

원저

홍화자 · 녹용 · 자하거 약침이 골다공증에 미치는 영향

육태한* · 이창현* · 이학인**

* 우석대학교 한의과대학 침구학교실

** 경산대학교 한의과대학 해부학교실

Abstract

A Study on the effects of the Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture on the osteoporosis in the rats

Yook, Tae-Han* · Lee, Chang-Hyun* · Lee, Hak-In**

* Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine,
Woo-Suk University

** Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Kyung-San University

Objectives : This study was designed to evaluate on the effects of the Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture on the osteoporosis in the rats

Materials and Methods : In order to induce estrogen deficient osteoporosis, ovariectomy was done on rats. Then aquacupuncture were injected into the pai shu points corresponding to urinary bladder meridian of human body in experimental groups. And such indexes were measured as the change of body weight, bone mineral density, histological change of tibia, and levels of osteocalcin, bone alkaline phosphatase, calcium, phosphorus in serum.

Results : 1. Significant changes of trabecular area % in epiphysis of tibia were shown between control group and experimental group II and between experimental group I and group II.

2. Significant changes of trabecular area % in diaphysis of tibia were shown between control and experimental groups.

3. Significant changes of serum osteocalcin were shown between control group and experimental group I.

※ 이 논문은 우석대학교의 교비지원에 의해서 연구됨.

· 접수 : 1월 6일 · 수정 : 1월 13일 · 채택 : 1월 15일

· 교신저자 : 육태한, 전북 전주시 완산구 중화산동 2가 5번지 우석대학교 부속 한방병원 침구 1과(Tel. 063-220-8622)

E-mail : nasis@ppp.kornet21.net

4. Significant changes of levels of serum bone alkaline phosphatase were shown between control group and experimental group I and II.

Conclusions : The Carthami semen · Cervi pomototrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture is effective to estrogen deficient osteoporosis, ovariectomy was done on rats.

Key words : osteoporosis, Carthami semen, Cervi pomtotrichum cornu, Hominis placenta, aqu - acupuncture

I. 서론

골다공증은 골형성보다 골흡수가 증가되어 발생하는 대사성 골질환으로 낮은 골질량과 골조직 미세구조의 장애로 인하여 골의 취약성과 골절에 대한 감수성이 증가되는데 대부분의 환자에 있어서 골절이 발생할 때까지는 증상이 없이 서서히 진행된다¹⁻³⁾.

남성보다 여성에게서 높은 발생율을 보이는 골다공증은 폐경후 estrogen의 부족으로 인하여 발생하는 폐경기성 골다공증과 노화에 의한 노인성 골다공증 및 다른 질병등에 의하여 이차적으로 발생하는 속발성 골다공증으로 분류할 수 있는데, 난소를 비롯한 여성생식기의 적출은estrogen 결핍을 초래하여 속발성 골다공증을 유발하며 폐경기성 골다공증과 유사한 양상을 보이는데 이를 시술받은 여성들의 골밀도는 자연폐경된 여성들보다 더 많이 낮아진다⁴⁻⁶⁾.

《黃帝內經》⁷⁾에서는 “腎主骨”, “腎生骨髓”, “腎不生則髓不能滿”, “腎藏精”, “精成而腦髓生”, “腎者主蟄 封藏之本 精之處也 其華在髮 其充在骨”이라 하여 腎精이 充滿하면 骨髓가 豊富해지고 骨格이 生長堅實해지고, “腎氣熱則腰脊不舉 骨枯而髓減 發爲骨痿”,

“病在骨 骨重不可舉 骨髓酸痛 寒氣至 名曰骨痺”라 하여 腎氣가 熱하면 骨枯而髓減해서 骨痿가 되고 寒氣가 侵入하면 骨髓酸痛하여 骨痺가 된다고 하였는데 이는 현재의 골다공증에 대한 언급과 유사하다.

골다공증의 예방 및 치료에 대한 鍼⁸⁾, 灸⁸⁻⁹⁾, 藥物¹⁰⁾ 및 藥鍼¹¹⁾ 등의 한의학적 연구는 대부분 효과가 있다고 보고되었으나 개별약재를 혼합하여 제조한 약침액을 사용한 약침연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 홍화자·녹용·자하거 약침과 홍화자·녹용 약침을 사용하여 본 연구를 시행한 후, 흰쥐의 체중변화, 골반이하 뒷다리 및 꼬리의 골밀도 변화, 경골의 조직학적 변화 그리고 혈청내 호르몬과 대사산물을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

약재는 우석대학교 부속한방병원에서 사용되고 있는 홍화자, 녹용 및 자하거를 정선하여 사용하였다.

2) 동물

동물은 체중 200~250g 정도의 건강하고 성숙한 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 고품사료(삼양사)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 적응시킨 후, 40마리를 각 군에 10마리씩 배정하여 4군으로 나누어 사용하였다. 각 군은 개복수술만을 시행한 Sham군, 개복수술을 하여 양측 난소를 제거한 후 생리식염수를 약침한 대조군, 양측 난소를 제거하고 홍화자·녹용·자하거 약침액을 약침한 실험 I군 그리고 홍화자·녹용 약침액을 약침한 실험 II군으로 나누었다.

2. 방법

1) 골다공증유발

골다공증을 유발시키기 위하여 흰쥐 체중 100g 당 0.5ml의 chloral hydrate를 복강내에 주사하여 마취시킨 후, 전복벽의 복정중 절개선을 만들어 개복수술을 하여 양측 난관과 난소를 봉합사로 결찰한 후에 난소를 제거하였다. 그 후 복정중선을 봉합하고 염증치료를 위하여 항생제를 일주일간 주사하였다.

2) 약침액의 제조 및 투여방법

2군의 실험군 가운데 실험 I군은 홍화자 150g, 녹용 75g, 자하거 75g을 에테르 1000ml와 함께 냉각기가 부착된 플라스크에 넣어 mantle heater에서 4시간 동안 가열전탕한 후 여과지로 걸러 추출액을 얻었다. 이 추출액을 감압농축기를 이용하여 에테르를 제거한 후 100ml의 추출액을 얻었다. 이 추출액을 약침액으로 사용하여 흰쥐 체중 100g당 100 μ l를 60일간 2일에 1회씩 사탕에 있어서 족태양방광경 오장육부수혈에 해당하는 배부피하조직에 약침하였다.

실험 II군은 홍화자 150g, 녹용 75g을 혼합하여 실험 I군의 제조방법과 동일한 방법으로 제조하여

90ml의 추출액을 얻었다. 이 추출액을 약침액으로 사용하여 흰쥐 체중 100g당 100 μ l를 60일간 2일에 1회씩 사탕에 있어서 족태양방광경 오장육부수혈에 해당하는 배부피하조직에 약침하였다.

대조군에도 실험군과 동일한 실험적 조건을 만들기 위해서 체중 100g당 100 μ l의 생리식염수를 60일간 2일에 1회씩 실험군과 같은 부위에 약침하였다.

3) 골밀도(Bone mineral density) 측정

모든 군의 흰쥐는 실험을 시작하기 전과 실험이 종료된 후에 골밀도를 측정하였다. 실험시작전 모든 군의 흰쥐를 마취한 후 이중에너지 방사선 골밀도 측정기(Dual Energy X-ray Absorptiometry: DEXA)인 DPX- α (Lunar, U.S.A.)를 이용하여 한 마리씩 골반이하 뒷다리 및 꼬리의 골밀도를 측정하였다. 이후 대조군과 모든 실험군 흰쥐의 난소를 적출한 후 60일 이후부터 60일간 생리식염수와 2종류의 약침액을 각각 약침한 후, 다시 모든 군 흰쥐의 골반이하 뒷다리 및 꼬리의 골밀도를 측정하여 실험시작전의 측정치와 비교하였다. 골밀도 측정시 조건은 다음과 같다.

** Small Animal Total Body Acquisition **

| | | |
|------------------------|---------------|------------------|
| Mode | HiRes < 0.5Kg | Med |
| Voltage (kVp) | | 76.0 |
| Current (μ A) | | 150 |
| Collimation | | Fine |
| Sample Size | | 0.6 \times 1.2 |
| Sample Interval | | 1/32 |
| Scan Wide (mm)Manual | | 100 |
| Scan Length (mm)Manual | | 250 |
| Minutes | | 20 |
| mRem | | 0.24 |

4) 혈액채취 및 조직표본 제작

혈액의 채취는 실험이 종료된 후 모든 군의 흰쥐

를 마취시켜 심장에서 채혈하였다. 혈액은 실온에서 3시간 방치한 후 3,000r.p.m에서 15분간 냉장원심분리기를 이용하여 혈청을 분리하여 호르몬과 대사산물들을 측정하는데 이용하였다. 조직표본을 제작하기 위해서 희생시킨 흰쥐는 생리식염수로 관류방혈시킨 후 10% formalin 용액으로 30분간 관류고정시켰다. 그 후 좌측 경골의 근위골단과 골간부를 절취하여 12시간동안 후고정시켰다. 절취한 뼈를 탈회하기 위하여 formic acid-sodium citrate 방법에 의하여 9일간 탈회한 후 4시간 동안 수도물에 수세하여 통상적인 조직표본 제작방법에 의하여 파라핀 포매하여 7 μ m 두께의 longitudinal section과 transverse section을 하여 hematoxylin-eosin (H&E) 염색을 시행하여 관찰하였다.

5) 혈청내 호르몬과 대사산물 측정

(1) Osteocalcin 함량 측정

혈청내 osteocalcin 함량은 OSCA test Osteocalcin(BGP) Kit(BRAHMS, Germany)를 사용하여 Y-counter(COBRA 5010 Quantumn, U.S.A.)로 측정하였다.

(2) Bone alkaline phosphatase (BALP) 함량 측정

혈청내 Bone alkaline phosphatase 함량은 ALP Kit(BOEHRINGER MANNHEIM, Germany)을 사용하여 자동생화학분석기(HITACHI 747, Japan)로 측정하였다.

(3) Calcium 함량 측정

혈청내 Calcium 함량은 Ca Kit(BOEHRINGER MANNHEIM, Germany)를 사용하여 자동생화학분석기(HITACHI 747, Japan)로 측정하였다.

(4) Phosphorus 함량 측정

혈청내 Phosphorus 함량은 Phos Kit(BOEHRINGER MANNHEIM, Germany)를 사용하여 자동생화학분석기(HITACHI 747, Japan)로 측정

하였다.

6) 골조직내 골소주면적을 계측하는 방법

모든 군의 조직표본은 광학현미경과 영상분석기를 이용하여 경골근위부에 있는 골단부와 골간부의 해면골(sponge bone)에서 246 x 10⁴ μ m²의 면적내에 나타나는 골소주의 면적비율을 측정하였다. 각군당 35시야를 측정하여 그 평균을 자료로 이용하였다. 또한 각 표본의 경골골간부 중앙에서 횡으로 절단한 절단면 피질골의 두께(AB + CD)를 측정한 후 골직경(AD)으로 나누어 피질골 비후지수(cortical thickness index)를 구하여 상호비교하였다 (Fig. 1).



Fig. 1

Combined cortical thickness :AB+CD

AB + CD

$$\text{Cortical thickness index} = \frac{\text{AB + CD}}{\text{AD}}$$

7) 통계처리방법

Sham군과 대조군은 Student's t-test에 의하여 유의수준 P<0.05에서 비교하였고, 대조군 및 실험군들 간의 통계처리는 분산분석법에 의한 분산비(F-value)를 통하여 각 군사이 평균치 차이에 대

한 유의성 검정(P값 결정)후, $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan 검정법에 의하여 개별 비교하였다.

III. 성적

1. 체중의 변화

실험시작전과 종료후 각 군의 체중은 Sham군이 $196 \pm 17.0\text{g}$ 에서 $263.9 \pm 19.3\text{g}$ 으로 34.6% 증가하였고 대조군은 $197.2 \pm 13.9\text{g}$ 에서 $323.3 \pm 17.0\text{g}$ 으로 63.9% 증가하였다. 실험 I군은 $210.1 \pm 18.3\text{g}$ 에서 $313.2 \pm 15.6\text{g}$ 으로 49% 증가하였으며 실험 II군은 $201.6 \pm 12.2\text{g}$ 에서 $324.7 \pm 16.1\text{g}$ 으로 61.0% 증가하였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군과 Sham군은 유의성 있는 차이가 없었으며, 분산분석을 한 결과도 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 없었다.

2. 골반이하 뒷다리 및 꼬리의 골밀도(Bone mineral density) 변화

실험시작전과 종료후 각 군의 골반이하 뒷다리 및 꼬리의 골밀도변화는 Sham군이 $0.015 \pm 0.007\text{g/cm}^2$, 대조군이 $0.007 \pm 0.003\text{g/cm}^2$, 실험 I군이 $0.010 \pm 0.007\text{g/cm}^2$ 그리고 실험 II군이 $0.013 \pm 0.006\text{g/cm}^2$ 증가하였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군이 Sham군에 비해 유의성($P<0.05$) 있게 감소하였고, 분산분석을 한 결과는 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 1).

3. 경골 근위골단부 골소주면적비율

경골 근위골단부 골소주의 면적비율은 Sham군이 $55.76 \pm 4.46\%$, 대조군이 $34.39 \pm 2.37\%$, 실험 I군이 $39.53 \pm 5.31\%$ 그리고 실험 II군이 $45.79 \pm 5.52\%$ 였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군이 Sham군에 비해 유의성($P<0.001$) 있게 감소하였고, 분산분석을 한 결과는 대조군 및 실험군들 간에 유의성($P<0.001$) 있는 차이가 인정되어 Duncan 검정법으로 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간에는 유의성 있는 차이가 없었고 대조군과 실험 II군 간

Table 1. The effect of Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture on changes of bone mineral density of pelvis, post. limb & tail of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | Changes of BMD(g/cm ²) | Duncan Grouping |
|---------|----------------|------------------------------------|-----------------|
| Sham | 10 | $0.015 \pm 0.007^{1)}$ | |
| Control | 10 | $0.007 \pm 0.003^*$ | a |
| Exp. I | 10 | 0.010 ± 0.007 | a |
| Exp. II | 10 | 0.013 ± 0.006 | a |
| F-value | 2.203 | | |

1) Mean \pm Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture group

* : $P<0.05$: Statistically significant value by Student's t-test for the comparisons of sham group with control group.

및 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 있었다(Table 2). ± 6.15% 였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군이 Sham군에 비해 유의성(P<0.001) 있게 감소하였고, 분산분석을 한 결과는 대조군 및 실험군들 간에 유의성(P<0.05) 있는 차이가 인정되어 Duncan 검정법으로 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간 및 대조군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 있었

4. 경골 근위골간부 골소주면적비율

경골 근위골간부 골소주의 면적비율은 Sham군이 48.35 ± 7.00%, 대조군이 18.80 ± 8.28%, 실험 I군이 29.86 ± 8.82% 그리고 실험 II군이 28.76

Table 2. The effect of Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture on changes of trabecular area % in epiphysis of tibia of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | Trabecular Area(%) | Duncan Grouping |
|---------|----------------|--------------------|-----------------|
| Sham | 10 | 55.76 ± 4.461) | |
| Control | 10 | 34.39 ± 2.37*** | a |
| Exp. I | 10 | 39.53 ± 5.31 | a |
| Exp. II | 10 | 45.79 ± 5.52 | b |
| F-value | 10.647*** | | |

1) Mean ± Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture group

###: P<0.001 : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.

***: P<0.001 : Statistically significant value by Student's t-test for the comparisons of sham group with control group.

Table 3. The effect of Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture on changes of trabecular area % in diaphysis of tibia of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | Trabecular Area(%) | Duncan Grouping |
|---------|----------------|----------------------------|-----------------|
| Sham | 10 | 48.35 ± 7.00 ¹⁾ | |
| Control | 10 | 18.80 ± 8.28*** | a |
| Exp. I | 10 | 29.86 ± 8.82 | b |
| Exp. II | 10 | 28.76 ± 6.15 | b |
| F-value | 4.228* | | |

1) Mean ± Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture group

: P<0.05 : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.

***: P<0.001 : Statistically significant value by Student's t-test for the comparisons of sham group with control group.

고 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 없었다(Table 3).

과도 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 4).

5. 경골 골간부 피질골 비후지수

경골 골간부 중앙에서 측정된 피질골 비후지수는 Sham군이 0.382 ± 0.037, 대조군은 0.325 ± 0.042, 실험 I군이 0.373 ± 0.019 그리고 실험 II군이 0.351 ± 0.043 였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군과 Sham군은 유의성 있는 차이가 없었으며, 분산분석을 한 결

6. Osteocalcin 함량

혈청내 Osteocalcin의 함량은 sham군이 2.70 ± 0.27ng/ml, 대조군이 3.48 ± 0.40ng/ml, 실험 I군이 2.48 ± 0.35ng/ml 그리고 실험 II군이 3.07 ± 0.67ng/ml 였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군이 Sham군에 비해 유의성(P<0.01) 있게 증가하였으며, 분산

Table 4. The effect of Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture and Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu aquacupuncture on changes of the cortical thickness index in tibia of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | Cortical Thickness Index | Duncan Grouping |
|---------|----------------|-----------------------------|-----------------|
| Sham | 10 | 0.382 ± 0.037 ¹⁾ | |
| Control | 10 | 0.325 ± 0.042 | a |
| Exp. I | 10 | 0.373 ± 0.019 | a |
| Exp. II | 10 | 0.351 ± 0.043 | a |
| F-value | 2.173 | | |

1) Mean ± Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu aquacupuncture group

Table 5. The effect of Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture and Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu aquacupuncture on changes of serum osteocalcin of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | Osteocalcin(ng/ml) | Duncan Grouping |
|---------|--------------------|---------------------------|-----------------|
| Sham | 10 | 2.70 ± 0.27 ¹⁾ | |
| Control | 10 | 3.48 ± 0.40 ^{**} | b |
| Exp. I | 10 | 2.48 ± 0.35 | a |
| Exp. II | 10 | 3.07 ± 0.67 | ab |
| F-value | 6.188 [#] | | |

1) Mean ± Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomttrichum cornu aquacupuncture group

: P<0.05 : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.

** : P<0.01 : Statistically significant value by Student's t-test for the comparisons of sham group with control group.

분석을 한 결과는 대조군 및 실험군들 간에 유의성 (P<0.05) 있는 차이가 인정되어 Duncan 검정법으로 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간에는 유의성 있는 차이가 있었고, 대조군과 실험 II군 간 및 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 없었다(Table 5).

7. Bone alkaline phosphatase(BALP) 함량

혈청내 Bone alkaline phosphatase(BALP)의 함량은 Sham군이 30.13 ± 9.64IU/L, 대조군이 43.60 ± 5.03IU/L, 실험 I군이 29.33 ± 7.72IU/L 그리고 실험 II군이 30.43 ± 9.27IU/L

였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군이 Sham군에 비해 유의성(P<0.05) 있게 증가하였으며, 분산 분석을 한 결과도 대조군 및 실험군들 간에 유의성 (P<0.01) 있는 차이가 인정되어 Duncan 검정법으로 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간 및 대조군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 있었고 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 없었다(Table 6).

8. Calcium 함량

혈청내 Calcium의 함량은 Sham군이 10.53 ±

Table 6. The effect of Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture on changes of serum bone alkaline phosphatase(BALP) of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | BALP(IU/ℓ) | Duncan Grouping |
|---------|---------------------|----------------------------|-----------------|
| Sham | 10 | 30.13 ± 9.64 ¹⁾ | |
| Control | 10 | 43.60 ± 5.03* | b |
| Exp. I | 10 | 29.33 ± 7.72 | a |
| Exp. II | 10 | 30.43 ± 9.27 | a |
| F-value | 6.640 ^{##} | | |

1) Mean ± Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture group

: P<0.01 : Statistically significant value by the analysis of variance procedure.

* : P<0.05 : Statistically significant value by Student's t-test for the comparisons of sham group with control group.

Table 7. The effect of Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture on changes of serum calcium of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | Calcium(mg/dℓ) | Duncan Grouping |
|---------|----------------|----------------------------|-----------------|
| Sham | 10 | 10.53 ± 0.73 ¹⁾ | |
| Control | 10 | 9.85 ± 0.28 | a |
| Exp. I | 10 | 9.60 ± 0.56 | a |
| Exp. II | 10 | 10.07 ± 0.35 | a |
| F-value | 1.911 | | |

1) Mean ± Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomtotrichum cornu aquacupuncture group

0.73mg/dl, 대조군이 9.85 ± 0.28mg/dl, 실험 I군이 9.60 ± 0.56mg/dl 그리고 실험 II군이 10.07 ± 0.35mg/dl 였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군과 Sham군은 유의성 있는 차이가 없었으며, 분산분석을 한 결과도 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 7).

9. Phosphorus 함량

혈청내 Phosphorus의 함량은 Sham군이 5.88 ± 0.61mg/dl, 대조군이 6.12 ± 0.57mg/dl, 실험 I군이 5.52 ± 0.55mg/dl 그리고 실험 II군이 6.00 ± 0.88mg/dl 였다.

Student's t-test를 한 결과, 대조군과 Sham군은 유의성 있는 차이가 없었으며, 분산분석을 한 결과도 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 8).

IV.고찰

골다공증은 골의 화학적 조성에는 변화가 없고

단위용적내 골질량의 감소를 초래하여 경미한 충격에도 쉽게 골절을 일으킬 수 있는 질환으로, 이로 인해 심각한 신체적, 정신적 손상과 개인 및 사회경제적 손실을 가져올 수 있어 임상적으로 중요하게 취급된다¹²⁾.

골다공증의 발생기전은 아직까지 명확히 밝혀지지 않았으며, 그 원인에 따라 많은 차이가 있겠지만 일반적으로 골격이 성장기를 거치고 성숙되어서 장년기 이후 골소실이 시작되기 전에 도달한 최대골량을 결정하는 인자들과 연령의 증가에 따른 골소실의 정도를 결정짓는 인자들 간의 불균형에 의해서 유발된다고 할 수 있는데, 최대골량의 형성에 가장 중요한 요인은 유전적 요소이며, 골소실의 가장 중요한 요인은 estrogen의 결핍이다⁵⁾.

골다공증은 발생원인에 따라 속발성 골다공증과 원발성 골다공증으로 대별할 수 있으며, 원발성 골다공증은 다시 연소기 골다공증, 특발성 골다공증 및 퇴행성 골다공증으로 분류할 수 있다. 또한 Riggs와 Melton은 퇴행성 골다공증을 제 1형 폐경후 골다공증과 제 2형 노인성 골다공증으로 분류하였는데, 제 1형 폐경후 골다공증은 해면골의 감소와 척추의 압박골절을 특징으로 하며 50~65세 사이

Table 8. The effect of Carthami semen · Cervi pomotrichum cornu · Hominis placenta aqua-acupuncture and Carthami semen · Cervi pomotrichum cornu aqua-acupuncture on changes of serum Phosphorus of ovariectomized rats.

| Group | No. of Animals | Phosphorus(mg/dl) | Duncan Grouping |
|---------|----------------|---------------------------|-----------------|
| Sham | 10 | 5.88 ± 0.61 ¹⁾ | |
| Control | 10 | 6.12 ± 0.57 | a |
| Exp. I | 10 | 5.52 ± 0.55 | a |
| Exp. II | 10 | 6.00 ± 0.88 | a |
| F-value | 1.302 | | |

1) Mean ± Standard Deviation of 10 rats

Sham : Sham operated and saline administration group

Control : Ovariectomized and saline aquacupuncture group

Exp. I : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomotrichum cornu · Hominis placenta aquacupuncture group

Exp. II : Ovariectomized and Carthami semen · Cervi pomotrichum cornu aquacupuncture group

의 여성에게서 주로 나타나는 반면에 제 2형 노인성 골다공증은 70세 이상의 남녀에게서 모두 볼 수 있는 경우로 대퇴골경부골절이 특징적으로 많이 발생한다^{5,13)}.

골다공증의 치료에는 골흡수를 억제시키고 골형성을 촉진시켜 골질량을 증가시키는 약물인 estragen, calcitonin, calcium, vitamin D, sodium fluoride, biphosphonates 등이 사용되나 미국 식품의약국(F.D.A.)으로부터 공인된 골다공증 치료제는 estrogen과 calcitonin뿐이다¹⁴⁾. 이중에서도 폐경후 골다공증의 대표적 치료제인 estrogen은 골다공증의 예방치료효과뿐만 아니라 폐경후 여성들의 관상동맥질환에 의한 사망율을 감소시키는 등의 이점이 있기도 하여 여성 골다공증 환자의 치료에 가장 많이 사용되어지고 있다^{6,15)}. 그러나 estrogen은 유방암의 위험을 증가시키고 불규칙적인 출혈을 유발하므로 의사와 환자 모두가 사용을 꺼리고 있다¹⁴⁾. 더구나 호르몬 대체요법 단독으로는 이미 진행된 골질량의 감소가 있는 경우 그 회복에 한계가 있어 고령의 폐경기 여성 치료에 문제점을 나타내기도 한다¹⁶⁾. 그러므로 효과가 좋으면서도 부작용이 없는 약물개발을 위한 노력이 한약재를 대상으로 많이 이루어지고 있다.

《黃帝內經》⁷⁾에서 “腎主骨”, “腎生骨髓”, “腎者水也而生於骨 腎不生則髓不能滿”, “腎主身之骨髓”, “腎者主蟄 封藏之本 精之處也 其華在髮 其充在骨”, “腎藏精”, “人始生 先成精 精成而腦髓生”이라 하여 뼈와 뼈를 주관하는 臟器는 腎으로서 腎은 精을 藏하고 精은 髓를 生하며 髓는 骨을 滋養시킨다고 하였고, 腎精이 充實하면 髓가 充盛하고 骨格 또한 生長이 堅實하게 되며 腎精이 虛少하면 骨髓化源이 不足하게 되고 骨格을 滋養할 수 없게 되어 骨髓는 脆弱 또는 無力해진다고 하였다. 또한 “腎氣熱則腰脊不舉 骨枯而髓減 發爲骨痿”, “有所遠行勞倦 逢大熱而渴 渴則陽氣內伏 內伏則熱邪于腎 腎者水臟也

今水不勝火則骨枯而髓減 故足不任身 發爲骨痿也 故下經曰 骨痿者 生於大熱也”, “病在骨 骨重不可舉 骨髓酸痛 寒氣至 名曰骨痺”라 하여 腎氣가 熱하거나 大熱을 만나 骨枯而髓減하게 되면 骨痿가 되고 寒氣가 侵入하여 骨髓酸痛하면 骨痺가 된다고 하였다. 또한 “七七任脈虛 太衝脈衰少 天癸竭 地道不通 故形壞而無子也”라고 하여 여성들은 폐경기에 氣血이 虛해져 골다공증에 노출되기 쉬움을 언급해 놓았다.

흰쥐에서 실험적으로 골다공증을 유발한 것은 Saville¹⁷⁾이 처음이며, Lis Mosekilde 등¹⁸⁾은 난소 절제한 흰쥐에서 골소주의 부피가 감소하고 척추골의 골기질이 감소한다고 하였고, Bagi 등¹⁹⁾과 Thomsen 등²⁰⁾은 난소를 적출한 흰쥐의 대퇴골에서 다수의 천공이 인정된다고 하였다. 또한 Erben 등²¹⁾은 흰쥐에서 난소절제후 약 2~4주에 골다공증이 유발되고 이 때 조직학적으로 골의 구조가 파괴된다고 하였고, 김²²⁾은 난소적출후 4주에서 유의하게 골질량의 감소가 일어나고 8주에는 더욱 골질량이 감소한다고 하였다. 이에 저자도 골다공증을 유발시키기 위해 흰쥐의 난소를 적출하여 8주동안 실험실에서 사육한 후에 실험을 시작하였다. 한편 Kalu 등²³⁾과 Yeh 등²⁴⁾에 의하면 이러한 난소적출은 흰쥐에 있어서 주상골의 골아세포와 파골세포의 수를 증가시키는데 파골세포의 활동성이 골아세포의 활동성보다 증가하여 골질량을 감소시키며, 혈청내 골교체율의 지표인 osteocalcin, calcium, alkaline phosphatase 등의 상승을 가져온다고 하였다.

본 실험에 이용된 약재는 홍화자, 녹용 및 자하거로서 紅花子は 민간에서 骨折등의 골질환에 많이 사용하고 있는 약재로서 活血解毒의 효능이 있어 痘出不快, 婦女血氣瘀滯腹痛을 치료하고²⁵⁻²⁶⁾, 鹿茸은 甘, 鹹, 溫, 無毒하고 強筋骨, 生精髓, 壯元陽의 효능이 있어 元氣不足, 畏寒乏力, 四肢痿軟, 腰痛, 陰痿을 治療하며²⁷⁾, 紫河車는 甘, 鹹, 溫, 無毒하고

益氣養血, 補精의 효능이 있어 一切虛損, 勞極, 骨蒸羸弱咳嗽, 婦人慢性衰弱證 등을 치료한다²⁷⁾고 하였는데, 張 等¹¹⁾은 골다공증에 대한 실험적 연구에서 이 세가지 약재 모두가 유의성 있는 효과가 있다고 하였다.

골다공증은 임상적으로 볼 때 허리를 비롯한 脊背部와 四肢의 痛症 및 骨折을 나타내는 경우가 많아 鍼治療時 五臟六腑俞穴을 많이 사용하게 되는데 이러한 五臟六腑俞穴은 所屬臟腑의 질병과 遺尿 및 腰背, 臀, 下肢後面部 疼痛을 主治한다²⁸⁾고 하였다.

이러한 약물의 효과와 침의 효과를 결합시킨 약침요법은 경락학설의 원리에 근거하여 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료하는 新鍼療法²⁸⁾으로서 한약재의 동물실험에 유용하게 사용되어지고 있다.

이에 저자는 이들 약재를 혼합하여 제조한 약침액을 골다공증이 유발된 흰쥐에 투여하여 그 효과를 알아보고자 본 연구를 실시하였다. 본 연구에서 저자는 흰쥐의 난소를 적출하여 estrogen 결핍성 골다공증을 유발한 후, 실험 I군은 홍화자·녹용·자하거 약침액을, 실험 II군은 홍화자·녹용 약침액을 인체에 있어서 족태양방광경의 오장육부수혈에 상응하는 흰쥐의 배부피하조직에 60일동안 2일에 1회씩 약침하였다. 그 후 흰쥐의 체중변화, 골밀도의 변화, 경골의 조직학적 변화 및 혈청내 osteocalcin, BALP, calcium, phosphorus의 함량을 관찰하였다.

Kalu 등²³⁾과 Yeh 등²⁴⁾에 의하면 난소적출한 쥐의 체중은 증가하는데 난소적출한 쥐에게 35일간 estrogen을 투여하면 쥐의 체중은 정상군과 같거나 그 이하의 체중을 유지케 한다고 하였다.

본 실험에서도 시작전과 종료후 각 군의 체중을 비교하였더니 대조군은 Sham군에 비하여 증가하였으나 유의성 있는 차이가 없었으며 대조군 및 실험군들 간에도 유의성 있는 차이가 없었다.

골밀도 측정에는 정확도와 정밀도가 좋고 측정시간이 짧으며 적은 방사선 조사량을 사용하여 안전한 이중에너지 방사선 골밀도 측정기(Dual Energy X-ray Absorptiometry: DEXA)가 현재 가장 많이 사용되어지고 있다⁵⁻⁶⁾. 이에 본 실험에서도 이중에너지 방사선 골밀도 측정기의 일종인 DPX- α (Lunar, U.S.A.)를 이용하여 골밀도를 측정하였다.

본 실험에서 실험시작전과 종료후 각 군의 골반 이하 뒷다리 및 꼬리의 골밀도는 대조군이 Sham군에 비해 유의성 있게 감소하였으나 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이는 인정되지 않았다 (Table 1).

경골 근위골단부와 골간부 골소주조직 모두에서 Sham군은 골기질이 치밀하게 관찰되어 골세포 (osteocyte)사이의 빈 공간이 관찰되지 않았으나 대조군은 골에서 calcium이 빠져나가 골기질에 다수의 구멍이 관찰되었고, Harversian관의 확장도 관찰되어 이전의 보고들^{19-20,29-30)}과 일치하였다.

본 실험에서 경골 근위골단부 골소주 면적비율은 대조군이 Sham군에 비해 유의성 있게 감소하였으며 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 인정되어 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간에는 유의성 있는 차이가 없었으나 대조군과 실험 II군 간 및 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 있었다 (Table 2). 그러므로 본 실험에서 시행한 난소적출술은 의의가 있었으며, 홍화자·녹용 약침액이 경골 근위골단부 골소주 면적을 유지 또는 증가시키는데 효과가 있음을 알 수 있었다.

본 실험에서 경골 근위골간부 골소주 면적비율은 대조군이 Sham군에 비해 유의성 있게 감소하였으며 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 인정되어 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간 및 대조군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 있었으나 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 없었다 (Table 3). 그러므로 본 실험에서도

난소적출술은 의의가 있었으며, 홍화자·녹용·자하거 약침액과 홍화자·녹용 약침액은 경골 근위골간부 골소주 면적을 유지 또는 증가시키는데 효과가 있음을 알 수 있었다.

골다공증에 있어서 해면골, 골내막(endosteum) 표면의 피질골, 피질내골을 포함한 골의 소실은 수질량(medullary capacity)을 크게 하고 피질을 얇게 한다. 반면에 골막에서의 골형성은 느린 비율로 계속되므로 골의 직경은 감소하지 않고 골막표면은 매끄러운 구조를 유지한다¹⁾.

본 실험에서도 경골 골간부 중앙에서 측정된 피질골 비후지수는 대조군이 Sham군에 비해 감소하였으나 유의성 있는 차이가 없었으며 대조군 및 실험군들 간에도 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 4).

Osteocalcin은 calcium과 결합하는 Vitamin K 의존성 α -carboxy glutamic acid 단백질로서³¹⁾ bone gla protein(BGP)이라고도 하며 골과 상아질에 특이적으로 존재한다³²⁾. 또한 Osteocalcin은 골아세포에 의해 생성되는데³³⁾ 일부는 골기질에 축적되고 일부는 혈액속으로 방출된다³⁴⁾. 그런데 골재형성시에는 골아세포의 활성이 증가하여 혈청내 osteocalcin 농도가 높아지므로³⁵⁾ 골생성의 지표로 이용할 수 있다^{33,36)}.

본 실험에서도 혈청내 osteocalcin 함량은 대조군이 Sham군에 비해 유의성 있게 증가를 하여 이전의 연구들^{33,36)}과 일치하였으며 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 인정되었는데 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간에는 유의성 있는 차이가 있었으나 대조군과 실험 II군 간 및 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 없었다(Table 5). 그러므로 본 실험에서도 난소적출술은 의의가 있었으며 녹용·홍화자·자하거 약침액은 혈청내 osteocalcin의 증가 억제에 효과가 있음을 알 수 있었다.

Alkaline phosphatase는 골아세포 외측 세포막에 proteoglycanositol 결합으로 고정³⁷⁾되어 있는데 골아세포가 골형성을 하는 동안 생성되어 그 중의 일부가 혈중에 분비되며³⁸⁻³⁹⁾ 갑상선 기능항진증, 부갑상선 기능항진증, 선단거대증 등으로 인하여 골대사율이 높을 때, 즉 골흡수와 함께 골재형성이 활발할 때 농도가 증가³⁹⁾되는 골재형성 활동의 유용한 지표이다³⁵⁾.

본 실험에서 혈청내 BALP 함량은 대조군이 Sham군에 비해 유의성 있게 증가하였으며, 대조군 및 실험군들 간에도 유의성 있는 차이가 인정되어 개별 비교한 결과, 대조군과 실험 I군 간 및 대조군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 있었으나 실험 I군과 실험 II군 간에는 유의성 있는 차이가 없었다(Table 6). 그러므로 본 실험에서도 난소적출술은 의의가 있었으며 홍화자·녹용·자하거 약침액과 홍화자·녹용 약침액은 모두 BALP의 증가 억제에 효과가 있음을 알 수 있었다.

정상 성인의 체내에는 약 1~2kg의 calcium이 존재하는데 이 가운데 98% 이상이 골격내에 있으며 나머지는 다른 세포와 세포외액에 존재하면서 많은 호르몬이 작용하는 calcium 대사를 통해 체내 항상성을 유지하고 있다¹⁾. 그러므로 성호르몬이 부족한 노인과 폐경후 여성에게서 calcium 흡수가 저하됨에도 불구하고 혈청내 calcium 농도가 정상인 것은 골흡수를 증가시켜 세포외액의 calcium 부족을 방지하려는 생체작용 때문이다^{1,40)}. 한편 Yeh 등²⁴⁾은 난소적출로 인한 골교체율의 증가가 골질감소를 초래하여 혈청내 calcium 농도의 증가를 가져온다고 하였다.

본 실험에서 혈청내 calcium 함량은 대조군과 Sham군 간에 유의성 있는 차이가 없었으며 대조군 및 실험군들 간에도 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 7).

Phosphorus는 성인 체내에 1kg정도 존재하는데

85%가 골격에 존재하면서 체내 거의 모든 대사과정에 관여^{1,40)}하며, 폐경후 여성에서는 정상 성인에 비해 약간의 증가가 일어난다¹⁾.

본 실험에서 혈청내 Phosphorus 함량은 대조군과 Sham군 간에 유의성 있는 차이가 없었으며 대조군 및 실험군들 간에도 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다(Table 8).

골다공증은 노화의 과정에서 발생하는 성인병으로서 현재까지는 특별한 치료제가 없으므로 예방이 최선의 치료법이라고 할 수 있다. 따라서 규칙적인 운동과 고 calcium 식이를 하면서 골다공증에 효과가 있는 안전한 약물을 꾸준히 복용하는 것이 최선의 방법이다.

V. 결론

본 실험에서 흰쥐의 난소를 적출하여 estrogen 결핍성 골다공증을 유발시킨 후, 실험 I군에는 홍화자·녹용·자하거 약침액을, 실험 II군에는 홍화자·녹용 약침액을 족태양방광경의 오장육부수혈에 약침한 후, 체중의 변화, 골밀도의 변화, 경골의 조직학적 변화 및 혈청내 osteocalcin, BALP, calcium, phosphorus의 함량을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 골밀도변화는 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 없었다.

2. 경골 근위골단부 골소주 면적비율은 대조군과 실험 II군 간 및 실험 I군과 실험 II군 간에서 有意性 있는 차이가 있었으며, 경골 근위골단부 골소주 면적비율은 대조군과 실험 I군 간 및 대조군과 실험 II군 간에서 유의성 있는 차이가 있었다.

3. 경골 골간부 피질골 비후지수는 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 없었다.

4. 혈청내 osteocalcin 함량은 대조군과 실험 I군 간에서 유의성 있는 차이가 있었다.

5. 혈청내 BALP 함량은 대조군과 실험 I군 간 및 대조군과 실험 II군 간에서 유의성 있는 차이가 있었다.

6. 혈청내 calcium, phosphorus 함량은 대조군 및 실험군들 간에 유의성 있는 차이가 없었다.

이상에서 본 실험에 사용된 홍화자·녹용·자하거 약침과 홍화자·녹용 약침은 난소적출로 유발된 골다공증에 일정한 효과가 있음을 알 수 있었다.

VI. 참고문헌

1. 해리슨 번역 편찬위원회. Harrison's 내과학. 서울:도서출판 정담. 1997:2312~3, 2342~3.
2. Concensus development conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. Am J Med. 1993;94: 64 6~50.
3. 민용기, 정호연, 장학철, 한인권. 이중에너지 방사선 흡수계측기로 측정된 한국인 여성의 측면요추골밀도. 대한골대사학회지. 1994;1 (1):70~6.
4. 고석봉, 이광희, 곽양수, 이두진, 박윤기, 이승호. 폐경기 증상과 양측 난소제거술이 골밀도에 미치는 영향. 대한산부인과학회지. 1994 ;37(10): 2037~46.

5. 문명상, 최영길, 장준섭, 나수균, 김광원. 골다공증(골조송증). 서울:최신의학사. 1997:1, 27~9, 32~7, 52~6.
6. 변영순, 신공범. 골다공증이란 무엇인가. 서울:도서출판 정담. 1997:15~20, 43~5, 49~50, 70~3.
7. 楊維傑. 黃帝內經譯解. 서울:成輔社. 1980:素問 6, 52, 90, 210, 269, 337, 338, 340, 399, 靈樞 89, 104.
8. 梁熙台, 張竣赫, 金甲成. 鍼灸刺戟이 卵巢摘出 흰쥐의 女性 Hormon과 脂質 및 骨代謝에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1997;14(1): 313~33.
9. 田宰官. 뜸이 卵巢摘出된 흰쥐의 骨多孔症에 미치는 影響. 慶山大學校 大學院 博士學位論文. 1999.
10. 沈相度. 鹿茸이 卵巢摘出로 誘發된 흰쥐의 骨多孔症에 미치는 影響. 慶熙大學校大學院 博士學位論文. 1998.
11. 張秀鎮, 李昌炫, 陸泰翰. 紫河車·鹿茸·紅花子 藥針液이 卵巢摘出로 骨多孔症을 誘導한 흰쥐에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1998 ;19(1):5~18.
12. 박형무, 서대원, 허민. 한국여성의 요추 골밀도(정량적전산화단층촬영에 의한 평가). 대한골대사학회지. 1994;1(1):61~9.
13. Riggs BL, Melton LJ III. Evidence for two distinct syndromes involuntional osteoporosis. Am J Med. 1983;75 (6):899~901.
14. 조수현. 폐경과 골다공증. 대한의학협회지. 1995;35(5):587~98.
15. 대한일차의료학회 갱년기연구회. 갱년기 치료의 실제. 서울:한국의학. 1995:6.
16. 김정구, 이미리, 박창수, 김석현, 최영민, 신창재, 문신용, 장윤석, 이진용. 폐경후 여성에서 Ipriflavone의 골밀도 및 골대사에 미치는 영향에 관한 연구. 대한산부인과학회지. 1995;38(7):1244~52.
17. Saville PD. Changes in skeletal mass and fragility with castration in the rat: A model of osteoporosis. J Am Geriatr Soc. 1969;17(2):155~66.
18. Mosekilde L, Danielsen CC, Knudsen UB. The effect of aging and ovariectomy on the vertebral bone mass and biomechanical properties of mature rats. Bone. 1993;14(1):1~6.
19. Bagi CM, Ammann P, Rizzoli R, Miller SC. Effect of estrogen deficiency on cancellous and cortical bone structure and strength of the femoral neck in rats. Calcif Tissue Int. 1997;61(4) :336~44.
20. Thomsen JS, Mosekilde L, Boyce RW, Mosekilde E. Stochastic simulation of vertebral trabecular bone remodeling. Bone. 1994;15(6):655~66.
21. Erben RG, Harti G, Graf H. Ovariectomy does not alter CD4+/CD8+ ratio in peripheral blood T-lymphocytes in the rat. Horm Metab Res. 1998;30(1):50~4.
22. 김광명. 난소적출후 유발된 흰쥐의 골다공증에서 Estradiol의 효과에 관한 골소주의 형태계측학적 연구. 중앙대학교대학원 박사학위논문. 1996.
23. Dike N, Kalu, Bahram H, Arjmandi, Chung-Ching Liu, Mohammed A. Salih, Roger S. Birnbaum. Effects of ovariectomy and estrogen on the serum

- levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3. *Bone and Mineral*. 1994; 25:135~48.
24. James K. Yeh, John F. Aloia, Maria-Louise Barilla. Effects of 17β -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bones of the ovariectomized rat. *Bone and Mineral*. 1994;24:223~34.
25. 金一勳. 神藥. 서울:廣濟院. 1991:83~4.
26. 高本釗. 新編中藥大辭典. 臺北:新文豐出版公司. 1982:1318~19.
27. 辛民教. 原色臨床本草學. 서울:南山堂. 1986: 189~190.
28. 전국한의과대학 침구·경혈학교실. 鍼灸學. 서울:集文堂. 1991:459~466, 1457.
29. Giardino R, Fini M, Nicoli-Aldini N, Gnudi S, Biagini G, Gandolfi MG, Mongiorgi R. Effects of synthetic salmon calcitonin and alendronate on bone quality in ovariectomized rats. *Minerva Med*. 1997;88(11):469~77.
30. Sarma U, Edwards M, Motoyosi K, Flanagan AM. Inhibition of bone resorption by 17β -estadiol in human bone marrow cultures. *J Cell Physiol*. 1998;175:99~108.
31. 대한병리학회. 병리학. 서울:고문사. 1990 : 1134~44.
32. 문기현 외. 폐경후 골다공증에서 생화학적 골대사지표. *대한재활의학회지*. 1998;22(1) :93~9.
33. 한인권, 박원근, 최태환, 신현호, 김선우. 한국인 갱년기 여성의 골밀도 및 호르몬 변화에 관한 연구. *대한내분비학회지*. 1989 ;4(1):21~8.
34. Price PA, Parthermore JG, Doftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. *J Clin Invest*. 1980:66 (5):878~83.
35. Morris Notelovitz. Osteoporosis: screening, prevention, and management. *Fertility and Sterility*. 1993;59(4): 707~25.
36. 유명철, 한정수. 골조송증을 동반하는 골질환 및 골전이암에 대한 혈청 osteocalcin의 방사면역학적 연구. *대한정형외과학회지*. 1988;23(2):600~10.
37. Farley JR, Hall SL, Tanner MA, Wergedal JE. Specific activity of skeletal Alkaline Phosphatase in human osteoblast line cells regulated by phosphate, phosphate esters, and phosphate analogs and release of Alkaline Phosphatase activity inversely regulated by calcium. *J Bone Miner Res*. 1994;9(4):497~508.
38. Rodan GA. Introduction to bone biology. *Bone*. 1992;13:S3~6.
39. Garnero P, Delmas PD. Assessment of the serum level of bone Alkaline Phosphatase with a new immunoradimetric assay in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993; 77(4):1046~53.
40. 강세윤 외. 오늘의 진단 및 치료(Current Medical Diagnosis & Treatment). 서울: 도서출판 한우리. 1999:1218, 1295~6.