

## 난소 절제된 백서에서 에스트로젠 투여용량에 따른 대퇴골주 변화에 대한 연구

김성주 · 김경욱 · 이재훈

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

## Abstract

A study on the trabecular change of Femur according to  $17\beta$ -Estradiol Dosage in Ovariectomized Rat

Seong-Joo Kim, Kyung-Wook Kim, Jae-Hoon Lee

*Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University*

Osteoporosis is the consequence of an imbalance between osteoclastic and osteoblastic activity, coupled with an increased rate of bone turnover observed with menopause. Estrogen is generally considered to maintain bone mass through suppression of bone resorption. The purpose of this study was to evaluate the rat femoral trabecular change not only in the deficiency of estrogen but also in the administration of estrogen following ovariectomy(OVX). 30 female Sprague-Dawley rats were subjected to bilateral OVX or sham surgery(control). Groups of OVX were divided into 4 groups. The first group was injected daily with vehicle alone for 20 days after 20 weeks following OVX. The additional groups of OVX was injected daily with low, medium, or high doses of  $17\beta$ -estradiol(10, 25 or  $50\mu\text{g}/\text{kg}$  BW, respectively). All rats were sacrificed 23 weeks after OVX, and their femur were processed for H&E, MT stain and histomorphometry. The results were as follows:

1. In the histomorphometric analysis, the trabecular bone volume/tissue volume, trabecular thickness and trabecular separation were respectively  $31.2\pm 8.3\%$ ,  $54.3\pm 4.8\mu\text{m}$  and  $280.7\pm 16.4\mu\text{m}$  in vehicle treated OVX group and  $48.6\pm 7.3\%$ ,  $90.4\pm 4.5\mu\text{m}$  and  $126.3\pm 5\mu\text{m}$  in sham operation group, and they showed statistical significance compare to control group.
2. The trabecular bone volume/tissue volume, trabecular thickness and trabecular separation were respectively  $44.4\pm 4.3\%$ ,  $109.5\pm 12.3\mu\text{m}$  and  $94.9\pm 8.5\mu\text{m}$  in low doses of  $17\beta$ -estradiol injected group and they showed statistical significance compare to OVX group.
3. The trabecular bone volume/tissue volume, trabecular thickness and trabecular separation were respectively  $44.4\pm 4.3\%$ ,  $109.5\pm 12.3\mu\text{m}$  and  $94.9\pm 8.5\mu\text{m}$  in medium doses of  $17\beta$ -estradiol injected group and they showed statistical significance compare to OVX group, but they didn't show statistical significance compare to low doses of  $17\beta$ -estradiol injected group.
4. The trabecular bone volume/tissue volume, trabecular thickness and trabecular separation were respectively  $46.4\pm 4.5\%$ ,  $154.4\pm 13.2\mu\text{m}$  and  $113.7\pm 12.8\mu\text{m}$  in high doses of  $17\beta$ -estradiol injected group and they also showed statistical significance compare to OVX group, but they didn't show statistical significance compare to other experimental groups.

From the above results,

metaphyseal bone formation was markedly reduced in OVX rats but treatment of OVX rats with  $17\beta$ -estradiol resulted in normalization of femur trabecular bone volume. But they didn't show statistical significance the effect of bone formation according to the dose dependency.

## I. 서 론

골다공증은 골량의 감소와 골의 미세구조 이상으로 심한 충격 없이도 일상생활에서 쉽게 골절이 발생하는 대사성 골질환이다<sup>1)</sup>. Albright 등<sup>2)</sup>이 폐경 후 골다공증에 대해 최초로 기술한 이래 많은 선학들의 연구에 의해 골다공증과 에스트로젠 결핍과의 연관성이 밝혀져 골다공증의 치료제로 에스트로젠이 널리 사용되고 있으나 아직도 골다공증에 대한 에스트로젠의 작용기전은 정확히 밝혀져 있지 않다<sup>3,4)</sup>.

제 I 형 골다공증으로 분류되는 50세 이후 여성에서 나타나는 폐경 후 골다공증은 여성들의 생애를 통해 약 75%정도 골질의 감수성을 나타낸다<sup>5,6)</sup>. 여성이 남성에 비해 골다공성 골절이 활발하는 이유는 여성은 성인에서도 최대 골량(peak bone mass)이 남성에 비해 적게 형성되고, 폐경 이후 빠른 골량의 소실을 나타내며, 여성이 남성에 비해 잘 넘어지고 또한 더욱 오랫동안 생존하기 때문이다<sup>7-9)</sup>. 골다공증의 임상적인 중요성은 망상골(trabecular bone)의 비율이 높은 척추, 대퇴골 근위부, 요골원위부 등의 골절로서 일단 골절이 발생하게 되면 심각한 유병율과 사망률을 초래하게 된다. 또한 사회, 경제적으로도 재발을 위한 고비용의 의료비 지출로 인해 큰 문제로 대두되고 있다. 아울러 최근 들어 생활환경의 개선과 의학의 발달로 평균수명이 연장되면서 폐경 여성 또한 증가하여 골다공증의 예방과 치료에 대한 많은 관심과 여러 치료법이 제시되고 있다.

에스트로젠 결핍시 골량의 감소를 나타내는 기전은 정확히 밝혀져 있지 않으나 이 현상은 골형성에 비해 골흡수가 증가하는 골 교체의 부조화 때문으로 여겨지며<sup>10-12)</sup> 또한, 칼슘과 골형성 작용을 조절하는 칼시토닌, 칼시트리올(1,25 dihydroxyvitaminD) 및 부갑상선 호르몬(PTH) 등의 활성이 결여되기 때문으로 제시되고 있다<sup>13-17)</sup>.

에스트로젠 투여시 골량의 감소를 막는 기전 역시 확실히 밝혀져 있지 않으나 에스트로젠은 골 형성을 촉진하는 것이 아니라 골 흡수를 억제하여 골량의 감소를 예방하는 것으로 알려져 있다<sup>18)</sup>.

난소 절제된 백서는 골 교체율의 증가로 인해 골량의 감소를 보이거나 에스트로젠 투여시 골 교체 현상은 억제되어 골량의 감소를 방지할 수 있었으며<sup>19-21)</sup>, 이런 현상은 폐경 후 에스트로젠 결핍된 여성에서 이 호르몬의 보충 시 골량 감소를 방지하는 것처럼 난소 절제된 백서에서도 같은 효과가 나타난다고 한다<sup>22,23)</sup>. 그러나 Aitken 등<sup>24)</sup>은 이와 다른 반론을 제시한 바 있다. 또한 작용부위에 대해서 Pilbeam 등<sup>25)</sup> 및 Takano-Yamamoto 등<sup>26)</sup>은 에스트로젠이 골에 직접 작용하여 골의 흡수를 억제하고 아울러 골의 형성을 촉진함을 보고하였으며, Tobias 등<sup>27)</sup>도 골아세포들을 유도 증식시킨다 하였으나, Keeting 등<sup>28)</sup>은 골아세포에는 별 영향을 미치지

못한다 하였다. 용량에 따라서 Langeland<sup>29)</sup>는 비교적 고용량인 체중kg당 20 $\mu$ g 이상 에스트로젠을 투여해야만 골량 감소를 막을 수 있는 것으로 보고했다. 이처럼 에스트로젠의 작용기전은 정확하게 밝혀져 있지 않으며 약제의 종류 및 용량 그리고 골의 부위에 따라서도 그 효과가 각각 다른 것으로 보고되고 있다<sup>30-32)</sup>.

이에 본 연구는 난소 절제된 백서에서 에스트로젠 결핍이 대퇴골의 골주에 미치는 영향과 에스트로젠 투여용량에 따른 대퇴골 부위의 골량 변화에 대해 알아보기 위하여 표본 제작 후 hematoxylin & eosin 및 Masson's trichrome 염색을 통한 조직학적 검사와 형태계측학적 분석으로 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

실험동물로는 일정기간 동안 동일 조건에서 사육된 체중 150g 내외의 자성백서(Sprague-Dewley) 30마리를 사용하여 6마리는 대조군으로 모의수술(Sham-OP)을, 나머지 24마리는 실험군으로 난소절제를 시행한 후 각각 6마리씩 실험 I 군은 난소절제 후 매개물인 곡류기름을(Corn oil), 실험 II 군은 17 $\beta$ -estradiol(Sigma Chemical Co., St Louis, Mo)을 저농도(10 $\mu$ g/kg), 실험 III 군은 중농도(25 $\mu$ g/kg) 및 실험 IV 군은 고농도(50 $\mu$ g/kg)군주를 시행할 군으로 분류하여 배정하였다.

### 2. 연구방법

#### 1) 동물실험

실험군은 ketamine hydrochloride(Ketalar<sup>®</sup>, 유한양행) 10mg/kg 및 2% xylazine hydrochloride (Rumpun<sup>®</sup>, 한국 바이엘) 0.15ml/kg를 근주하고, 등쪽의 털을 제거하였다. 일반적인 수술 전 처치방법에 따라 10% 포비돈 요오드로 수술부위 및 주위를 세척 및 분리 후 배측 접근법(dorsal approach)으로 양쪽 난소를 모두 노출시키고, 4호 실크로 결찰한 후 난소를 절제하고 층별 봉합을 시행하였다. 모의수술한 대조군은 난소절제와 동일한 방법으로 양쪽 난소를 노출시켜 확인만 한 후, 재위치 시키고 층별 봉합을 시행하였다. 난소절제 후 20주 경과한 다음 대조군 및 실험 I 군은 에스트로젠 매개물로 사용된 곡류기름만 대퇴근육 부위에 하루에 한번씩 20회 투여하였으며, 실험 II, III, IV 군은 17 $\beta$ -estradiol을 곡류기름에 희석하여 체중kg당 각각 10 $\mu$ g, 25 $\mu$ g, 50 $\mu$ g로 대조군 및 실험 I 군과 같은 방법으로 투여하였다.

2) 회 생

대조군과 실험군 모두 수술 후 23주 췌(근육주사 완료 후) 희생하여 양측 대퇴골을 채취하였다.

3) 표본제작

가). 조직준비

각 군당 양측 대퇴골을 적출하여 10% EDTA를 포함한 10% 중성 포르말린에 4°C에서 7일간 고정 및 탈회를 시행하였다. 대퇴골 관절 부위의 골단(epiphysis)과 골간(diapysis)부위를 장축으로 절단하여 통상적인 과정을 거쳐 파라핀(paraffin)에 포매한 후 4µm로 절단하여 hematoxylin and eosin (H&E) 염색 및 Masson's trichrome (MT) 염색을 시행하였다.

나). 골조직 형태계측학적 분석 (Bone Histomorphometric Analysis)

대퇴골 구조의 형태계측학적 분석은 골주용적 비율 (trabecular volume/tissue volume: BV/TV, %), 골주두께 (trabecular thickness: Tb.Th, µm), 골주간격(trabecular separation: Tb.Sp, µm)등으로 하였고 모든 계측은 골 중간부(metaphysis)에서 측정하여 관찰은 최소 5부위에서, 100X에서 계측하였다. 조직에 대해 차지하는 골주용적 비율(BV/TV, %)은 사각형으로 표시된 전체의 조직 면적을 계산한 후, 그 안에 포함된 각각의 골소주골의 면적을 계측한 후 계산하였고, 골주의 두께(Tb.Th., µm)는 사각형안에 포함된 골소주골 중에서 가장 두께가 얇은 부분을 최소한 5군데 이상 측정하여 각각의 평균을 내었다. 상기에 기술된 모든 형태계측학적 분석은 OPTIMAS (Media Cybergenetics, Silver Spring, MD, U.S.A.) 소프트웨어 프로그램을 사용하였다.

III. 연구 결과

1. H & E 염색조건

모의수술한 대조군에서는 대퇴골 중간부(metaphysis)에서 비교적 규칙적이고 두터운 골주들이 관찰되었고 골주 사이에 규칙적인 골수들이 관찰되었으나(Fig. 1) 난소적출술을 받은 군의 골주는 모의수술한 대조군에 비하여 좁아졌고 골주사이의 골수도 증가된 양상을 보였다(Fig. 3). 한편 에스트로젠 저농도 투여 군에서는 난소적출군에 비하여 골주의 두께가 증가되고 골주 사이의 골수 간격도 좁아진 소견을 보였으며(Fig. 5) 이러한 골주의 두께증가와 골주 사이의 골수 감소 소견은 에스트로젠 투여양이 증가함에 따라 더 심해지는 소견을 보였다(Fig. 7, 9).

2. MT(Masson's Trichrome) 염색조건

모의수술 한 대조군에서는 H-E염색조건과 같이 대퇴골 중간부에서 비교적 두터운 골주들이 관찰되었고 비교적 규칙적인 골주사이의 골수가 관찰되었다(Fig. 2). 난소적출군에서는 대조군에 비하여 골주의 두께가 얇아졌고 따라서 골주사이의 골수도 증가된 소견을 보였다(Fig. 4). 난소적출 후 에스트로젠 저농도 투여한 실험군에서는 난소적출 대조군에 비하여 골주가 두터워지고 이에 따라 골주간 골수도 난소 적출군에 비하여 감소된 소견을 보였으며(Fig. 6) 이러한 골주의 두께증가와 이에 따른 골주사이의 골수간격의 감소는 에스트로젠 중농도, 고농도 투여로 에스트로젠 투여량이 증가함에 따라 심해지는 소견을 보였다(Fig. 8, 10).

3. 형태계측(Histomorphometry)결과

모의수술한 대조군의 BV/TV(%), Tb.Th(µm) 및 Tb.Sp(µm)는 각각 48.6±7.3, 90.4±4.5 및 126.3±13.5 이었다. 한편 난소적출 대조군의 BV/TV, Tb.Th 및 Tb.Sp는 각각 31.2±8.3, 54.3±4.8 및 280.7±16.4로 대조군에 비하여 통계적으로 유의있는 변화를 보였다. 또한 에스트로젠 저농도 투여 실험군과 난소적출군과 비교할 때 에스트로젠 투여군에서의 BV/TV, Tb.Th 및 Tb.Sp이 각각 46.1±6.7, 94.3±8.4 및 127.9±16.3로 난소적출군에 비하여 유의 있는 변화를 보였다. 또한 에스트로젠 중농도 투여군에서는 44.4±4.3, 109.5±12.3 및 94.9±8.5로 난소적출대조군에 비하여 유의 있는 변화를 보였으나 에스트로젠 투여량에 따른 변화는 관찰되지 않았다. 에스트로젠 고농도 투여군에서는 46.4±4.5, 154.4±13.2 및 113.7±12.8로 역시 대조군에 비하여 유의 있는 변화를 보였으나 에스트로젠 투여양에 따른 변화는 관찰되지 않았다(Table 1).

IV. 총괄 및 고찰

골다공증이란 단순히 골량이 정상보다 적은 현상을 의미하는 골감소증(osteopenia)이 아닌 골흡수가 골형성보다 상대적으로 많이 발생하는 골재형성(remodeling)현상의 이상으로 골절의 위험이 높은 골대사질환이다. 골다공증을 야기할 수 있는 인자들은 에스트로젠 결핍이외에도 칼슘섭취부족, 운동부족, 과도한 흡연 및 음주, 골대사에 해로운 약물의과다사용 및 유전적 요소 등을 들 수 있다.

에스트로젠은 주로 난소에서 생성되며 일부는 부신피질, 고환에서도 생성되고 임신 중에는 주로 태반에서 생성된다. 에스트로젠은 크게 3가지(β-estradiol, estrone & estriol)로 분류되며 이 중 β-estradiol이 가장 효과가 크고 양이 많

**Table 1.** Histomorphometrical Indices in the Proximal Femur Metaphysis.

|                 | G-1<br>Sham      | G-2<br>OVX       | G-3<br>LD<br>(10 $\mu$ g/kg) | G-4<br>MD<br>(25 $\mu$ g/kg) | G-5<br>HD<br>(50 $\mu$ g/kg) | p-values |        |        |        |     |     |     |
|-----------------|------------------|------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------|--------|--------|--------|-----|-----|-----|
|                 |                  |                  |                              |                              |                              | 1-2      | 2-3    | 2-4    | 2-5    | 3-4 | 3-5 | 4-5 |
| BV/TV(%)        | 48.6 $\pm$ 7.3   | 31.2 $\pm$ 8.3   | 46.1 $\pm$ 6.7               | 44.4 $\pm$ 4.3               | 46.4 $\pm$ 4.5               | p<0.05   | p<0.05 | p<0.05 | p<0.05 | NS  | NS  | NS  |
| Tb.Th( $\mu$ m) | 90.4 $\pm$ 4.5   | 54.3 $\pm$ 4.8   | 94.3 $\pm$ 8.4               | 109.5 $\pm$ 12.3             | 154.4 $\pm$ 13.2             | p<0.05   | p<0.05 | p<0.05 | p<0.05 | NS  | NS  | NS  |
| Tb.SP( $\mu$ m) | 126.3 $\pm$ 13.5 | 280.7 $\pm$ 16.4 | 127.9 $\pm$ 16.3             | 94.9 $\pm$ 8.5               | 113.7 $\pm$ 12.8             | p<0.05   | p<0.05 | p<0.05 | p<0.05 | NS  | NS  | NS  |

G-1: Group 1 G-2: Group 2 G-3: Group 3 G-4: Group 4 G-5: Group 5

Sham: Sham operation OVX: Ovariectomized LD: Low dose MD: Medium dose HD: High dose BV: Trabecular Bone Volume TV: Tissue Volume Tb.Th: Trabecular Thickness Tb.Sp: Trabecular Separation

다. 에스트로젠은 주로 여성의 생식기관의 성장과 발육에 대한 영향을 나타내나 골격조직에서는 조골세포의 활성도를 증가시키고 사춘기에서는 장골말단의 유합에 관여하게 된다.

난소절제 및 폐경은 에스트로젠의 생성과 분비를 감소시켜 에스트로젠의 결핍을 초래하게 된다. 이 호르몬의 저하 시 골조직의 손실을 일으키는 기전은 정확히 밝혀지지 않았지만 에스트로젠 결핍 시 사이토카인 (cytokine)과 부갑상선호르몬(PTH)이 서로 상승작용을 일으켜 인터류킨-1(IL-1), IL-6 및 종양괴사인자(TNF)의 증가가 일어나고 증가된 이들 사이토카인(IL-1, IL-6, TNF)과 대식세포군 촉진인자(Macrophage Colony Stimulating Factor)에 의한 파골세포의 전구세포가 증가되어 골재형성의 불균형을 일으켜 골흡수가 일어나는 것으로 보고되고 있다<sup>33-40)</sup>.

백서는 성장기, 성장 후 및 골다공증이 유발되는 골형성과 골흡수의 생물학적 기전이 사람과 같은 반응을 나타내어 인체의 골감소증 연구에 백서의 골격구조는 좋은 모델이 된다<sup>41)</sup>. Turner 등<sup>42)</sup>은 백서의 난소절제 후 형태계측학적 분석을 통해 경골 중간부(tibial metaphysis) 골소주양을 관찰한 결과 28일째 60% 이상이 감소되었으며, Wronski 등<sup>43)</sup>도 35일째 약 60% 가까이 골손실이 있었으며, Thompson 등<sup>44)</sup>은 14일째 약 50%, 1년째는 약 70%이상 골량의 감소를 보고하였다. Ikeda 등<sup>45)</sup>은 백서의 난소절제 후 대퇴골부위의 골조직 변화를 60일까지 관찰한 결과 대조군에 비해 골조직이 상당히 감소되었으나 통계학적 유의성은 없었다고 보고하였다. 본 연구에서는 난소절제 후 23주째 대퇴골 골조직의 형태계측학적 분석을 시행한 결과 전체조직에 대한 골주용적 비율(BV/TV, %), 골소주 두께(Tb.Th,  $\mu$ m), 골소주간 간격(Tb.Sp,  $\mu$ m)은 난소절제하지 않은 대조군 48.6 $\pm$ 7.3%, 90.4 $\pm$ 4.5 $\mu$ m 및 126.3 $\pm$ 13.5 $\mu$ m에 비해 31.2 $\pm$ 8.3%, 54.3 $\pm$ 4.8 $\mu$ m 및 280.7 $\pm$ 16.4 $\mu$ m로 통계학적으로 의미 있는 변화를 보였다. 그러나 이와 같은 결과는 경골 부위에 비해 골손실의 정도가 심하지 않은 것에 비쳐 볼 때 난소절제된 백서에서 망상골질의 감소현상은 경골부위에 비해 대퇴골 부위가 시간적으로 더욱 늦게 서서히 발현되는

것으로 추측될 수 있다.

골다공증의 진단은 골량의 감소를 확인 하는 것으로 단순 X-ray를 통해 골량의 감소가 현저하고 척추 골절 등이 동반되어 있으면 진단이 용이하지만, 그렇지 않은 경우는 좀더 예민한 골밀도 측정기를 사용하여 골다공증의 진단을 시행한다. 골밀도에 의한 골다공증의 진단은 골량이 골절한계치 이하로 감소되었거나 골밀도가 정상성인의 평균치에서 2.5SD 이상 감소된 경우이며, 골밀도가 1SD까지 감소된 경우는 정상으로 간주되며, 1~2.5SD 까지의 감소는 골감소증으로 정의한다<sup>46)</sup>.

골다공증의 치료는 골질량을 증가시켜 골질의 감소 또는 방지하는데 그 목적이 있다. 이때 증가된 골량의 정도뿐 아니라 어느 부위에 어떠한 질(quality)의 골이 증가되는가 하는 것도 중요하다. 현재 골다공증의 예방과 치료제로는 에스트로젠 이외에 칼슘토닌, bisphosphonate, 칼슘, 비타민 D 제제, 부갑상선 호르몬 불소제제 등이 사용되고 있다. 이러한 약물의 선택시 도움을 줄 수 있는 지표는 골교체 생화학적 표지자 (Biochemical Markers of Bone Turnover)검사를 들 수 있다. 이는 조골세포와 파골세포의 활동을 짐작할 수 있는 방법으로 골형성과 골흡수를 반영한다. 골형성지표로는 혈청에서 alkaline phosphate, osteocalcin, Carboxy-terminal Propeptide of type I Procollagen(PICP)을 측정할 수 있으며, 골흡수지표로는 혈청에서 hydroxyproline을, 소변에서 pyridinoline, deoxypyridinoline을 측정할 수 있다<sup>47)</sup>. 이에 골교체 표지자가 현저히 증가된 경우는 골흡수억제제를, 감소된 경우는 골형성 촉진제의 사용이 이상적이라 할 수 있다. 그러나 현재 골형성 촉진제의 사용이 용이하지 못해 골교체 표지자에 관계없이 골흡수 억제제를 사용하고 있는데 에스트로젠은 대표적인 골흡수 억제제로 폐경기 여성의 골다공증의 치료제로 널리 사용되고 있다.

에스트로젠이 골소실의 감소 및 방지하는 기전에 대해서 정확히 밝혀져 있지는 않지만 여성 호르몬은 폐경 후 여성에서 조골세포 및 골수기질 조골세포들을 조절해서 증가된 IL-6생성을 억제하여 파골세포의 활동을 감소시키며<sup>48,49)</sup>,

또한 파골세포의 예정사(apoptosis)를 증가시켜 골량의 감소를 나타낸다<sup>50-52)</sup>.

본 연구는 백서의 난소절제 후 에스트로젠 투여 용량에 따른 대퇴골 골질의 변화를 관찰한 결과 난소절제한 군에 비해 난소절제 후 에스트로젠을 투여한 군에서 의미 있는 골량의 증가현상을 발견할 수 있었다. 이는 Wronski 등<sup>43)</sup>, Takano-Yamamoto 등<sup>53)</sup>, Cruess 등<sup>54)</sup>, Turner 등<sup>42)</sup> 및 Chow 등<sup>55)</sup>의 실험적 결과와 Kohrt 등<sup>56)</sup> 및 Lindsay 등<sup>57)</sup>의 임상적 연구결과와 일치하는 것으로 에스트로젠은 골흡수를 억제하며, 에스트로젠 결핍에 의한 골형성 장애를 회복시키는 작용이 있는 것으로 생각된다. 그러나 저농도(10 µg/kg), 중농도(25 µg/kg), 고농도(50 µg/kg)의 에스트로젠 투여양에 따른 골량의 변화는 본 연구에서는 유의성 있게 관찰되지는 않았다. 그러나 이러한 결과는 에스트로젠 투여 용량에 비례하여 골량의 증가현상을 관찰하였다는 Wronski 등<sup>43)</sup>의 보고와는 상이한 결과였다. 일반적으로 에스트로젠은 투여용량에 따라 그 효과가 증가하며<sup>58)</sup>, 골다공증의 치료에 효과있는 최소의 농도는 Conjugated 에스트로젠은 0.625mg/day<sup>59)</sup>, estradiol valerate는 2mg/day<sup>60)</sup>, ethinyl estradiol은 2µg/day<sup>61)</sup>로 보고되며 또한 투여 용량은 약물의 종류, 칼슘의 섭취여부 및 체중에 따라 조절되어지고 있다. 본 연구의 결과에서 저농도와 고농도의 에스트로젠 투여군간에 의미 있는 골량의 변화를 보이지 않은 이유로는 투여방법과 난소절제된 기간의 차이에 기인된다고 가정할 수도 있겠으나 이에 대해서는 추후 더욱 연구가 필요하리라 생각된다.

에스트로젠은 골다공증의 치료 및 예방의 효과 이외에도 폐경기 여성의 안면홍조, 질 건조감, 성교 및 배뇨곤란과 같은 폐경기 증상을 호전시키며<sup>62)</sup>, 심혈관질환의 위험성을 감소시키는 작용 또한 갖고 있다<sup>63-65)</sup>. 그러나 자궁이 있는 여성에서 단독으로 에스트로젠을 투여하는 경우는 자궁내막증식증 및 자궁내막암의 발생가능성이 있어 에스트로젠 투여시는 황체호르몬(progesterone)을 반드시 병행하여 투여하고 있다. 이 황체호르몬의 병행투여시 골밀도 유지에 상승 효과가 있으며<sup>66)</sup>, 자궁내막의 에스트로젠 수용체를 감소시키고, 에스트로젠의 활성도를 낮은 상태로 전환시켜 자궁내막암의 발생을 감소시키며, 유방암의 발생률도 작게 한다<sup>67)</sup>.

이상의 문헌고찰 및 실험을 통해 골다공증은 골형성과 골흡수의 불균형으로 인해 발생되며 에스트로젠은 골흡수를 억제하여 골질량을 증가시킨다는 것이다. 그러나 골다공증의 발생기전과 치료제의 개발을 위해 많은 연구가 진행되고 있음에도 아직 골다공증의 기전 및 에스트로젠의 효과에 대한 기전들이 확실히 규명되어 있지 못하다. 이에 에스트로젠과 다른 호르몬 성장인자 및 여러 사이토카인 간의 상호연관성이 규명될 수 있도록 더욱 연구가 필요하리라 생각된다.

## V. 결 론

체중 150g 내외의 자성백서 23마리를 사용하여 에스트로젠 결핍이 대퇴골의 골주에 미치는 영향과 에스트로젠 투여 용량에 따른 대퇴골 부위의 골량변화를 알아보기 위하여 모의수술을 시행한 6마리는 대조군으로, 나머지 24마리는 실험군으로 배정하여 난소절제를 시행하고 20주 후부터 4군으로 나누어 실험 I 군은 매개물만, 실험 II 군은 에스트로젠( $\beta$ -estradiol) 저농도 투여군으로 몸무게 kg당 10µg을, 실험 III 군은 중농도 투여군으로 kg당 25µg을 그리고 실험 IV 군은 고농도 투여군으로 kg당 50µg을 하루에 한번씩 20일 동안 근육주사 한 후 희생하여 H&E 및 MT염색에 의한 조직학적 및 형태계측학적 분석을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 난소적출 후의 대퇴골골간의 형태계측학적 변화로 모의수술한 대조군과 비교할 때 대조군에서는 골주용적 비율(BV/TV, %), 골주의 두께(Tb.Th, µm), 골주간 간격(Tb.Sp, µm)이 각각  $48.6 \pm 7.3$ ,  $90.4 \pm 4.5$  및  $126.3 \pm 13.5$ 이고 난소적출군은  $31.2 \pm 8.3$ ,  $54.3 \pm 4.8$  및  $280.7 \pm 16.4$ 로 난소적출군에서 통계적으로 유의있는 골주용적감소, 골주 두께감소 및 골주간 간격의 증가를 보였다.
2. 에스트로젠 저농도 투여군에서의 BV/TV, Tb.Th 및 Tb.Sp는 각각  $44.4 \pm 4.3$ ,  $109.5 \pm 12.3$  및  $94.9 \pm 8.5$ 로 난소적출군과 비교할 때 통계적으로 유의있는 골주용적증가, 골주 두께증가 및 골주간 간격의 감소를 보였다.
3. 에스트로젠 중농도 투여군에서의 BV/TV, Tb.Th 및 Tb.Sp는 각각  $44.4 \pm 4.3$ ,  $109.5 \pm 12.3$  및  $94.9 \pm 8.5$ 로 난소적출군과 비교할 때 통계적으로 유의있는 골주용적증가, 골주 두께증가 및 골주간 간격의 감소를 보였다. 그러나 에스트로젠 저농도의 투여군과 비교할 때 통계적으로 유의있는 변화가 없었다.
4. 에스트로젠 고농도 투여군에서의 BV/TV, Tb.Th 및 Tb.Sp는 각각  $46.4 \pm 4.5$ ,  $154.4 \pm 13.2$  및  $113.7 \pm 12.8$ 로 난소적출군과 비교할 때 통계적으로 유의있는 골주용적증가, 골주 두께증가 및 골주간 간격의 감소를 보였다. 그러나 에스트로젠 저농도 및 중농도 투여군과 비교할 때 통계적으로 유의있는 변화가 없었다.

이상의 결과를 종합하면 에스트로젠결핍은 대퇴골 골중간부의 형성에 장애를 갖으며 에스트로젠 투여는 이러한 에스트로젠결핍에 의한 골형성 장애를 정상으로 회복시켰다. 그러나 에스트로젠의 투여양이 증가함에 따라서 골형성이 촉진되는 유의성 있는 변화는 없었다.

참 고 문 헌

1. Consensus Development Conference : Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 94 : 646, 1993.
2. Albright FA, Bloomberg E, and Smith PH : Postmenopausal osteoporosis. *Trans Assoc Am Physicians* 55 : 298, 1940.
3. Raisz LG : Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N Engl J Med* 318 : 818, 1988.
4. Lindsay R, Aitken JM, Anderson JB, et al. : Long-term prevention of postmenopausal osteoporosis by oestrogen. Evidence for an increased bone mass after delayed onset of oestrogen treatment. *Lancet* 1038, 1976.
5. Melton LJ, Chrischilles EA, Cooper C, et al. : How many women have osteoporosis. *J Bone Miner Res* 7 : 1005, 1992.
6. Eddy D, Cummings SR, Dawson-Hughes B, et al. : Guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of osteoporosis : Cost-effectiveness analysis and review of the evidence. *Osteoporosis Int* in press.
7. Cummings SR, Nevitt MC, Browner W, et al. : Risk factors for hip fracture in white women. *N Engl J Med* 332 : 767, 1995.
8. Barrett-Connor E : The economic and human costs of osteoporotic fracture. *Am J Med* 87 : 98, 1995.
9. Nevitt MC, Ettinger B, Black DM, Cummings SR : The association of radiographically detected vertebral fractures with back pain and function a prospective study. *Ann Intern Med* 128 : 793, 1998.
10. Frost HM, Jee WSS : On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. *Bone and Mineral* 18 : 227, 1992.
11. Jee WSS, Ma YF, Li M, et al. : Sex steroids and prostaglandins in bone metabolism. *Sex Steroids and Bone* 119, 1994.
12. Wronski TJ, Yen CF : The ovariectomized rat model as an animal model for postmenopausal bone loss. *Cells Materials suppl* 1 : 69, 1991.
13. Gallagher JC, Riggs BL, Eisman J, et al. : Intestinal calcium absorption and serum vitamin D metabolites in normal subjects and osteoporotic patients. Effect of age and dietary calcium. *J Clin Invest* 64 : 729, 1979.
14. Riggs BL, Melton III LJ : Evidence for two distinct syndromes of involutional osteoporosis. *Am J Med* 75 : 899, 1983.
15. Buchanan JR, Cauffman SW, Cireer III RB, et al. : Relation of calcium regulating hormones to the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. In : Christiansen C, Arnand CD, Nordin BEC, Paifitt AM, Peck WA Riggs BL(eds) *Osteoporosis 1*. Aalborg stiftsbogtrykkeri. p 275, 1984.
16. Johnson JrCC, Epstein S : The endocrinology of osteoporosis. In : Parsons JA(ed) *Endocrinology of Calcium Metabolism*. Raven Press 467, 1982.
17. Stevenson JC : Differential effects of aging and menopause on CT secretion. In pecile A(ed) *Calcitonin*. p 145, 1985.
18. Rogers J : Estrogens in the menopause and postmenopause. *N Engl J Med* 280 : 364, 1969.
19. Wronski TJ, Lowry PL, Walsh CC : Skeletal alterations in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 37 : 324, 1985.
20. Wronski TJ, Walsh CC : Histologic evidence for osteopenia and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Bone* 7 : 119, 1986.
21. Wronski TJ, Cintron M, Dann LM : Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 45 : 360, 1988.
22. Anderson JJB, Greenfield JW, Posada JR : Effect of estrogen on bone mineral turnover in mature female rats as measured by strontium-85. *Proc Soc Exp Biol Med* 135 : 883, 1970.
23. Cruess RL, Hong KC : The effect of long term estrogen administration on bone metabolism in the female rat. *Endocrinology* 104 : 118, 1979.
24. Aitken JM, Armstrong E, Anderson JB : Osteoporosis after oophorectomy in the mature female rat and the effect of estrogen and/or progesterone replacement therapy in its prevention. *J Endocrinol* 55 : 79, 1972.
25. Pilbeam CC, J Klein-Nulend, LG Raisz et al. : Inhibition by 17 $\beta$ -estradiol of PTH-stimulated resorption and prostaglandin production in cultured neonatal mouse calvariae. *Res* 163 : 1319, 1989.
26. Takano-Yamamoto T, GA Rodan : Direct effects of 17 $\beta$ -estradiol of trabecular bone in ovariectomized rats. *Proc Nat Acad Sci USA* 87 : 2172, 1990.
27. Tobias JH, TJ Chambers : Effect of sex hormones on bone resorption by rat osteoclasts. *Acta Endocrinol.* 124 : 121, 1991.
28. Keeting PE, Scott RE, Colvand DS et al. : Lack of a direct effect of estrogen of proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 6 : 297, 1991.
29. Langeland N : The effect of different doses of oestradiol-17  $\beta$  on collagen synthesis in the femur of castrated female rats. *Acta Endocrinol(Copenh)* 80 : 613, 1975.
30. Aitken JM, Hart DM, et al. : oestrogen replacement therapy for prevention of osteoporosis after oophorectomy. *Br Med J* 3 : 515, 1973.
31. Lindsay R, Hart DM, Aitken JM, et al. Longterm prevention of postmenopausal osteoporosis by estrogens. *Lancet* 1 : 1038, 1976
32. Cann CE, Genant HK, Ettinger B, et al. : Spinal mineral loss in oophorectomized women: Determination by quantitative computed tomography. *JAMA* 244 : 2056, 1980.
33. Gowen M, Wook DD, Ihrle EJ, et al. : An interleukin-1-like factor stimulates bone resorption in vitro. *Nature* 306 : 378, 1983.
34. Gowen M, Wook DD, Russell RGG : Stimulation of the proliferation of human bone cells in vitro by human monocyte products with interleukin-1 has independent effects on deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in cultures of rat calvariae. *Endocrinology* 118 : 74, 1985.
35. Canalis E: Interleukin-1 has independent effects on deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in cultures of rat calvariae. *Endocrinology* 118 : 74, 1986.
36. Stashenko P, Dewhirs FE, Rooney ML, et al. : Interleukin-1  $\beta$  is a potent inhibitor of bone formation in vitro. *J Bone Miner Res* 2 : 559, 1987.
37. Johnson RA, Boyce BF, Mundy GR, et al. : Tumors producing human tumor necrosis factor induce hypercalcemia and osteoclastic bone resorption in nude mice. *Endocrinology* 124 : 1424, 1989.
38. Thomson BM, Sakatvala J, Chambers TJ : Osteoblasts mediate interleukin 1 stimulation of bone resorption by rat osteoclasts. *J Exp Med* 164 : 104, 1986.
39. Hughes DE, Jilka RL, Manolagas S, et al. : Sex steroids promote osteoclast apoptosis invitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 10 : 48, 1995.
40. Pfelischefter J, Chenu C, Bird A, et al. : Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human

- osteoclastlike cells in vitro. *J Bone Miner Res* 4 : 113, 1989.
41. Frost HM : Structural adaptations to mechanical usage(SATMU). 3. The hyaline cartilage modeling problem. *Anat Rec* 226 : 423, 1990.
  42. Turner RT, Vandersteenhoven J, and Bell NH : The effects of ovariectomy and  $17\beta$ -estradiol on cortical bone histomorphometry in growing rats. *J Bone Miner Res* 2 : 115, 1987.
  43. Wronski TH, Yen CF, Burton KW, et al. : Skeletal effects of calcitonin on ovariectomized rats. *Endocrinology* 129 : 2246, 1991.
  44. Thompson DD, Seedor JG, Quartuccio H, et al. : The bisphosphonate, Alendronate, prevents bone loss in ovariectomized baboon. *J Bone Miner Res* 7 : 951, 1992.
  45. Ikeda T, Yamaguchi A, Yakose S, et al. : Changes in biological activity of bone cells in ovariectomized rats revealed by in situ hybridization. *J. Bone and min. Res* 11 : 780, 1996.
  46. Kannis JK, Melton III LJ, Christiansen C, et al. : The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 9:1137-1141, 1994
  47. 임승길: Bone turnover marker의 임상적 의의와 응용. *대한골대사학회지* 1 : 1, 1994
  48. Grasole G, Jilkam RL, Passeri G, et al. :  $17\beta$ -estradiol inhibites interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts in-vitro: A potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. *J Clin Invest* 89 : 883, 1992.
  49. Hughes DE and Boyce BF : Apoptosis in bone physiology and disease. *J Clin Pathol Clin Mol Pathol* 50 : 132, 1997.
  50. Hughes DE, Dai A, Tiffiee JC, et al. : Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF- $\beta$ . *Mature Med* 2 : 1132, 1996.
  51. Kameda T, Mano H, Yuasa T, et al. : Estrogen inhibites bone resorption by directly inducing apoptosis of the bone-resorbing osteoclasts. *Exp Med* 186 : 489, 1997.
  52. Takano-Yamamoto T, Rodan G : Direct effects of  $17\beta$ -estradiol on trabecular bone in ovariectomized rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 2172, 1990.
  53. Cruess RL, Hong KC : The effect of long term estrogen administration on bone metabolism in the female rat. *Endocrinology* 104 : 1188, 1979.
  54. Chow J, Tobias JH, Colston KW et al: Estrogen Maintains Trabecular Bone Volume in Rats Not Only by Suppression of Bone Resorption but Also by Stimulation of Bone Formation. *J Clinic Invest*. Vol 89 : 74, 1992.
  55. Kohrt WM, Birge SJ : Differential effects of estrogen treatment on bone mineral density of the spine, hip, wrist and total body in late postmenopausal women. *Osteoporosis Int* 5 : 150, 1995.
  56. Lindsay R, Tohme JF : Estrogen treatment of patients with established postmenopausal osteoporosis. *Obstet Gynecol* 76 : 290, 1990.
  57. Gordan GS, and Genant HK : Postmenopausal osteoporosis is a preventable disease. *Contemp. Obstet Gynecol.* 11 : 47, 1978.
  58. Ettinger B, Genant HK, and Cann CE : Postmenopausal bone loss is prevented by treatment with low dosage estrogen with calcium. *Ann. Intern. Med.* 106 : 40, 1987.
  59. Hirvonen E, Elliesen J, and Schmidt-Gollwitzerm K : Comparison of two hormone replacement regime-influence on lipoproteins and bone mineral content. *Maturitas* 12 : 127, 1990.
  60. Lindsay R, Hart DM, and Clark DM : The minimum effective dose of estrogen for prevention of postmenopausal bone loss. *Obstet, Gynecol.* 63 : 759, 1984.
  61. Place AV, Pouers M, Darley PE et al. : A double-blind comparative study of estraderm and premarin in the amelioration of postmenopausal symptoms. *Am J Obstet Gynecol* 1985: 152, 1992.
  62. Henderson BE, Ross RK, Paganini-Hill A et al. Estrogen use and cardiovascular disease. *Am J Obstet Gynecol* 154 : 1181, 1986.
  63. Bush TL, Miller TV : Effects of pharmacologic agents used during menopause. *Menopause. Physiology and Pharmacology.* Chicago: Year Book Medical Publisher 187, 1987.
  64. Stampfer MJ, Colditz GA : Estrogen replacement therapy and coronary heart disease a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med* 20 : 47, 1992.
  65. Christiansen C, Riis B, Nilas L et al : Uncoupling of bone formation and resorption by combined, oestrogen and progestogen therapy in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 2 800, 1985.
  66. Lindsay R, Hart DM, Clark DM : The minimum effective dose of estrogen for prevention of postmenopausal bone loss. *Obstet Gynecol* 63 : 759, 1984.

저자연락처

우편번호 330-716  
 충남 천안시 신부동 산7-1  
 단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실  
 김성주

원고 접수일 2000년 01월 19일  
 게재 확정일 2000년 02월 28일

Reprint requests

Sung-Ju Kim  
 Dept. of OMFS, College of Dentistry, Dankook University  
 san7-1, Shinbu-Dong, Chon-An, Chung-Nam, 330-716, Korea  
 Tel. 82-417-550-1991 Fax. 82-417-551-8988

Paper received 19 January 2000  
 Paper accepted 28 February 2000

사진부도 ①



**Fig. 1.** Note the thick trabecular bone of femur metaphysis from control (H&E,  $\times 200$ ).



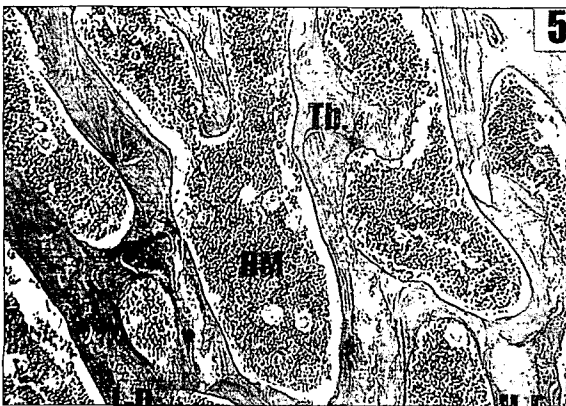
**Fig. 2.** Note the thick trabecular bone of femur metaphysis from control (MT,  $\times 200$ ).



**Fig. 3.** Note the reduced amount of trabecular bone, trabecular thickness but increased the trabecular separation from ovariectomized rat (H&E,  $\times 200$ ).



**Fig. 4.** Note the reduced amount of trabecular bone, trabecular thickness but increased the trabecular separation from ovariectomized rat (MT,  $\times 200$ ).



**Fig. 5.** Note the increased amount of trabecular bone compare to OVX rat (H&E,  $\times 200$ ).



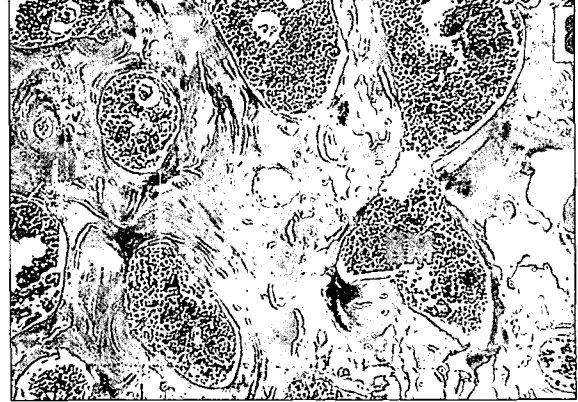
**Fig. 6.** Note the increased the trabecular thickness compare to OVX rat (MT,  $\times 200$ ).



사진부도 ②



**Fig. 7.** Note the thick increased amount of trabecular bone, trabecular thickness compare to OVX rat but no significance compare to treated with low dose  $17\beta$ -estradiol group (H&E,  $\times 200$ ).



**Fig. 8.** Note the thick increased amount of trabecular bone, trabecular thickness compare to OVX rat but no significance compare to treated with low dose  $17\beta$ -estradiol group (MT,  $\times 200$ ).



**Fig. 9.** Note the increased amount of trabecular bone, but no significance compare to treated with low dose  $17\beta$ -estradiol group(H&E,  $\times 200$ ).



**Fig. 10.** Note the increased amount of trabecular bone, but no significance compare to treated with low dose  $17\beta$ -estradiol group(H&E,  $\times 200$ ).

Abbreviation :

- Tb : Trabecular bone
- BM : Bone marrow
- H-E : Hematoxylin & eosin
- MT : Masson's trichrome