelinated and can establish and maintain long-range oscillations between cortical subfields. Spike-timingdependent plasticity (STDP) requires millisecond precision, which is myelin dependent. Perturbed fast axonal transport may alter the protein composition of presynaptic terminals. More severe oligodendroglial perturbations, as caused by

inflammations (green star-like cells) and demyelination, lead to axonal defects (green boxes), such as conduction blocks and/or irreversible axon loss that clearly disrupt long-range connectivity. Poor intracortical myelination might also trigger abnormal axon sprouting and/or interfere with memory consolidation [29]. Cited from Nave KA (2010)

지질수초화는 신호전달의 속도와 효율에 매우 큰 장점으로 작용한다. 지질미엘린화는 랑비에결절의 사이를 절연함으로써 도약전도를 가능하게 하였다. 이는 신경신호의 전달속도를 증가시킬뿐만 아니라 신호전달을 위해 필요로 하는 에너지 감소와 신경세포의 크기감소라는 장점을 제공하였다. 만약 유수신경과 같은 신호전달속도를 가지려면 무수신경은 지름이 400배 이상 커져야 하며 에너지소모는 5천배 이상 많아져야 한다. 뿐만 아니라 불응기의 감소로 인하여 유수신경은 무수신경에 비해 34배나 빠른 속도로 신호를 생성시킬 수 있다. 종합적으로 하나의 세포 관점으로 비교해볼 때, 유수신경은 무수신경에 비해 정보처리용량을 3천배 증가시키게 된다 [30-33]. 뿐만 아니라 미엘린화의 여부와 그 정도는 신체와 뇌의 부위에 따른 신호전달속도를 변화시킴으로써 신경세포들의 위치에 따른 신호들의 동기화와 순서화를 가능하도록 한다 [30-32].

따라서 미엘린화의 손상은 다양한 신경질환의 발생과 관련되며, 여기에는 주의결핍-과잉행동장애 (attention deficit/hyperactivity disorder: ADHD), 자폐증 (autism) [34], 학습장애 (learning disabilities) [35], 중독 (addiction) [36,37], 정신분열증 (schizophrenia) [38], 불안 [39] 그리고 우울증 [40,41] 등이 포함된다. (Fig. 24)

5.1.5 Minerals and depression

철, 칼륨, 나트륨, 마그네슘, 염소 그리고 칼슘이온은 활동전위와 커뮤니케이션을 포함한 뉴런의 다양한 기능들을 위하여 필수적인 성분들이다. 예를 들어, 한 연구에 의하면 우울증 환자들은 낮은 수치의 혈장 페리틴을 가지고 있었다 [42]. 그리고 철결핍의 증상은 우울증 발생 때 나타나는 증상과 유사하며 철과 아연 보충물을 비타민과 함께 투여했을 때 우울증 증상의 개선이 보여졌다 [43].

또다른 예는 이온성 Mg-아데노신 삼인산 (adenosine triphosphate: ATP)으로부터의 생물학적 에너지의 방출이다. 우울증환자들에서는 ATP의 수치의 감소가 발견된다 [44]. 그리고 이들 환자들에게 마그네슘을 투여하면 항우울 효과가 나타난다 [45].

5.1.6 The effects of red ginseng on hormones, energy sources, minerals, and depression

아시아에서, 특히 한국, 중국, 일본에서 인삼은 가장 인기있는 약초 보충물 중 하나이고 그 기록은 2000년 전까지 올라간다. 최근, 인삼의 인기는 서구사회에서도 커가고 있다. 예를 들어 2003년 미국에서 인삼은 최고판매 10위 중 하나였다 [46]. 인삼의 주요 약리성분들은 진세노사이드로서 스테로이드 골격을 가지고 있으며, 인체내의 호르몬들, 에너지 대사 그리고 미네랄농도와 관계를 가지고 있음을 보여준다.

진세노사이드 Rh1 [47]과 Rg3 [48]는 estrogen receptors (ERs)에 대한 리간드로 작용하며, Rh2 [49]와 compound K [50]는 glucocorticoid receptors (GRs)에 대한 리간드로서 작용한다. 그러므로 어떤 진세노사이드들은 변연계나 시상하부-뇌하수체-부신(hypothalamus-pituitary-adrenal: HPA)축의 뉴런들 안에 있는 ERs이나 GRs을 매개로 하여 우울지표의 수치나 요소들에 영향을 줄 수 있다는 가설이 가능하다. 연구들에 의하면 Rg1은 뉴런세포들의 아폽토시스를

감소시키며 이러한 감소는 ERs과 GRs을 매개로 한다 [51]. 뿐만 아니라 Rb1과 Rg3는 뉴런의 독성을 완화시키는데 이것은 GRs과 관련되어 있다 [52].

둘째, 인삼은 혈당수치를 감소하는 효과를 가지고 있음을 보여준다. 홍삼에서 조사포닌을 나이든 암컷 rats에 투여할 때, 그들의 혈당수치는 148 mg/dl에서 124 mg/dl로 감소한다 [53]. 잘 조절된 제 2형 당뇨 환자들의 그룹을 대상으로 한 연구에서, 홍삼을 섭취하면 5 g 경구당부하 테스트에서 (oral glucose tolerance test) 공복혈장 인슐린이 8~11%, 그리고 혈장 인슐린 수치가 33~38% 감소한다 [54]. 혈당수치뿐만 아니라 지질수치도 홍삼섭취에 의해 영향을 받는다. 이 등은 시험관 연구에서 홍삼이 지질산화를 촉진하였다고 보고하였다 [55].

셋째, 인삼처리는 rat의 뼈에서 미네랄수치를 증가시켰다. 예를 들어 인삼에서 추출한 조사포닌을 노령의 암컷 rats에 투여할 때, 대퇴골(femur)에서 나트륨이온의 수치가 3.0 mg/g에서 5.8 mg/g으로 증가하였다 [53].

5.1.7 Aims and hypotheses

이 연구의 첫 번째 목적은 호르몬들, 에너지원들 그리고 미네랄들을 원인변수로 하고, 우울지표 (Beck depression inventory: BDI)를 결과변수로 설정한 후 이들 사이의 관계를 검정하는 것이다. 문헌에 근거하여, 이 연구의 연구가설은 다음과 같다.

● 호르몬들은 변연 HPA 축의 뇌세포 안에 있는 ERs과 GRs을 경유하여 우울지표에 영향을 준다
● 에너지원들은 중추신경계 (central nervous system: CNS)를 통해 우울지표에 영향을 준다.
● 미네랄들은 활동전위나 시냅스 기능을 통해 우울지표에 영향을 준다.

이 연구의 두 번째 목적은 발효홍삼섭취가 호르몬들, 에너지원들, 미네랄들 그리고 우울지표들 사이에서 인과적 관계에 영향을 주는가를 가설검정하는 것이다. 이에 대한 연구가설은 다음과 같다.

● 진세노사이드들이 중추신경계에서 호르몬들, 에너지원들 그리고 미네랄들을 경유하여 우울지표에 영향을 준다.

5.2 Methods

참가자 모집과 실험의 진행과정은 2-2 Materials and Methods와 동일하다. 비록 홍삼섭취로 인한 부작용의 보고가 거의 없음에도, 스테로이드 약물의 장기간 사용에서 부작용이 있음을 감안하여 [56], 2주간의 홍삼섭취는 충분하다고 간주하였다. 실험참가자들은 혈액을 채취하기 전에 BDI (Appendix 2)의 한글번역본을 제공받아 자기기입방식으로 입력하였다.

5.2.1 Psychological variables

BDI는 21개의 질문항목으로 구성되며 각 항목당 0점에서 3점까지의 4점 스케일로 측정된다. 따라서 21개 항목들에 대한 총 합계값은 0에서 63까지가 된다. BDI 항목에 대한 응답의 합계점수가 높으면 우울증의 증상은 높은 빈도와 높은 심각성을 가리킨다 (Appendix 2). 즉, 0~9, minimal depression; 10~18, mild depression; 19~29, moderate depression; and 30~63, severe depression이다. 본 연구의 참가자들의 BDI 분포는 0~9, 57명; 10~18, 17명; 19~29, 1명; 그리고 30~63, 0명이었고 분석에는 모두 포함하였다. BDI문항을 모두 기입한 참가자는 75명이었으며, 응답하지 않은 항목은 완전무작위결측치로 간주하고 구조방정식 분석에서 다중대체법으로 분석하였다.

5.2.2 Statistical analyses

변수들의 평균값 분석방법은 2.2 Materials and Methods에서 제시된 방법과 동일하며 두 그룹간의 평균값을 Table 5-5에 제시하였다. 우울지표(BDI 항목들)와 호르몬들, 에너지원들 그리고 미네랄들 간의 인과적 관계를 검정하기 위해 구조회귀모형이 이용되었다. 1단계의 기저모형에서 시작하여 동일화제약을 연속적으로, 단계적으로 한단계씩 진행하여 최종 모형이 만들어졌다.

본 연구의 모든 모형은 weighted least squares means and variance adjusted (WLSMV) 추정방법을 이용하였다. WLS-기반 추정값들은 분석을 위하여 범주형 변수들에게 많은 양이 샘플크기를 요구하지 않는다 [57]. 측정되지 않은 변수들, 결측 혈액샘플들 그리고 BDI의 설문지에서 응답하지 않은 항목들은 무작위 결측치로 간주하였다. 그런 다음 Mplus software (version 6.11, Muthén & Muthén)을 이용하여 다중대체법으로 10개의 데이터 셋을 만든 후 분석하였다 [58].

표 5-3와 표 5-4은 우울지표 BDI 모형 (Fig. 5-6)에서 사용된 변수들 중 대중대체에 이용된 결측치의 수와 비율이다.

Table 5-3. Number of missing value of BDI in BDI model

BDI	FRG group			Placebo group		
	Raw data	Missing value	Ratio of missing value (%)	Raw data	Missing value	Ratio of missing value (%)
d1	46	3	7	39	5	13
d2	46	3	7	39	5	13
d3	45	4	9	39	5	13
d4	46	3	7	40	4	10
d5	46	3	7	39	5	13
d6	46	3	7	40	4	10
d7	46	3	7	42	2	5
d8	46	3	7	42	2	5
d9	46	3	7	41	3	7
d10	46	3	7	41	3	7
d11	46	3	7	41	3	7
d12	46	3	7	42	2	5
d13	45	4	9	42	2	5
d14	46	3	7	42	2	5
d15	46	3	7	42	2	5
d16	44	5	11	41	3	7
d17	44	5	11	41	3	7
d18	44	5	11	40	4	10
d19	44	5	11	40	4	10
d19.1	44	5	11	41	3	7
d20	43	6	14	40	4	10
d21	43	6	14	39	5	13

* BDI의 각 항목 (d1-d21)의 내용은 Appendix 2를 참조

Table 5-4. Number of missing value of biochemical variables in BDI model

Variables	Group	Raw data	Missing value	Ratio of missing value (%)
ACTH	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
Cortisol	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
Total-cholesterol	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
LDL-cholesterol	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
Glucose	Placebo	44	0	0
	FRG	49	0	0
P (plasma)	Placebo	41	3	7
	FRG	46	3	6
Na^+ (plasma)	Placebo	41	3	7
	FRG	46	3	6
Cl^- (plasma)	Placebo	41	3	7
	FRG	46	3	6
Iron (plasma)	Placebo	41	3	7
	FRG	46	3	6
Ca^{2+} (serum)	Placebo	44	0	0
	FRG	46	3	6
Mg^{2+} (plasma)	Placebo	41	3	7
	FRG	46	3	6

Adrenocorticotropic hormone, ACTH; LDL, low density lipoprotein; Cl, chloride ion,

5.3 Results

5.3.1 Comparison of psychological variables

모든 BDI 항목들의 총 합계에 대한 평균은 홍삼군이 7.53 (s.d. 5.49)였고, 위약군은 6.16 (s.d. 4.26)이었다. 두 그룹간에 평균값은 유의한 차이를 보이지 않았다.

5.3.2 Comparison of biochemical variables

Table 5-5는 내분비와 대사 관련 변수들의 두 그룹간의 차이를 나타낸 것이다. 호르몬변수의 경우, 성장호르몬과 여성호르몬 그리고 dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS)이 홍삼군에서 높았다.

에너지원 변수들 중에서, 인슐린, 당화혈색소, 그리고 인슐린저항성수치 (HOMA-IR)가 위약군에 비해 홍삼군에서 낮았다. 인슐린에서 평균값에서 3배 이상의 표준편차보다 높은 이상치는 분석에서 제외하였다 (1명은 홍삼군, 2명은 위약군). 저밀도 지단백 콜레스테롤 (low-density lipoprotein (LDL) cholesterol)의 평균은 홍삼군에서 높았다 (P=0.08).

미네랄 변수들에서, serum calcium (P=0.03)과 plasma magnesium의 수치 (P=0.06)는 홍삼군에서 높았다. Table 5-6 는 호르몬들, 미네랄들 그리고 에너지원들과 BDI의 항목들 간의 $P<0.05$의 유의도를 갖는 상관관계들을 나타낸 것이다.

Table 5-5. Mean comparison between the groups

Marker	Group	2nd sample Mean ± S.D (n)	P	Δ2nd-1st	P
CRH	Pbo.	0.2 ± 0.1 (20)	0.17	0.01	0.40
(ng/ml)	FRG	0.5 ± 1.0 (20)		0.21	
AVP (ADH)	Pbo.	0.8 ± 0.2 (20)	0.93	-0.09	0.45
(pg/dl)	FRG	0.8 ± 0.2 (20)		-0.03	
ACTH	Pbo.	20.4 ± 10.1 (44)	0.34	2.3	0.52
(pg/ml)	FRG	22.7 ± 11.8 (49)		0.9	
Cortisol	Pbo.	11.2 ± 3.5 (44)	0.52	-0.2	0.13
(μg/dl)	FRG	10.8 ± 3.8 (49)		0.9	
Free cortisol	Pbo.	22.5 ± 15.8 (41)	0.96	-5.5	0.32
(μg/day)	FRG	19.8 ± 14.0 (47)		-2.1	
CBG	Pbo.	6178 ± 8294 (20)	0.95	2269	0.95
(ng/ml)	FRG	6293 ± 8469 (20)		2114	
LH	Pbo.	38.8 ± 14.8 (20)	0.30	1.0	0.56
(mIU/ml)	FRG	30.3 ± 9.0 (20)		-0.3	
FSH	Pbo.	74.0 ± 24.3 (20)	0.68	0.1	0.44
(mIU/ml)	FRG	68.0 ± 18.5 (20)		2.4	
Estradiol	Pbo.	14.5 ± 7.3 (19)	0.06*	-7.4	0.06*
(pg/ml)	FRG	18.3 ± 7.3 (19)		1.0	
GH	Pbo.	0.9 ± 1.2 (20)	0.06*	-0.40	0.50
(ng/ml)	FRG	1.8 ± 1.4 (20)		-0.06	
IGF-1	Pbo.	144 ± 49 (20)	0.87	-2.3	0.67
(ng/ml)	FRG	144 ± 67 (20)		1.8	
DHEAS	Pbo.	65.2 ± 31.4 (44)	0.05*	-6.2	0.03**
(μg/dl)	FRG	66.2 ± 29.1(49)		0.5	
Insulin	Pbo.	6.4 ± 3.6 (43)	0.04**	1.0	0.01
(μU/ml)	FRG	6.2 ± 2.9 (48)		-0.2	
Glucose	Pbo.	89.6 ± 6.8 (44)	0.31	2.2	0.85
(mg/dl)	FRG	87.4 ± 7.1 (49)		2.5	
HbA1c	Pbo.	5.77 ± 0.29 (44)	0.04**	0.09	0.06
(%)	FRG	5.70 ± 0.27(49)		0.06	
HOMA-IR	Pbo.	1.42 ± 0.80 (43)	0.06*	0.17	0.03
	FRG	1.36 ± 0.67 (48)		-0.09	

n, sample number; * p<0.1, ** p<0.05, *** p<0.01, S.D., standard deviation; Adrenocorticotropic hormone, ACTH; n, number of sample

Table 5-5. Comparison of variables mean between the groups (continue)

Marker	Group	2^{nd}sample Mean ± S.D (n)	P	Between $\Delta 2^{nd}-1^{st}$	P
Total Chol.	Placebo	216.2 ± 31.6 (44)	0.14	8.0	0.07
(mg/dl)	FRG	217.7 ± 30.9 (49)		-0.2	
HDLChol.	Placebo	54.6 ± 10.6 (44)	0.13	2.9	0.12
(mg/dl)	FRG	53.6 ± 11.2 (49)		1.1	
LDLChol.	Placebo	139.1 ± 31.6 (44)	0.08*	9.3	0.04
(mg/dl)	FRG	141.3 ± 30.1 (49)		0.7	
pH (urine)	Placebo	5.7 ± 0.8 (43)	0.02**	-0.02	0.06
	FRG	5.9 ± 0.8 (49)		0.4	
Ca (serum)	Placebo	10.8 ± 1.6 (45)	0.03**	-1.0	0.06
(mg/dl)	FRG	11.4 ± 1.7 (46)		-0.2	
K (plasma)	Placebo	21.0 ± 2.6 (41)	0.04**	4.0	0.01
(mmol/L)	FRG	20.1 ± 1.8 (46)		2.4	
Fe (plasma)	Placebo	26.3 ± 7.4 (41)	0.68	9.1	0.44
(μg /dl)	FRG	26.5 ± 11.4 (46)		8.5	
Mg (plasma)	Placebo	265 ± 48 (41)	0.06*	0.03	0.18
(mg/dl)	FRG	282 ± 39 (46)		0.05	
$1,25(OH)_2VitD_3$	Placebo	39.5 ± 17.1 (41)	0.32	12.8	0.60
(pg/ml)	FRG	33.8 ± 9.9 (46)		10.3	
PTH	Placebo	30.1 ± 6.6 (41)	0.13	8.1	0.10
(pg/ml)	FRG	37.6 ± 11.1 (46)		11.7	

n: number of sample

Table 5-6. The correlation coefficients between BDI item and biochemical markers (P<0.05)

No.	BDI items	Variables (Correlation coefficients)
D1	Sadness	ACTH(-.219), FSH(.242), pP(.205), pCl(.235)
D2	Pessimism	DHEAS(.274), Tchol(-.179), LDL(-.155), pNa(.197), pP(.179), pIron(-.154), pMg(-.224), uCl(.190), uK(.202), uNa(.203)
D3	Past-failure	ACTH(-.190), LH(.286), HDL(.196), TG(-.162), FFA(-.177)
D4	Dissatification	LH(.242)
D5	Gulity feeling	ACTH(-.266), DHEAS(-.197), FFA(-.194), pCl(.228), Glucose(-.160), Ccr(.199), pP(.178), uNa(.184)
D6	Ppunishment feeling	ACTH(-.188), GCs(-.174), fT4(-.265), DHEAS(-.251)
D7	Self-dislike	fT4(-.433), DHEAS(-.154), PAI-1(-.178), uCa(.203)
D8	Self-accusation	ADH(.313), Glucose(-.177)
D9	Suicidal thought	CRH(.241), fT4(-.329), DHEAS(-.161)
D10	Crying	-
D11	Irribability	LH(.281), pNa(.218), pP(.218),pIron(-.181), pMg(-.174)
D12	Loss of interest other	uNa(.184), Ccr(.189)
D13	Indecisiveness	ACTH(-.166), pNa(.185), pP(.223), pIron(-.159)
D14	Body image change	Apo B(-.169)
D15	Loss of energy	ACTH(-.207), DHEAS(-.160), Creatine(.216)
D16	Insomnia	fGC(.180), Tchol(-.171), LDL(-.153), pNa(.169), pP(.185), pIron(-.239), fT4(-.315), uNa(.168)
D17	Fatigue	GCs(-.269), fT4(-.239), sCa(.158), pNa(.188), pP(.282), pIron(-.241), uP(.179), uCl(.235), uK(.226), uNa(.247)
D18	Anorexia	ACTH(-.196), pNa(.157), pMg(-.161)
D19	Weight loss	T3(-.436), Tchol(-.180), LDL(-.173), ACE(-.269), BUN(.157), pNa(.305), pIron(-.167)
D20	Somatic preoccupation	T3(-.266), GH(.263), TG(-.172), ApoB(-.192), pNa(.172),HDL(.162)
D21	Loss of libido	IGF-1(-.237), HbA1c(-.221), TSH(-.241)

* BDI문항에 대한 자세한 내용은 Appendix 2를 참조. Adrenocorticotropic hormone, ACTH; pP, plasma phosphorus; pNa, plasma sodium; fT4, free thyroxine; pIron, plasma Iron; Ccr, creatine clearance; GCs, cortisol; fGC, free cortisol; uCa, urine calcium; uNa, urine sodium; uK, urine potassium.

5.3.3. The multiple group structural regression models

5.3.3.1 Factor analysis for construction of the model

요인 (Factors) 또는 잠재변수들 (latent variables)은 관찰변수들로부터 만들어진다. 본 연구에서, 원인 잠재변수들 (독립 잠재변수들)은 4가지로 hormone factor, energy factor, mineral 1 factor 그리고 mineral 2 factor였고, 결과 잠재변수들은 두가지로 somatic factor와 cognitive factor였다. cognitive factor와 somatic factor의 결정은 선행연구들 [59]과 본 연구에서의 요인분석결과에 근거하였다.

5.3.3.2 The consecutive steps for the final model

본 연구에서는 최종모형을 만들기까지 세가지 요소들에 대한 불변성 검정이 있었다. 즉, 요인부하 (factor loading), 구조회귀 (structural regression) 경로계수들, 그리고 잠재변수 평균 (latent variable means)들에 대한 불변성 (invariance) 검정이 있었다. 이들 요소들을 테스트하기 위해 다음의 연속적인 단계들을 통해 다섯가지 모형들이 만들어지고 분석이 진행되었다. 각 모델에서 제약의 내용을 Table 5-7에 제시하였다. 그리고 Table 5-8에서 5가지 모형의 모형적합도를 각각 나타내었다.

모형 1 (형태동일성, configural model)은 기저모형이었다. 원인

변수들인 연속관찰변수들의 평균이 그룹간에 동일화제약이 되고, 결과변수들인 범주형 관찰변수들 (BDI 항목들)이 두 그룹에서 0으로 제약되었다. 연구들의 보고에 의하면 BDI만으로 요인분석을 하였을 때, 모형적합도의 범위가 0.7에서 0.9 사이였다 [60]. 선행연구들의 BDI 요인분석들에 대한 모형적합도를 감안해볼 때, 본 연구에서 BDI와 네 개의 원인 잠재변수가 포함된 기저모형의 적합도 통계치 (root means quare error of approximation (RMSEA)=0.033, comparative fit index (CFI)=0.888, and Tucker - Lewis index (TLI)=0.875)는 받아들여질 수 있다고 간주하였다. (Table 5-8).

모형 2는 측정모형이었다. 모든 요인부하를 두 그룹사이에 동일화제약을 하였다. 모형적합도는 우수하였고 (RMSEA=0.034, CFI=0.883, TLI=0.871), 이들 통계치는 앞서 분석되었던 기저모형 1과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않았다.

모형 3은 연속 관찰변수들의 절편을 두 그룹 사이에 동일화제약을 하고 검정하였다. 모형적합도는 우수하였고 (RMSEA=0.034, CFI=0.882, TLI=0.872), 이들 통계치는 앞서 분석되었던 모형 2와 비교하여 유의한 차이를 보이지 않았다.

모형 4는 요인부하와 BDI 항목들인 범주형 변수들의 threshold를 그룹간에 동일화제약을 하였다. 모형적합도는 우수하였고 (RMSEA=0.034, CFI=0.879, TLI=0.872), 이들 통계치는 앞서 분석되었던 모형 3과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 5-8).

모형 5에서, 원인요인들과 결과요인들간의 추정치인 구조회귀경로들 (structural regression paths)이 두 그룹들 사이에 동일화되었다. 그리고 Wald test에 의해 분석되었다. 에너지 요인에서 cognitive factor로의 구조회귀 경로 추정치는 4.495 (P=0.034)였다. 따라서 두 그룹 사이에 유의미한 차이를 나타냈고 동일화가설은 기각되었다.

Table 5-7. The contents of equality constraints in five models.

Model	Continuous variables	Categorical variables
Model 1	1. Configural invariance: (1) Freely analyzed factor loading, intercept, variance. (2) Factor mean=0 across groups.	(1) Freely analyzed factor loadings and thresholds. (2) Fix the scale factors at 1 across groups. (3) Equality constrained mean at 0 across groups.
Model 2	2. Metric invariance: (1) Freely analyzed intercept, variance. (2) Fix factor mean at 0 across groups. (3) Tests equality constrained of factor loading across group.	
Model 3	3. Intercept scalar invariance: (1) Freely analyzed factor mean across groups. (2) Equality constrained factor loading, intercept across groups.	
Model 4	4. Intercept scalar invariance: (1) Freely analyzed factor mean across groups. (2) Equality constrained factor loading, variance, intercept across groups.	(1) Equality constrained factor loadings and thresholds across groups. (2) Freely analyzed scale factors and means in second group.
Model 5	5. Test structural regression path estimates across groups.	

Table 5-8. The goodness-of-fit statistics comparison of five models

Model	D.F.	Δdf	χ^2	RMSEA	CFI	TLI
Model 1	680		715.2	0.033	0.888	0.875
Model 2	688	8	724.9	0.034	0.883	0.871
Model 3	696	8	733.0	0.034	0.882	0.872
Model 4	715	19	753.2	0.034	0.879	0.872
Model 5	720	5	756.8	0.033	0.883	0.877

D.F.; degree of freedom, Δdf: difference between model and previous model

5.3.3.3 Estimates derived from the final model

이상의 결과들에 근거하여, 최종모형이 생성되었다 (Fig. 5-6). energy factor에서 cognitive factor로의 구조회귀경로는, 두 그룹들 사이에 제약이 없이 자유롭게 측정되었다. 그리고 다른 나머지 구조회귀경로들과 요인부하들은 두 그룹 사이에 동일화제약을 하고 분석을 하였다. 그 결과, energy factor에서 cognitive factor로의 구조회귀경로의 추정값은 위약군 (-0.201)에 비해 홍삼군 (0.259)이 유의하게 더 높았다.

energy factor의 LDL 콜레스테롤에 대한 요인부하를 1로 기준하였을 때, energy factor의 total 콜레스테롤에 대한 요인부하의 추정값은 1.246이었고, energy factor의 glucose에 대한 추정값은 0.166으로 매우 낮았다.

홍삼군에서 각 요인들에 대한 평균값을 0으로 기준하였을 때, 위약군에서 평균은 각각 호르몬요인이 -0.238, 에너지요인이 -0.006, 미네랄 1요인이 -0.232 그리고 미네랄 2요인이 -0.217이었다.

BDI항목에서 관찰변수들의 다중상관값의 제곱 (squared multiple correlations: SMC) 또는 R-square (R^2)는 원인 잠재변수들에 의해 설명되어질 수 있는 결과 관찰변수의 비율이다 [61]. 예를 들어 “sadness” 항

목 (D1)의 SMC는 홍삼군이 0.754로 위약군의 0.252보다 높았다 (Fig. 5-6).

구조회귀모형에서, 종속 (결과) 잠재변수들의 SMC는 독립 (원인) 잠재변수들의 직접적인 효과의 비율을 보여준다. Cognitive factor와 somatic factor의 SMC는 홍삼군 (0.395과 0.550) 이 위약군 (0.108과 0.151) 보다 높았다.

인지요인 (cognitive factor)과 신체요인 (somatic factor) 사이의 표준화된 상관계수는 홍삼군이 0.829 (P=0.005)로 위약군의 -0.143 (P=0.629)에 비해 높았다.

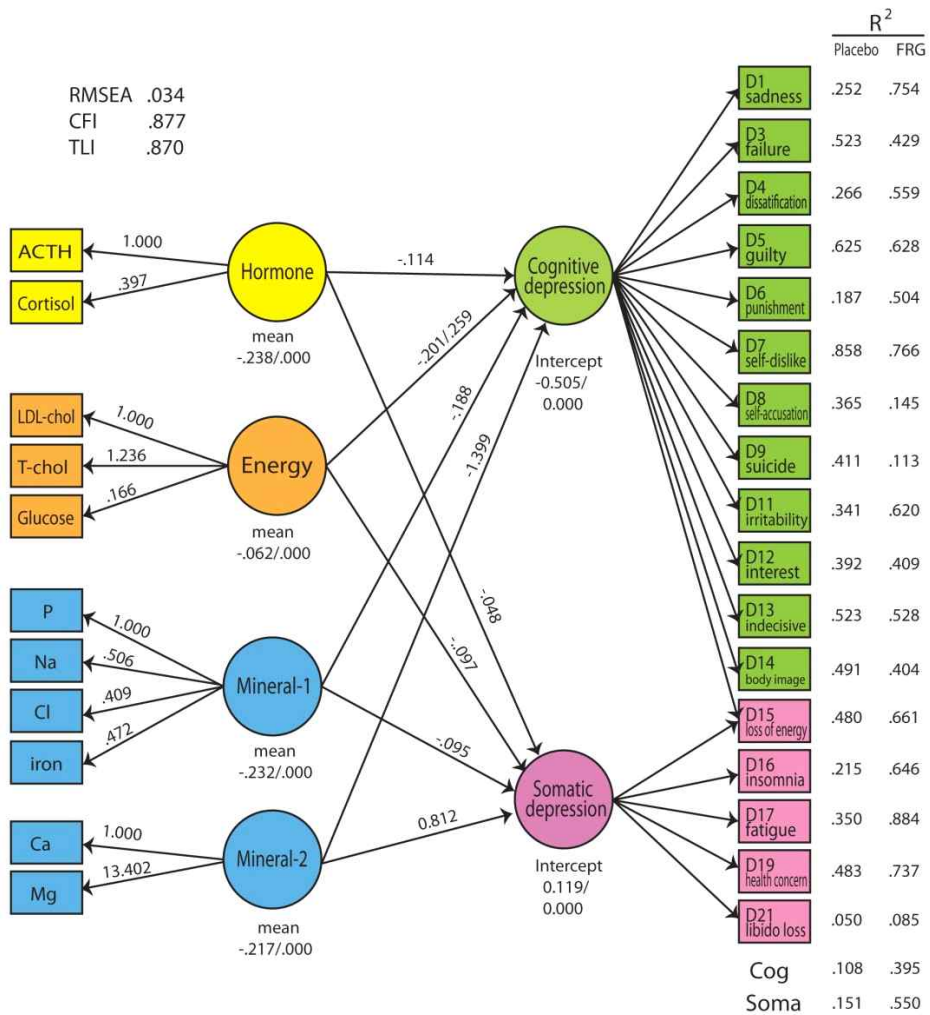


Figure 5-6. Final “BDI” model

The structural regression path of the energy factor on the cognitive factor was freely analyzed and the other structural regression paths were constrained for equality between FRG group and placebo group. The numbers on the arrow line represent the estimates of structural regression paths and factor loadings. R^2:, R-squrare (squared multiple correlations (SMC)).

5.4 Discussion

몇 개의 연구들은 인삼이나 홍삼의 섭취가 우울증상을 개선한다고 보고하였다. 하지만 그것들은 혈류의 흐름 [62]이나, 마우스를 대상으로 한 강제된 수영테스트 [63]로서 사람을 대상으로 한 감정의 상태를 직접 측정한 것은 아니었다.

우울증은 대개 자기기입방식의 BDI와 같이 설문조사에 의해 측정된다. BDI는 건강한 사람과 감정적인 장애를 진단사람을 대상으로 우울증상의 정량적으로 측정을 위한 도구로서 가장 널리 사용되어져 온 진단법들 중 하나이다 [60].

5.4.1 Hormone factor and BDI factors

본 연구에서, 호르몬으로 이름 지어진 요인은 부신피질자극호르몬(Adrenocorticotropic hormone: ACTH)와 코티졸 (cortisol)의 측정을 포함한다. 비록 우울증환자들이 높은 수치의 코티졸을 가진다는 점이 널리 알려져 있을지라도, 본 연구에서 코티졸의 수치는 우울지표와 관련된 인자와 음의 인과적 관계를 보였다. 이러한 결과들은 본 연구의 참가자들이 우울증이 없는 비교적 건강한 상태였다는 점에 기인할 수 있다. 따라서 정상범위의 코티졸 수치는 우울증상의 공동 감소자로서 작용할 수 있다. 실제로, 낮은 수치의 혈중 코티졸의 경우에도 만성피로증후군, 섬유근육통 (fibromyalgia), 통증 그리고 스트레스에 대한 민감도 증가 등과 관련되며 [64, 65], 자율신경계와 면역계에도 영향을 주게된다 [66, 67].

코티졸수치의 변화의 가능한 원인들의 목록에는 HPA축 전반에 걸쳐 시상하부, 뇌하수체, 부신, 그리고 이들 조직에 존재하는 수용체가 포함된다. 즉, 호르몬의 작용은 반드시 그 수용체의 세포내 수치나 활성과 관련하여 이해되어야 하기에 보다 정확한 해석은 수용체의 연구와 함께, 우울증 환자그룹을 포함한 추가적인 연구가 필요하다고 본다.

5.4.2 Energy factor and BDI factors

연구들은 낮은 수치의 LDL-콜레스테롤이나 총 콜레스테롤이 우울증과 음의 상관관계를 가지고 있다고 보고하였다 [68]. 이들 보고들은 세포막의 세로토닌 수용체에서 세로토닌의 재흡수 [69], 다가 불포화지방산의 공급, 특히 오메가 3 지방산 [70], 지질뗏목 (lipid raft)에서 엔도카나비노이드 수용체 (endocanabinoid receptor) [71], 그리고 뉴런의 미엘린화 [40]와 같은 몇 개의 가설들과 연결되어 있다.

Vanessa 등은 우울증세가 당대사의 손상과 양의 상관관계를 가지고 있다고 보고하였다 [72]. 하지만 본 연구에서 energy factor의 total 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤의 요인부하는 각각, 1.236 과 1.000로 energy factor의 혈당에 대한 요인부하 0.166 보다 높았다.

이러한 결과에 대한 한가지 가능한 설명은 본 실험이 밤사이 공복상태의 8시간 이후에 진행되었다는 점이다. 식후에 혈당은 주요 에너지원으로서 인슐린에 의해 조절된다. 반면 공복상태에서 주요 에너지원은 혈액의 지질들이 된다 [73]. 하지만 순환계의 유리지방산은 뇌에서 사용될 수 없기에 지질의 수치는 우울증과의 관련성을 설명할 수 없다.

비록 본 연구에서 케톤체들이 분석되어지지 못했을지라도, 케톤체들은 지질과 우울증 사이의 수수께끼의 풀이를 제공해줄 수 있다. 왜냐하면 케톤체는 뇌의 주요한 에너지원이기 때문이다 [74]. 대개 케톤체의 농도는 유리지방산과 양의 관계이다. 그리고 혈액의 케톤체들은 식후상태의 6 mmol/l에서 단식상태의 25 mmol/l로 급격히 상승한다 [75].

본 연구에서 energy factor와 cognitive factor의 인과적 관계는 위약군에서 -0.169로 음의 관계를 가지고 있었으나 홍삼군에서는 0.259라는 양의 값을 나타냈다. 이는 홍삼군에서 에너지대사의 효율성이 증가한 것일 수 있다.

5.4.3. Ketone body as a major energy source in brain at fasting state

에너지대사는 식후와 공복상태 사이에 다르다. 식후기간에는, 인슐린이 방출되고 탄수화물이 주요 에너지원으로 이용된다. 하지만, 공복상태에서는, 지방세포에 저장되어 있던 중성지방이 분해되어 글리세롤과 유리지방산으로 된다. 그리고 그런 다음 순환계로 방출되어 심장, 근육, 신장, 간 그리고 다른 조직에 이용된다. 뇌 조직은 유리지방산들을 이용할 수 없고 케톤체를 이용한다. 케톤체는 간에서 글리세롤로부터 합성되어 진다 [74].

운동이나 공복상태에서 케톤체는 에너지원으로서 중요한 역할을 하는데, 지질산화에 사용되는 전체 에너지원 중 70% 이상을 케톤체가 담당하게 된다. 하루 주기동안 유리지방산의 방출크기는 밤사이의 단식기간동안에 최대가 된다. 단식이 하루종일 계속되면 160 g (1440 kcal)의 유리지방산이 순환계로 방출된다 [74].

5.5 Conclusion

Cognitive factor에 대한 energy factor의 요인계수는 홍삼군과 위약군 사이에 유의하게 차이가 났다. energy factor의 LDL 콜레스테롤과 총 콜레스테롤의 요인부하는 energy factor의 glucose에 대한 요인부하보다 큰 값을 나타내었다. 콜레스테롤은 지질과 케톤체를 포함한 지질 유래체를 대표하는 것으로 해석될 수 있다. 하지만 보다 정확한 이해를 위해서는 향후 보다 정교한 실험들이 필요할 것이다.

비록 위약군에서는 cognitive factor와 somatic factor의 SMCs가 작았지만, hormones factor, energy factor, 그리고 mineral factors들은 cognitive factor와 somatic factor에 대해 약간씩 다른 값을 나타냈다. SMCs의 나머지 부분은 prostaglandin E2 와 DHEAS를 포함하는 다른 변수들에 의해 설명될 수 있을 것이다.

본 연구는 연속변수들인 호르몬들, 에너지원들 그리고 미네랄들

을 원인변수로 하여 우울증 지표로 흔히 이용되는 명목변수들인 BDI항목의 효과를 구조방정식으로 확인한 첫 연구이다. 비록 구조방정식에서 요인들의 단위가 없기에 이에 대한 결과의 해석은 제한되지만, 본 연구는 우울지표들에서 인체의 생화학적 지표들이 영향을 줄 수 있음을 정량적으로 분석하였으며, 앞으로 보다 진전된 연구들의 가능성을 제시하였다. 스테로이드 구조의 진세노사이드는 처리기간, 비율, 처리량, 형태에 따라 그 효능이 달라질 수 있다. 따라서 단일 형태의 진세노사이드와 정량적으로 측정한 후의 combination한 진세노사이드들을 이용한, 그리고 건강인과 함께 질병을 가지고 있는 다양한 그룹들을 대상으로 한 보다 진전된 연구가 홍삼의 효과와 효능에 대한 이해에 도움이 될 것이다

.

References

1 WHO. What is depression? WHO Available at: http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/, 2012.

2. Wells KB, Stewart A, Hays RD, et al.: The functioning and well-being of depressed patients: Results from the medical outcomes study. JAMA 1989, 262:914-919.

3. Murray CJL, Lopez AD: Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. The Lancet 1997, 349:1436-1442.

4. Guico-Pabia CJ, Fayyad RS, Soares CN: Assessing the relationship between functional impairment/recovery and depression severity: a pooled analysis. Int Clin Psychopharmacol 2012, 27:1-7.

5. Booij L, Van der Does AJ, Riedel WJ: Monoamine depletion in psychiatric and healthy populations: review. Mol Psychiatry 2003, 8:951-973.

6. Rottach KG, Schaner BM, Kirch MH, Zivotofsky AZ, Teufel LM, Gallwitz T, Messer T: Restless legs syndrome as side effect of second generation antidepressants. J Psychiatr Res 2008, 43:70-75.

7. Gartlehner G, Thieda P, Hansen RA, Gaynes BN, Deveaugh-Geiss A, Krebs EE, Lohr KN: Comparative risk for harms of second-generation antidepressants : a systematic review and meta-analysis. Drug Saf 2008, 31:851-865.

8. Vertes RP, Albo Z, Viana Di Prisco G: Theta-rhythmically firing neurons in the anterior thalamus: implications for mnemonic functions of Papez's circuit. Neuroscience 2001, 104:619-625.

9. Eggers AE: Redrawing Papez' circuit: a theory about how acute stress becomes chronic and causes disease. Med Hypotheses 2007, 69:852-857.
10. Shah A, Jhawar SS, Goel A: Analysis of the anatomy of the Papez circuit and adjoining limbic system by fiber dissection techniques. J Clin Neurosci 2012, 19:289-298.
11. Ladouceur CD, Diwadkar VA, White R, Bass J, Birmaher B, Axelson DA, Phillips ML: Fronto-limbic function in unaffected offspring at familial risk for bipolar disorder during an emotional working memory paradigm. Dev Cogn Neurosci 2013, 5:185-196.
12. Schlund MW, Verduzco G, Cataldo MF, Hoehn-Saric R: Generalized anxiety modulates frontal and limbic activation in major depression. Behav Brain Funct 2012, 8:8.
13. Robbins TW, Everitt BJ: Limbic-striatal memory systems and drug addiction. Neurobiol Learn Mem 2002, 78:625-636.
14. Kesner RP, Conner HS: Effects of electrical stimulation of rat limbic system and midbrain reticular formation upon short- and long-term memory. Physiol Behav 1974, 12:5-12.
15. Rudolf N., Jan V., Christiaan H. The human central nervous system. Springer Berlin Heidelberg; 2008: 5, 919
16. MacLean PD: The triune brain in evolution. N.Y. USA.: Plenum; 1990.
17. Gross PM, Blasberg RG, Fenstermacher JD, Patlak CS: The microcirculation of rat circumventricular organs and pituitary gland. Brain Res Bull 1987, 18:73-85.
18. Gross PM, Weindl A: Peering through the windows of the brain. J Cereb Blood Flow Metab 1987, 7:663-672.
19. Ventetuolo CE, Barr RG, Bluemke DA, Jain A, Delaney JA,

Hundley WG, Lima JA, Kawut SM: Selective serotonin reuptake inhibitor use is associated with right ventricular structure and function: the MESA-right ventricle study. PLoS One 2012, 7:e30480.

20. Suarez J, Romero-Zerbo SY, Rivera P, Bermudez-Silva FJ, Perez J, De Fonseca FR, Fernandez-Llebrez P: Endocannabinoid system in the adult rat circumventricular areas: an immunohistochemical study. J Comp Neurol 2010, 518:3065-3085.

21. Lee HS, Chong W, Han SK, Lee MH, Ryu PD: Activation of metabotropic glutamate receptors inhibits GABAergic transmission in the rat subfornical organ. Neuroscience 2001, 102:401-411.

22. Roots BI: The phylogeny of invertebrates and the evolution of myelin. Neuron Glia Biol 2008, 4:101-109.

23. Richardson WD, Pringle NP, Yu WP, Hall AC: Origins of spinal cord oligodendrocytes: possible developmental and evolutionary relationships with motor neurons. Dev Neurosci 1997, 19:58-68.

24. Zalc B, Colman DR: Origins of vertebrate success. Science 2000, 288:271-272.

25. Bartzokis G, Beckson M, Lu PH, Nuechterlein KH, Edwards N, Mintz J: Age-related changes in frontal and temporal lobe volumes in men: a magnetic resonance imaging study. Arch Gen Psychiatry 2001, 58:461-465.

26. Xu K, Terakawa S: Saltatory conduction and a novel type of excitable fenestra in shrimp myelinated nerve fibers. Jpn J Physiol 1993, 43 Suppl 1:S285-293.

27. Garbay B, Heape AM, Sargueil F, Cassagne C: Myelin

synthesis in the peripheral nervous system. Prog Neurobiol 2000, 61:267-304.

28. Spritz N, Singh H, Geyer B: Myelin from human peripheral nerves. Quantitative and qualitative studies in two age groups. J Clin Invest 1973, 52:520-523.

29. Nave KA: Myelination and support of axonal integrity by glia. Nature 2010, 468:244-252.

30. Kimura F, Itami C: Myelination and isochronicity in neural networks. Front Neuroanat 2009, 3:12.

31. Salami M, Itami C, Tsumoto T, Kimura F: Change of conduction velocity by regional myelination yields constant latency irrespective of distance between thalamus and cortex. Proc Natl Acad Sci U S A 2003, 100:6174-6179.

32. Bartzokis G, Lu PH, Tingus K, Peters DG, Amar CP, Tishler TA, Finn JP, Villablanca P, Altshuler LL, Mintz J, et al: Gender and iron genes may modify associations between brain iron and memory in healthy aging. Neuropsychopharmacology 2011, 36:1375-1384.

33. Bartzokis G: Neuroglialpharmacology: myelination as a shared mechanism of action of psychotropic treatments. Neuropharmacology 2012, 62:2137-2153.

34. Gozzi M, Nielson DM, Lenroot RK, Ostuni JL, Luckenbaugh DA, Thurm AE, Giedd JN, Swedo SE: A magnetization transfer imaging study of corpus callosum myelination in young children with autism. Biol Psychiatry 2012, 72:215-220.

35. Benes FM, Turtle M, Khan Y, Farol P: Myelination of a key relay zone in the hippocampal formation occurs in the human brain during childhood, adolescence, and adulthood. Arch Gen Psychiatry 1994, 51:477-484.

36. Bartzokis G: Brain Myelination in Prevalent Neuropsychiatric Developmental Disorders: Primary and Comorbid Addiction. Adolesc Psychiatry 2005, 29:55-96.
37. Feng Y: Convergence and divergence in the etiology of myelin impairment in psychiatric disorders and drug addiction. Neurochem Res 2008, 33:1940-1949.
38. Bartzokis G: Myelination and brain electrophysiology in healthy and schizophrenic individuals. Neuropsychopharmacology 2003, 28:1217-1218.
39. Tanaka H, Ma J, Tanaka KF, Takao K, Komada M, Tanda K, Suzuki A, Ishibashi T, Baba H, Isa T, et al: Mice with altered myelin proteolipid protein gene expression display cognitive deficits accompanied by abnormal neuron-glia interactions and decreased conduction velocities. J Neurosci 2009, 29:8363-8371.
40. Merkler D, Klinker F, Jurgens T, Glaser R, Paulus W, Brinkmann BG, Sereda MW, Stadelmann-Nessler C, Guedes RC, Bruck W, Liebetanz D: Propagation of spreading depression inversely correlates with cortical myelin content. Ann Neurol 2009, 66:355-365.
41. Regenold WT, Phatak P, Marano CM, Gearhart L, Viens CH, Hisley KC: Myelin staining of deep white matter in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and unipolar major depression. Psychiatry Res 2007, 151:179-188.
42. Vahdat Shariatpanaahi M, Vahdat Shariatpanaahi Z, Moshtaaghi M, Shahbaazi SH, Abadi A: The relationship between depression and serum ferritin level. Eur J Clin Nutr 2007, 61:532-535.

43. Nguyen PH, Grajeda R, Melgar P, Marcinkevage J, DiGirolamo AM, Flores R, Martorell R: Micronutrient supplementation may reduce symptoms of depression in Guatemalan women. Arch Latinoam Nutr 2009, 59:278-286.
44. Iosifescu DV, Bolo NR, Nierenberg AA, Jensen JE, Fava M, Renshaw PF: Brain bioenergetics and response to triiodothyronine augmentation in major depressive disorder. Biol Psychiatry 2008, 63:1127-1134.
45. Eby GA, Eby KL: Rapid recovery from major depression using magnesium treatment. Med Hypotheses 2006, 67:362-370.
46. Mintel: Complementary and alternative medicines-US-July 2008. Chicago, Ill.: Mintel Intl; 2008.
47. Lee Y, Jin Y, Lim W, Ji S, Choi S, Jang S, Lee S: A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. J Steroid Biochem Mol Biol 2003, 84:463-468.
48. Hien TT, Kim ND, Pokharel YR, Oh SJ, Lee MY, Kang KW: Ginsenoside Rg3 increases nitric oxide production via increases in phosphorylation and expression of endothelial nitric oxide synthase: Essential roles of estrogen receptor-dependent PI3-kinase and AMP-activated protein kinase. Toxicol Appl Pharmacol 2010.
49. Niu CS, Yeh CH, Yeh MF, Cheng JT: Increase of adipogenesis by ginsenoside (Rh2) in 3T3-L1 cell via an activation of glucocorticoid receptor. Horm Metab Res 2009, 41:271-276.
50. Yang CS, Ko SR, Cho BG, Shin DM, Yuk JM, Li S, Kim JM, Evans RM, Jung JS, Song DK, Jo EK: The ginsenoside metabolite compound K, a novel agonist of glucocorticoid

receptor, induces tolerance to endotoxin-induced lethal shock. J Cell Mol Med 2008, 12:1739-1753.

51. Wu J, Pan Z, Wang Z, Zhu W, Shen Y, Cui R, Lin J, Yu H, Wang Q, Qian J, et al: Ginsenoside Rg1 protection against beta-amyloid peptide-induced neuronal apoptosis via estrogen receptor alpha and glucocorticoid receptor-dependent anti-protein nitration pathway. Neuropharmacology 2012, 63:349-361.

52. Kim SO, You JM, Yun SJ, Son MS, Nam KN, Hong JW, Kim SY, Choi SY, Lee EH: Ginsenoside rb1 and rg3 attenuate glucocorticoid-induced neurotoxicity. Cell Mol Neurobiol 2010, 30:857-862.

53. Y-S K, J-J W, S-Y H, J-S K, S-K K: Effect of crude saponin fraction from Korean red ginseng on physiological functions of old female rat. Journal of Korean Soc Food Sci Nutr 2000, 29:460-465.

54. Vuksan V, Sung MK, Sievenpiper JL, Stavro PM, Jenkins AL, Di Buono M, Lee KS, Leiter LA, Nam KY, Arnason JT, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2008, 18:46-56.

55. Lee HJ, Lee YH, Park SK, Kang ES, Kim HJ, Lee YC, Choi CS, Park SE, Ahn CW, Cha BS, et al: Korean red ginseng (Panax ginseng) improves insulin sensitivity and attenuates the development of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Metabolism 2009, 58:1170-1177.

56. Schacke H, Docke WD, Asadullah K: Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. Pharmacol Ther 2002,

96:23-43.

57. B M: Latent variable structural equation modeling with categorical-data. J Econometrics 1983, 22:43-65.

58. DB R: Illustrating the use of multiple imputations to handle nonresponse in sample surveys. In Proceedings of the 42nd session of the International Statistical Institute. Volume Book 2; 1979: 517-532

59. Poole H, Bramwell R, Murphy P: Factor structure of the Beck Depression Inventory-II in patients with chronic pain. Clin J Pain 2006, 22:790-798.

60. Beck AT, Steer RA, Carbin MG: Psychometric properties of the Beck Depression Inventory: Twenty-five years of evaluation. Clinical Psychology Review 1988, 8:77-100.

61. Kline RB: Principles and practice of structural equation modeling. 2nd edn: Guilford; 2005.

62. Choi HK, Seong DH, Rha KH: Clinical efficacy of Korean red ginseng for erectile dysfunction. Int J Impot Res 1995, 7:181-186.

63. Kim NH, Kim KY, Jeong HJ, Kim HM: Antidepressant-like effect of altered Korean red ginseng in mice. Behav Med 2011, 37:42-46.

64. Fries E, Hesse J, Hellhammer J, Hellhammer DH: A new view on hypocortisolism. Psychoneuroendocrinology 2005, 30:1010-1016.

65. Tops M, Riese H, Oldehinkel AJ, Rijsdijk FV, Ormel J: Rejection sensitivity relates to hypocortisolism and depressed mood state in young women. Psychoneuroendocrinology 2008, 33:551-559.

66. Ben-Zvi A, Vernon SD, Broderick G: Model-based therapeutic

correction of hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction. PLoS Comput Biol 2009, 5:e1000273.

67. Taylor CB, Conrad A, Wilhelm FH, Neri E, DeLorenzo A, Kramer MA, Giese-Davis J, Roth WT, Oka R, Cooke JP, et al: Psychophysiological and cortisol responses to psychological stress in depressed and nondepressed older men and women with elevated cardiovascular disease risk. Psychosom Med 2006, 68:538-546.

68. Aijanseppa S, Kivinen P, Helkala EL, Kivela SL, Tuomilehto J, Nissinen A: Serum cholesterol and depressive symptoms in elderly Finnish men. Int J Geriatr Psychiatry 2002, 17:629-634.

69. Alvarez JC, Cremniter D, Lesieur P, Gregoire A, Gilton A, Macquin-Mavier I, Jarreau C, Spreux-Varoquaux O: Low blood cholesterol and low platelet serotonin levels in violent suicide attempters. Biol Psychiatry 1999, 45:1066-1069.

70. Sinclair AJ, O'Dea K, Dunstan G, Ireland PD, Niall M: Effects on plasma lipids and fatty acid composition of very low fat diets enriched with fish or kangaroo meat. Lipids 1987, 22:523-529.

71. Freund TF, Katona I, Piomelli D: Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. Physiol Rev 2003, 83:1017-1066.

72. Bouwman V, Adriaanse MC, van 't Riet E, Snoek FJ, Dekker JM, Nijpels G: Depression, anxiety and glucose metabolism in the general dutch population: the new Hoorn study. PLoS One 2010, 5:e9971.

73. Moller N, Jorgensen JO: Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. Endocr Rev 2009, 30:152-177.

74. Fukao T, Lopaschuk GD, Mitchell GA: Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid biochemistry. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2004, 70:243-251.
75. Owen OE, Felig P, Morgan AP, Wahren J, Cahill GF, Jr.: Liver and kidney metabolism during prolonged starvation. J Clin Invest 1969, 48:574-583.

Chapter 6. Overall Discussion and Conclusion

6.1 Hypothesis and hypothesis test in this study

사전적 의미로 가설이란 “어떤 사실이나 이론 체계를 설명 또는 연역하기 위해 설정한 가정”이다. 그리고 모집단의 모수에 대하여 가설을 세운 후, 표본 (Sample)의 정보를 토대로 하여 이 가설의 진위를 판단하는 것을 가설검정이라 한다. 과학적 관점으로 인과관계가 확정적인 것이 아니라 확률적인 것으로 해석한다는 것을 전제로 한다면, 비록, 본 연구에서 사용한 홍삼분말이 다양한 성분들의 혼합물일지라도, 진세노사이드들 특히 Rh1과 Rg3가 estrogen receptor (ER)의 리간드로, 그리고 Rh2와 CK가 glucocorticoid receptor (GR)의 리간드로 작용한다는 가설은, 선행연구들의 결과들과 본 연구에서의 가설검정의 결과를 비교해 볼 때 연관되어 설명되어질 수도 있다.

본 논문은 혈당, 유리지방산 그리고 우울지표의 세가지 모형을 포함하고 있다. 각 모형별로 실험가설이 결과들과 관련되는지를 살펴보고자 한다. 첫째, 혈당모형에서, 혈당의 원인인자로, 선행연구들의 연구보고에 근거하여, 알도스테론, 유리 코티졸 그리고 성장호르몬을 설정하였다. Wald test를 한 결과 이중 알도스테론→혈당의 경로계수가 홍삼군과 위약군간에 유의한 차이가 있다고 분석되었다. 알도스테론은 미네랄 코르티코이드의 리간드이며, 미네랄코르티코이드와 글루코코르티코이드 수용체는 리간드를 공유한다. 즉, 알도스테론은 MR뿐만 아니라 GR에도 작용하며, 코티졸도 GR뿐만 아니라 MR에도 작용한다. 따라서 홍삼성분 중 CK가 MR의 작용에 관련이 있을 수 있다. 그리고 선행연구들의 결과에도 알도스테론이 GLUT4와 GLUT2와 관련한 MR 의존성메카니즘과 인슐린 수용체와 관련된 MR-비의존성 메카니즘으로 혈당을 조절한다고 보고하였다.

6.2 FFA model and BDI model

두 번째 논문은 유리지방산을 종속변수로 설정한 경로모형이었다. 선행연구들의 결과보고에 근거하여 9가지 원인변수들을 설정하고, FFA를 종

속변수로 하여 그 효과크기를 동시에 분석하였다. 설정된 각 경로들을 Wald test를 하여 홍삼섭취군과 위약군간에 경로가 유의한 차이가 있는지를 확인하였을 때, 코티졸→FFA와 팔맥박수→FFA의 경로가 유의하게 차이를 보였다. 일차적으로 진세노사이드 중 CK가 GR의 리간드라는 연구가설에 관련되는 결과이다.

본 연구에서 세 번째 모형은 구조방정식 모형으로, Beck Depression Inventory (BDI)라는 우울증 문항을 관찰 결과변수를 이용하여 결과요인으로 설정하고, 호르몬들, 에너지원들 그리고 미네랄들을 관찰 원인변수들을 원인요인으로 설정한 후 분석한 것이다. 결과요인들은 기본적으로 뇌신경의 활동전위에 필요한 변수들을 근거로 하였다. BDI는 우울증을 진단하기 위해 Beck에 만들어진 우울증문항으로 그동안 매우 다양한 BDI 요인분석들이 있었다. 두 개의 요인부터 5개의 요인까지 다양한 요인분석들이 있었고, 그 대부분의 모형적합도는 CFI 0.7에서 0.9의 범위에 있었다.

본 연구는 기존연구들, 즉, BDI만의 요인분석에서 더 나아가 호르몬요인, 에너지원요인, 그리고 미네랄 요인의 세가지 원인요인을 만들어서 요인들간의 경로분석을 진행한 것이다. 요인간의 분석을 위해 모든 조건들에 대한 제약이 없는 기저모형에서부터 시작하여, 홍삼군과 위약군간에 하나씩 동일화제약을 진행하여 최종적으로 다섯 번째 모형에서 요인들간의 경로계수, 즉 요인계수를 얻을 수 있었다. 이것은 연속변수를 원인변수로 하고, 명목변인들인 BDI항목들을 결과변수로 한 첫 번째 연구이다. 연속변수와 명목변수간의 분석은 그동안 거의 없었으며 그 주된 이유는 분석을 위한 이론적인 근거와 함께 통계프로그램의 미비였다. 그래서 연구자들은 명목변수를 연속변수로 간주하고 분석을 하곤 하였고, 이 때문에 정확한 유의한 결과를 얻는 것은 쉽지 않았다. 본 연구에서는 Mplus라는 통계프로그램을 통해서 분석이 가능하였다.

BDI모형의 분석결과에서 에너지요인 (energy factor)→인지요인 (cognitive factor)으로의 계수가 홍삼군과 위약군간에 유의한 차이가 났었다. 에너지요인을 구성하는 관찰변인들은 LDL-콜레스테롤, 총콜레스

테롤 그리고 혈당이었는데, LDL-콜레스테롤을 1로 기준하였을 때 혈당은 0.166의 값을 보였다. 이는 공복상태에서 뇌로의 에너지원으로서 지질의 중요성을 암시하는 것일 수 있다. 즉, 뇌로의 에너지원은 혈당만이 아니라 중성지방에서 유리지방산이 분해되고 남은 글리세롤이 간으로 가서 변환되어 뇌의 에너지원으로 이용되는 케톤체가 중요할 수도 있다. 또는 뇌의 미엘린수초로서의 지질의 중요성을 의미할 수도 있다. 이외에도 여러 가지 해석이 가능하며 이들 효과를 분해하여 비교하기 위해서는 보다 정교한 추가적인 실험과 분석이 필요할 것이다.

세 번째 BDI모형에서 모형적합도는 RMSEA가 0.037이었고, CFI는 0.870이었는데, BDI만으로 요인분석을 하였던 다른 선행연구들의 CFI가 대부분 0.7에서 0.9였음을 감안할 때 충분히 받아들일만한 모형이라 판단하였다. R-square값은 위약군에서 cognitive factor가 0.108, somatic factor가 0.151이었는데, 본 논문에서는 포함되지 않았지만 DHEAS를 추가하였을 때 R-square값이 상당히 올라가는 것을 알 수 있어서 향후 DHEAS와 우울지표간의 관계에 대한 연구가 필요하다고 판단된다.

BDI모형에서 연구가설의 대상이었던 여성호르몬은 모형에서 포함시키지 못하였다. 왜냐하면 여성호르몬을 포함하였을 때, 모형적합도가 받아들일만한 수준으로 나오지 않았기 때문이다. 따라서 본 연구에서 만들어진 BDI 모형은 홍삼 전반적인 가설에 근거한다면 부분적으로 적용된 모형이라 할 수 있다.

유리지방산 모형과 BDI모형의 결과를 함께 고려해 볼때, 코티졸과 자율신경계를 통한 유리지방산의 변화가 다시 신경계에 영향을 준다는 경로를 세울 수 있다. 밤사이의 공복상태에서 혈당은 감소된 상태이기에 BDI 분석에서도 콜레스테롤에 비해 혈당의 효과가 매우 낮은것은 설득적이며, 공복상태에서 지질대사가 중요하다는 선행연구들의 결과에 관련된다. 그러나 유리지방산모형에서 성장호르몬의 유리지방산에 대한 계수는 음의 값으로 이에 대한 이해가 필요하다. 이것은 호르몬들에 의한 유리지방산의 '방출속도'이라는 관점보다 '흡수, 소모 또는 산화속도'라는 관점의 이해가 필요할 수 있다. 또는 폐경기 여성이라는 요인 때문

일 수도 있으나 보다 정확한 이해를 위해서는 보다 정교한 진전된 연구가 필요하다고 본다.

유리지방산 모형에서 adrenocorticotropic hormone (ACTH)와 triiodothyronine (T3)의 유리지방산 경로의 계수는 각각 0.061과 0.002로 거의 영향을 미치지 못하였다. 따라서 실험실연구와는 달리 최소한 공복상태에서 그리고 건강한 폐경기여성의 유리지방산 대사에서 ACTH와 T3의 효과는 무시할 만하다고 해석된다. 하지만 아직까지 유리지방산에 대한 호르몬들의 비교 연구보고가 없었고, 이들 변수를 빼더라도 나머지 변수들의 계수 크기는 크게 변화하지 않았기에 본 연구모형에서는 포함하여 보고하였다.

6.3 Seesaw effects and redundancy of NRs in path analysis

FFA분석결과에서 관심을 가질만한 내용은 두 그룹간에 경로계수값과 유의도의 상반된 현상들이다. 예를 들어 코티졸→FFA의 경로계수가 위약군의 0.494에서 홍삼섭취군은 -0.249로 내려간다. 그리고 통계적 유의도도 위약군은 $P<0.001$로 매우 유의하였으나, $P<0.05$ 기준으로 홍삼군은 유의하지 않았다.

코티졸의 FFA에 대한 경로에서 이러한 그룹간의 차이는 팔맥박수→FFA에서 반대로 나타났다. 즉, 위약군에서는 표준화 경로계수가 0.135로 통계적으로도 유의하지 않았으나, 홍삼섭취군에서는 0.651로 상승하였을 뿐만 아니라 유의도도 $P<0.001$로 높아졌다. 이러한 현상은 마치 “시소현상” 또는 “rise and drop 효과”라 표현할 수 있는데, 이것의 목적이나 원인은 FFA의 항상성 유지를 위한 내분비계와 신경계의 조절작용이라 추론된다 (Fig 6-1).

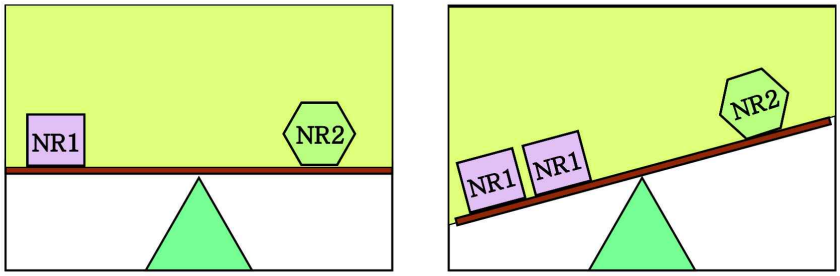


Fig 6-1. Seesaw effects and redundancy of NRs for homeostasis.
특정 핵 수용체의 작용에 변화가 생겨서 시소가 기울어져도 총 면적, 즉 항상성은 일정하게 유지된다.

이러한 현상은 유리지방산 모형에서뿐만 아니라, 혈당 모형에서도 보이는데, 예를 들면, Fig 3-4에서 aldosteron→glucose 경로에서 위약군은 경로계수가 0.695로 높았고 유의도도 P=0.018로 높았다. 반면 홍삼군에서는 경로계수가 -0.110으로 그 값이 음의 값으로 바뀌었을 뿐만 아니라 절대값도 작아졌는데 동시에 유의도도 P=0.754로 낮아진다. 즉, 다중그룹 분석에 의하면 한 그룹에서 경로계수의 절대값이 커질때 유의도가 높아지고, 반면 다른 그룹에서 그 경로계수가의 절대값이 작아지면서 유의도가 낮아지곤 한다. 즉, 유의도 P<0.05라는 기준은 효과가 분명하게 나타난다는 해석이 가능하며 반면 P>0.05는 효과가 분명하지 않다는 것으로 해석이 가능하다. Table 2-1과 Appendix 5에는 핵수용체의 활성에 영향을 주는 다양한 인자들이 제시되어 있다. 본 연구의 연구가설에 근거한다면 두 그룹간에 유의도의 차이는 간섭인자들에 의한 핵수용체의 활성변화와 관련될 수 있다. 즉, 핵수용체들은 사람들마다 다양한 변이와 활성의 차이들이 존재하기에 간섭으로 인한 효과가 다르게 나타날 수 있고 그것이 유의도의 감소라는 현상과 관련된 수 있다. 따라서 통계적 유의도의 감소가 정보력의 감소와 동의어로 해석하는데 신중함이 필요하다.

신경내분비계의 다양한 기능들 중 하나는 다양한 대사의 항상성

유지이다. 그래서 신경내분비계는 다양한 미네랄, 영양소, 사이토카인 그리고 심지어는 온도에 대한 센서까지 갖추고 있으며, 이들의 다양한 인체내부환경에 대한 감지를 종합한 후, 신경내분비계를 경유한 호르몬의 연쇄과정을 통하여 다시 인체 전체세포들의 활성과 기능들을 조율한다고 추정된다. Appendix 5에서 자세히 설명되어 있듯이, 인체의 다양한 호르몬수용체들이 진화론적으로 ERR에서 ER로 그리고 다시 MR, AR, GR로 분화를 하였고, 이들간에 redundancy적인 특성을 보인다면, 인체 대사과정에서도 정상상태에서는 서로 억제작용이나 상반된 작용을 하겠지만, 어느 하나의 기능이 손상된다면 그것을 보상하고자 더욱 강력한 작용을 일으킬 수 있을 것이다.

다양한 호르몬들의 조율작용은 마치 여러가닥의 실들에 매달린 인형을 연상시킨다. 인형의 신체에 쇠나 나무막대처럼 강력하게 연결되어 있지 않지만, 여러가닥의 실들이 하나의 지점에 복합적으로 연결됨으로써 어떤 하나의 실이 지나치게 약하거나 길어질 때에도 인형은 적절한 위치에서 역할을 계속 할 수 있게 된다. 물론 호르몬들의 말초변수들에 대한 관계는 일방적인 것은 아니다. 왜냐하면 내분비계는 말초의 신호들에 의해 음성피드백으로 일정 범위 내에서 조절되는 양방향적 관계가 존재하기 때문이다. 하지만 Fig 3-4의 혈당모형에서 각 호르몬축에 음성되먹임의 경로를 설정하였을 때 통계분석은 되지 않거나, 모형적합도가 받아들이기 어려울 정도로 매우 낮아진다. 따라서 보통의 경우에 호르몬기관들의 방향은 일방향의 크기가 더욱 크다고 추론된다.

이처럼 FFA모형은 항상성을 해석하는데 있어서 다변량분석법의 효과적인 분석력을 보여주는 사례일 수 있다. 즉, 혈당이나 지방산과 같은 주요에너지들은 개체의 생존에 결정적인 요소들이며, 따라서 다양한 항상성의 조절인자들을 통하여 안정된 범위내에 유지되도록 조절된다. 그러므로 어떠한 자극이나 스트레스가 가해져도 그 요소는 평균적으로 일정한 범위에 있게 된다. 하지만 그것을 유지하기 위해 다양한 원인변수들의 효과크기는 변화된다. 원인변수들이 지탱할 수 있는 범위에서라면 다시 건강상태로 개체는 돌아갈 수 있겠지만, 그 긴장상태가 지속되거나 심해져서 감당할 수 있는 범위를 넘어서게 된다면 원인

변수들 자체의 내성이 생겨서 건강한 상태를 벗어나 질병의 스펙트럼범위로 이동하게 될 수 있다.

따라서 다변량분석법은 항상성 인자들이 어떠한 질병상태로 가기 전에 미리 예측하고 대처할 수 있는 진단적 도구로서의 가능성도 있다. 즉, 경로분석이나 구조방정식을 통하여 다양한 원인변수들과 특정질병간의 정량적인 효과크기를 측정한 후, 적절한 알고리즘을 개발할 수 있다. 인종, 연령, 성별 그리고 특정한 질병 별로, 그 각각의 그룹에서의 분석에서 시간적인 함수도 포함하여 알고리즘이 개발될 수 있을 것이다. 뿐만 아니라 인체의 혈액과 같은 생화학적 지표들과 세포내의 분자론적인 신호들 (cell signaling)을 변수들로 포함한 경로분석이나 구조방정식모형이 가능할 것이다. Real time PCR을 포함한 다양한 방법들을 이용하여 특정 기관이나 조직의 세포내 분자마커들과, 아직은 블랙박스로 취급되는 경우가 많은, 인체내의 생화학적지표들간의 함수관계들이 수치적으로 해석된다면 인체의 대사와 발달을 포함한 다양한 질병들의 진단과 치료에서도 보다 효과적이고, 정확한 접근이 가능할 것이다. 특히나 인체의 다양한 대사시스템들과 사이토카인을 포함한 면역시스템들의 redundancy적 특성을 감안한다면 이러한 다변량적인 통계적 접근법은 유익하거나 필요하다고 하겠다. (Fig. 6-2)

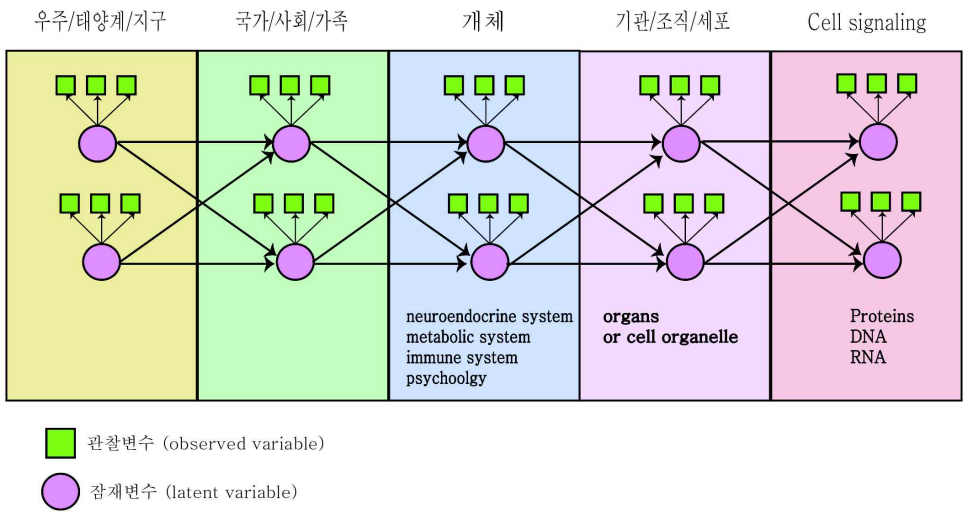


Fig 6-2. Structure equation model of hierarchical nature and human

생화학적 지표들간의 관계뿐만 아니라, 생화학적 지표들과 인간의 감정이나 행동과의 인과적해석도 가능할 것이다. 예를 들어, 테스토스테론의 증가가 안와전두엽의 기능을 약화시키고, 이것이 다시 공격성의 증가로 이어진다는 연구는 세가지 변수의 회귀분석을 통하여 이루어졌다 [1]. 여기서 더 나아가 테스토스테론뿐만 아니라 여러가지 다양한 호르몬들의 상호작용이 신경계를 경유하여 마음과 행동에 어떻게 영향을 줄 수 있는가와 같은 연구도 가능하다고 본다. 특히나 NRs들의 redundaycy적 특성과 뇌의 모듈단위들의 복잡한 상호작용들을 감안할 때 이러한 통계적 접근은 유용할 것이다.

6.4 Analysis of interaction between external and internal environment in cell and human body

우울이란 무엇일까? 우울의 기원은 무엇이며 그 원인은 무엇인가? 이에 대한 질문은 감정을 포함한 마음이란 무엇인가에 대한 물음의 다른 형식의 표현일 수 있다. 심리학, 철학, 종교, 사회, 신경과학 등 다양한 영역에서 마음과 감정의 근원과 특성에 대한 논의들은 여전히 다양한 주장과 해석들의 과정 중에 있다. 어떤 연구들은 동물들이나 인간의 초기 발달 단계에서부터 나타나는 기본적인 감정들이 주제이며, 또다른 연구들은 보다 사회적이고, 상황적인 문맥에서의 감정들의 반응에 연구와 해석을 집중하고 있다 [2]. 이러한 다양한 연구들의 통합적이고 연속적인 이해를 위하여 마음의 분류방법이 도움이 될 수 있을 것이다.

Alexandra와 Albert는 인간의 마음을 기본적인 심적표상 (basic mental representations), 감정들 (emotions), 그리고 인지적 태도들 (cognitive attitudes)로 나뉘었다 (Table 6-1). 그리고 기본적인 심적표상들을 더욱 세분하여 지각, 기본적인 기질들, 그리고 신체내부상태의 느낌으로 나누었으며, 감정들도 세분하여 전감정, 기본감정, 1차 인지감정 그리고 2차 인지감정의 네 단계로 나누었다 [3]. 이중 신체내부상태의 느낌은 생물학적 항상성을 유지하기 위해 필요한 요소들과 관련된 느낌들인

pain, exhaustion, tiredness, lust, nausea 그리고 hunger 등이다. 그리고 전감정은 아직 긍정적이거나 부정적인 의미가 포함되기 전인 편안(comfort)과 불쾌한 스트레스 (distress)가 포함되며, 기본적인 감정들에는 fear, anger, sadness, 그리고 joy를 포함하였다. (Fig 6-3). 발달과정에서 인간의 중추신경계의 각 모듈들이 매우 복잡하게 상호작용하여 발달하듯이, 기본감정들도 복잡하게 상호작용하며, 보다 다양한 감정의 양상들로 발전하게 된다.

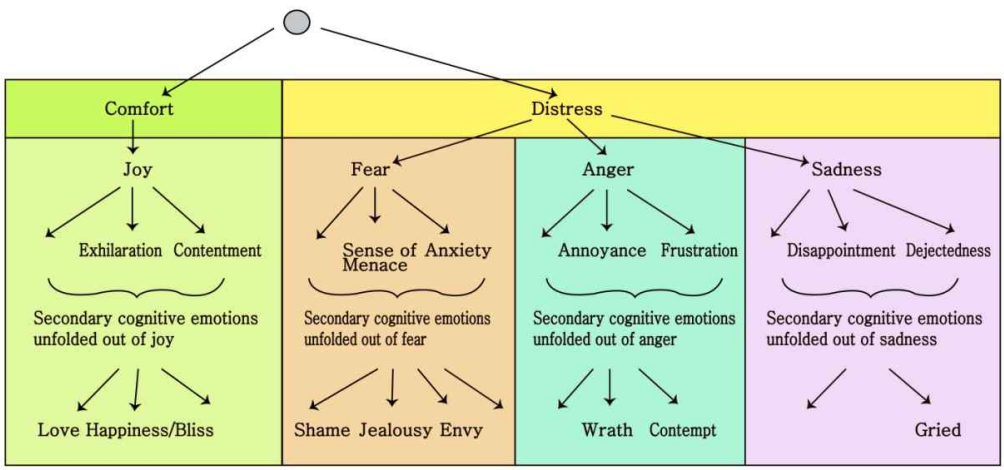


Fig 6-3. Developmental stage of emotions [3]. Cited from Zinck A, Newen A (2008)

현대과학의 마음에 대한 연구의 방법은 크게 세가지로 동물실험, 이미지, 그리고 유전연구이다. 그러나 진화과정에서 인간은 다른 동물과 다른 뇌의 재조직화가 이루어졌고, 감정반응에서도 다른 동물들과 차이가 나기에 동물실험을 인간에게 일반화하는 데에는 문제가 있다 [2]. 더욱이 모듈화된 뇌의 부위들간에는 신경들의 다양한 연결들이 존재한다.

본 연구의 BDI모형에서 우울지표로 측정된 BDI의 구성문항들은 슬픔, 낙관, 실패감, 죄책감, 초조, 흥미, 자신감, 수면, 피곤함, 입맛, 걱정 그리고 성생활 등으로 구성되어 있는데, Alexandra와 Albert의 감정분류에 근거한다면, 신체내부상태의 느낌과 전감정 그리고 기본적인 감정의 항목들이 혼재되어 BDI항목들을 구성하고 있다고 해석할 수 있다.

BDI의 항목들을 요인분석한 선행연구들은 대개 2~3개의 요인들로 분석을 하고 있으며 본 연구에서도 somatic factor와 cognitive factor로 분류하였다. somatic factor는 신체내부상태와 연결되며, cognitive factor는 보다 상위의 인지적 emotion과 연결될 수 있다. 본 BDI모형에서 R-square (SMC)는 홍삼군의 경우, cognitive factor가 0.395였고, somatic factor 0.550으로 인체의 호르몬들, 에너지원들, 그리고 미네랄들의 우울지표에 대한 설명력을 무시할 수는 없을 정도이다. 그리고 cognitive factor보다 somatic factor가 높아서 보다 육체의 느낌이나 증상과 관련된 지표들이 더욱 많이 영향을 받음을 알 수 있었다.

비록 본 연구가 우울증으로 진단받은 환자들을 대상으로 한 것은 아니지만, 자살항목의 경우, 위약군에서 R-square가 0.411로 나타나서 인체의 호르몬과 영양적인 요소들의 관심이 필요하다고 추론된다.

현대의 우울증 치료는 주로 시냅스간의 화학적 신호인 신경전달물질에 초점이 맞추어져 있다. 하지만 뇌신경의 본질이 이온들의 전기화학적 기울기에 기반한 활동전위의 발생이라는 점을 염두에 둔다면, 그리고 뇌세포들의 복잡한 상호연결과 재조직화라는 진화론적 관점에서, 우울증의 분석과 접근 그리고 예방에 대한 다각적인 접근이 필요하다고 본다. 그리고 다양한 요인들, 외부환경과 내부환경의 통합적인 연구를 통해 영향인자들의 상대적 비교가 가능하다고 본다.

Table 6-1. Basic mental representations and emotions [3]. Cited from Zinck A, Newen A (2008)

Minds	Subcategories	Characteristics
A. Basic mental Representations (기본적인 심적표상)	1. Perceptions (지각)	Sensory processing, response to external object, involve conscious phenomenal qualities.
	2. Basic mental dispositions (기초적 정신 기질)	explor and learn about its surrounding environment. Attention, interest, seeking, curiosity and expectance.
	3. Felt body-states (신체내부상태 느끼기)	Strong foundation on immediate survival, toward internal homeostatic need states, Pain, exhaustion, tiredness, lust, nausea, hunger and homeostatic pleasure (a good state), lower regions of the brain stem.
B. Emotions (감정들)	1. Pre-emotions (전 감정들)	Unfocussed, non-intentional and unspecific expressive emotions (comfort and distress) Not yet differentiated positive or negative Concern expressive interactive behavior Physiological arousal, automatic appraisal.
	2. Basic-emotions (기본 감정들)	Fear, anger, sadness, and joy Not requiring conscious procession of stimuli Allows faster, less varied reaction Coordinate automated and complex changes Facial, vocal, endocrine, autonomic nervous system changes, focus on the actual situation.
	3. Primary cognitive emotions (1차 인지감정들)	Cognitive content is an essential in the emotion Cognitive is important on the behavior caused by the emotion Cultural variations, extension of basic emotions Joy, amusement.
	4. Secondary cognitive emotions (2차 인지감정들)	Cognitive evaluation of a situation Beliefs which come from social relations to individuals, hopes for future, depend on personal experience and culture.

6.5 Considerations about P-value

비록 선행연구들의 결과를 근거로 하여 경로들이 설정되지만, 같은 시스템 내에서도 연구자의 판단에 따라 여러 가지 모형이 나올 수 있다. 본 연구에서 제시된 모형도 마찬가지로 다른 대안모형들이 있을 수 있다. 그러함에도 대부분의 모형들에서 경로들은 거의 비슷한 경향성을 보이면서 경로계수의 값들이 약간씩 변화한다. 따라서 경로모형을 통한 결과들은 그 값들에 대해 절대적 의미를 부여하기보다는, 다양한 원인변수들간의 상대적 비교가 가능이라는 의미가 보다 크다고 이해된다. 그리고 앞서 유리지방산의 시소효과에서 살펴본 바와 같이 P-value의 0.05에 대해 절대적 기준의 의미를 부여하기보다는 보다 다양한 가능성 속에서 P-value에 대한 해석의 접근이 필요하다고 본다.

실험실연구에서 동일한 리간드임에도 농도의 변화에 따라 효능제와 길항제의 상반된 효과가 나타나는 것을 흔히 볼 수 있다. 그리고 농도가 일정 수치이상 올라갈 때 그 효과가 오히려 반대로 나타나기도 한다. 이러한 현상들은 조직특이적인 그리고 다양한 핵수용체들간의 redundancy적 특성이 관여했을 가능성이 있다. 따라서 일정 수준의 in vitro실험의 결과를 얻은 후에는 실제 임상에서 혈액이나 시료를 채취하여 그 변수들로 모형을 설계한 후 다변량분석을 해 보는 것이 필요하다고 본다. 본 연구에서 건강한 폐경기 여성을 대상으로 한 것이었음에도 경로계수들의 유의성이 두 그룹간에 검출된 것을 비추어 본다면, 특정한 질병을 가진 그룹과 건강한 그룹을 비교한다면 보다 다양하고 분명한 결과들의 차이가 나타날 개연성이 높다고 추론된다.

6.6 Fraction of missing information and multiple imputation

Rubin의 다중대체법에 대한 발표 이후 [3], 컴퓨터의 발달 등과 함께 점점 다중대체법이 연구자들에게 유용성을 인정받고 있으나, 결측치의 수가 얼마까지 가능한가에 대한 명확한 결론은 없다. 이로인해 결측치의

수가 어디까지 가능한가에 대한 물음이 제기될 수 있다. John 등은 결측치정보의 비율 (fraction of missing information: ɣ (gamma))에 따라 필요한 다중대체의 횟수에 대한 연구를 보고하였다 [5]. 결측치 정보의 비율 ɣ는 단순회귀분석처럼 단순한 구조의 경우 결측치의 수의 비율과 같다. 이들의 분석에 의하면 결측치의 비율 ɣ=0.1 (10%), 0.3 (30%), 0.5 (50%), 0.7 (70%) 그리고 0.9 (90%)의 다섯 수준들을 설정한 후, 다중대체법으로 분석하였을 때, 모든 ɣ값의 수준에서 회귀계수가 편향되지 않았다고 (unbiased) 보고하였다 [7]. 그리고 각 ɣ값 내에서 다중대체의 수가 100회에서 3회로 감소할 때 mean-square error (MSE)와 standard error (SE)가 증가하였고, 잘못된 귀무가설에 대한 기각확률인 검정력이 감소하였다. 그리고 다중대체의 횟수가 감소하면서 추정값의 변동성 (variability)이 증가하였다 [7].

본 연구에서는 세가지 모형 모두, 10개의 데이터 셋을 만들어 다중대체법을 몇회를 진행하였을 때에도, 최종결과의 추정값은 변동이 거의 없이 일정하였다. 그리고 결측치가 증가할 경우, 검정력이 감소한다는 결과에 근거한다면, 본 연구에서 각 경로들의 추정값들의 유의도와 그룹간에 경로들의 유의한 차이에 대한 검정의 결과는 결측치가 없는 완전자료의 결과에 비해 과소평가일수는 있으나 과대평가일 수는 없다. 즉, 세가지 모형들내에서 유의하게 나온 값들이, 원래는 유의하지 않은 결과였으나 다중대체로 인하여 유의하게 되었을 수는 없는 것이다. 오히려 유의하지 않게 나온 경로들 중 유의할 가능성은 있을 수 있다.

뿐만 아니라 경로분석이나 구조방정식에서 변수의 수가 증가하더라도 변수들간에 충분한 인과관계가 존재한다면 결측치 정보의 비율(ɣ)은 감소하게 된다. 즉, 단순회귀분석과 같은 간단한 모형에서 ɣ값은 결측치의 비율과 동일하지만, 만약 다중대체 모델에 포함된 변수들이 다른 변수들과 높은 상관관계를 보인다면, 즉, 잘 만들어진 모형에서는, 결측정보의 양인 ɣ값은 결측치 데이타보다 일반적으로 작아지게 된다 [4]. 따라서 본 모형에서 변수들의 수가 증가하더라도 결측치를 가진 변수들과 다른 변수들 사이에 어떠한 상관관계가 나타났다면 실제 결측치의 불

확실성은 더욱 감소하게 되는 것이다. 이것은 본 연구에서 사용된 세가지 모형 모두 몇 번의 반복적인 분석에서도 거의 차이가 없는 동일한 추정값이 나올 수 있었던 것에 대한 가능한 이유의 한가지가 될 수 있다.

뿐만 아니라 Appendix 4에 제시된 표에서 보듯이, 유리지방산 모형에서 다중대체법을 통해 얻어진 경로계수들과, 산출된 데이타 세트들 중 5개의 평균을 비교한 것, 그리고 결측치가 포함된 샘플들을 제외한 자료들만으로 단일회귀분석을 하였을 때 표준화경로계수와 5개의 샘플의 평균을 한 값, 그리고 단일회귀분석의 베타값은 대부분의 경로에서 유사한 경향성을 보였다. 이와 같이 각기 다른 세가지 방법으로 계산한 결과의 유사한 결과값들도 본 연구에서 진행된 다중대체법의 결과에 대한 신뢰도를 지지하는 결과들에 포함될 수 있다.

6.7 Ginseng as combination therapy of SERMs and SGRMs

현재까지 선택적 여성호르몬 수용체 조절자나 선택적 글루코코르티코이드 수용체 조절자 등에 대한 개별적인 연구들은 다수 보고되었다. 그러나 두 종류의 선택적 핵 수용체 조절자들의 combination therapy로서의 연구보고는 거의 없었다. 인삼이나 홍삼은 대개 다양한 화합물의 혼합물 상태로서 섭취되기에 다양한 핵수용체의 combination therapy로서의 효과들이 있을 수 있다. 그리고 인삼이나 홍삼마다 그 성분들의 비율이 다르기 때문에 선택적 핵수용체들의 함량에 대한 절대적인 수치의 효과뿐만 아니라 각 비율들의 차이에 따른 효과가 조직 특이적으로 나타날 수 있다. 따라서 핵수용체 가설에 근거한 본 연구들의 결과에 근거한다면 앞으로 단일 진세노사이드들로의 실험도 기본적으로 진행되어야 하지만, 진세노사이드들간의 다양한 비율들의 변화가 포함된 비교연구들도 필요하다고 본다. 단일 진세노사이드들의 개별적 효과의 합보다 크거나 작은 효과들이 나타날 수 있는 가능성은, 내분비계의 호르몬들과 핵수용체들의 다양한 redundancy적 특성 때문이다.

본 연구에서도 혈당에 대한 효과는 aldosterone을 통하여 이루어졌고, 유리지방산에 대한 효과는 코티졸과 자율신경계를 통하여 나타났으며 우울지표에 대한 효과는 콜레스테롤을 중심으로 한 에너지원을 통하여 나타났다. 이러한 결과들은 조직특이적인 NRs의 발현과도 관련이 있을 것이다.

6.8 The effect of dietary nutritions on the endocrine system

동물들의 발달과 대사에 중요한 조절자들과 호르몬들의 합성과 분비에서 콜레스테롤 대사체들은 핵심적인 요소들 중 하나이다 [6]. 티로이드 호르몬 [7]이나 스테로이드 호르몬들 [8]과 같은 몇가지 척추동물의 호르몬들이 어떤 무척추동물들의 발달과 대사에 영향을 미치는 것에서 볼 수 있듯이 호르몬의 기원은 진화론적으로 이른 시기일 수 있다. 연구들의 보고에 의하면 리간드가 없는 ERR에서 ER이 진화하였고 [9], 그리고 다시 ER에서 AR, MR, GR의 진화 [10, 11]가 있었을 가능성이 높다는 과학적 추론에서 보듯이 인체 내분비계 중 일부, 특히 스테로이드 호르몬들의 기원이 외생 분자들 (exogenous signal)일 수 있다. Ashley와 Andreas는 신호분자로서 호르몬들의 기능을 유입하기 위해 호르몬의 합성, 활성화, 수용체 결합 그리고 신호전달이라는 과정들이 필요했을 것이라 추론하였다 [12] (Fig 6-4).

따라서 호르몬 시스템의 외생적 기원을 감안한다면, 다양한 식물성 화합물들이 인체 내에서 유사 호르몬, 즉 다양한 핵수용체의 리간드로 작용할 수 있는 것은 당연한 것일 수 있다. 그러나 아직까지, 파이토에스트로겐 등과 같은 몇몇 화합물을 제외하고, 식물성 화합물들의 호르몬으로서의 작용들에 대한 심층적인 연구는 제한되어 있었다. 본 연구는 홍삼의 진세노사이드를 중심으로 호르몬계의 인과관계와, 혈당과 지방산 대사와, 우울지표등에 대한 분석을 진행하였지만, 다른 외생 화합물들과 약물반응 등에 대한 내분비계의 영향에 대한 연구가 진행될 수 있을 것

이다. 그리고 인체 콜레스테롤수치의 상당 부분이 식이 콜레스테롤이고, LDL이 콜레스테롤 합성의 속도제한 효소 (rate-limiting enzyme)인 3-hydroxy-3-methylglutaryl Co-enzyme A (HMGCoA) 환원효소를 억제할 수 있다 [12, 13]는 보고에서 보듯이, 식이를 통한 영양요소들에 의한 내분비계의 영향에 대한 분석도 필요할 것이다.

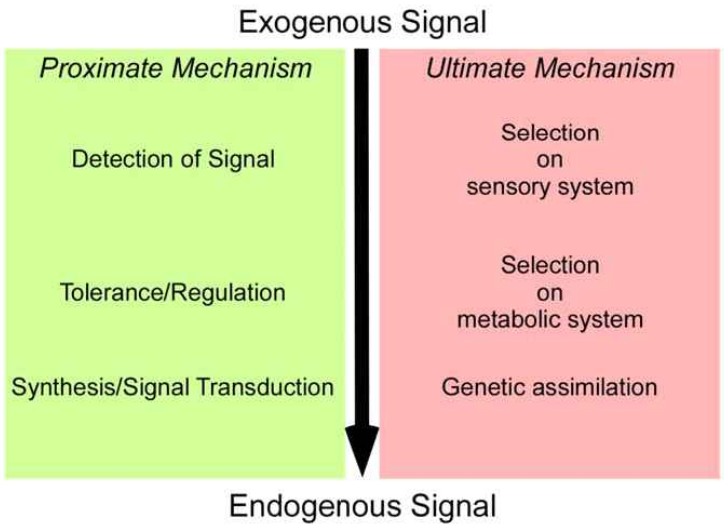


Fig 6-4. The internalization of such exogenous signals. Initially primary or secondary metabolites may be used as feeding deterrents by autotrophs. Organisms capable of detecting these compounds reliably in the environment gain a selective advantage. In order to overcome toxic effects of exogenous compounds, organisms may concentrate and metabolize them. This creates positive selection for metabolic pathways capable of detoxifying potentially harmful compounds. Finally the signal transduction system can evolve via evolutionary mechanisms such as genetic assimilation. For a signal to become an endogenous messenger it will need to be synthesized or at least modified and activated endogenously [12]. Cited from Ashley and Andreas (2010)

6.9 Overall conclusion

3개의 모형으로 구성된 본 연구의 전체적인 가설은 홍삼의 진세노사이드들이 핵수용체의 리간드로 작용한다는 것이었다. 비록 다양한 혼합물로 구성된 홍삼분말이지만, 본 연구결과들은 연구가설에 적절한 결과들을 보이고 있었다. 혈당에 대한 효과는 코티졸과 핵수용체를 공유하는 MR의 리간드인 aldosterone에 의한 영향이 유의하게 나타났으며, 유리지방산에서는 코티졸과 자율신경계를 통한 효과가 유의하게 나타났다. 그리고 BDI모형에서는 에너지원으로서 콜레스테롤에 의한 영향이 유의하게 나타났다. 본 연구는 호르몬들과 자율신경계를 주요 원인변수들로 설정하고 혈당, 유리지방산, 그리고 우울지표를 결과변수로 하여 분석한 첫 연구이다. 대사증후군을 포함한 다양한 질환들과 우울증을 포함한 다양한 감정 심리적 증상의 해석과 이해에 경로분석과 구조방정식모형이 유용할 수 있다. 본 연구는 결측치라는 제한점을 다중대체법을 통하여 보완하였고, 그 결과들은 변동률이 거의 없이 동일하게 나타나고 있었다. 그리고 앞으로 보다 많은 실험대상자를 포함한 추가 연구를 통해 본 연구의 결과와의 비교가 의미가 있을 수 있다. 본 연구는 건강한 폐경기 여성을 대상으로 한 발효홍삼분말이라는 혼합물을 이용하였다는 제한점을 가지고 있다. 따라서 앞으로 더욱 심층적이고 정교한 설계속에서 다양한 조건의 후속연구들이 필요하다고 본다.

References

1. Mehta PH, Beer J: Neural mechanisms of the testosterone-aggression relation: The role of orbitofrontal cortex. Journal of Cognitive Neuroscience 2009, 22:2357-2368.
2. Baudic S, Duchamp GE: Emotions: Theoretical models and clinical implications. In complex systems and self-organization modelling. Edited by Bertelle C, Duchamp GE, Kadri-Dahmani H: Springer Berlin Heidelberg; 2009: 177-185: Understanding Complex Systems].
3. Zinck A, Newen A: Classifying emotion: a developmental account. Synthese 2008, 161:1-25.
4. Rubin DB: Multipl imputation for nonresponse in surveys. New York: JOHN WILEY & SONS; 1987.
5. Graham J, Olchowski A, Gilreath T: How many imputations are really needed? Some practical clarifications of multiple imputation theory. Prevention Science 2007, 8:206-213.
6. Payne AH, Hales DB: Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. Endocr Rev 2004, 25:947-970.
7. Eales JG: Iodine metabolism and thyroid-related functions in organisms lacking thyroid follicles: are thyroid hormones also vitamins? Proc Soc Exp Biol Med 1997, 214:302-317.
8. Thornton JW, Need E, Crews D: Resurrecting the ancestral steroid receptor: ancient origin of estrogen signaling. Science 2003, 301:1714-1717.
9. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ: Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res 1997, 25:3389-3402.

10. Baker ME: Steroid receptor phylogeny and vertebrate origins. Mol Cell Endocrinol 1997, 135:101-107.
11. Bridgham JT, Carroll SM, Thornton JW: Evolution of hormone-receptor complexity by molecular exploitation. Science 2006, 312:97-101.
12. Miller AE, Heyland A: Endocrine interactions between plants and animals: Implications of exogenous hormone sources for the evolution of hormone signaling. Gen Comp Endocrinol 2010, 166:455-461.
13. Miller WL, Bose HS: Early steps in steroidogenesis: intracellular cholesterol trafficking. J Lipid Res 2011, 52:2111-2135.
14. Miller WL: Steroid hormone synthesis in mitochondria. Molecular and Cellular Endocrinology 2013, 379:62-73.

Chapter 7. Appendix

Appendix1 Reagents and Instruments

Test name		Glucose(S)	Insulin	HbA1c
Test code		C123	E441	C431
Test method		enzymatic method	ECLIA	HPLC
Storage method of sample		refrigeration	cold storage	refrigeration
Reagent	1) Kit name	Glucose Hexokinase	Insulin	Variant II HbA1c T.
	2) Kit company	Bayer, USA	Roche, Germany	Bio-Rad,Germany
Analytical instrument	1)Instrument name	ADVIA	MODULAR ANALYTICS	Variant
	2) Model name	ADVIA 1650	E170	Variant II TURBO
	3) Company, nationality	Bayer, Japan	Roche, Germany	Bio-Rad,Germany
Reference		110~70 mg/dL	M:24.9~2.6μU/mL F:24.9~2.6μU/mL	M:6.5~3.5% F:6.5~3.5%

Test name		WBC(B)	N-RBC	Hb
Test code		H103	X107	H105
Test method		Flow cytometry	Cell counter	CyanideFreeHemoglobin Spectrophotometry
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	Cellpack,Cellsheath, Stromatolyser-FB, Sulforlyser,Ret-searchII	SYSMEX, JAPAN	Cellpack,Cellsheath, Stromatolyser-FB, Sulforlyser,Ret-searchII
	2) Kit company, nationality	SYSMEX, JAPAN	SYSMEX	SYSMEX, JAPAN
Analytical instrument	1)Instrument name	Sysmex	Microscope	Sysmex
	2) Model name	XE 2100 D	BH-2	XE 2100 D
	3) Company, nationality	SYSMEX/JAPAN	Olympus, Japan	SYSMEX/JAPAN
Reference		10~4×10³/㎕	0/WBC 100	M:17.1~12.7g/dL F:16.8~11.5g/dL

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		Blast	Basophil	Myelocyte
Test code		X108	X106	X109
Test method		Cell counter	Cell counter	Flow cytometry
Storage method of sample		refrigeration(3days)	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	SYSMEX, JAPAN	SYSMEX, JAPAN	CBCSoln+Stromatolyser-4 DL, Stromatolyser-IM, Stromatolyser-4DS
	2) Kit company	SYSMEX	SYSMEX	SYSMEX, Japan
Analytical instrument	1)Instrument name	Microscope	XE 2100 D	SYSMEX
	2) Model name	BH-2	XE 2100 D	BH-2
	3) Company	Olympus, Japan	SYSMEX/JAPAN	SYSMEX, Japan
Reference		%	1~0%	%

Test name		Uric acid	Band Neutrophil	Neutrophil Seg.
Test code		C118	X101	X102
Test method		Uricase Colorimetry	Cell counter	Flow cytometry
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	Uric acid Reagents	SYSMEX, JAPAN	CBCsoln+ Stromatolyser-4DL, Stromatolyser-IM, Stromatolyser-4DS
	2) Kit company, nationality	Bayer, U.S.A.	SYSMEX	SYSMEX, JAPAN
Analytical instrument	1)Instrument name	Chemistry Autoanalyzer	Microscope	SYSMEX
	2) Model name	ADVIA 1650	BH-2	XE 2100 D
	3) Company, nationality	Bayer, Japan	Olympus, Japan	SYSMEX/JAPAN
Reference		M:7~3.4mg/dL F:5.7~2.4mg/dL	5~0 %	72~40 %

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		Monocyte	Lymphocyte	Eosinophil
Test code		X104	X103	X105
Test method		Flow cytometry	Flow cytometry	Flow cytometry
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	CBCSoln+ Stromatolyser-4DL Stromatolyser-IM, Stromatolyser-4DS	CBCSoln+ Stromatolyser-4DL, Stromatolyser-IM, Stromatolyser-4DS	CBCSoln+ Stromatolyser-4DL, Stromatolyser-IM, Stromatolyser-4DS
	2) Kit company, nationality	SYSMEX, JAPAN	SYSMEX, JAPAN	SYSMEX, JAPAN
Analytical instrument	1)Instrument name	SYSMEX	SYSMEX	SYSMEX
	2) Model name	XE 2100 D	XE 2100 D	XE 2100 D
	3) Company, nationality	SYSMEX/JAPAN	SYSMEX/JAPAN	SYSMEX/JAPAN
Reference		10~4%	48~20%	7~1%

Test name		Aldosterone	ACTH	DHEA-S
Test code		E436	E416	E431
Test method		RIA	IRMA	RIA
Storage method of sample		cold storage	cold storage	cold storage
Reagent	1) Kit name	CoatedAcount Aldosterone	ACTH IRMA	Coat-A-Count DHEA-Sulfate
	2) Kit company, nationality	SIEMENS, USA	BRAHMS, Germany	SIEMENS, USA
Analytical instrument	1)Instrument name	r-counter	r-counter	r-counter
	2) Model name	Quantum, USA	COBRA5010series Quantum	COBRA5010series Quantum
	3) Company, nationality	PACKARD, USA	PACKARD, USA	PACKARD, USA
Reference		Supine: 1.0~16.0 Standing: 4.0~31.0ng/dL	AM(8-10시):10~60 PM(8-10시):6~30pg/mL	M:80~560 F:35~430μg/dL

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		PAI-1	Urobilinogen(RU)	Free T4
Test code		S810	U107	E406
Test method		ELISA	Teststrip	CLIA
Storage method of sample		cold storage	refrigeration	cold storage
Reagent	1) Kit name	IMUBINDPlasma PAI-1ELISA	Aution Sticks	Free T4
	2) Kit company, nationality	American diagnosticainc.	ARKRAY, JAPAN	Bayer,USA
Analytical instrument	1)Instrument name	EIA reader	Urine Chemistry Analyzer	Centaur
	2) Model name	SUNRISE	AX 4030	ADVIA Centaur
	3) Company, nationality	TECAN, Austria	ARKRAY, JAPAN	Bayer,USA
Reference		2~47 ng/mL	Negative	0.78~1.54 ng/dL

Test name		Creatine	ADH(RIA)	FSH
Test code		Jaffe reaction	E418	E421
Test method		cold storage	RIA	CLIA
Storage method of sample		cold storage	cold storage	cold storage
Reagent	1) Kit name	Creatine Reagent	Vasopressin 1251RIAkit	ADVIA CENTAUR FSH
	2) Kit company, nationality	EIKEN, Japan	DiaSorin, U.S.A	SIEMENS, USA
Analytical instrument	1)Instrument name	Photometer	r-counter	ADVIA CENTAUR
	2) Model name	Microlab 300	COBRA 5010 Quantum	ADVIA CENTAUR
	3) Company, nationality	Vitalscientific, Netherlands	PACKARD, USA	SIEMENS, USA
Reference		M: 0.17~0.5mg/dL F: 0.35~0.93mg/dL	M:4.7~0pg/mL F:4.7~0pg/mL	M)13~70세:1.4~18.1 F) Follicular:2.5~10.2 Mid-cycle:3.4~33.4 Luteal:1.5~9.1 Pregnant:Below0.3 Postmenopausal:23.0~116.3

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		Ccr	Estrogen(E1)	IGF-1
Test code		C201	E010	E455
Test method		Calculation	RIA	CLIA
Storage method of sample		-	cold storage	cold storage
Reagent	1) Kit name		Total Estrogen	IGF-1
	2) Kit company		ICN, USA	DPC, USA
Analytical instrument	1)Instrument name		r-counter	Immulite, 2000
	2) Model name		COBRA5010series Quantum	Immulite 2000
	3) Company		PACKARD, USA	DPC,USA
Reference		(urine Crea (mg/dL)*24hrs TV(mL))/ (serum Crea(mg/dL)*1440 min)	M:40~115pg/mL Prepuber.:below40pg/mL F:Post-meno.:below40pg/mL Mans.Cycle1-10day:61~394pg/mL 11-20day:122~437pg/mL 21-30day:156~350pg/mL	1-5year)49~327 6-8year)52~345 9-11year)74~551 12-13year)143~850 14-17year)193~996 18~25year)116~584 26~40year)109~329 41-55year)87~267 >55year)55~225ng/mL

Test name		Calcium	Calcium(U)	Cl
Test code		C154	C475	C113
Test method		Colorimetry	Colorimetry	ISE ion-selectiveelectrodes)
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	CALCIUM Reagents	CALCIUM Reagents	Clion selectiveelectrode
	2) Kit company, nationality	SIEMENS, USA	SIEMENS, USA	Bayer, USA
Analytical instrument	1)Instrument name	ADVIA	ADVIA	ADVIA
	2) Model name	ADVIA 1650	ADVIA 1650	ADVIA 1650
	3) Company, nationality	SIEMENS, USA	SIEMENS, USA	Bayer, Japan
Reference		10.5~8.1mg/dL	0.3~0.1 g/day	110~98 mmol/L

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		1,25-(OH)2 vit D3	Adiponectin(RIA)	Intact PTH
Test code		C615	E463	E412
Test method		RIA	RIA	ECLIA
Storage method of sample		cold storage	cold storage	cold storage
Reagent	1) Kit name	1,25-Dihydroxy Vitamin D 125-I RIA kit	Adiponectin KIT	Elecys PTH
	2) Kit company, nationality	DiaSorin, U.S.A.	LINCO Research, USA	Roche, Germany
Analytical instrument	1)Instrument name	r-counter	r-counter	MODULAR ANALYTICS
	2) Model name	COBRA 5010 Series Quantum	COBRA5010Series Quantum	E170
	3) Company, nationality	PACKARD, U.S.A.	PACKARD.USA	Roche, Germany
Reference		25.1~66.1 pg/mL	Stdrange 0.5~100μg/mL	15~65pg/mL

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		Cholesterol,total	Triglyceride	LDL Cholesterol
Test code		C119	C122	C121
Test method		Enzymatic, colorimetry	Lipase,GK,GPD, colorimetry	Enzymatic, colorimetry
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	Cholesterol reagent	Triglycerides reagents	LDL-Cholesterol
	2) Kit company	Bayer, USA	Bayer, U.S.A.	Bayer, USA
Analytical instrument	1)Instrument name	ADVIA	ADVIA	ADVIA
	2) Model name	ADVIA 1650	ADVIA 1650	ADVIA 1650
	3) Company	Bayer, Japan	Bayer, Japan	Bayer, USA
Reference		Below220mg/dL	Below200mg/dL	M:130~0mg/dL F:130~0mg/dL

Test name		HDL Cholesterol	BUN	CRH
Test code		C120	C117	-
Test method		Enzymatic, colorimetry	Urease with GLDH	EIA
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	cold storage
Reagent	1) Kit name	Direct HDL-Cholesterol	Ureanitrogen Reagents	CRH EIA kit
	2) Kit company	Bayer, USA	Bayer, USA	Phoenix, USA
Analytical instrument	1)Instrument name	ADVIA	ADVIA	EIA reader
	2) Model name	ADVIA 1650	ADVIA 1650	E max presion
	3) Company, nationality	Bayer, Japan	Bayer, Japan	Moleculardevice, USA
Reference		M:75~30mg/dL F:80~35mg/dL	M:23.5~4.5mg/dL F:23.5~4.5mg/dL	Standardrangeinkit 0.04~25ng/mL

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		CBG	Protein(RU)	Nitrite(RU)
Test code		X806	U104	U101
Test method		ELISA	Test strip	Teststrip
Storage method of sample		cold storage	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	Human Corticosteroid Binding Globulin	Aution Sticks 10EA	Aution Sticks
	2) Kit company, nationality	USCNK, China	ARKRAY, JAPAN	ARKRAY, JAPAN
Analytical instrument	1)Instrument name	EIA reader	Urine Chemistry Analyzer	Urine Chemistry Analyzer
	2) Model name	E max presion	AX 4030	AX 4030
	3) Company, nationality	Moleculardevice, USA	ARKRAY, JAPAN	ARKRAY, JAPAN
Reference		Standard range in kit: 31.2~2000 ng/mL	Negative	Negative

Test name		Ketone(RU)	Glucose(RU)	WBC(RU)
Test code		U106	U105	U102
Test method		Test strip	Test strip	Teststrip
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	Aution Sticks	Aution Sticks	Aution Sticks
	2) Kit company	ARKRAY, JAPAN	ARKRAY, JAPAN	ARKRAY, JAPAN
Analytical instrument	1)Instrument name	Urine Chemistry Analyzer	Urine Chemistry Analyzer	Urine Chemistry Analyzer
	2) Model name	AX 4030	AX 4030	AX 4030
	3) Company, nationality	ARKRAY, JAPAN	ARKRAY, JAPAN	ARKRAY, JAPAN
Reference		Negative	Negative	Negative

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		Bilirubin(RU)	Free fatty acid	ACE
Test code		U108	C166	C511
Test method		Test strip	ACS-ACOD (colorimetrymethod)	Kinetic
Storage method of sample		refrigeration	deep freezer	cold storage
Reagent	1) Kit name	Aution Sticks 10EA	NEFA HR.II	ACE kinetic
	2) Kit company	ARKRAY, JAPAN	Wako, Japan	Buhlman, Swiss
Analytical instrument	1)Instrument name	Urine Chemistry Analyzer	Hitachi	HITACHI
	2) Model name	AX 4030	HITACHI 7180	HITACHI 7180
	3)Company, nationality	ARKRAY,JAPAN	HITACHI, Japan	HITACHI, Japan
Reference		Negative	585~170 μEq/L	20~70 U/L

Test name		Estrogen(E2)	Cortisol	CRP(HS)
Test code		C001	E435	Z977
Test method		CLIA	RIA	Immunoturbidometry
Storage method of sample		refrigeration	cold storage	cold storage
Reagent	1) Kit name	ADVIA CentaurEstradiol	Coat-A-count Cortisol	Wr-CRP ADVIA 1650
	2) Kit company	Bayer,U.S.A	SIEMENS, U.S.A.	BAYER, USA
Analytical instrument	1)Instrument name	Centaur	r-counter	ADVIA
	2) Model name	ADVIA Centaur	COBRA 5010 QUANTUM	1650
	3) Company	Bayer,U.S.A	PACKARD, U.S.A.	Bayer, Japan
Reference		M)below52 F)follicular:11~165, midcycle:146~526, luteal:33~196, postmenopausal:below37 단위) pg/mL	A.M:5~25μg/dL P.M:halfofA.Mvalues	Low risk of CVD: <1.0 Average risk of CVD:1.0~3.0 High risk of CVD:>3.0 단위mg/L *CVD:CardioVasculardisease

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		TSH	Cortisol,free	pH(RU)
Test code		E403	E439	U103
Test method		CLIA	RIA	Teststrip
Storage method of sample		cold storage	cold storage	refrigeration
Reagent	1) Kit name	TSH	Coat-A-count Cortisol	Aution Sticks
	2) Kit company, nationality	Bayer,USA	SIEMENS, USA	ARKRAY, JAPAN
Analytical instrument	1)Instrument name	Centaur	r-counter	Urine Chemistry Analyzer
	2) Model name	ADVIA Centaur	COBRA 5010 Quantum	AX 4030
	3) Company, nationality	Bayer,USA	PACKARD, USA	ARKRAY, JAPAN
Reference		0.35~5.5 μIU/mL	20~90 μg/day	Negative

Test name		LH	HGH(S)	Apolipoprotein B
Test code		E422	E417	S504
Test method		CLIA	CLIA	Immunoturbidimetry
Storage method of sample		cold storage	cold storage	cold storage
Reagent	1) Kit name	ADVIA CENTAUR FSH	Immulite 2000 GH	APOBT
	2) Kit company, nationality	SIEMENS, USA	DPC, USA	Roche, Germany
Analytical instrument	1)Instrument name	ADVIA CENTAUR	Immulite	Cobas Integra
	2) Model name	ADVIA CENTAUR	Immulite 2000	Cobas Integra 800
	3) Company, nationality	SIEMENS, USA	DPC, USA	Roche, Germany
Reference		M) 20~70Y:1.5~9.3 >70Y:3.1~34.6 F)Follicul:1.9~12.5Midcycle:8.7~76.3 Luteal:0.5~16.9 Pregnant:Below1.5Postmenopausal:15.9~54.0	M:Adult:Upto1.0ng/mL F:Adult:Upto10.0ng/mL	M:140~60mg/dL F:130~50mg/dL

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		CRP(정량)	Creatinine	Inorganic-phosphorus
Test code		S102	C116	C158
Test method		Immunoturbidimetry	Jaffe Reaction	Phospho molybdate & UV
Storage method of sample		cold storage	refrigeration	cold storage
Reagent	1) Kit name	C-reactive protein	Creatinine Reagents	Inorganic phsphorus reagents
	2) Kit company	Denka Seiken, Japan	SIEMENS, USA	SIEMENS, USA
Analytical instrument	1)Instrument name	Hitachi	ADVIA	ADVIA
	2) Model name	Hitachi 7180	ADVIA 1650	ADVIA 1650
	3) Company, nationality	Hitachi, Japan	SIEMENS, USA	SIEMENS, USA
Reference		Below 0.5 mg/dL	1.3~0.7 mg/dL	5~2.5 mg/dL

Test name		Na (Sodium)	K (Potassium)	Mg (Magnesium)
Test code		C111	C112	C448
Test method		ISE (ion-selectiveelectrodes)	ISE (ion-selectiveelectrodes)	Colorimetry
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	refrigeration
Reagent	1) Kit name	Naion selectiveelectrode	Kion selectiveelectrode	Mg
	2) Kit company	Bayer, USA	Bayer, USA	Roche, Germany
Analytical instrument	1)Instrument name	ADVIA	ADVIA	Cobas Integra
	2) Model name	ADVIA 1650	ADVIA 1650	Cobas Integra 800
	3) Company	Bayer, Japan	Bayer, Japan	Roche, Germany
Reference		145~135 mmol/L	5.3~3.5 mmol/L	1.8~2.4 mg/dL

Appendix1 Reagents and Instruments (continue)

Test name		Iron	Urine Cl/K/Na	T3
Test code		C159	-	E401
Test method		Colorimetric Assay	ISE (ion-selectiveelectrodes)	CLIA
Storage method of sample		refrigeration	refrigeration	cold storage
Reagent	1) Kit name	Fe	Cl/K/Naion selectiveelectrode	T3
	2) Kit company, nationality	Roche, Germany	Bayer, USA	Bayer,USA
Analytical instrument	1)Instrument name	Modular Analytics	ADVIA	Centaur
	2) Model name	P	ADVIA 1650	ADVIA Centaur
	3) Company, nationality	Roche, Germany	Bayer, Japan	Bayer, USA
Reference		M: 59~158 μg/dL F: 37~145 μg/dL	RU:none unit:mmol/L	0.60~1.81 ng/mL

Appendix 2. Beck Depression Inventory

BDI

* 다음 설명을 잘 읽고 각 문항에 대한 4개의 응답에서 지난 일주일 동안 자신의 상태를 가장 잘 나타낸다고 생각되는 응답 내용 앞의 번호에 체크해 주십시오. 설문내용은 공개되지 않으며, 정확한 답변해 주시면 감사하겠습니다. 응답을 고르시기 전에 4개의 각 응답을 모두 다 읽어 본 뒤 한가지를 고르십시오. 만일 여러개의 응답이 골고루 해당된다면 해당되는 응답을 모두 다 고르십시오.

1	① 나는 슬프지 않다 ② 나는 슬프거나 울적하다 ③ 나는 항상 슬프거나 울적한 데서 벗어날 수 없다. ④ 나는 항상 슬프고 불행해서 견딜 수가 없다.
2	① 나는 앞날에 대해 특별히 비관하지도 낙담하지도 않는다. ② 나는 앞날에 대하여 낙담한다. ③ 나는 앞날에 대해서 기대할 것이 아무것도 없다. ④ 나의 앞날은 절망적이어서 나아질 것이 전혀 없다.
3	① 나는 실패감 같은 것을 느끼지 않는다. ② 내가 다른 사람보다 더 많이 실패했다고 생각한다. ③ 살아 온 과거를 돌아보건데, 모든 것이 실패의 연속이었다. ④ 나는 한 인간으로서 완전히 실패했다고 생각한다.
4	① 나는 전과 다름없이 일상생활에 만족감을 얻는다. ② 나는 전처럼 일상생활을 즐길 수 없다. ③ 나는 요즘에는 무엇을 해도 만족을 느끼지 못한다. ④ 모든 것이 다 불만스럽고 지겹다.
5	① 나는 특별히 죄책감을 느끼지 않는다. ② 나는 가끔 죄책감을 느낀다. ③ 나는 자주 죄책감을 느낀다. ④ 나는 항상 죄책감을 느낀다.
6	① 내가 벌을 받고 있다고는 생각하지 않는다. ② 내가 벌을 받을지도 모른다는 생각이 든다. ③ 나는 벌을 받을 것이다. ④ 나는 벌을 받고 있다고 생각한다.

7	① 나는 나 자신에 실망하지 않는다. ② 나는 나 자신에 실망하고 있다. ③ 나는 나 자신을 역겨워 한다. ④ 나는 나 자신을 증오한다.
8	① 나는 내가 다른 사람보다 못하다고는 생각하지 않는다. ② 나는 나의 약점이나 실수에 대해서 나 자신을 비난한다. ③ 나는 나의 잘못에 대해서 나 자신을 항상 비난한다. ④ 나는 잘못된 모든 일들이 내 탓이라고 자신을 비난한다.
9	① 나는 자살할 생각은 전혀 없다. ② 나는 자살할 생각을 하기는 하나 실제 그럴 생각은 없다. ③ 자살하고 싶다. ④ 기회만 있다면 자살하겠다.
10	① 나는 전보다 더 울지는 않는다. ② 요즈음 전보다 더 자주 운다. ③ 요즈음 항상 운다. ④ 전에는 울기라도 했으나 이젠 울 기력조차 없다.
11	① 나는 요즈음 전보다 더 초조하지는 않다. ② 요즈음 전보다 더 쉽게 초조해지고 짜증을 부린다. ③ 요즈음 항상 초조하다. ④ 전에는 초조했던 일들조차도 요즈음은 지쳐서 관심조차 없다.
12	① 나는 다른 사람에 대한 관심을 잃지는 않는다. ② 나는 사람에 대한 흥미를 덜 느낀다. ③ 나는 사람에 대한 흥미를 거의 다 잃었다. ④ 나는 사람에 대한 흥미를 모두 다 잃었다.
13	① 나는 전과 다름없이 결정을 잘 내린다. ② 나는 전에 비하여 결정해야 할 일들을 뒤로 미룬다. ③ 나는 전에 비하여 결정을 내리기 무척 어렵다. ④ 나는 더 이상 아무 결정도 내릴 수 없다.
14	① 내가 전보다 못생겨 보인다고는 생각하지 않는다. ② 내가 늙어 보이거나 매력이 없어 보일가 봐 걱정을 한다. ③ 내가 이제는 더 이상 매력적으로 보이지 않는다고 생각한다. ④ 내가 아주 추해졌다고 믿는다.
15	① 나는 전과 다름없이 일을 해 낼 수 있다. ② 무슨 일이든지 시작하려면 힘이 든다. ③ 무슨 일이든지 시작하려면 굉장히 힘이 든다. ④ 아무 일도 도저히 할 수 없다.
16	① 나는 전과 다름없이 잠을 잘 잔다. ② 전과는 달리 잠을 잘 못 잔다. ③ 전보다 한두 시간 더 일찍 깨고 다시 잠들기 어렵다. ④ 전보다 서너 시간 더 일직 개고 다시 잠들 수 없다.

17	① 나는 전보다 더 피곤하지는 않는다. ② 전보다 더 쉽게 피곤함을 느낀다. ③ 무슨 일을 해도 쉽사리 피곤함을 느낀다. ④ 너무나 피곤해서 아무 일도 할 수 없다.
18	① 전보다 입맛이 없는 편은 아니다. ② 입맛이 전처럼 좋지는 않다. ③ 요즘에는 입맛이 떨어졌다. ④ 요즘에는 입맛이 통 없다.
19	① 요즘 몸무게가 줄지는 않는다. ② 전보다 몸무게가 2kg 이상 줄었다. ③ 전보다 몸무게가 4kg 이상 줄었다. ④ 전보다 몸무게가 6kg 이상 줄었다.
19-1	나는 몸무게를 줄이기 위해 식이요법을 하고 있다. ① 예 ② 아니오
20	① 전보다 건강에 대해 걱정을 더 하지는 않는다. ② 통증, 소화불량, 변비와 같은 신체증상 때문에 걱정을 한다. ③ 신체 증상에 대한 걱정이 많아 다른 일을 하기 힘들다. ④ 신체 증상에 대한 걱정이 많아 다른 일을 전혀 할수 없다.
21	① 나는 성생활에 대한 흥미가 전과 다름이 없다. ② 전보다 성생활에 대한 흥미가 떨어졌다. ③ 요즈음 성생활에 대한 흥미가 떨어졌다. ④ 성생활에 전혀 흥미가 없다.

* Appendix 3 에서 나타내는 결과들 중 앞의 연구 chapter에서 제시되었던 변수들은 동일한 평균값이다. 논문의 결과는 앞의 chapter의 경로분석이며, 단순비교는 경향을 파악하기 위해 실시하였다.

Appendix 3. Comparison of hormone and biochemical markers between FRG group and placebo group

Index	Marker		2^{nd}sample Mean ± S.D. (n)	p	$\Delta 2^{nd}-1^{st}$	P
HPA axis	CRH (ng/ml)	Pbo.	0.2 ± 0.1 (20)	0.17	0.01	0.40
		FRG	0.5 ± 1.0 (20)		0.21	
	AVP (pg/dl)	Pbo.	0.8 ± 0.2 (20)	0.93	−0.09	0.45
		FRG	0.8 ± 0.2 (20)		−0.03	
	ACTH (pg/ml)	Pbo.	20.4 ± 10.1 (44)	0.34	2.3	0.52
		FRG	22.7 ± 11.8 (49)		0.9	
	Cortisol (μg/dl)	Pbo.	11.2 ± 3.5 (44)	0.52	−0.2	0.13
		FRG	10.8 ± 3.8 (49)		0.9	
	free Cortisol (μg/day)	Pbo.	22.5 ± 15.8 (41)	0.96	−5.5	0.32
		FRG	19.8 ± 14.0 (47)		−2.1	
	CBG (ng/ml)	Pbo.	6178 ± 8294 (20)	0.95	2269	0.95
		FRG	6293 ± 8469 (20)		2114	
HPG axis	LH (mIU/ml)	Pbo.	38.8 ± 14.8 (20)	0.30	1.0	0.56
		FRG	30.3 ± 9.0 (20)		−0.3	
	FSH (mIU/ml)	Pbo.	74.0 ± 24.3 (20)	0.68	0.1	0.44
		FRG	68.0 ± 18.5 (20)		2.4	
	Estradiol (pg/ml)	Pbo.	14.5 ± 7.3 (19)	0.06*	−7.4	0.06*
		FRG	18.3 ± 7.3 (19)		1.0	
HPT axis	TSH (μIU/ml)	Pbo.	2.8 ± 1.8 (20)	0.80	0.1	0.41
		FRG	2.3 ± 1.2 (20)		0.4	
	Free T4 (ng/dl)	Pbo.	1.1 ± 0.1 (20)	0.99	<0.01	0.90
		FRG	1.0 ± 0.1 (20)		<0.01	
	T3 (pg/dl)	Pbo.	912.1 ± 912 (20)	0.86	0.12	0.33
		FRG	935.6 ± 123 (20)		0.06	
HPS axis	GH (ng/ml)	Pbo.	0.9 ± 1.2 (20)	0.06*	−0.40	0.50
		FRG	1.8 ± 1.4 (20)		−0.06	
	IGF−1 (ng/ml)	Pbo.	144 ± 49 (20)	0.87	−2.3	0.67
		FRG	144 ± 67 (20)		1.8	
	DHEAS (μg/dl)	Pbo.	65.2 ± 31.4 (44)	0.05*	−6.2	0.03**
		FRG	66.2 ± 29.1(49)		0.5	

Appendix 3. Comparison of hormone and biochemical markers between FRG group and placebo group (continue)

Index	Marker		2^{nd}sample Mean ± S.D (n)	p	$\Delta 2^{nd}-1^{st}$	p
Diabetes related marker	Insulin (μU/ml)	Pbo.	6.4 ± 3.6 (43)	0.04**	1.0	0.01
		FRG	6.2 ± 2.9 (48)		−0.2	
	Glucose (mg/dl)	Pbo.	89.6 ± 6.8 (44)	0.31	2.2	0.85
		FRG	87.4 ± 7.1 (49)		2.5	
	HbA1c (%)	Pbo.	5.77 ± 0.29 (44)	0.04**	0.09	0.06
		FRG	5.70 ± 0.27(49)		0.06	
	HOMA−IR	Pbo.	1.42 ± 0.80 (43)	0.06*	0.17	0.03
		FRG	1.36 ± 0.67 (48)		−0.09	
Lipid	total Chol. (mg/dl)	Pbo.	216.2 ± 31.6 (44)	0.14	8.0	0.07
		FRG	217.7 ± 30.9 (49)		−0.2	
	HDLChol. (mg/dl)	Pbo.	54.6 ± 10.6 (44)	0.13	2.9	0.12
		FRG	53.6 ± 11.2 (49)		1.1	
	LDLChol. (mg/dl)	Pbo.	139.1 ± 31.6 (44)	0.08*	9.3	0.04
		FRG	141.3 ± 30.1 (49)		0.7	
	TG (mg/dl)	Pbo.	141.8 ± 74.8 (44)	0.46	−0.32	0.53
		FRG	127.0 ± 68.2 (49)		−6.08	
	FFA (μEq/L)	Pbo.	640.0 ± 223.7 (44)	0.61	−23.5	0.61
		FRG	660.3 ± 217.0 (49)		3.8	
	Apo. B (mg/dl)	Pbo.	86.7 ± 17.0 (44)	0.32	4.1	0.16
		FRG	89.6 ± 16.4 (49)		1.1	
High blood Atherosclerosis	Creatinine (mg/dl)	Pbo.	0.9 ± 0.1 (44)	0.71	−0.009	0.85
		FRG	0.9 ± 0.1 (49)		−0.006	
	Hs−CRP (mg/L)	Pbo.	0.7 ± 1.6 (44)	0.55	−0.3	0.71
		FRG	0.6 ± 1.0 (49)		−0.1	
	Uric acid (mg/dl)	Pbo.	4.7 ± 0.9 (44)	0.12	0.08	0.28
		FRG	5.0 ± 1.0 (49)		0.22	
	BUN (mg/dl)	Pbo.	14.6 ± 3.1 (44)	0.47	0.625	0.63
		FRG	15.3 ± 3.9 (49)		0.953	
	ACE (U/L)	Pbo.	43.7 ± 12.8 (20)	0.83	−2.5	0.75
		FRG	41.9 ± 15.4 (20)		−1.7	
	Ccr(ml/min/ $1.73m^2$)	Pbo.	64.8 ± 20.0 (41)	0.82	12.8	0.25
		FRG	60.2 ± 25.1 (47)		6.3	
	PAI−1 (ng/ml)	Pbo.	20.4 ± 10.2 (35)	0.17	0.6	0.23
		FRG	26.2 ± 20.7 (40)		5.0	
	Aldosterone (ng/dl)	Pbo.	6.2 ± 3.5 (20)	0.12	0.2	0.48
		FRG	8.4 ± 3.6 (20)		0.9	

Appendix 3. Comparison of hormone and biochemical markers between FRG group and placebo group (continue)

Index	Marker		2^{nd}sample Mean ± S.D (n)	p	$\Delta 2^{nd}-1^{st}$	p
Osteoporosis & Minerals	pH (urine)	Pbo.	5.7 ± 0.8 (43)	0.02**	−0.02	0.06
		FRG	5.9 ± 0.8 (49)		0.4	
	Ca(serum)	Pbo.	10.8 ± 1.6 (45)	0.03**	−1.0	0.06
	(mg/dl)	FRG	11.4 ± 1.7 (46)		−0.2	
	Ca(urine)	Pbo.	10.9 ± 7.5 (39)	<0.00***	2.8	0.03
	(mg/dl)	FRG	6.5 ± 4.5 (46)		−0.8	
	P (plasma)	Pbo.	3.4 ± 0.5(41)	0.19	−5.9	0.75
	(mg/dl)	FRG	3.6 ± 0.6 (46)		−5.8	
	P(urine)	Pbo.	55.6 ± 24.8 (41)	0.13	4.7	0.32
	(mg/dl)	FRG	46.7 ± 24.1 (46)		−1.9	
	Na(plasma)	Pbo.	141.2 ± 1.5 (41)	0.97	−4.7	0.29
	(mmol/L)	FRG	141.2 ± 1.6 (46)		−4.5	
	Na(urine)	Pbo.	140.1 ± 50.0 (41)	0.02**	−4.0	0.29
	(mmol/L)	FRG	112.2 ± 43.4 (46)		−16.5	
	Cl(plasma)	Pbo.	90.0 ± 5.7 (41)	0.78	−9.9	0.88
	(mmol/L)	FRG	90.3 ± 4.5 (46)		−9.5	
	Cl(urine)	Pbo.	163.1 ± 63.9 (41)	0.19	−13.6	0.72
	(mmol/L)	FRG	135.4 ± 60.7 (46)		−18.1	
	K (plasma)	Pbo.	21.0 ± 2.6 (41)	0.04**	4.0	0.01
	(mmol/L)	FRG	20.1 ± 1.8 (46)		2.4	
	K (urine)	Pbo.	55.1 ± 21.5 (41)	0.59	−2.9	0.69
	(mmol/L)	FRG	56.1 ± 30.9 (46)		−0.5	
	Fe(plasma)	Pbo.	26.3 ± 7.4 (41)	0.68	9.1	0.44
	(μg /dl)	FRG	26.5 ± 11.4 (46)		8.5	
	Fe(urine)	Pbo.	4.5 ± 3.2 (29)	0.38		
	(μg/dl)	FRG	5.3 ± 3.8 (30)			
	Mg(plasma)	Pbo.	265 ± 48 (41)	0.06*	0.03	0.18
	(mg/dl)	FRG	282 ± 39 (46)		0.05	
	Mg(urine)	Pbo.	4.3 ± 4.6 (41)	0.80		
	(mg/dl)	FRG	4.1 ± 5.7 (41)			
	$1,25(OH)_2VitD_3$(pg/ml)	Pbo.	39.5 ± 17.1 (41)	0.32	12.8	0.60
		FRG	33.8 ± 9.9 (46)		10.3	
	PTH	Pbo.	30.1 ± 6.6 (41)	0.13	8.1	0.10
	(pg/ml)	FRG	37.6 ± 11.1 (46)		11.7	

Appendix 3. Comparison of hormone and biochemical markers between FRG group and placebo group (continue)

Index	Marker	2nd sample		P	$\Delta 2^{nd}-1^{st}$	P
		Group	Mean ± S.D (n)			
Blood Pressure	Bron. SBP (mmHg)	Pbo.	124.1 ± 17.0 (44)	0.20	−1.8	0.70
		FRG	118.6 ± 13.5 (47)		−0.01	
	Bron. DBP (mmHg)	Pbo.	79.8 ± 8.2 (44)	0.23	−1.0	0.54
		FRG	76.3 ± 9.2 (47)		−2.5	
	Ankle SBP (mmHg)	Pbo.	139.4 ± 19.5 (42)	0.51	−1.4	0.84
		FRG	134.5 ± 15.9 (44)		−0.6	
	Ankle DBP (mmHg)	Pbo.	81.9 ± 9.3 (42)	0.82	−1.2	0.12
		FRG	80.1 ± 11.1 (44)		4.4	
	Systolic ABI	Pbo.	1.1 ± 0.1 (42)	0.89	−0.01	0.61
		FRG	1.1 ± 0.1 (44)		0.01	
	Diastolic ABI	Pbo.	1.0 ± 0.1 (42)	0.25	0.01	0.38
		FRG	1.1 ± 0.1 (44)		0.04	
	Bron.pulse (beats/min)	Pbo.	68.6 ± 8.4 (44)	0.78	−1.6	0.29
		FRG	68.3 ± 8.6 (47)		0.7	
	Ankle pulse (beats/min)	Pbo.	65.5 ± 8.7 (42)	0.93	−3.8	0.80
		FRG	64.0 ± 6.8 (44)		−4.4	

Pbo. : placebo, ABI: Ankle Brachial Index, ACTH: Adrenocorticotropic hormone, CRH: Corticotropin releasing hormone, DHEAS: Dehydroepiandrosterone sulfate, E2: estradiol, FSH: follicle stimulating hormone, GH: growth hormone, HbA1c: hemoglobin A1c, LH: luternizing hormone, T3: Triiodothyronine

Appendix 4. Standardized coefficients comparison between multiple imputation and single regression analysis

Standardized coefficients : FRG group								
Path	ACTH→GC		TSH→T3		FSH→LH		FSH→E2	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d
1	0.556	0.099	0.443	0.115	0.508	0.106	-0.304	-0.319
2	0.556	0.099	0.460	0.113	0.510	0.106	-0.421	0.123
3	0.556	0.099	0.375	0.123	0.468	0.112	-0.197	0.155
7	0.556	0.099	0.507	0.106	0.317	0.129	-0.438	0.119
9	0.556	0.099	0.527	0.103	0.545	0.100	-0.398	0.148
ave-5	0.556	0.099	0.462	0.112	0.470	0.111	-0.352	0.045
MI-10	0.556	0.099	0.475	0.168	0.506	0.135	-0.311	0.195
1Regre	0.556				0.535		-0.416	

Standardized coefficients : Placebo group								
Path	ACTH→GC		TSH→T3		FSH→LH		FSH→E2	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d
1	0.479	0.116	0.206	0.144	0.541	0.107	-0.538	0.144
2	0.479	0.116	0.310	0.136	0.593	0.098	-0.529	0.155
3	0.479	0.116	0.143	0.148	0.453	0.120	0.129	0.164
7	0.479	0.116	0.285	0.139	0.686	0.080	-0.482	0.183
9	0.479	0.116	0.275	0.139	0.578	0.100	-0.343	0.169
ave-5	0.479	0.116	0.244	0.141	0.570	0.101	-0.353	0.163
MI-10	0.479	0.116	0.217	0.194	0.600	0.128	-0.252	0.359
1Regre	0.479		0.189		0.652		-0.211	

ave-5, average of 5 imputed datasets; MI-10, multiple imputation; 1Regres., single regression analysis (raw data, not imputed); BP, Brachial pulse; CRH, Corticotropin releasing hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone sulfate; E2, estradiol; FFA, free fatty acids; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone; T3, Triiodothyronine, BP, brachial pulse

Appendix 4. Standardized coefficients comparison between multiple imputation and single regression analysis (continue)

Standardized coefficients : FRG group								
Path	LH→E2		Insulin→FFA		Cortisol→FFA		E2→FFA	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d
1	-0.319	0.135	-0.341	0.099	-0.239	0.112	0.676	0.083
2	-0.280	0.128	-0.287	0.079	-0.226	0.094	0.778	0.080
3	-0.065	0.157	-0.326	0.078	-0.197	0.096	0.677	0.074
7	-0.129	0.130	-0.363	0.076	-0.349	0.082	0.739	0.077
9	0.017	0.157	-0.405	0.079	-0.252	0.086	0.775	0.066
ave-5	-0.155	0.141	-0.344	0.082	-0.253	0.094	0.729	0.076
MI-10	-0.160	0.184	-0.338	0.101	-0.250	0.140	0.701	0.106
1Regre	-0.375		-0.051		-0.068		0.568	

Standardized coefficients: Placebo group								
Path	LH→E2		Insulin→FFA		Cortisol→FFA		E2→FFA	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d
1	0.278	0.157	-0.124	0.095	0.372	0.093	0.742	0.062
2	0.324	0.165	-0.150	0.124	0.197	0.110	0.670	0.078
3	-0.240	0.161	0.095	0.083	0.384	0.089	0.734	0.063
7	0.352	0.188	-0.015	0.095	0.449	0.095	0.658	0.079
9	0.075	0.176	0.020	0.107	0.405	0.097	0.703	0.071
ave-5	0.158	0.169	-0.035	0.101	0.361	0.097	0.701	0.071
MI-10	0.125	0.271	-0.007	0.132	0.386	0.127	0.667	0.107
1Regre	0.189		0.189		0.249		0.573	

ave-5, average of 5 imputed datasets; MI-10, multiple imputation; 1Regres., single regression analysis (raw data, not imputed); BP, Brachial pulse; CRH, Corticotropin releasing hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone sulfate; E2, estradiol; FFA, free fatty acids; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone; T3, Triiodothyronine, BP, brachial pulse

Appendix 4. Standardized coefficients comparison between multiple imputation and single regression analysis (continue)

Standardized coefficients: FRG group								
Path	GH→FFA		ACTH→FFA		T3→FFA		BP→FFA	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d
1	-0.176	0.119	-0.054	0.110	0.168	0.100	0.376	0.087
2	-0.310	0.100	0.031	0.100	-0.187	0.091	0.461	0.084
3	-0.139	0.095	-0.096	0.110	0.056	0.111	0.441	0.088
7	-0.275	0.072	0.170	0.098	-0.116	0.087	0.511	0.081
9	-0.366	0.090	-0.027	0.090	-0.213	0.091	0.537	0.089
ave-5	-0.253	0.095	0.005	0.102	-0.058	0.096	0.465	0.086
MI-10	-0.298	0.141	0.085	0.139	-0.032	0.178	0.462	0.100
1Regre	-0.107		-0.074		0.198		0.305	

Standardized coefficients: Placebo group								
Path	GH→FFA		ACTH→FFA		T3→FFA		BP→FFA	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d	mean	s.d
1	0.147	0.108	0.121	0.098	0.121	0.088	0.068	0.087
2	0.229	0.140	0.290	0.134	0.066	0.109	0.175	0.111
3	0.124	0.085	0.190	0.081	0.088	0.069	-0.013	0.074
7	-0.038	0.110	0.104	0.106	0.086	0.087	0.023	0.088
9	0.062	0.118	0.162	0.117	0.016	0.089	0.083	0.099
ave-5	0.105	0.112	0.173	0.107	0.075	0.088	0.067	0.092
MI-10	0.088	0.140	0.177	0.125	0.037	0.114	0.071	0.111
1Regre	-0.171		0.181		0.216		0.256	

ave-5, average of 5 imputed datasets; MI-10, multiple imputation; 1Regres., single regression analysis (raw data, not imputed); BP, Brachial pulse; CRH, Corticotropin releasing hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone sulfate; E2, estradiol; FFA, free fatty acids; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone; T3, Triiodothyronine, BP, brachial pulse

Appendix 4. Standardized coefficients comparison between multiple imputation and single regression analysis (continue)

Standardized coefficients: FRG group				
Path	DHEAS→FFA		TSH→FFA	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d
1	0.315	0.094	-0.261	0.110
2	0.182	0.083	-0.209	0.133
3	0.204	0.091	-0.269	0.100
7	0.248	0.082	-0.132	0.100
9	0.188	0.067	-0.064	0.085
ave-5	0.227	0.083	-0.187	0.106
MI-10	0.240	0.097	-0.206	0.165
1Regre	0.227		-0.160	

Standardized coefficients: Placebo group				
Path	DHEAS→FFA		TSH→FFA	
Dataset	mean	s.d	mean	s.d
1	-0.146	0.086	0.089	0.104
2	-0.083	0.104	0.048	0.129
3	0.106	0.075	0.127	0.102
7	-0.007	0.080	0.109	0.115
9	-0.051	0.081	0.196	0.122
ave-5	-0.036	0.085	0.114	0.114
MI-10	-0.016	0.128	0.132	0.168
1Regre	0.019		0.299	

ave-5, average of 5 imputed datasets; MI-10, multiple imputation; 1Regres., single regression analysis (raw data, not imputed); BP, Brachial pulse; CRH, Corticotropin releasing hormone; DHEAS, Dehydroepiandrosterone sulfate; E2, estradiol; FFA, free fatty acids; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA1c, hemoglobin A1c; LH, luternizing hormone; T3, Triiodothyronine, BP, brachial pulse

Appendix 5. Nuclear receptors

1. NRs′ role as ligand-activated transcription factors

유전자수가 다른 다세포동물들과 크게 차이가 나지 않음에도 인체의 구조와 기능이 복잡하고 정교하게 조절이 가능한 이유들 중 하나는 조절유전자에 있다 [1]. 진핵세포에서 전사는 중합효소만으로 가능하지 않고, 프로모터의 상류, -25~-30의 TATA box 에 중합효소가 전사인자 단백질들과 함께 복합체를 형성해야 한다 [2]. 포유류의 경우 전사조절서열은 TATA 박스 이외에도 프로모터에서 멀리 떨어진 위치에 다양한 전사인자들 (transcription factors)이 결합할 수 있는 증폭자 (enhancer)가 있으며 DNA가 고리를 형성함으로써 전사인자들과 전사복합체가 결합하여 전사를 촉진한다 [3].

핵수용체 (nuclear receptor: NRs)는 전통적으로 리간드에 의해 활성화되는 전사인자들 (ligand-activated transcription factors)로 정의된다. 작은 친유성 분자들 (lipophilic molecules)이 세포질에 있는 핵수용체에 결합하고, 활성화된 핵수용체는 핵으로 이동한 후 표적 유전자의 프로모터에 가깝거나 멀리 있는 전사조절서열인 DNA반응부위 (DNA response element)에 결합한다 [4]. 여기서 핵수용체는 전사복합체와 다양한 보조조절자들 (co-regulator)과 선택적으로 결합함으로써 전사를 조절 할 수 있다 [5] (Fig. A5-1(A)).

인체에서는 현재까지 48종류의 핵수용체들이 발견되었으며, 이들 중 절반 정도는 아직 그 리간드가 밝혀지지 않은 고아 핵수용체들 (orphans NRs)이다 [6]. 대부분의 핵수용체들은 5~6개 (A~E)의 모듈성 구조 (modular structure)를 보존하고 있고, 각 모듈은 특별한 기능을 담당하고 있다 [7]. 모듈 (module)은 특성을 갖는 기능단위로서 보다 복잡한 상위계를 구성하는 부분 (part)을 말한다. 예를 들어 하나의 단백질은 서로 다른 기능을 갖는 몇개의 하위 모듈들로 구성될 수 있다. 모듈은 두가지 개념, 즉 기능성 (functional) 모듈과 상호작용 (interaction) 모

듈로 구분할 수 있다. 기능성 모듈은 효소의 촉매활성자리를 의미한다. 그리고 상호작용 모듈은 모든 종류의 다른자리 입체성 (allosteric) 조절자 (regulator)에 대한 접촉부위로, 세포의 신호전달에서 매우 다양하고 복잡한 상호작용을 가능하게 한다.

핵수용체의 A/B 영역 (region)은 N-terminal 에 위치하며, AF-1 (transcriptional Activation Function1)으로도 불리는데, 유전자반응도메인 (DNA binding domain: DBD)에서 전사를 활성화시키는 역할을 한다 [7]. 70~80개의 아미노산으로 구성된 작은 부위인 영역 C는 DBD으로 염기서열-특이적인 DNA부위의 인식을 가능하게 한다 [8]. C영역은 두 개의 아연원자가 네개의 시스테인 티올들 (cysteine thiols)과 킬레이트 되어 있는 나선고리나선 (helix-loop-helix)구조가 있어서 6개의 염기쌍으로 구성된 DNA-반응부위 (DNA-response element: DRE)를 읽을 수 있게 된다 [9].

영역 D는 C영역과 E영역 사이에서 경첩 (hinge) 역할을 함으로써 DNA와 리간드-결합부위에서 구조변형들 (conformations)이 가능하도록 한다. 또한 D영역은 핵위치신호 (nuclear localization signal: NLS)를 포함하여 핵 (nucleus)과 세포질 (cytoplasm) 사이를 핵수용체들이 이동할 수 있도록 한다 [10]. 250여개의 아미노산으로 구성된 큰 부위인 E영역은 리간드결합부위 (ligand-binding domain: LBD)와 두번째 전사촉진부위 (transactivating domain)인 AF-2부위 (ligand dependent)를 포함하는데 LBD는 이합체 (dimer) 상호작용을 가능하게 한다 [11]. (Fig. A5-1 (B))

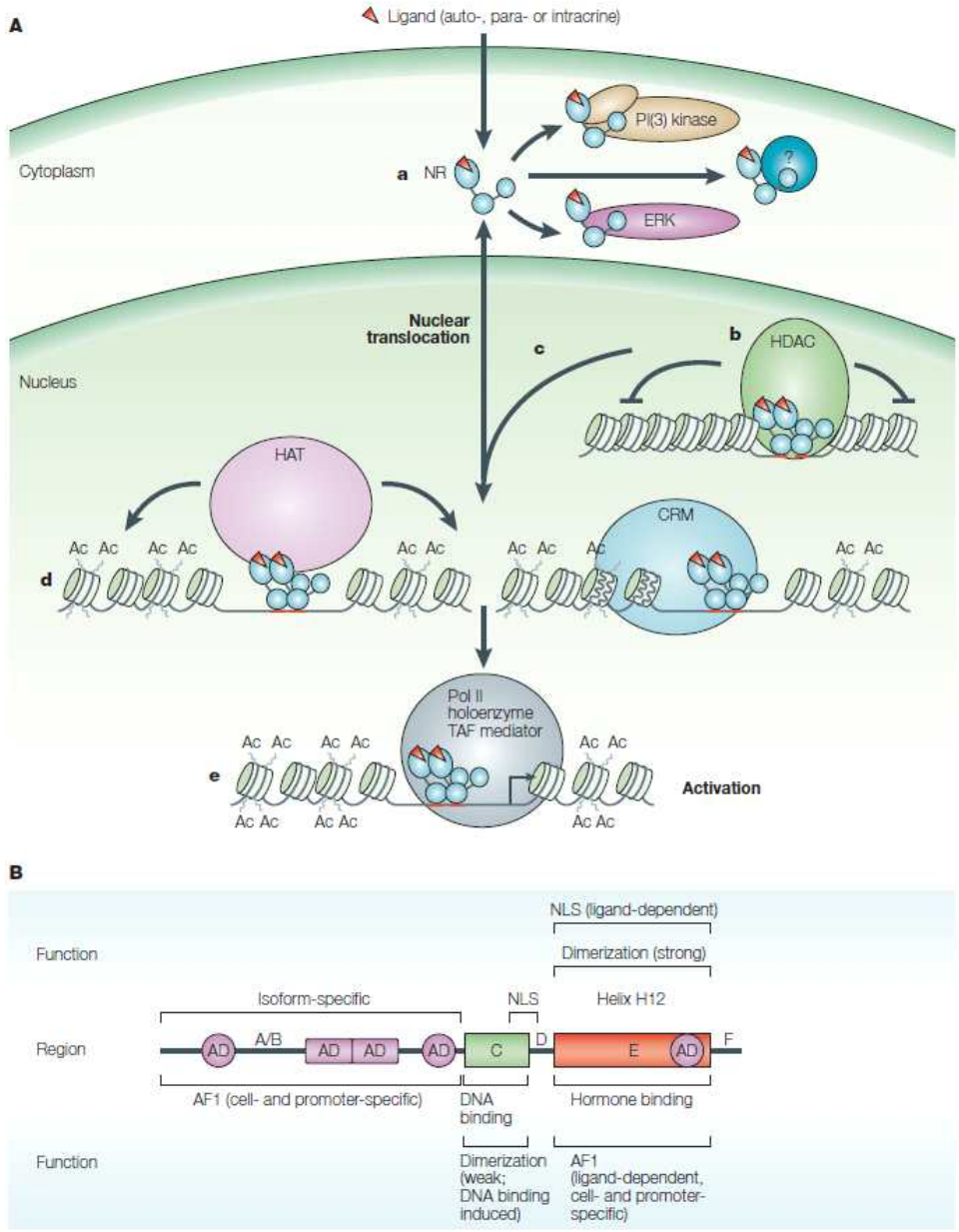


Figure A5-1. Nuclear receptors in action. A | Mode of action of nuclear receptors (NRs). After diffusion through the cytoplasmic membrane, the ligand can interact with its cognate receptor where it

can exert a 'non-genomic effect' by interacting directly, for example, with kinases (a). The ratio between cytoplasmic and nuclear location can vary between different receptors and is affected by the nature of a ligand. Ligand binding modulates the interaction of the receptor with a plethora of factors. In the absence of ligand, several nuclear receptors are believed to be bound to the regulatory regions of target genes as a corepressor or histone deacetylase (HDAC) complex (b). Histone deacetylation is responsible for the chromatin condensation that accounts for the gene-silencing effect of apo receptors. Ligand binding releases the HDAC complex (c) and results in the recruitment of histone acetyltransferase (HAT) and chromatin-remodelling (CRM) complexes (d). The temporal order and requirement of these complexes can occur in a receptor-, target-gene- and cell-specific manner. In the last step (e), the polymerase II holoenzyme, which comprises the pol II enzyme, TAF (TATA-binding protein-associated factor) and mediator complexes, is recruited and increases the frequency of transcription initiation. B | Schematic illustration of the structural and functional organization of nuclear receptors. The evolutionarily conserved regions C and E are indicated as boxes (green and orange, respectively), and a black bar represents the divergent regions A/B, D and F. Domain functions are depicted above and below the scheme. AD, activation domain; AF1, activation function 1; NLS, nuclear localization signal [12]. Cited from Gronemeyer H et al. (2004)

2 Nuclear receptor's groups

리간드가 아직 밝혀지지 않은 고아 핵수용체들을 제외하면, 리간드 의존성 수용체들은 진화적인 연관성과, 세포내의 위치와 작용에 근거하여 크게 두가지 그룹으로 나뉠 수 있다. 첫번째 그룹은 스테로이드 호르몬 그룹으로 estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), glucocorticoid receptor (GR), mineralcorticoid receptor (MR), 그리고 progesterone (PR)이 포함된다. 이들 그룹은 자극이 없을 때 세포질 내에서 열충격단백질들 (heat shock proteins)과 같은 샤페론 (chaperons)들과 결합하여 비활성상태로 있다 [12]. 호르몬 리간드가 이들 핵수용체들에 결합하게 되면 구조변형 (conformational change)이 일어나면서 샤페론 복합체와 분리가 되고 핵 내로 위치를 이동하게 된다. 그리고 크로마틴 (chromatin)과 결합하여 관련된 유전자를 활성화 또는 억제하게 된다 [12].

핵수용체들의 두번째 그룹은 비스테로이드 수용체들로, 여기에는 갑상선호르몬 수용체 (thyroid hormone receptor: TR), 비타민D 수용체 (vitamin D receptor: VDR), 레티노익산 수용체 (retinoid acid receptor: RA), 그리고 레티노이드 X 수용체 (retinoid X receptor: RXR)가 포함된다. 대개 이들 그룹은 리간드의 자극이 없을 때 세포핵 내에서 DNA에 결합하여 유전자의 발현을 억제한다. 만약 호르몬이나 비타민 리간드 등과 수용체가 결합하게 되면 유전자의 억제작용을 중지함으로써 유전자의 발현을 촉진하게 된다 [2].

스테로이드 수용체와 비스테로이드 수용체는 DNA반응부위에서도 차이가 있으며 이는 핵수용체의 이합체 (dimer)의 특성에 기인한다. 이합체는 두 개의 단백질이 결합하여 하나처럼 작용하는 것이다. 다른 많은 전사조절자들처럼, 핵수용체의 이합체구조와 기능은 이들의 redundancy적 특성을 지지한다 [57]. 진화론적으로 초기에 단량 체로 기능을 한 전사인자들은, 프로모터 내에서 DNA 인식부위 (DNA-recognition motif)가 복제되어 대칭적인 회문구조가 생성됨으로써 보다 넓은 유전자부위와 결합할 수 있게 되는데 이는 곧 핵수용체와

DNA반응 부위간에 낮은 친화도가 가능하게 함으로써 redundancy적 특성이 나타날 수 있다. 실제로 핵수용체의 경우에도 진화론적으로 초기상태인 ERR은 단량체로 기능을 하며 이후 ER에서 이합체들이 나타나게 된다. 이합체는 단백질들의 농도에 따라 빠른 시간내에 반응을 할 수 있게 하였고, 리간드가 결합함으로써 수용체의 구조와 활성이 변화하는 알로스테리 (allostery)와 시너지 효과가 가능하게 하였다. 뿐만 아니라 급격한 환경변화에 의해 단량체의 농도가 요동을 칠 때에도 이합체는 그신호잡음을 감소시킬 수 있으며, 다안정성 (multistability)와 요동(oscillation)과 같은 비선형거동을 가능하게 한다 [57].

스테로이드 수용체의 경우 이합체로, 동일한 서열이 역반복(inverted repeats)되어 3개의 염기들 (base pairs: IR3)이 떨어진 회문(palindromic)구조의 염기서열에 결합한다. 스테로이드 수용체의 DNA반응부위는 다시 두가지로 더욱 나뉘어 질 수 있다. 즉, ER은 5'-AGGTCA-3'의 반응부위를 가지는 반면, GR, PR, MR 그리고 AR의 반응부위는 5'-AGAACA-3'의 동일한 서열을 갖는다 [2] (Fig. A5-2).

뿐만 아니라 스테로이드 수용체의 호르몬 리간드들은 화학적 구조에 따라 두 종류로 나뉠 수 있다. 한 그룹은 corticosteroids, progestagens (progesteron 포함) 그리고 androgen으로 모두 스테로이드 골격의 3위치 (3-position)에 keto 그룹을 가지고 있고, 또 다른 한 그룹은 estrogen으로 3-hydroxyl 그룹을 가지고 있다 (Table A5-1).

한편, 비스테로이드 수용체들 (non-steriodreceptors)의 DNA반응부위는, AGGTCA라는 6개의 염기서열이 몇 개의 염기간격을 두고 반복된다. 이를 DRn이라 하며 여기서 n은 6개의 염기서열이 반복되는 횟수를 의미한다. n의 수에 따라 반응부위 DNA의 기하학적인 구조가 달라지면서 특이적인 수용체들이 결합할 수 있게 된다 [2]. 비스테로이드 수용체들은 TR이나 VDR처럼 동형이합체로 결합하는 경우도 있으나, 대부분의 경우, TR, VDR, RAR, LXR, RXR, PXR, CAR 그리고 PPAR 등은 RXR과 함께 이형이합체로 결합하며 이로인해 RXR은 핵수용체들의 신호전달과정에서 허브역할을 한다.

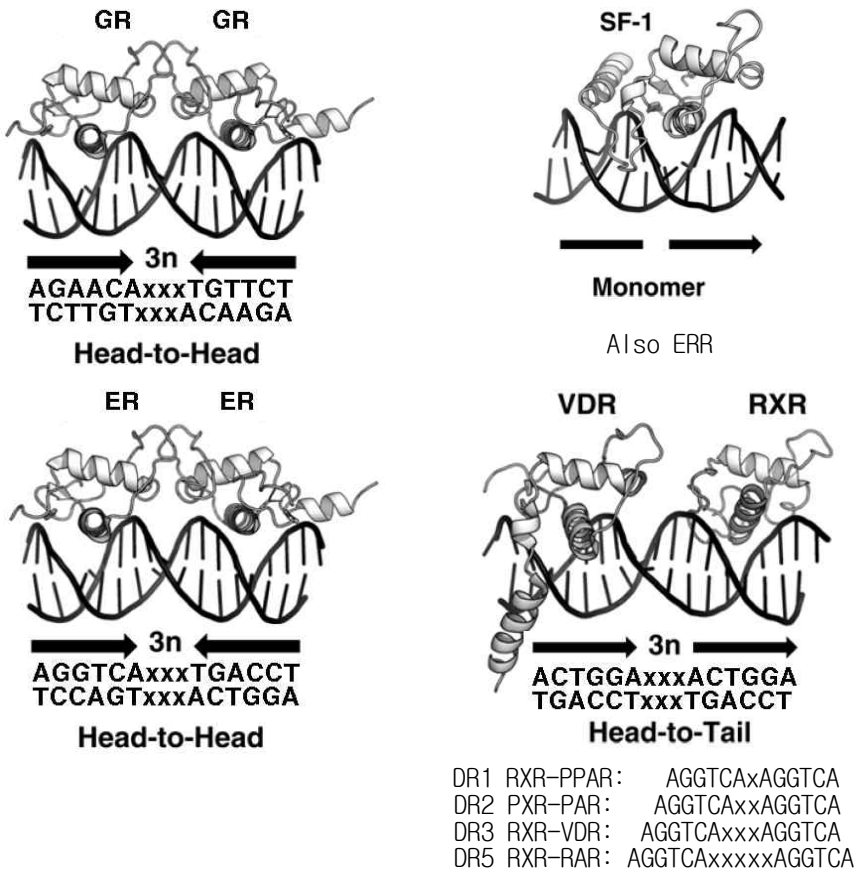


Figure A5-2. DNA binding modes by nuclear receptors. Based on their DNA binding characteristics, NRs can be subdivided in different groups: receptors that homodimerize such as the GR and AR, receptors that are able to heterodimerize with RXR (VDR, RAR) or receptors that bind as monomer (SF-1). The GR dimerizes on an inverted repeat with three nucleotide spacer (IR3) in head-to-head conformation. Besides binding as homodimer to a DR3 in head-to-tail conformation, the VDR is also known to heterodimerize with RXR on a DR3. The RAR binds to a DR1 with RXR as its heterodimerization partner and SF-1 is an orphan receptor that prefers monomer binding [13]. Cited from Helsen CA. (2012)

Table A5-1. Comparison of nuclear receptors

	Steroid receptors		Non-steroid receptors
Receptor	ER	GR, MR, AR, PR	TR, VDR, RAR, LXR, RXR, PXR, CAR, PPAR
Ligands	Steroid 3-Hydroxyl group	Steroid 3-Keto group	Non-steroid Retinoid
Ligand sources	Hormone De novo synthesis from cholesterol	Hormone De novo synthesis from cholesterol	Vitamins, Food nutrients, lipids
Sensors' role	Hormone receptor	Hormone receptors	Environmental sensors
DNA response element	Palindrome AGGTCAxxxTGACCT TCCAGTxxxACTGGA	Palindrome AGAACAxxxTGTTCT TCTTGTxxxACAAGA	Repeat AGGTCA(n)
Dimer	Homodimer	Homodimer	Heterodimer
Location in non-activation	cytoplasm	cytoplasm	Nuclear
Regulator in non-activation	Heat shock protein	Heat shock protein	Co-repressor
Related ginsenoside	Rg3, Rh1, Rg1	Compound K, Rh2	Rg3, Rb1

3 Redundancy of nuclear receptor and stochastic analysis

진화적으로 초기동물인 원구동물들 (prostome: 지렁이와 같은 환형동물 (annelids))의 유사 핵수용체들 (homology)은 척추동물의 ERs과 유전자 서열이 가장 유사한 반면 다른 핵 수용체들과는 차이가 많다. 이를 근거로 척추동물의 스테로이드 핵수용체의 원형은 ERs로 추정된다 [14,15]. 연구들에 의하면, 진화적으로 초기의 척색동물 (chordates)시기에 조상 스테로이드 수용체1 (ancestor SR1: AncSR1)이 중복되어 두개의 SR그룹을 만들고, 이후 척추동물시기에 AncSR2 유전자가 다시 중복됨으로써 AR, PR, GR 그리고 MR의 가지들이 생겨났다고 추정된다. Table A5-1에서 보듯이 ER의 DBDs는 AGGTCA의 역반복 (inverted repeat)에 결합하는 반면, AR, PR, GR 그리고 MR은 ER의 DBDs에서 염기서열이 변형된 AGAACA의 역반복에 결합한다. 그리고 AR/PR 그리고 GR/MR은 DBDs와 DNA response element들이 서로 매우 밀접히 관련되어 있으며 리간드와 수용체들이 서로 공유하는 자매수용체 쌍으로 간주된다 [15-17].

유전적으로 redundancy는 두 개 이상의 유전자가 동일한 기능을 일부 겹쳐서 (overlapping) 수행하는 것으로 [18], 초기의 한 유전자가 또 다른 위치에 중복 (duplication)되어 생성됨으로써 가능해진다. 처음 중복될 때 동일하였던 기능은 진화가 진행되면서 원래의 구조와 기능이 약간 변형되거나 완전히 잃어버릴 수도 있다.

Redundancy는 진화론적으로 생물의 생존에 매우 유리한 작용을 하게 된다. 예를 들어 중복된 두 단백질은 음성 되먹임 (negative feedback)으로 상호억제 (mutual repression)를 하곤 하는데, 이것은 한 단백질의 기능이 손상될 때 보상적으로 다른 유전자가 더욱 활성화되는 결과를 얻게 한다 [19]. 이러한 완충 (buffering) 효과는 새로운 환경변화에 대응하여 하나의 단백질이 안정적으로 작용을 하면서, 또 다른 하나의 단백질은 기존과 다른 새로운 기능을 시험해 볼 수도 있도록 한다 [19]. 이러한 가능성들은 세포신호전달시스템과 대사과정 그리고 사이토카인들의 redundancy에서 쉽게 확인할 수 있다.

생물학적 기능들의 redundancy는 신호전달 (signal transduction), 발달 (development), 대사 (metabolism) 그리고 면역작용 (immune function) 등 생물계의 다양한 측면에서 풍부하게 나타나는 중요한 특징 중 하나로, 기본적으로 유전적 redundancy에 기인한다. 효모 (S. cerevisiae)의 연구에 의하면 239개의 유전자가 중복되어 있는데, 이 중 가장 많은 비율을 차지하는 것은 세포신호전달 (cell signal tranduction: Ser/Thr receptor tyrosine kinase나 G-protein kinase와 같은)로 대략 28% (59개)를 차지하였으며, 이어서 25%는 대사효소 (metabolic enzyme), 16%는 리보솜 단백질들, 막 이동단백질 (membrane transporters)이, 그리고 스트레스 반응 유전자들이 중복되어 있었다 [20-22]. Redundancy는 이외에도 그 종류에 따라 서로 시너지 작용을 할 수도 있으며, 시간적으로 공간적으로 그리고 상황에 따라 특이적으로 서로 다른 단백질이 작용을 보임으로써 생물의 생존에 유리한 기능을 하게 된다 [23].

뿐만 아니라 Redundancy는 두개 이상의 기능들이 존재하게 함으로써 신호와 표적반응에 대한 관계에서 오류를 최소화한다. 즉, 신호잡음 (signal noise)에 대한 보정을 가능하도록 함으로써 생물학적 반응을 좀더 세밀하게 조절할 수 있게 된다. 이는 곧 다변량적 (multivariate)인 신호들과 표적간의 연결 (linkage)이 느슨함을 의미하며, 세포내의 무작위적인 단백질들의 농도요동 (concentration fluctuation)과 함께, 생물학적 현상의 해석에 있어서 "통계적 (stochastic)인 관점의 이해" 라는 필요성을 제시한다 [23].

4. Evolution and diverse functions of NRs

연구들에 의하면 스테로이드 지질화합물과 스테로이드 수용체의 진화는 지구대기의 산소와 매우 밀접한 관계를 가진다 [24]. 지금부터 25억년전 이후로 산소농도가 점차 증가하면서 유기호흡을 하는 진핵생물체가 등장하게 된다. 유기호흡은 무기호흡에 비해 16배 이상의 에너지대사효율을

얻게 함으로써 [25] 7억 5천만년전 캄브리아기의 다양한 동물들의 진화 폭발을 가능하게 하였다 [26]. 컴퓨터 시뮬레이션 연구의 보고에 의하면 무산소 환경에 비해 유산소환경은 1000배 이상 빠른 대사작용을 가능한다 [27]. 이것은 스테로이드들 (steroids)과 이소플라보노이드들 (isoflavonoids)과 같은 거대분자의 출현을 가능하게 하였으며, 이어서 필연적으로 이들 분자들의 신호를 감지할 수 있는 생물학적 기구들이 요구되었다. 뿐만 아니라 진핵세포의 막구조와 기능을 위해 콜레스테롤은 결정적 구성분이고, 콜레스테롤의 생합성을 위해서는 산소가 절대적으로 필요하다 [28,29].

Bogan 등의 연구에 의하면 80여가지 핵수용체의 리간드들의 크기를 분석하였을 때 200~500 $Å^3$로 거의 일정한 범위내에 있었다 [30]. 무산소 대사물질과 비교해볼때, 산소대사물질이 유의하게 컸으며, 친유성의 특성을 보이는데 [30] 이는 리간드가 세포내의 핵수용체와 결합하기 위해 거쳐야 하는 지질세포막의 통과에 유리하다. 핵수용체의 두가지 주요한 리간드는 스테로이드들 (steroids)과 레티노이드들 (retinoids)인데 이 두가지 모두 터페노이드 (terpenoid) 대사생성물이어서 진화론적으로 고대 (ancestral)의 핵수용체의 리간드는 터페노이드 분자일 가능성이 높다 [31] (Fig. A5-3).

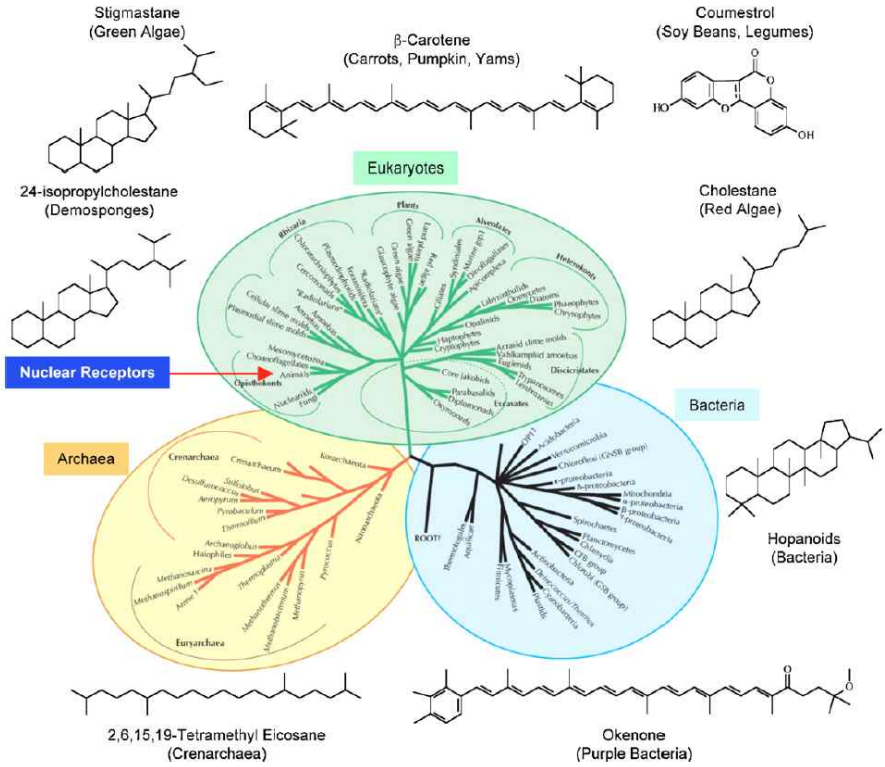


Figure A5-3. Tree of life and potential ligand precursors for nuclear receptors (NRs). The Tree of Life showing that the expression of NRs is limited to the animal kingdom while many potential NR ligand precursors are produced by organisms in all three domains of life-eukaryotes, archaea and bacteria [34]. Cited from Sladek FM (2011)

핵수용체의 리간드는 단백질이 아니며, 그 변화에 제한이 있다. 따라서 수용체보다는 스테로이드 리간드가 먼저 존재하였으며, 이들 스테로이드 리간드분자들에 대한 감지기구로서 초기의 스테로이드 수용체들이 진화하였을 수 있다. 연구들에 의하면 초기의 핵 수용체들은 리간드가 없는 전사인자, 고아수용체 (orphan receptor)였고, 리간드-결합 능력 (ligan-binding ability)은 세포들간에 강력한 조율작용이 필요해진 후생동물 (metazoan) 이후에 생겼을 것으로 추정된다 [35-37] (Fig. A5-4).

대표적인 근거중 하나로, ERs은 척추동물의 스테로이드 핵수용체의 원형으로 간주되는데 [15], 진화적으로 가장 단순한 동물인 털납작벌레 (trichoplax)는 ER이 없으며 대신 estrogen-related receptors (ERRs)를 가지고 있다. 비록 ERRs은 ER과 유사한 단백질 서열을 가지고 있지만, estrogen뿐만 아니라 다른 스테로이드 리간드들과도 결합하지 않는다 [38]. ERRs의 결정구조분석에 의하면 리간드 결합부위가 매우 작아서 스테로이드와 같은 거대분자와 결합할 수 없다 [39]. 즉, ERRα와 ERRɣ의 리간드결합부위가 각각 100과 220 Å인 반면 인체의 ERα는 369 Å로 큰 차이를 보인다. 그러나 ERRs은 activation function 2 (AF2) 부위를 가지고 있어서 co-activator들과 상호작용을 할 수 있다 [40].

GenBank의 BLAST의 결과에 의하면 ERRs에서 ERs로 진화가 이루어졌는데 [41], ERRs의 기능은 지금의 ER처럼 생식과정과는 관련이 없고, 대신 뼈의 형성이나 미토콘드리아와 관련되어 열생성이나 산화반응과 같은 대사작용이 중심이 된다 [42]. 인체의 경우에도, ER은 식물성 여성호르몬들 (phytoestrogens)에 반응하며 [43], 널리 알려진 생식과정뿐만 아니라, 미네랄, 탄수화물, 아미노산, 지질 등의 대사작용에 널리 영향을 미친다 [44-48].

특히, ERRs에서 진화한 조상 핵수용체인 ER은 신경계의 발달과 관련이 있다. 예를 들어 척색동물인 창고기 (amphioxus)에서 척추동물인 칠성장어 (lamprey)로의 진화에서 중요한 변화 중 하나는 앞쪽끝에 두드러지게 커진 머리 (중추신경계)가 발달하는 것인데 [49-52] 이 과정에는

ER의 작용과 관련이 있다 [16]. 또다른 예로 척추동물에서 estradiol (E2) 은 testosterone을 방향화효소 (aromatase) 복합체에 의해 변환하여 생성하는데, 이 효소는 주로 성선 (gonads)과 뇌에 존재한다 [53,54]. 그리고 인간을 포함한 영장류와 소나 말 같은 유제류는 태반에서 여성호르몬들을 생성한다 [55].

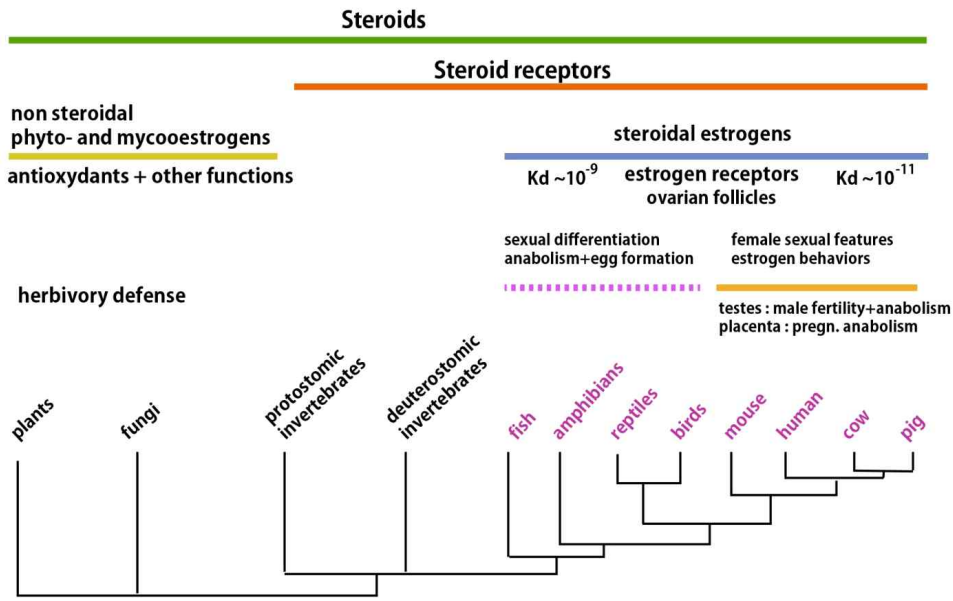


Figure A5-4. Evolution of ligands and nuclear receptors [56]. Cited from Lange IG (2002)

References

1. Li H, Chen D, Zhang J: Statistical analysis of combinatorial transcriptional regulatory motifs in human intron-containing promoter sequences. Comput Biol Chem 2013, 43:35-45.
2. Gomperts BD, Kramer IM, Tatham PER: Signal transduction. 2nd edn. MA. USA: Elsevier; 2009.
3. Copper GM: The Cell: A molecular approach. Seoul: Hanwoori; 2002.
4. Kininis M, Kraus WL: A global view of transcriptional regulation by nuclear receptors: gene expression, factor localization, and DNA sequence analysis. Nuclear Receptor Signaling 2008, 6:e005.
5. Ruhl DD, Kraus WL: Chapter 5 Biochemical analyses of nuclear receptor dependent transcription with chromatin templates. In progress in molecular biology and translational science. Volume 87. Edited by Debabrata C: Academic Press; 2009: 137-192
6. Robinson-Rechavi M, Carpentier AS, Duffraisse M, Laudet V: How many nuclear hormone receptors are there in the human genome? Trends Genet 2001, 17:554-556.
7. Bocquel MT, Kumar V, Stricker C, Chambon P, Gronemeyer H: The contribution of the N- and C-terminal regions of steroid receptors to activation of transcription is both receptor and cell-specific. Nucleic Acids Res 1989, 17:2581-2595.
8. Gronemeyer H, Laudet V: Transcription factors 3: nuclear receptors. Protein Profile 1995, 2:1173-1308.
9. Schwabe JW, Chapman L, Finch JT, Rhodes D, Neuhaus D: DNA recognition by the oestrogen receptor: from solution to the crystal. Structure 1993, 1:187-204.

10. Guiochon-Mantel A, Delabre K, Lescop P, Milgrom E: Nuclear localization signals also mediate the outward movement of proteins from the nucleus. Proc Natl Acad Sci U S A 1994, 91:7179-7183.
11. Tsai MJ, O'Malley BW: Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. Annu Rev Biochem 1994, 63:451-486.
12. Gronemeyer H, Gustafsson JA, Laudet V: Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. Nat Rev Drug Discov 2004, 3:950-964.
13. Helsen C, Kerkhofs S, Clinckemalie L, Spans L, Laurent M, Boonen S, Vanderschueren D, Claessens F: Structural basis for nuclear hormone receptor DNA binding. Mol Cell Endocrinol 2012, 348:411-417.
14. Keay J, Bridgham JT, Thornton JW: The Octopus vulgaris estrogen receptor is a constitutive transcriptional activator: evolutionary and functional implications. Endocrinology 2006, 147:3861-3869.
15. Keay J, Thornton JW: Hormone-activated estrogen receptors in annelid invertebrates: implications for evolution and endocrine disruption. Endocrinology 2009, 150:1731-1738.
16. Baker ME: Steroid receptor phylogeny and vertebrate origins. Mol Cell Endocrinol 1997, 135:101-107.
17. Bridgham JT, Carroll SM, Thornton JW: Evolution of hormone-receptor complexity by molecular exploitation. Science 2006, 312:97-101.
18. Nowak MA, Boerlijst MC, Cooke J, Smith JM: Evolution of genetic redundancy. Nature 1997, 388:167-171.
19. Haldar M, Karan G, Tvrdik P, Capecchi MR: Two cell

lineages, myf5 and myf5-independent, participate in mouse skeletal myogenesis. Dev Cell 2008, 14:437-445.

20. DeLuna A, Vetsigian K, Shoresh N, Hegreness M, Colon-Gonzalez M, Chao S, Kishony R: Exposing the fitness contribution of duplicated genes. Nat Genet 2008, 40:676-681.

21. Kafri R, Dahan O, Levy J, Pilpel Y: Preferential protection of protein interaction network hubs in yeast: evolved functionality of genetic redundancy. Proc Natl Acad Sci U S A 2008, 105:1243-1248.

22. Musso G, Costanzo M, Huangfu M, Smith AM, Paw J, San Luis BJ, Boone C, Giaever G, Nislow C, Emili A, Zhang Z: The extensive and condition-dependent nature of epistasis among whole-genome duplicates in yeast. Genome Res 2008, 18:1092-1099.

23. Kafri R, Springer M, Pilpel Y: Genetic redundancy: new tricks for old genes. Cell 2009, 136:389-392.

24. Berner RA, Vandenbrooks JM, Ward PD: Evolution. oxygen and evolution. Science 2007, 316:557-558.

25. Catling DC, Glein CR, Zahnle KJ, McKay CP: Why O2 is required by complex life on habitable planets and the concept of planetary "oxygenation time". Astrobiology 2005, 5:415-438.

26. Falkowski PG, Isozaki Y: Geology. The story of O_2. Science 2008, 322:540-542.

27. Raymond J, Segre D: The effect of oxygen on biochemical networks and the evolution of complex life. Science 2006, 311:1764-1767.

28. Summons RE, Bradley AS, Jahnke LL, Waldbauer JR: Steroids, triterpenoids and molecular oxygen. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2006, 361:951-968.

29. Chen LL, Wang GZ, Zhang HY: Sterol biosynthesis and prokaryotes-to-eukaryotes evolution. Biochem Biophys Res Commun 2007, 363:885-888.
30. Bogan AA, Cohen FE, Scanlan TS: Natural ligands of nuclear receptors have conserved volumes. Nat Struct Biol 1998, 5:679-681.
31. Moore DD: Diversity and unity in the nuclear hormone receptors: a terpenoid receptor superfamily. New Biol 1990, 2:100-105.
32. Brocks JJ, Banfield J: Unravelling ancient microbial history with community proteogenomics and lipid geochemistry. Nat Rev Microbiol 2009, 7:601-609.
33. Baldauf SL, Bhattacharya D, Cockrill J, Hugenholtz P, Pawlowski J, Simpson: The Tree of Life: A Overview. Assembling the tree of life. Oxford University Press; 2004.
34. Sladek FM: What are nuclear receptor ligands? Mol Cell Endocrinol 2011, 334:3-13.
35. Thornton JW, Need E, Crews D: Resurrecting the ancestral steroid receptor: ancient origin of estrogen signaling. Science 2003, 301:1714-1717.
36. Baker ME: Evolution of adrenal and sex steroid action in vertebrates: a ligand-based mechanism for complexity. Bioessays 2003, 25:396-400.
37. Escriva H, Safi R, Hanni C, Langlois MC, Saumitou-Laprade P, Stehelin D, Capron A, Pierce R, Laudet V: Ligand binding was acquired during evolution of nuclear receptors. Proc Natl Acad Sci U S A 1997, 94:6803-6808.
38. Giguere V: To ERR in the estrogen pathway. Trends Endocrinol Metab 2002, 13:220-225.

39. Greschik H, Wurtz JM, Sanglier S, Bourguet W, van Dorsselaer A, Moras D, Renaud JP: Structural and functional evidence for ligand-independent transcriptional activation by the estrogen-related receptor 3. Mol Cell 2002, 9:303-313.
40. Lonard DM, O'Malley BW: Expanding functional diversity of the coactivators. Trends Biochem Sci 2005, 30:126-132.
41. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ: Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res 1997, 25:3389-3402.
42. Villena JA, Hock MB, Chang WY, Barcas JE, Giguere V, Kralli A: Orphan nuclear receptor estrogen-related receptor alpha is essential for adaptive thermogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 2007, 104:1418-1423.
43. Kim SH, Park MJ: Effects of phytoestrogen on sexual development. Korean J Pediatr 2012, 55:265-271.
44. Naves-Diaz M, Carrillo-Lopez N, Rodriguez-Rodriguez A, Braga S, Fernandez-Coto T, Lopez-Novoa JM, Lopez-Hernandez F, Cannata-Andia JB: Differential effects of 17beta-estradiol and raloxifene on bone and lipid metabolism in rats with chronic kidney disease and estrogen insufficiency. Menopause 2010, 17:766-771.
45. Demir B, Ozturkoglu E, Solaroglu A, Baskan B, Kandemir O, Karabulut E, Haberal A: The effects of estrogen therapy and estrogen combined with different androgenic progestins on carbohydrate and lipid metabolism in overweight-obese younger postmenopausal women. Gynecol Endocrinol 2008, 24:347-353.
46. Masse PG, Dosy J, Jougleux JL, Caissie M, Howell DS: Bone

mineral density and metabolism at an early stage of menopause when estrogen and calcium supplement are not used and without the interference of major confounding variables. J Am Coll Nutr 2005, 24:354-360.

47. Sugawa T, Moriyama I: Observations on amino acid and protein metabolism with reference to the hormonal control in pregnancy. I. Effect of progesterone and estrogen on the turnover of tissue protein. J Jpn Obstet Gynecol Soc 1966, 13:116-122.

48. D'Eon TM, Sharoff C, Chipkin SR, Grow D, Ruby BC, Braun B: Regulation of exercise carbohydrate metabolism by estrogen and progesterone in women. Am J Physiol Endocrinol Metab 2002, 283:E1046-1055.

49. Finnerty JR: Evolutionary developmental biology. Head start. Nature 2000, 408:778-779, 781.

50. Schubert M, Escriva H, Xavier-Neto J, Laudet V: Amphioxus and tunicates as evolutionary model systems. Trends Ecol Evol 2006, 21:269-277.

51. Bronner-Fraser M: On the trail of the 'new head' in Les Treilles. Development 2008, 135:2995-2999.

52. Garcia-Fernandez J, Benito-Gutierrez E: It's a long way from amphioxus: descendants of the earliest chordate. Bioessays 2009, 31:665-675.

53. Iwabuchi J, Koshimizu K, Nakagawa T: Expression profile of the aromatase enzyme in the Xenopus brain and localization of estradiol and estrogen receptors in each tissue. Gen Comp Endocrinol 2013.

54. Xu S, Linher-Melville K, Yang BB, Wu D, Li J: Micro-RNA378 (miR-378) regulates ovarian estradiol

production by targeting aromatase. Endocrinology 2011, 152:3941-3951.

55. Simpson ER, Michael MD, Agarwal VR, Hinshelwood MM, Bulun SE, Zhao Y: Cytochromes P450 11: expression of the CYP19 (aromatase) gene: an unusual case of alternative promoter usage. FASEB J 1997, 11:29-36.

56. Lange IG, Hartel A, Meyer HH: Evolution of oestrogen functions in vertebrates. J Steroid Biochem Mol Biol 2002, 83:219-226.

57. Amoutzias GD, Robertson DL, Van de Peer Y, Oliver SG: Choose your partners: dimerization in eukaryotic transcription factors. Trends in biochemical sciences 2008, 33:220-229.

Appendix 6. Hypothalamus-pituitary-target hormone organ

1 Hypothalamus

시상하부-뇌하수체 (hypothalamic-pituitary: HP) 시스템단위는 신경-내분비계의 변환기 (transducer)로서 뇌 (brain)와 말초의 호르몬-분비 표적기관들 (hormone-secreting target glands) 사이의 신호전달을 매개한다 (Fig. A6-1). HP 시스템은 양성 또는 음성되먹임 회로를 통하여 정교하게 통합, 조절된 뇌의 신호를 신체 전체에 보내게 되며 이것은 생명체의 기본적인 기능유지에 핵심적 요소가 된다. 해부학적으로 시상하부는 시상의 아래 그리고 제 3뇌실의 아래쪽 바닥에 위치한 전체 뇌 부피의 1% 미만을 차지하는, 4 그램 정도의 작은 구조물이다 [1].

시상하부는 해부학적으로는 간뇌 (diencephalon)에 포함되며 기능적으로는 변연계 (limbic system)로 간주된다 시상하부는 등쪽 선조체 (ventral striatum), 뇌간 (brainstem) 그리고 척수 (spinal cord)를 통하여 신체(somatic) 와 내장 (visceral)의 구심성신호 (afferent signal)를 받는다. 뿐만 아니라 시상하부는 시상 (thalamus), 대뇌피질 (cortex: orbitofrontal and cingulate cortex), 그리고 변연계 (limbic system: hippocampus and amygdala)와 신경들을 통하여 직접 상호 연결됨으로써 신체의 외부와 내부환경에 대해 반응하고 신체 내부의 항상성을 유지하도록 한다 [2]. 시상하부는 변연계와 결합된 기저핵 (basal ganglia)과도 간접적으로 상호작용함으로써 감정과 심리에도 영향을 주고 받을 수 있다.

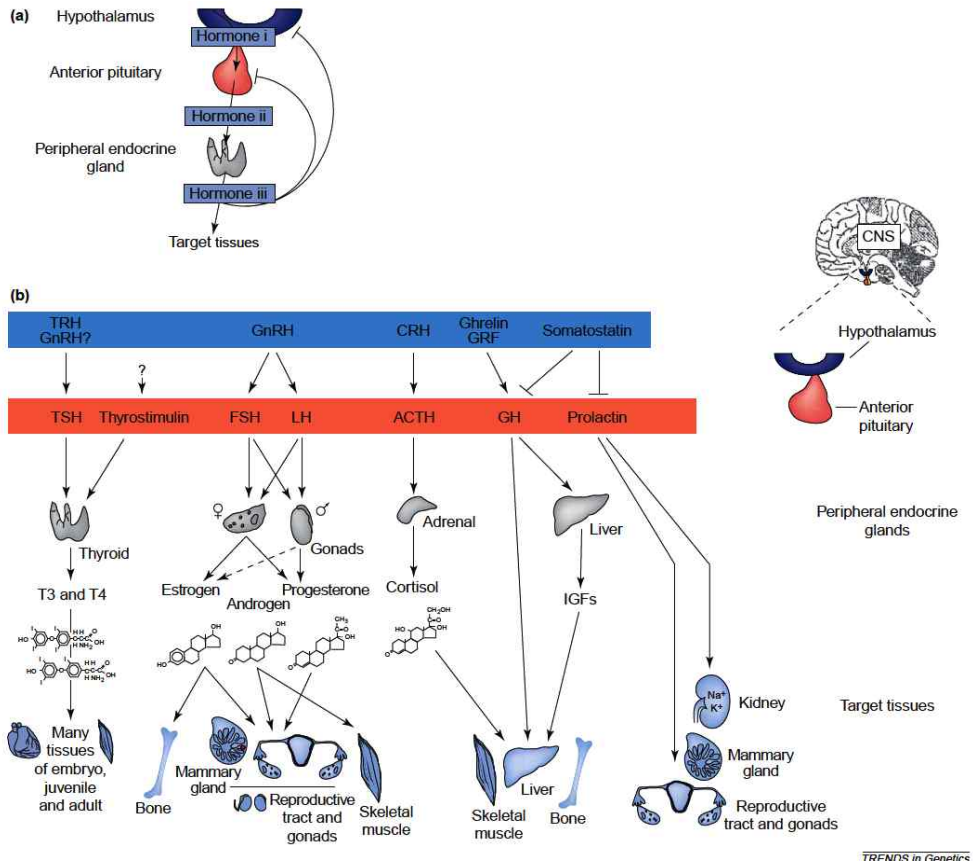


Figure A6-1. (a) Hypothalamic-pituitary-peripheral gland (H-P-PG) system. The vertebrate H-P-PG system generally shows three levels of ligand-receptor systems. Ligands that are produced by the hypothalamus (i) in the central nervous system (CNS) regulate the release of hormones from the nearby pituitary gland (ii). Pituitary hormones regulate the production of other hormones by peripheral endocrine glands (iii). Hormones from the peripheral endocrine glands can in turn influence functions of the hypothalamus and pituitary, forming positive or negative (shown in the figure) feedback loops. (b) Examples of vertebrate H-P-PG system connection to target tissues.

The H-P-PG system coordinates physiological functions of diverse tissues in response to internal and external environments. Abbreviations: ACTH, adrenocorticotropic hormone; CRH, corticotropin releasing hormone; FSH, follitropin; GH, growth hormone; GRF, growth hormone-releasing factor; GnRH, gonadotropin releasing hormone; IGF, insulin-like growth factor; LH, lutropin; TRH, thyrotropin-releasing hormone; TSH, thyrotropin; T3, triiodothyronine; T4, tetraiodothyronine (thyroxine) [2]. Cited from Robert K. et al. (2004)

2 Pituitary

시상하부는 신경계와 긴밀히 연결되어있을 뿐만 아니라, 뇌하수체선 (pituitary gland)과 연결됨으로써 오케스트라의 지휘자와 같이 내분비계를 전체적으로 조절한다. 성인 뇌하수체의 무게는 대략 0.6 그램이고, 그 크기는 가로 13 mm, 세포 6~9 mm 그리고 폭 9 mm 정도이다. 뇌하수체는 시상하부의 아래에 연결되어 나비뼈의 상단의 오목한 부분인 뇌하수체오목 (hypophyseal fossa)에 위치하고 있다 [1].

성인의 뇌하수체는 세개의 엽들 (lobes)로 구성된다. 전엽 (anterior)과 중엽 (intermediate lobd)은 외배엽 (ectoderm)이라는 공통의 기원을 가지며, 후엽 (posterior lobe)은 복부 간뇌 (ventral diencephalon)나 시상하부의 확장에 의해 생성된다 [1]. 시상하부는 뇌하수체 선 (pituitary gland or hypophysis)의 기능을 두가지 경로를 통하여 조절한다. 첫번째는 시상하부뉴런의 축색돌기들 (axonal projections)이 시상하부 후엽 (posterior lobe: neurohypophysis)에 직접 연결되어 전기적 신호를 보냄으로써 바소프레신 (vasopressin: AVP)과 옥시토신 (oxytocin: OT)을 생성한다.

두번째는 뇌하수체줄기 (pituitary stalk)라는 특화된 문맥 (혈관

계)을 통하여 호르몬들을 전달함으로써 뇌하수체 전엽 (anterior lobe: adenohypophysis)의 세포들에게 화학적 신호를 보내는 것이다.

뇌하수체 중엽은 melanotroph cells만을 포함한 비교적 균질한 조직으로 멜라닌세포자극호르몬 (melanotropin: MSH)을 생성한다.

3 Three tiers of hormone axis

시상하부는 다섯가지 방출호르몬, 즉 부신피질자극호르몬방출호르몬 (corticotropin releasing hormone: CRH), 성선자극호르몬방출호르몬 (gonadotrophin-releasing hormone: GnRH), 젖분비방출호르몬 (prolactinreleasinghormone: PRH), 성장호르몬방출호르몬 (growth hormonereleasing hormone: GHRH), 그리고 갑상선자극호르몬방출호르몬 (thyrotropin-releasing hormone: TRH)을 생산하여 문맥계로 방출함으로써 뇌하수체 전엽내의 서로 종류가 다른 다섯가지의 호르몬생성 세포들을 자극하게 된다 [2] (Fig. A6-1).

즉, CRH는 뇌하수체의 corticotropes를 자극하여 부신피질자극호르몬 (adrenocorticotropin: ACTH)을, GnRH는 gonadotropes을 자극하여 황체형성호르몬 (goandotropins luteinizing hormone: LH)과 난포자극호르몬 (follicle-stimulatinghormone: FSH)을, GHRH는 somatotropes를 자극하여 성장호르몬(growth hormone: GH)을, PRH는 lactotropes를 자극하여 젖분비호르몬 (prolactin: PRL)을, 그리고 TSH는 thyrotropes를 자극하여 갑상선자극호르몬(thyroid-stimulating hormone: TSH)을 생성하도록 한다 [1] (Fig. A6-1).

뇌하수체에서 생성된 펩티드호르몬들은 순환계로 방출됨으로써 먼거리에 있는 표적호르몬기관들에 도달하고, 말초호르몬들을 방출하도록 자극한다. 즉, 시상하부-뇌하수체-말초의 호르몬기관은 3단계의 조절단계를 가지며, 각 단계마다 음성되먹임으로 조절된다. 그러나 주된 음성되먹임조절작용은 대부분 표적 선 (gland) 호르몬들에 의해 이루어진다. 이들 3단계 피드백 호르몬축은 Hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA),

Hypothalamus-pituitary-gonad (HPG), Hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT) 그리고 Hypothalamus-pituitary-somatotropes (HPS) axis 등으로 불린다 [3-6] (Fig. A6-1). 각 호르몬축은 3단계의 연속 신호를 가지며, 매 단계마다 그 신호는 대략 1000배씩 증폭되어 각 호르몬축의 마지막 단계를 지나면 결국 100만배 증폭된 호르몬신호가 된다. 예를 들어 본 연구에서 HPA축의 호르몬인 CRH, ACTH 그리고 글루코코르티코이드는 위약군의 경우, 그 농도가 각각 0.2 ng/ml, 20.4 pg/ml 그리고 11.2 ug/dl로 나타난다. 이어서, 말단의 표적호르몬기관에서 방출되는 글루코코르티코이드와 에스트로겐은 스테로이드 호르몬들로서 핵수용체들의 리간드들로 작용함으로써 신체세포들의 다양한 유전자들을 조절함으로써 그 신호는 더욱 증폭 된다

4 Negative feedback and nuclear receptors

시상하부-뇌하수체는 호르몬뿐만 아니라 성장인자들 (growth factors), 사이토카인들 (cytokines), 온도, 영양소들 (nutrients), 신경펩티드들 (neuropeptides) 그리고 신경전달물질들 (neurotransmitters)에 대한 수용체를 가지고 있어서 이들 다양한 인자들의 신호들을 종합하여, 균형을 조절함으로써, 신체 내부의 체액균형 [7], 체온조절 [8], 성과 생식 [9], 수면주기 [10], 음식섭취 [11] 그리고 체중조절 [11]등 전반적인 생리와 대사과정들을 조절하게 된다. 따라서 뇌하수체 호르몬의 방출은 세가지 단계에서 조절된다. 첫번째는 시상하부의 방출과 억제호르몬들에 의해서, 두번째는 주변 (paracrine)과 자가 (autocrine)의 내부 뇌하수체 호르몬 (intrapituitary hormone), 사이토카인들, 영양소들 그리고 성장인자들에 의해서, 세번째는 표적호르몬기관들에 의해 방출된 호르몬들에 의한 음성되먹임작용에 의해서 조절된다 (Fig. A6-1).

핵수용체들과 관련된 이들 호르몬축의 구성요소들은 상호작용을 통해 인체의 발달, 성장, 대사, 삼투압균형, 생식과 면역 등 신체전반의 기능을 조절하고 항상성을 유지시킨다. 반면 정상범위를 벗어난 지나친

과잉이나 결핍상태는 대사증후군을 포함한 다양한 질병의 현상으로 나타날 수 있다. 따라서 내분비계의 안정화는 곧 다양한 질병의 치료를 위한 중요한 표적 중 하나가 된다. 특히 HPA축과 HPG축의 호르몬들의 안정화가 중요한데 그 이유는 E2와 코티졸이 다른 호르몬축의 분비과정에 영향을 주며, 다양한 인체대사와 생리에 영향을 주기 때문이다. 예를 들어 GR은 인체내의 거의 모든 세포에서 발현되는데, 그 수는 조직에 따라 세포당 2천개에서 3만개까지 된다 [12].

References

1. Ben-Shlomo A, Melmed S: Hypothalamic regulation of anterior pituitary function. In The Pituitary. 3th edition. Edited by Melmed S. MA,USA: Elsevier; 2011: 22
2. Campbell RK, Satoh N, Degnan BM: Piecing together evolution of the vertebrate endocrine system. Trends Genet 2004, 20:359-366.
3. Kalsbeek A, van der Spek R, Lei J, Endert E, Buijs RM, Fliers E: Circadian rhythms in the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. Mol Cell Endocrinol 2012, 349:20-29.
4. Peper JS, Brouwer RM, van Leeuwen M, Schnack HG, Boomsma DI, Kahn RS, Hulshoff Pol HE: HPG-axis hormones during puberty: a study on the association with hypothalamic and pituitary volumes. Psychoneuroendocrinology 2010, 35:133-140.
5. Zoeller RT, Tan SW, Tyl RW: General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. Crit Rev Toxicol 2007, 37:11-53.
6. Niedernhofer LJ, Garinis GA, Raams A, Lalai AS, Robinson AR, Appeldoorn E, Odijk H, Oostendorp R, Ahmad A, van Leeuwen W, et al: A new progeroid syndrome reveals that genotoxic stress suppresses the somatotroph axis. Nature 2006, 444:1038-1043.
7. Sigler MH, Rubini ME: Factors influencing water excretion in anterior pituitary insufficiency. Effects of alterations in solute excretion and body fluid volumes. J Lab Clin Med 1962, 59:833-846.
8. Mazzoccoli G, Giuliani A, Carughi S, De Cata A, Puzzolante

F, La Viola M, Urbano N, Perfetto F, Tarquini R: The hypothalamic-pituitary-thyroid axis and melatonin in humans: possible interactions in the control of body temperature. Neuro Endocrinol Lett 2004, 25:368-372.

9. Logrip ML, Rivier C, Lau C, Im S, Vaughan J, Lee S: Adolescent alcohol exposure alters the rat adult hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness in a sex-specific manner. Neuroscience 2013, 235:174-186.

10. Jauch-Chara K, Schmid SM, Hallschmid M, Oltmanns KM, Schultes B: Pituitary-gonadal and pituitary-thyroid axis hormone concentrations before and during a hypoglycemic clamp after sleep deprivation in healthy men. PLoS One 2013, 8:e54209.

11. Lawson EA, Holsen LM, Desanti R, Santin M, Meenaghan E, Herzog DB, Goldstein JM, Klibanski A: Increased hypothalamic-pituitary-adrenal drive is associated with decreased appetite and hypoactivation of food-motivation neurocircuitry in anorexia nervosa. Eur J Endocrinol 2013, 169:639-647.

12. Adcock IM, Ito K: Molecular mechanisms of corticosteroid actions. Monaldi Arch Chest Dis 2000, 55:256-266.

Abstract

In many studies of modern science, ginseng and red ginseng have been shown to be beneficial in treating many kinds of ailments, including diabetes, hypertension, obesity, kidney disease, dyslipidemia, cancer, immunity and emotional functions, such as depression and anxiety. One of the major pharmacological components of Korean ginseng is that there are 40 ginsenosides that have a steroidal structure and act as the ligands of nuclear receptors.

In this study, postmenopausal women aged 50~73 years were recruited from several Catholic churches (Seoul, Korea). Participants with hypertension or diabetes and those taking prescription or other drugs or dietary supplements were excluded. With double blind random trial, one group (the FRG group) took FRG capsules three times a day, (2.1 g/day) for 2 weeks. The other group took a placebo containing starch. The blood sample of participants were taken, and then analyzed. 24 hrs urine of the day before also analyzed. Before the blood collection, participants filled the depression item of Beck depression inventory (BDI) and assessed the anthropometric variables. The unmeasured samples of variables were considered as random missing values and then were analyzed using the multiple imputation method and multiple group path analysis and multiple group structural equation modeling by Mplus 6.11 (Muthe´n & Muthe´n, Los Angeles, CA, USA).

In the blood glucose model, the path coefficient of aldosterone Aldosteron on blood glucose was significantly lower in FRG group

than placebo group (P=.005). And the path coefficient of growth hormone (GH) on blood glucose was significantly higher in FRG group than placebo group (P=.009). The final model's goodness of fit was good.

In free fatty acid model, the path of cortisol on FFA and the path of the brachial pulse rate on FFA both showed a significant difference between the two groups. The final model's goodness of fit was good. The path coefficients of E2 on FFA were highest at 0.663 in the FRG group and 0.651 in the placebo group.

In the BDI model, The structural regression estimate for the path of the energy factor on CD was significantly higher in the FRG group (0.259) than in the placebo group (-0.201).

Among the several variables in these three models, the consumption of fermented red ginseng in post-menopausal women indicated the existence of an effect on the causal relationship between hormones and metabolic markers, blood glucose, free fatty acid, and the depression marker of BDI.