

원 저

테스토스테론의 대사물인 androsterone의 경련억제에 대한 영향

연세대학교 의과대학 신경과학교실

김원주 이수연 조경주 이병인

The Effect of Androsterone as the Metabolite of Testosterone to Seizure Suppression

Won-Joo Kim, MD, Soo-Yeon Lee, Kyung Joo Cho, Byung-In Lee, MD

Department of Neurology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

Background: Androsterone is one of the major metabolites from testosterone whose clinical importance remains unclear. This study evaluated the effects of androsterone on seizure susceptibility in mouse models of epilepsy.

Methods: The efficacy of androsterone (10~200 mg/kg, i.p.) against seizures induced by various GABA receptor antagonists and glutamate receptor agonists was evaluated.

Results: Androsterone protected mice against seizures induced by PTZ (pentylenetetrazol), PCX (picrotoxin), and DMCM (methyl-6,7-dimethoxy-4-ethyl- β -carboline-3-carboxylate) in a dose-dependent manner. Androsterone did not protect against seizures induced by kainic acid, NMDA (N-methyl-D-aspartic acid), or 4-AP (4-aminopyridine) in mice.

Conclusions: These results suggest that androsterone exhibits anticonvulsant activity that occurs largely via nongenomic mechanisms. Testosterone-derived androsterone might be an endogenous protective neuroactive steroid in the brain.

J Korean Neurol Assoc 27(2):142-146, 2009

Key Words: Androsterone, GABA, Seizure, Neuroactive steroid

서 론

성호르몬이 경련에 끼치는 영향은 월경간질(catamenial epilepsy)과 여성호르몬인 에스트로겐을 통하여 널리 알려져 있다. 에스트로겐 중에서도 estradiol이 가장 강력한 발작 유발 효과를 가지고 있어, 동물 간질모델에서 에스트로겐을 증가시키면 경련이 더욱 심하게 발생하는 현상을 보이고, 여성 간질 환자에게 결합(conjugated)에스트로겐을 정맥주사하면 간질모양 뇌파가 증가한다.^{1,2} 에스트로겐 형성 과정의 전구물질 중 하나인 progesterone은 반대로 경련을 억제하는 효과를 가지고 있다.³⁻⁵ 여성 간질 환자에서는 상반된 효과를 가지고 있는 호르몬

들이 월경주기에 따라 혈중 농도가 변화고, 주기적으로 일정한 기간에 경련이 호발하는 특징이 있으며, 일정 기간 호르몬을 투여하는 것을 치료의 방법으로 응용하기도 한다.^{6,7}

그러나 아직 남성 호르몬인 테스토스테론의 경련에 대한 효과는 불확실하다. 동물연구에서는 테스토스테론이 급성 경련을 억제하는 효과가 있다고 보고한 연구도 있으나,⁸ 다른 연구에서는 epileptogenesis를 강화시켜 도리어 경련이 증가한다고 보고하고 있다.⁹ 또한 테스토스테론 자체는 급성 경련에는 큰 영향이 없고, 테스토스테론의 대사물질이 경련에 영향을 준다고 보는 연구도 있다.¹⁰ 이렇게 남성 간질 환자에서 남성호르몬의 혈중농도 변화나 대사물질들이 경련의 발생에 어떠한 영향을 끼치는지에 대한 연구는 아직 없다. 이에 본 연구에서는 테스토스테론의 주요 대사 물질인 androsterone이 급성 경련에 끼치는 영향과 기전에 대하여 실험하였다.

Received November 20, 2008 Revised January 19, 2009

Accepted January 21, 2009

* Byung-In Lee, MD

Department of Neurology College of Medicine Yonsei University,

134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul, 120-752, Korea

Tel: +82-2-2228-1600 Fax: +82-2-393-0705

E-mail: bilee@yuhs.ac

대상과 방법

본 실험에서는 화학적 경련유발 모델을 사용하였다. 25~30 g의 성인 웅성 ICR 마우스를 대상으로 하여 동물관리실에서 12시간 낮과 12시간 밤의 주기를 주며 사육하였다. 마우스는 연세대학교 동물윤리위원회의 권장사항을 준수하여 모든 실험 과정을 진행하였다.

마우스는 각 군으로 나누어 androsterone의 항경련효과를 측정하였다. Androsterone은 지용성 물질이기 때문에 20%의 β -cyclodextrin용액에 용해하여 복강 내로 투여하였다. β -cyclodextrin용액은 지용성 물질을 용해하는 작용을 하며, β -cyclodextrin은 농도를 45%로 높여 사용하여도 경련에 미치는 영향은 전혀 없었다. 경련을 유발하는 물질로는 처음 실험에서는 GABA_A 수용체의 대항제 종류인 penyltetrazol (PTZ), picrotoxin (PCX)과 methyl-6,7-dimethoxy-4-ethyl- β -carboline-3-carboxylate (DMCM)을 사용하였다. 이들은 모두 androsterone을 마우스에 먼저 투여하고, 15분 경과 후에 각 군별로 PTZ는 85 mg/kg, PCX는 3.2 mg/kg, DMCM은 7.5 mg/kg 용량으로 각각 마우스의 피하에 투여하고 나서 30분간 관찰하였다. 이 기간 동안 마우스가 쓰러지며 3초 이상 간대성발작이 생기지 않는 개체 수를 관찰하였다.

같은 방법으로 화학적 경련을 유발시키는 다른 물질들로 glutamate 수용체의 작용제인 kainic acid (KA) 32 mg/kg, N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 257 mg/kg와 potassium receptor 작용제인 4-aminopyridine (4-AP)을 13 mg/kg로 각각 마우스 피하에 투여하고 나서 1시간 동안 경련발작의 발생 여부를 관찰하였다. 경련발작의 포함 조건은 마우스가 쓰러지며 간대성발작을 3초 이상 지속하는 것으로 정의하였다.

이러한 실험은 Androsterone의 용량과 효과의 관계를 평가하기 위하여 네 가지 이상의 다른 농도를 사용하여 경련을 50% 억제하는 ED₅₀ 농도를 구하였다. 실험에서 androsterone은 10 mg/kg부터 시작하여 마우스에서 나타나는 항경련효과를 관찰

하면서 투여 농도를 증가하였다. Androsterone의 최대 투여 농도는 200 mg/kg까지만 사용하였는데, 그 이유는 200 mg/kg 이상의 농도에서는 β -cyclodextrin용액에 완전히 용해되지 않기 때문이다. 각 농도군마다 최소한 6마리 이상의 마우스를 사용하였으며, 통계처리는 ED₅₀를 구하기 위하여 Litchfield와 Wilcoxon의 log-probit 분석 방법을 사용하였다.

결 과

1. Androsterone의 GABA_A 수용체 대항제에 대한 항경련효과

Androsterone을 각각 다른 농도로 만들어(10~200 mg/kg) 마우스에게 투여하였을 때에 PTZ의 농도에 비례하여 항경련 효과가 상승하였다(Fig. 1). 이 밖에 다른 GABA_A 수용체 대항제인 PCX와 DMCM으로 발작을 유발한 마우스에서 androsterone의 농도에 비례하여 경련을 억제하는 효과가 있었다. 농도-반응 곡선에 의한 ED₅₀는 PTZ가 50 mg/kg (95% CI, 39-71 mg/kg), PCX는 146 mg/kg (95% CI, 122-178 mg/kg), DMCM이 123 mg/kg (95% CI, 86-184 mg/kg)이었다(Table 1).

2. Androsterone의 glutamate와 potassium 수용체 작용제에 대한 항경련효과

Androsterone을 위와 같은 방법으로 마우스에게 투여하였다. KA, NMDA, 4-AP로 발작을 유발한 마우스 모델 모든 군에서 androsterone을 최고 농도인 200 mg/kg까지 투여하였지만 KA와 NMDA군에서는 항경련효과가 전혀 나타나지 않았고 4-AP군에서만 최고 농도인 200 mg/kg를 투여하여도 ED₅₀를 구하지 못할 정도로 미약한 항경련효과가 있었다(Table 1).

고 찰

이 결과에서 테스토스테론의 대사물질인 androsterone은 항경련효과를 가지고 있으며, 기전은 GABA_A 대항제에 의해서 유발된 발작에만 효과가 있고 glutamate와 potassium 수용체 작용제에 의해 유발된 발작에는 효과가 적은 것으로 보아 GABA_A 수용체에만 작용한다고 하겠다.

성 호르몬은 콜레스테롤에서 생성되고 지용성이며 콜레스테롤과 유사한 구조를 가지고 있다.¹¹ 콜레스테롤에서 pregnenolone이 만들어진 후에 여러 대사과정을 거쳐 에스트로젠과 테스토스테론 등의 성호르몬이 체내에서 합성된다. 이러한

Table 1. Anticonvulsant ED₅₀ values of androsterone in mice

Chemoconvulsant	ED ₅₀ (mg/kg)
Pentylenetetrazole	50 (39-71)
Picrotoxin	146 (122-178)
DMCM	123 (86-184)
Kainic acid	> 200 (ND)
NMDA	> 200 (ND)
4-Aminopyridine	> 200 (ND)

Numbers in parentheses are 95% confidence intervals. ND; not determined, DMCM; methyl-6,7-dimethoxy-4-ethyl- β -carboline-3-carboxylate, NMDA; N-methyl-D-aspartic acid

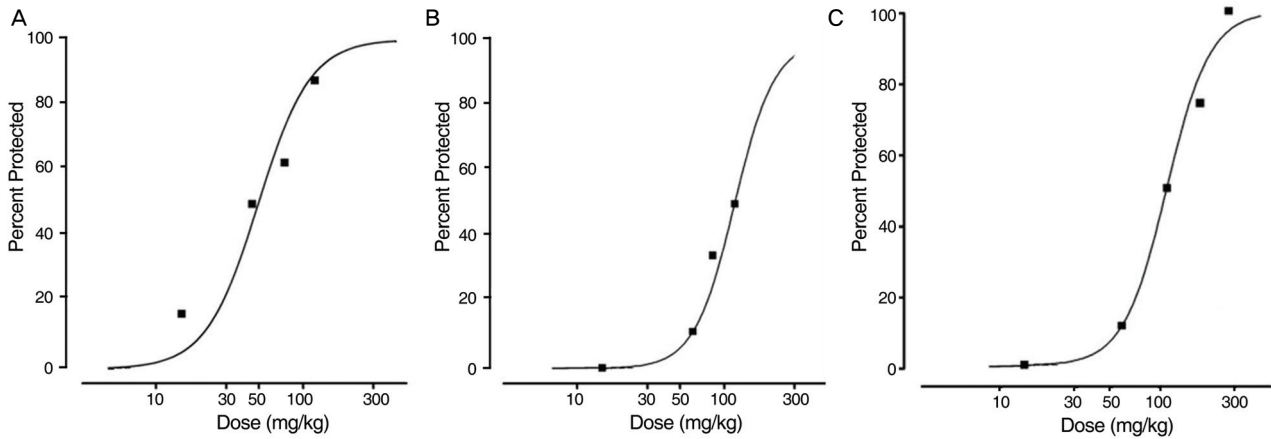


Figure 1. Dose response relations for protective activity of androsterone in the pentylenetetrazol (PTZ) model (A), the DMCM model (B) and picrotoxin model (C). Data points indicate percentage of animals protected. Each point represents six to eight mice.

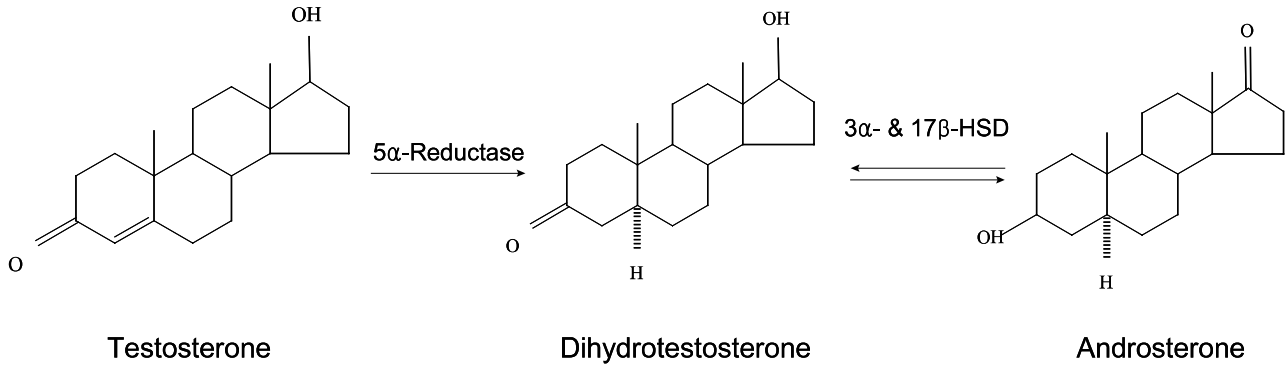


Figure 2. Metabolic pathway for conversion of testosterone to androsterone. HSD; hydroxysteroid dehydrogenase.

과정에서 만들어지는 여러 종류의 스테로이드계 호르몬은 호르몬이 합성되는 기관에서 혈액 내로 분비되어 신체에서 순환하다가 작용기관의 세포 내에 도달한 후 세포벽을 통과하여 핵 내에 있는 유전자에 작용하여 mRNA에 영향을 주고 이 유전자에 의하여 단백질이 형성되어 특정한 효과를 나타낸다고 알려져 있었다. 그러나 Selye가 progesterone, deoxycorticosterone과 이들의 A-ring 대사물들을 투여하고 나서 짧은 시간 안에 마취효과가 나타나는 것을 관찰하여, 스테로이드계 호르몬이 기존과 다른 기전을 통하여 신경세포에 작용한다는 사실을 알게 되었다.¹² 이 기전은 여러 연구를 통하여 스테로이드계 호르몬이 신경세포벽의 GABA_A 수용체에 직접 결합하여 세포작용을 억제시키는 효과로 밝혀지게 되었다.¹³ 스테로이드계 호르몬 중에 이와 같이 직접 신경세포의 GABA_A에 작용하는 성질을 가지는 물질들을 가르켜 neuroactive steroid라고 한다.¹⁴

성호르몬도 스테로이드계 호르몬으로서 월경간질을 통하여 여성호르몬인 에스트로젠과 progesterone이 발작에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 이루어졌다.^{1,2,5,6,15} 에스트로젠은 발작

을 촉진시키는 효과가 있으며, progesterone은 이와 반대로 발작을 억제하는 효과가 있기 때문에 월경주기에 따라서 체내의 호르몬 비율이 변하며 발작의 발현 횟수도 변하게 된다. 즉 에스트로젠이 증가하거나 progesterone이 감소하는 시기에 발작이 더 흔하게 나타나는 것이다.^{5,16,17} 이 결과를 통하여 월경간질 환자에게 progesterone을 투여하는 호르몬치료법도 개발되고 있다.

그러나 남성호르몬인 테스토스테론도 스테로이드 계통의 호르몬이지만 에스트로젠보다 연구가 적고 발작과 관련된 효과에서도 상반된 결과를 보여주었다.¹⁸ Frey의 연구에서는 난소를 제거한 암컷 백서에게 테스토스테론과 3 α -androstenedione을 각각 투여한 결과 모두에서 항경련효과가 있었다고 보고하여 테스토스테론도 항경련효과를 가지고 있다고 하였다.⁸ 그러나 다른 연구에서는 테스토스테론이 반대로 간질의 문턱을 감소시켜 경련을 도리어 유발한다거나 임상적으로 테스토스테론이 발작을 호전시키지 못한다는 보고도 있다.^{9,19} 이와 같이 상반된 결과가 나오는 이유는 테스토스테론 자체보다 그 대사물질들이

발작에 더 많은 영향을 나타내기 때문이다.²⁰ 간질의 치료에서 aromatase 억제제를 사용하면 발작이 호전된다는 연구에서도 aromatase가 체내에서 테스토스테론이 경련을 일으키는 물질인 estradiol로의 변환을 억제하며 항경련효과를 보이는 대사물질로 변환이 증가되기 때문으로 추정하고 있다.²¹

Androsterone은 테스토스테론의 대표적인 대사물질로 간에서 생성된다. 테스토스테론은 남성 호르몬 효과가 더 강력한 dihydrotestosterone으로 5 α -reductase에 의하여 비가역적으로 환원되고 나서 표적세포에 작용한 후 두 호르몬은 간에서 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD)와 17 β -HSD에 의하여 대부분이 가역적으로 androsterone 형태로 된 후에 글루쿠로나이드(glucuronide)나 sulfate와 결합하여 소변으로 배출된다(Fig. 2).^{10,22} 이와 같이 androsterone은 체내에서는 성호르몬의 작용을 나타내지 못하는 불활성화 상태로 존재하게 되어, androsterone의 항경련효과는 스테로이드계 호르몬의 세포내 작용기전보다는 다른 neuroactive 스테로이드계 물질과 같이 세포막에 존재하는 GABA_A 수용체에 직접적으로 작용하는 것으로 추정할 수 있다. 본 연구에서도 androsterone이 GABA_A 수용체에 작용하여 경련을 유발하는 화학물질에는 뚜렷한 항경련 효과가 있었으나 glutamate 수용체에 작용하는 KA, NMDA, 4-AP에는 항경련효과가 없거나 아주 미약하여 androsterone은 주로 GABA 수용체에 작용한다는 기전에 합당하다고 하겠다.

또한 androsterone은 네 가지의 epimer가 존재한다. 이들은 분자식은 같지만 3차원적 구조가 다른 물질들로 3 α -hydroxy-5 α -androstan-17-one이 androsterone이며, 3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-one (epiandrosterone), 3 α -hydroxy-5 β -androstan-17-one (etiocholanolone), 3 β -hydroxy-5 β -androstan-17-one (epiticholanolone)의 다른 네 가지 구조가 체내에 존재한다. 이들은 다른 neuroactive 스테로이드와 마찬가지로 공간적인 구조의 차이에 따라 GABA_A 수용체에 결합하여 GABA를 활성화하는 정도가 다르다고 알려져 있다. 구조적으로 3 α , 5 α - 형태의 스테로이드가 GABA의 상승작용을 가장 강하게 촉진하고, 그 다음으로 상승작용을 촉진하는 구조는 3 α , 5 β - 형태이다. 이에 반하여 3 β -hydroxy기의 형태는 5-androstan기의 구조에 상관없이 모두가 GABA 상승작용을 매우 미약하게 일으켜, 체내에서 GABA의 작용을 거의 일으키지 못하는 성질을 가지고 있다. 그러므로 epimer 중에서도 androsterone이 GABA의 가장 강력한 항경련효과를 가지게 된다.^{10,23,24}

이와 같이 테스토스테론의 주요 대사물질인 androsterone이 항경련효과를 가지고 있으며, 이러한 내인성 물질들의 작용과 균형의 변화가 인체 발작증상의 발현을 조절하는 데 관여할 것

으로 생각한다.

REFERENCES

- Smith SS. Estrogen administration increases neuronal responses to excitatory amino acids as a long-term effect. *Brain Res* 1989;503:354-357.
- Logothetis J, Harner R, Morrell F, Torres F. The role of estrogens in catamenial exacerbation of epilepsy. *Neurology* 1959;9:352-360.
- Backstrom T, Zetterlund B, Blom S, Romano M. Effects of intravenous progesterone infusions on the epileptic discharge frequency in women with partial epilepsy. *Acta Neurol Scand* 1984;69:240-248.
- Landgren S, Backstrom T, Kalistratov G. The effect of progesterone on the spontaneous interictal spike evoked by the application of penicillin to the cat's cerebral cortex. *J Neurol Sci* 1978;36:119-133.
- Backstrom T. Epileptic seizures in women related to plasma estrogen and progesterone during the menstrual cycle. *Acta Neurol Scand* 1976;54:321-347.
- Rosciszewska D, Buntner B, Guz I, Zawisza L. Ovarian hormones, anticonvulsant drugs, and seizures during the menstrual cycle in women with epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986;49:47-51.
- Herzog AG. Progesterone therapy in women with epilepsy: a 3-year follow-up. *Neurology* 1999;52:1917-1918.
- Frye CA, Reed TA. Androgenic neurosteroids: anti-seizure effects in an animal model of epilepsy. *Psychoneuroendocrinology* 1998;23:385-399.
- Edwards HE, Burnham WM, MacLusky NJ. Testosterone and its metabolites affect afterdischarge thresholds and the development of amygdala kindled seizures. *Brain Res* 1999;838:151-157.
- Kaminski RM, Marini H, Kim WJ, Rogawski MA. Anticonvulsant activity of androsterone and etiocholanolone. *Epilepsia* 2005;46:819-827.
- Loose DS, Stancel GM. Estrogens and Progestins. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 2006;1541-1572.
- Selye H. Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. *Endocrinology* 1942;30:437-453.
- Majewska MD, Harrison NL, Schwartz RD, Barker JL, Paul SM. Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science* 1986;232:1004-1007.
- Paul SM, Purdy RH. Neuroactive steroids. *FASEB J* 1992;6:2311-2322.
- Reddy DS. Pharmacology of catamenial epilepsy. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2004;26:547-561.
- Lonsdale D, Nysten K, McIntyre Burnham W. The anticonvulsant effects of progesterone and its metabolites on amygdala-kindled seizures in male rats. *Brain Res* 2006;1101:110-116.
- Reddy DS, Castaneda DC, O'Malley BW, Rogawski MA. Anticonvulsant activity of progesterone and neurosteroids in progesterone receptor knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;310:230-239.
- Thomas J, McLean JH. Castration alters susceptibility of male rats to specific seizures. *Physiol Behav* 1991;49:1177-1179.
- Herzog AG, Klein P, Jacobs AR. Testosterone versus testosterone and testosterone in treating reproductive and sexual dysfunction in men with epilepsy and hypogonadism. *Neurology* 1998;50:782-784.
- Reddy DS. Testosterone modulation of seizure susceptibility is mediated by neurosteroids 3 α -androstenediol and 17 β -estradiol. *Neuroscience* 2004;129:195-207.
- Herzog AG. Reproductive endocrine considerations and hormonal

- therapy for men with epilepsy. *Epilepsia* 1991;32 Suppl 6:S34-37.
22. Snyder PJ. Androgens. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 2006;1573-1586.
23. Kokate TG, Juhng KN, Kirkby RD, Llamas J, Yamaguchi S, Rogawski MA. Convulsant actions of the neurosteroid pregnenolone sulfate in mice. *Brain Res* 1999;831:119-124.
24. Gee KW, Bolger MB, Brinton RE, Coirini H, McEwen BS. Steroid modulation of the chloride ionophore in rat brain: structure-activity requirements, regional dependence and mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther* 1988;246:803-812.