

金雀根이 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향

*세명대학교 한의과 대학 부인과학 교실, **병리학 교실
*황정선, *김형준, *이동녕, **서일복

ABSTRACT

Effects of Caraganae Sinicae Radix on the osteoporosis in ovariectomized rats

*Jeong-Seon Hwang, *Hyung-Jun Kim, *Dong-Nyoung Lee, **Il-Bok Seo

*Department of Gynecology, College of Oriental Medicine, Semyung Univ.

**Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Semyung Univ.

Objective : This study was carried out to investigate the effects of the hormones and cytokines associated with bone metabolism in ovariectomized rats.

Method : Twenty-four Female Sprague-Dawley rats were divided into sham operated(normal) group, ovariectomized(control)group,

ovariectomized and treated with extract Caraganae Sinicae Radix(treated) group.

Each group was investigated the changes of body weight at 3,5,7weeks after treatment, and femur weight, femur/body weight, thickness of compact bone of body of femur, area of cancellous bone of distal epiphysis of femur, serum estrogen, serum calcitonin, serum parathormone, serum Tumor Necrosis Factor- α , serum Interleukin- 1β at 7weeks after treatment.

The results were summerized as follows;

1. The treated group showed significant change in body weight compared with the control group at 5,7weeks after treatment.
2. The treated group revealed significant increases in femur/body weight compared with the control group.

3. The treated group showed a little thicker compact bone of body of femur than the control group.
4. The area of cancellous bone of distal epiphysis of femur in treated group was increased significantly compared with control group.
5. The level of serum estrogen showed no change compared with control group.
6. The level of serum calcitonin showed no change compared with control group.
7. The level of serum parathormone was decreased in treated group significantly compared with control group.
8. The level of serum TNF- α was decreased in treated group significantly compared with control group.
9. The level of serum interleukin-1 β showed no change compared with control group.

The results indicate that *Caraganae Sinicae Radix* inhibits bones resorption in ovariectomized rats by it's lowering effects on serum parathormone and TNF- α .

Key Words : *Caraganae Sinicae Radix*, Osteoporosis, parathormone, TNF- α

I. 서론

骨多孔症은 골형성의 감소와 골흡수의 증가로 골질량의 감소를 일으키고 골조직을 약화시켜 일상생활에서 경험하는 조그만 충격에도 쉽게 골절을 일으키는 가장 흔한 대사성 골질환이다^{1,3)}.

골다공증은 그 발생기전에 따라서 원발성 및 속발성 골다공증으로 분류되며, 원발성 골다공증은 폐경후 골질량이 급속히 감소되면서 나타나는 閉經後性 骨多孔症과 70세 이후의 노년기에서 골질량이 서서히 감소되면서 나타나는 노인성 골다공증으로 분류된다^{1,2)}.

골다공증의 예방 및 치료의 최종 목표는骨折의 예방에 있으며, 골다공증이 이미 진행된

경우에는 원상회복이 거의 불가능하므로 충분한 영양과 규칙적인 운동, 금연, 금주 등을 통한 예방이 최고의 대책으로 알려져 있다^{4,5)}. 현재 서양의학에서 골다공증에 대하여 여러 가지 치료제 및 예방약물들이 개발되어 쓰이고 있으나 그 효과는 만족스럽지 못한 실정이다. 또한 지속적인 약물치료는 자궁내막암이나 유방암 등 여러 가지 부작용을 일으킬 수도 있다⁴⁾.

한의학에서는 人身의 骨은 腎精으로부터 생성되고 髓의 滋養을 받아 기능을 발휘한다고 인식하였으며, 골다공증이라는 병명은 없으나 《素問》⁶⁾ 《靈樞》⁷⁾의 ‘骨痿’, ‘骨痺’, ‘骨枯’ 등의 표현에서 골다공증과 유사한 증상을 찾아볼 수 있다. 특히 《素問·上古天眞論》⁶⁾의 “女子……七七任脈虛, 太衝脈衰少, 天癸竭, 地道不通, 故形壞而無子也.”의 내용은 폐경후 골다

공증과 매우 유사한 개념이라고 볼 수 있다. 이에 한의학계에서는 주로 補腎 強筋骨하는 牛膝⁸⁾, 杜冲⁹⁾, 續斷¹⁰⁾, 骨碎補¹¹⁾ 등의 약물과 大營煎¹²⁾, 大補元煎¹³⁾, 左歸丸¹⁴⁾ 등의 방제가 골다공증에 미치는 영향에 대한 연구가 진행되어 오고 있다. 저자는 本草藥名 중에 약물의 효능을 내포하는 명칭, 즉 '골을 담당하는 약초'라는 뜻의 骨擔草라는 異名을 갖는 金雀根이 골다공증에 有效할 것으로 예상되었다. 이에 본 실험에서는 금작근을 난소적출로 유발된 폐경후성 골다공증 모형의 흰쥐에 투여하여 폐경기 이후에 발생하는 골다공증에 어떠한 효과를 나타내는지 알아보기 위하여 형태계측학적 검사를 통하여 그 효과를 확인하고 폐경후 골다공증을 유발하는 직접적인 원인으로 알려진 TNF- α , IL-1 및 IL-6 등의 cytokine과 골 대사에 관련된 호르몬인 calcitonin과 parathormone의 변화를 관찰하여 金雀根이 폐경후성 골다공증에 미치는 효과에 대하여 몇 가지 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

체중 150g 내외의 SPF female Sprague-Dawley rat 24마리를 대한바이오링크(주)에서 구입하여 온도 23±1°C, 습도 55±5%로 조정된 항온항습사육장치(대중기기상사, 한국)내에서 2주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 사료(제일제당, 한국)와 음수는 자유 섭취케 하였다.

2. 한약제 및 검액의 제조

실험에 사용된 금작근(골담초)은 시중에서 구입하여 염선하여 사용하였으며, 금작근 50g을 1,000ml의 증류수에 1시간 동안 침지시킨 후, 2시간 30분 동안 전탕하였다. 전탕액을 여과포로 여과한 후, 감압농축기(EYELA, NE-10

01, Japan)를 이용하여 200ml로 농축하였으며, 농축액 1ml을 1회 경구투여량으로 하였다.

3. 난소적출술 및 실험군의 분류

16마리의 흰쥐를 10% chloral hydrate 용액 0.6ml을 복강내 주사하여 마취시킨 상태에서 개복수술하여 양쪽 난소를 적출하였으며, 한군당 8마리씩 대조군(control group) 및 실험군(treated group)에 배정하였다. 8마리는 난소를 적출하지 않고 단순히 개복술만을 시행하여 정상군(normal group)에 배정하였다. 개복수술 일주일 후를 실험개시일로 하여, 정상군 및 대조군에는 증류수 1ml를, 실험군에는 감압농축액 1ml를 1일 1회 7주간 경구투여 하였다.

4. 형태계측학적 검사

1) 체중 측정

실험개시일, 실험 후 3주, 5주, 7주(실험종료일) 쯤에 모든 개체의 체중을 측정하였다.

2) 대퇴골 무게 및 대퇴골/체중 비의 측정

실험종료일에 모든 개체의 양쪽 대퇴골을 적출하고 주위 결합조직을 깨끗하게 정리한 후 각각의 무게를 측정하였고 그 평균무게를 구하였으며, 이를 체중 비로 환산하였다.

3) 대퇴골의 병리조직학적 관찰 및 치밀골 두께와 해면골 면적 측정

실험종료일에 적출한 우측 대퇴골을 10% 중성 포르마린 용액에 1일간 고정한 후, 20% formic acid에 침지시켜 3일간 탈회하였다. 탈회된 대퇴골을 24시간 수세한 후, 대퇴골체 중앙 부위에서 대퇴골 원위단까지의 종단면의 절편을 만들고, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매한 후 5 μ m의 박절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시한 후 광학현미경으로 대퇴골체의 치밀골(compact bone) 및 대퇴골 원위 골단(epiphysis)에서의 해면골(cancellous bone)의 상태를 관찰하였다.

대퇴골체 중앙 부위에서의 치밀골 두께 및 대퇴골 원위 골단에서의 해면골의 면적을 칼라

영상분석기(Media Cybernetics, Image-Pro Plus, USA)를 이용하여 측정하였다. 치밀골의 두께는 절단된 대퇴골체의 중앙에서 원위부 0.5cm 이내의 범위에서 4 곳을 측정하여(Fig. 1) 그 평균 값으로 표시하였고, 해면골의 면적은 원위 골단에서의 성장판(epiphyseal plate) 아래의 2차 골화중심(ossification center) 주변의 해면골만을 대상으로 하여 측정하였다(Fig. 2, 3, 4).

5. 혈청학적 검사

실험종료일에 ether 마취 하에 모든 개체로부터 심장채혈하고 3,000rpm에서 20분간 원심하여 혈청을 분리하였으며, 분석 전까지는 -60°C에서 보관하였다.

1) 혈중 estrogen 함량 측정

혈중 total estrogen 함량은 radioimmuno assay(RIA)법으로 gamma counter(RIAMAT 280, USA)를 이용하여 측정하였다. 측정용 시약으로는 total-estrogen(ICN, USA)을 사용하였다.

2) 혈중 calcitonin 함량 측정

혈중 calcitonin 함량은 immunoradiometric assay(IRMA)법으로 gamma counter(COBRA-II gamma-Counter, USA)를 이용하여 측정하였다. 측정용 시약으로는 Biosource CT-US I RMA(Boisource, USA)를 사용하였다.

3) 혈중 parathormone 함량 측정

혈중 parathormone 함량은 immunoradiometric assay(IRMA)법으로 gamma counter

(COBRA-II gamma-Counter, USA)를 하여 측정하였다. 측정용 시약으로는 Coat-A-C

ount intact PTH IRMA(DPC, USA)를 사용하였다.

4) 혈중 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 함량 측정

혈중 TNF- α 함량은 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA) kit(Endogen, US

A)를 이용하여 측정하였다. 표준액 및 검액은 1시간, biotinylated antibody reagent는 2시간, streptavidin-HRP solution은 30분간, TMB substrate solution을 30분간 반응시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA reader (Molecular Devices, E10514, USA)로 450nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준액의 흡광도로부터 회귀방정식을 구한 후, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 TNF- α 의 농도를 구하였다.

5) 혈중 interleukin 1- β (IL-1 β) 함량 측정

혈중 IL-1 β 함량은 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA) kit(Endogen, USA)를 이용하여 측정하였다. 표준액 및 검액은 2시간, biotinylated antibody reagent는 30분간, streptavidin-HRP solution은 30분간, TMB substrate solution을 30분간 반응시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시키고 ELISA reader (Molecular Devices, E10514, USA)로 450nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준액의 흡광도로부터 회귀방정식을 구한 후, 검액의 흡광도를 이 방정식에 적용하여 IL-1 β 의 농도를 구하였다.

6. 통계처리

모든 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(SPS S 9.0 for Windows)를 이용하여 student's t-test를 실시하여 처리하였다.

III. 결 과

1. 형태계측학적 검사 결과

1) 체중의 변화

각 군간의 체중의 변화는 Table 1과 같다. 실험개시일의 체중의 변화는 모든 군간에 유의성 있는 변화가 없었으나, 실험 3주, 5주 및 7주에는 정상군에 비해서 대조군 및 실험군에서

모두 유의성 있게 증가되어 있었다. 실험 5주 및 7주에서는 대조군에 비해서 실험군에서 유의성 있게 감소되어 있었다.

2) 대퇴골 무게 및 대퇴골/체중 비의 변화

실험 종료일에 측정된 대퇴골의 무게 및 대퇴골/체중 비는 Table 2와 같다. 대퇴골의 무게 및 대퇴골/체중비는 정상군에 비해서 대조군에서 유의성 있게 감소되어 있었다. 대퇴골의 무게는 대조군에 비해서 실험군에서 증가되는 경향을 나타냈으나 유의성은 관찰되지 않았다. 그러나 대퇴골/체중 비는 대조군에 비해서 유의성 있게 증가되어 있었다.

3) 대퇴골간 치밀골의 병리조직학적 소견 및 두께의 변화

대퇴골체의 병리조직학적 검사에서 모든 군간에 치밀골의 조직학적 구성에는 별다른 차이점을 관찰할 수 없었다. 실험종료일에 측정된 대퇴골체의 치밀골 두께는 Table 3과 같다. 대조군과 실험군은 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 감소되어 있었다. 실험군은 대조군에 비해서 약간 증가되어 있었으나 유의성은 관찰되지 않았다.

4) 대퇴골 원위 골단 해면골의 병리조직학적 소견 및 면적의 변화

정상군의 대퇴골 원위 골단에서 관절연골하 및 성장판(epiphyseal plate)주위의 해면골은 비교적 두텁고 치밀하게 발육되어 있었으나(Fig. 2) 대조군에서는 그 두께가 현저하게 감소되어 있었고, 골수강 내의 골침(bone spicule)이 정상군에 비해서 가늘어져 있었다(Fig. 3). 실험군에서는 해면골조직이 대조군에 비해서 보다 치밀하게 발육되어 있었다(Fig. 4)

실험종료일에 측정된 대퇴골 원위 골단의 해면골 면적은 Table 4와 같다. 대조군과 실험군은 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 감소되어 있었으며, 대조군에 비해서 실험군은 유의성 있게 증가되어 있었다.

2. 혈청학적 검사 결과

1) 혈중 estrogen 함량

실험종료일에 분리한 혈청의 estrogen 함량은 Table 5와 같다. 대조군 및 실험군 모두에서 정상군에 비해서 유의성 있는 감소가 관찰되었으나, 대조군과 실험군 간의 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다.

2) 혈중 calcitonin 함량

실험종료일에 분리한 혈청의 calcitonin 함량은 Table 6와 같다. 대조군 및 실험군 모두에서 정상군에 비해서 유의성 있는 감소가 관찰되었다. 실험군은 대조군에 비해서 다소 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 관찰되지 않았다.

3) 혈중 parathormone 함량

실험종료일에 분리한 혈청의 parathormone 함량은 Table 7과 같다. 대조군은 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되어 있었다. 실험군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되어 있었으며 정상군과 유사한 정도의 함량을 나타내었다.

4) 혈중 tumor necrosis factor- α 함량

7단계의 TNF- α 표준액(2500, 1000, 400, 160, 64, 25.6, 10.3 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터 구해진 회귀방정식은 아래의 공식과 같다.

$$\text{TNF-}\alpha \text{ 함량} = 1437.13 * \text{흡광도(O.D.)} - 126.57$$

위 공식으로부터 얻어진 각 군별 혈청의 tumor necrosis factor- α 함량은 Table 9와 같다. 대조군은 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되어 있었으며, 실험군은 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되어 있었다.

5) 혈중 interleukin 1- β 함량

6단계의 interleukin 1- β 표준액(2500, 833, 278, 93, 31, 10.3 pg/ml)에서 측정된 흡광도로부터

터 구해진 회귀방정식은 아래의 공식과 같다.

$$\text{interleukin } 1-\beta \text{ 함량} = 367.65 * \text{흡광도(O.D.)} - 42.66$$

위 공식으로부터 얻어진 각 군별 혈청의 interleukin 1-β 함량은 Table 10과 같다. 대조군 및 실험군 모두 정상군에 비해서 유의성 있게 증가되어 있었다. 실험군은 대조군에 비해서 감소되는 경향을 나타냈으나 유의성은 관찰되지 않았다.

IV. 고찰

骨多孔症은 骨粗鬆症 또는 骨脆弱症으로도 불리는데, 가장 흔한 대사성 골질환으로 골형성의 감소 및 골흡수의 증가로 인하여 골단위 부피당 골량(bone quantity)의 감소를 일으키는 다양한 증상들에 대하여 사용되는 용어이다.^{3,15)}

韓醫學에서의 骨에 대한 인식은 《素問·五藏生成論》⁶⁾ “腎之合骨也, 其榮髮也”, 《素問·宣明五氣論》⁶⁾의 “五臟所主, 心主脈, 肺主皮, 肝主筋, 脾主肉, 腎主骨, 是爲五主. 五勞所傷……”, 《靈樞·經脈篇》⁷⁾의 “人始生, 先成精, 精成而腦髓生, 骨爲幹……” 등에서와 같이 骨은 腎이 主하는 器官이고 腎은 精을 貯藏하고 腎精으로부터 髓가 生成되며, 髓는 骨中에 위치하고 있으면서 人身의 骨을 滋養하므로 骨은 腎精으로부터 生成되고 髓의 滋養을 받아 기능을 발휘한다고 인식하였다.²⁹⁻³¹⁾

金雀根은 荳科에 속하는 다년생초본인 錦雞兒(Caganae Sinicae Radix)의 뿌리 혹은 뿌리 껍질이다⁴¹⁾. 異名은 骨擔草, 白心皮이며 性은 溫無毒하고 味는 甘微苦하며 肺脾經에 歸入한다⁴¹⁾. 淸肺益脾하고 活血通脈하는 效能이 있어 《本草綱目拾遺》에는 打撲損傷과 咳嗽을 治한다고 하였고 《植物名實圖考》에는 補筋骨한

다고 하였으며 《天寶本草》에서는 頭暈, 咳嗽, 哮喘, 五勞七傷, 衄血을 治한다⁴¹⁾ 하였다.

저자는 金雀根이 骨을 담당하는 藥초라는 뜻의 骨擔草라는 異名으로 불리워지므로 골다공증에 유효한 효능이 있을 것으로 사료되나 아직까지 혈압강화에 미치는 효능에 대한 연구⁴²⁾가 있을 뿐 이에 대한 연구는 찾아볼 수 없었기에 본 연구를 수행하게 되었다.

Yamazaki⁴³⁾는 흰쥐에서 난소를 제거하면 성장속도가 증가하여 체중이 증가한다고 하였는데, 체중증가의 대부분은 체내 지방질의 축적에 기인하는 것으로 보고하고 있다. 폐경기 여성에서의 혈중 estrogen은 부신피질에서 분비되는 androstenedione이 말초조직에서 대사 전환되어 형성된 것이며 특히 지방조직은 androstenedione을 estrogen으로 전환할 수 있으므로 폐경기 후에 지방조직의 증가에 의한 비만은 일반적인 현상이라 할 수 있다⁴⁴⁾. 본 실험에서 실험 5주와 7주에서 실험군이 대조군에 비하여 estrogen 농도에는 유의성 있는 차이가 없음에도 체중이 유의성 있게 감소한 것은 금작군에서 estrogen 이외의 어떤 요소가 실험군의 체중감량에 영향을 준 것으로 사료된다.

이 등¹⁹⁾은 정상군에서 난소만을 절제한 군에 비해 대퇴골의 무게가 무거웠고 특히 골다공증에 효과가 있는 것으로 알려진 calcitonin투여군에서 대퇴골의 무게는 의의있게 높았으나 假裝手術群에는 미치지 못한다고 하였다. 그러나 김 등⁴⁵⁾은 假裝手術群에서 대퇴골의 무게가 가장 낮았고, 난소절제 후 사포닌을 투여한 군에서 다른 군에 비해 대퇴골의 무게가 높았으며 각 군간의 차이는 통계적으로 유의하였다고 보고하였다. 본 실험의 경우 대조군에서 대퇴골의 무게 및 대퇴골/체중 비가 정상군에 비해 유의성 있게 감소되었으나 실험군의 경우는 대퇴골의 무게가 대조군에 비해서는 유의성 있게 증가하였고 대퇴골/체중의 비도 대조군에 비해

서는 증가되어 있었다. 여러 인체측정 요소와 골밀도와와의 상관성을 분석한 연구를 종합하면 대체적으로 체중, 신장, 근육의 발달상태, 체지방량 등이 여러 골격부위의 골밀도와 유의한 양의 상관성을 보인다고 한다⁴⁶⁾. 체중은 물리적 부하의 효과가 크므로 다른 요소가 일정하다면 체중 증가에 비례하여 골의 무게가 증가하는 것이 정상적인 것이다. 하지만 본 실험에서 난소가 적출된 대조군과 실험군에서는 실험군의 체중이 감소하였는데도 골의 무게는 대조군에 비해 증가한 것을 볼 때 금작근의 투여로 골량이 증가된 것을 알 수 있고 hormone과 cytokine의 실험성적을 참고하였을 때 주로 골흡수의 억제에 의한 것으로 판단된다.

또한 대퇴골간 부위에서 치밀골 두께를 측정하고 대퇴골 원위골단에서 해면골의 면적을 측정하였다. 모든 군간에서의 치밀골의 조직학적 구성에는 유의성있는 차이가 없었으며 실험군과 대조군의 치밀골 두께의 비교에서도 유의성이 발견되지 않았으나 해면골과 치밀골에서의 골질량 감소정도를 형태계측학적 방법으로 평가한 결과 대조군은 정상군에 비해 난소적출 8주 후에 치밀골 두께는 약 6.09%, 해면골 면적은 약 18.99% 감소되어 있었다. 이러한 결과는 폐경후 골다공증에서 골질량 감소가 초기에는 해면골에서 시작되어 점차 치밀골까지 진행되는 보고와 일치되는 소견이라 볼 수 있다. 또한 실험군의 해면골 면적은 대조군에 비해서 약 9.58% 정도로 유의성있게 증가되어 있어 금작근이 해면골조직에 더욱 유의하게 작용하여 골다공증의 진행을 억제하는 것을 형태계측학적으로 확인할 수 있다.

다음으로, 혈청학적인 검사에서는 혈중 estrogen, calcitonin, parathormone, TNF- α , IL-1 β 함량을 측정하였는데 실험결과를 살펴보면 다음과 같다.

Estrogen은 골대사에서 골흡수와 관련된 호

르몬인 parathormone의 작용을 억제하고⁴⁷⁾ 골흡수를 억제하는 calcitonin의 합성을 촉진하여 골흡수를 방지한다⁴⁸⁾. 그러므로 estrogen이 결핍된 때에는 parathormone의 함량은 증가하고 calcitonin의 함량은 감소할 것으로 예상할 수 있다. Flicker⁴⁹⁾의 18~80세의 여자를 대상으로 한 조사에서 parathormone은 나이에 따라 증가하였고 이러한 증가는 폐경 후에 더욱 커졌다고 보고하였으며, 전반적으로 칼슘 섭취량이 적은 중국여자들의 경우도 parathormone은 나이와 함께 증가하였다는 보고⁵⁰⁾가 있다. 김 등⁵¹⁾은 이에 대하여 노화에서 나타나는 칼슘 흡수의 저하로 인한 혈청칼슘농도의 감소를 원인으로 파악하였다. 본 실험과 김¹¹⁾의 보고에서도 난소를 절제한 대조군의 경우 parathormone의 함량은 증가하고 calcitonin의 함량은 감소된 것으로 관찰되었다. 골대사에 있어서 estrogen은 이 외에도 vitamin D의 활성화를 통하여 간접적으로 장관흡수를 증가시키며⁴⁸⁾, 혹은 소장의 estrogen receptor를 통해 직접적으로 칼슘의 흡수를 촉진시킨다^{52,53)}. 그리고 estrogen은 골흡수 자극물질인 IL-1, TNF- α , IL-6, PGE₂ 등의 생산을 억제하고, 골형성 자극물질인 IGF(insulin-like growth factor), TGF(transforming growth factor)- β 등의 생산을 증가시켜서 골소실을 억제하거나 골형성을 촉진한다⁵⁴⁾. 그러나 실험결과 대조군과 실험군간의 체중 및 혈중 estrogen함량에는 변화가 없었기에 지방조직을 포함한 말초조직에서의 혈중 androstenedione의 estrogen으로의 대사 전환에 금작근이 영향을 주지 못한 것으로 생각된다.

Calcitonin은 부갑상선 호르몬, 비타민 D와 함께 칼슘대사를 조절하는 세가지 중요 호르몬의 하나이다⁵⁵⁾. Calcitonin은 혈중 Ca²⁺의 농도가 조금만 증가하여도 분비되어 파골세포의 활동을 급속히 저하시키고 파골세포의 수를 감소

시킴으로써 Ca^{2+} 의 유리를 억제시키며 또한 비타민 D의 생성을 증가시키고 조골세포의 활성도를 증가시켜 Ca^{2+} 의 침착을 유도한다^{55,56}. 이러한 생리작용에 근거하여 calcitonin을 폐경기 후 골다공증의 치료제로 사용하는데⁵⁷ Hayashi⁵⁸는 흰쥐를 이용한 실험에서 calcitonin은 파골세포에 의한 골흡수를 억제함으로써 골교체현상을 정상화시키는 것이라고 하였다. 본 실험에서 calcitonin의 농도는 실험군이 대조군에 비해 증가수치에 유의성이 없었으므로 금작근이 calcitonin의 농도에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 판단된다.

Parathormone은 혈중 Ca^{2+} 의 농도가 낮을 경우에 골세포막의 Ca^{2+} 펌프를 활성화시켜 수분내에 혈중 Ca^{2+} 농도를 증가시키며 계속 분비되면 이미 형성되어 있는 파골세포를 활성화시키고 파골세포의 신생도 자극하며 조골세포의 활동을 일시적으로 억압하여 골에 대한 Ca^{2+} 의 침착을 억제하고 Ca^{2+} 의 유리를 촉진함으로써 혈중으로의 Ca^{2+} 의 흡수를 증가시킨다⁵⁹.

본실험에서 parathormone의 함량이 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 증가되었고 실험군은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되어 정상군과 유사한 정도의 함량을 나타낸 것으로 보아 金雀根이 흰쥐의 parathormone 함량을 감소시켜 골질의 흡수를 억제한 것으로 판단된다.

호르몬 외에 여러 가지 사이토카인들이 파골세포의 발달과정에 관여하는데, 이 중 IL-1 β 와 TNF- α 가 대표적인 것으로 이것에 의해 일어나는 많은 작용은 IL-6를 매개하여 일어나는 것으로 밝혀졌다^{56,59}. IL-1 β 나 TNF- α 를 齧齒類에 투여하면 骨 再形成이 증가하며 생체의 실험에서 파골세포의 형성을 촉진함을 알 수 있다¹⁷. 이러한 작용은 IL-1 β , TNF- α 의 직접적인 작용이 아니고 조골세포와 골수기질세포를 통해 간접적으로 작용하는 것으로 여

겨진다¹⁷. TNF- α 가 골흡수를 증가시키는 능력은 IL-1 β 의 1/100에 지나지 않지만 IL-1 β 와 함께 작용하면 상승효과를 나타낸다⁵⁶. 본 실험에서는 대조군의 경우 TNF- α 와 IL-1 β 가 정상군에 비하여 유의성있게 증가되었다. 이러한 결과는 난소적출 골다공증 모델에서 골질량의 감소가 TNF- α 및 IL-1 β 의 작용과도 밀접한 관계가 있음을 의미하는 소견이며, 박⁵⁹의 실험적 결과와도 일치되는 소견이다. 실험군의 IL-1 β 는 대조군에 비해 유의성은 없었으나 감소되는 경향을 나타내었고, TNF- α 함량은 유의성있게 감소되는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 금작근이 TNF- α 의 분비를 억제하였음을 의미한다고 할 수 있으며, 따라서 TNF- α 의 감소는 파골세포의 작용을 억제하므로 골다공증에 유효하게 작용한다고 생각된다.

본 실험에서의 성적을 종합해 볼 때, 金雀根은 혈중 estrogen 및 calcitonin의 함량에는 영향을 주지 않으면서 혈중 parathormone 및 TNF- α 의 감소를 초래하여 난소적출술로 인한 골질의 흡수를 억제하여 골다공증의 발생을 억제하는 것으로 사료된다. 그러므로 금작근을 골다공증 치료에 응용할 경우 유의한 효과가 있을 것으로 판단된다.

V. 결 론

금작근이 골다공증에 미치는 효과 및 그 작용기전을 규명하기 위해서 흰쥐 24마리를 개복수술만을 시행한 정상군, 난소적출술을 시행한 대조군, 난소적출술을 시행한 후 금작근 감압 농축액을 7주간 경구투여한 실험군으로 분류한 후, 형태계측학적 및 혈청학적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 체중은 실험군이 대조군에 비해서 실험 5

주 및 7주에 유의성 있게 감소되었다.

2. 대퇴골의 무게는 실험군이 대조군에 비해서 증가되는 경향이 있었으나 군간의 유의성은 관찰되지 않았으며, 대퇴골무게/체중 비는 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 증가되었다.

3. 대퇴골체 치밀골의 두께는 실험군이 대조군에 비해서 증가되었으나 유의성은 없었다.

4. 대퇴골 원위 골단의 해면골의 면적은 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 증가되었다.

5. 혈중 estrogen 함량은 실험군과 대조군간에 유의성 있는 변화가 없었다.

6. 혈중 calcitonin 함량은 실험군과 대조군간에 유의성 있는 변화가 없었다.

7. 혈중 parathormone 함량은 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.

8. 혈중 tumor necrosis factor- α 함량은 실험군이 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.

9. 혈중 interleukin- 1β 함량은 실험군이 대조군에 비해 감소되었으나 유의성은 없었다.

이상의 성적을 종합한 결과, 금작군은 혈중 estrogen 및 calcitonin의 함량에는 영향을 주지 않으면서 혈중 parathormone 및 TNF- α 의 감소를 초래하여 난소적출술로 인한 골질의 흡수를 억제하여 골다공증의 발생을 억제한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 대한정형외과학회. 정형외과학. 서울:최신의학사, 2000;21~26, 152~156.
2. 해리슨 내과학 편찬위원회. 해리슨내과학. 서울:정담, 1997;2342~2348.
3. Stephen, A.B.,Wallace, W.A. The Management of Osteoporosis. Br Editonal

- Soc of Bone & Join Surg. 2001;83-B (3):316~323.
4. 대한산부인과학회. 부인과학. 서울:칼빈서적, 1997;747~756.
5. 박기현. 골다공증:골다공증 치료제의 선택. 대한폐경학회 7차 학술대회, 1997;67~86.
6. 裴炳哲. 今釋 黃帝內經 素問. 서울:成輔社, 1994;134~142, 251~255, 383~387, 441~444, 51~54.
7. 裴炳哲. 今釋 黃帝內經 靈樞. 서울:成輔社, 1995;128~159, 76~86.
8. 冷竹平. 牛膝이 흰쥐의 난소적출로 유발한 骨多孔症에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 1995.
9. 오하식. 杜冲의 樹皮와 잎이 난소적출로 유발한 骨多孔症에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 1995.
10. 최연주, 김호철, 이상인, 안덕균. 續斷이 흰쥐의 난소적출로 유발한 骨多孔症에 미치는 영향. 大韓本草學會誌. 1994;9(1):181~189.
11. 김광진, 정지천. 난소 절제 흰쥐의 골대사에 미치는 骨碎補의 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(2):175~182.
12. 김근우, 김상찬, 서부일, 김선희. 大營煎이 난소적출로 유발된 백서의 골다공증에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1998;13(1):59~82.
13. 조한백, 박명렬. 大補元煎이 난소적출로 骨多孔症이 유발된 白鼠에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 1999;12(1):343~363.
14. 鞠大宏, 張春英, 王安民, 呂愛平, 徐世杰, 滕靜如, 李艷, 王少君, 余明哲. 左歸丸對去卵巢所致大鼠骨質疏鬆症的治療作用. 中國中醫基礎醫學雜誌. 2001;7(3):17~19.
15. 용석중 외. 한국인 성인 남녀의 골밀도. 대한의학협회지. 1988;31:1350~1358.
16. Riggs B.L, Khosla Sundeep, Melton LJ3rd. A Unitary Model for Involutinal Osteoporosis: Estrogen Deficiency Causes Both Type I and Type II Osteoporosis in Postmenopausal Women and Contributes to Bone Loss in Aging Men. J Bone Miner Res 1998;13(5):763~773.

17. 김기수. 골다공증. 서울:여성신문사, 1998;199, 32~35, 119~134.
18. 이명철 외. 흰쥐에서 난소 적출술로 유발한 골다공증에 대한 Estradiol의 효과. 대한정형외과학회지. 1994;29(5):1326~1334.
19. 이환모, 한수봉, 박병문 : 백서의 난소 제거술후 발생한 골조송증에 대한 Calcitonin의 효과 . 대한정형외과학회지, 1992;27:577~582.
20. Miller PD. et al. Cyclical etidronate in the treatment of postmenopausal osteoporosis: efficacy and safety after seven years of treatment. Am J Med. 1997;103(6) :468~76.
21. 장준섭, 박진오. 골다공증 환자에서의 칼슘 및 활성형 비타민 D 치료후 골밀도의 변화. 대한정형외과학회지. 1997;32(4):846~851.
22. 이영구 외. 난소절제술을 실시한 흰쥐에서 성장호르몬의 골다공증 예방효과. 대한정형외과학회지. 1998;33(7):1941~1951.
23. Cecchini, M. G., Fleisch, H., Muhlbauer, R. C.. Ipriflavone inhibits bone resorption in rats:Effect of experimental conditions. J Bone Miner Res. 1996;11(2):S350.
24. Beardsworth, S.A., Kearney, C.E., Purdie, D.W.. Prevention of Postmenopausal Bone Loss at Lumbar Spine and Upper Femur With Tibolone: A Two-Year Randomised Controlled Trial. Obstet Gynecol Surv. 2000;55(1):36.
25. Watts NB. Postmenopausal osteoporosis. Obstet Gynecol Surv. 1999;54(8):532~538.
26. Neer RM. et al. Effect of parathyroid hormone (1~34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med. 2001;344(19) :1434~41.
27. Andersson, GB. et al. Consensus summary on the diagnosis and treatment of osteoporosis. Spine. 1997;22(24 S):63S~65S.
28. 김광원. 생화학적 표지자의 임상적 이용. 경희대학교내분비연구소 골다공증 심포지움논문집1996;(2):41~50.
29. 鄭東柱, 朴旻. 國譯 醫學基礎理論問答. 서울:大星文化社, 1994;126~127.
30. 金完熙 외. 東醫生理學. 서울:경희대학교 출판국, 1993;348~350.
31. 류도곤. 東醫生理學講義. 익산:원광대학교 출판국, 1999;698~700.
32. 姜成吉, 朴英培, 安鉉碩. 骨多孔症의 鍼灸治療에 관한 文獻的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 1995;15(2):171~189.
33. 韓醫婦人科學 教材編纂委員會. 韓醫婦人科學(上). 서울:경담출판사, 2001 ; 53~55.
34. 蔡新吉. 腎虛證與骨礦物含量的關係. 山東中醫學院學報. 1992;16(2):52.
35. 엄재원. 補中益氣湯과 四物湯이 골다공증에 미치는 임상적 연구. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 1999.
36. 이호근. 黑大豆와 蓼芎白朮散이 흰쥐의 난소적출로 유발된 골다공증에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 1998.
37. 歐陽鋼 외. 鍼刺對絕經後婦女骨密度的影響. 中醫雜誌. 2001;42(2):88.
38. 王東岩, 蔡紅, 卓鐵軍. 鍼刺背部俞穴對骨質疏松症腰椎骨密度的影響. 湖北中醫雜誌. 2001;23(2):6.
39. 田宰官. 땀이 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.
40. 谷麗敏. 老年骨質疏松症的治療原則. 山東中醫藥大學學報. 2001;25(1):17.
41. 김창민 외. 完譯 中藥大辭典. 서울:圖書出版 鼎談, 1998;588~590.
42. 정영목. 금작근 전탕액이 가토의 혈압에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1987.
43. Yamazaki I. Yamaguchi H.. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. J Bone Miner Res. 1994;9(1):13~22.
44. 대한일차의료학회 비만연구회편. 비만학 이론과 실제. 서울:한국의학 1996;76~77.
45. 김남현 외. 흰쥐의 난소제거후 발생한 골다공증에 대한 홍삼 사포닌의 효능. 대한정형외과학회지, 1995;30:800~816.
46. 송영득 외. 폐경기전후 여성에서 체지방량과 골밀도와의 관계. 대한내분비학회지. 1993;8(3):251~258.

47. 민현기. 임상내분비학. 서울:고려의학, 1990;187~198, 220~222, 419.
48. 구병삼. 임상 부인과 내분비학. 서울:고려의학, 1997;236~243.
49. Flicker L. et al. The effect of aging on intact PTH and bone density in women. *J Am Geriatr Soc.* 1992;40(11):1135~1138.
50. Chan EL. et al. Age-related in bone density, serum parathyroid hormone, calcium absorption and other indices of bone metabolism in Chinese women. *Clin Endocrinol(Oxf)* 1992;36(4):375~381.
51. 김숙희, 김화영. 노화. 서울:민음사, 1995;356~360.
52. Bolscher, Marieke Ten. et al. Estrogen Regulation of Intestinal Calcium Absorption in the Intact and Ovariectomized Adult Rat. *J Bone Miner Res.* 1999;14(7):1197~1202.
53. Kaul, Dike N., Chen, Cang.. Ovariectomized Murine Model of Postmenopausal Calcium Malabsorption. *J Bone Miner Res.* 1999;14(4):593~601.
54. 민용기. 여성호르몬과 골밀도. 대한의학협회지. 1995;38(1):24~29.
55. 이상돈 외. 생리학. 서울:의학문화사, 1992;372~376.
56. Pacifici, Roberto. Estrogen, cytokines, and Pathogenesis of Postmenopausal Osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1996;11(8):1043~1051.
57. Chesnut, Charles H. et al. A Randomized Trial of Nasal Spray Salmon Calcitonin in Postmenopausal Women with Established Osteoporosis: the Prevent Recurrence of Osteoporotic Fractures Study. *Am J Med.* 2000;109(4):267~276.
58. Hayashi T. et al. Effect of eel calcitonin on the prevention of osteoporosis induced by combination of immobilization and ovariectomy in the rats. *Bone,* 1989;(10):25~28.
59. 박근용. 백서에서 난소질제술 시행후 골밀도와 골수 시토킨의 변화에 대한 연구. 대한내분비학회지. 1997;12(2):215~221.

Table 1. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Body Weight of Ovariectomized Rats

Group	No. of Animals	Body Weight (g)			
		0	3	5	7 (weeks)
Normal	8	195.63 ± 4.38	228.75 ± 4.98	246.75 ± 5.17	240.00 ± 4.09
Control	8	191.25 ± 3.50	267.50 ± 3.90***	295.50 ± 4.29***	302.00 ± 3.36***
Treated	8	191.25 ± 3.25	259.38 ± 4.17***	278.50 ± 4.65***#	277.00 ± 4.87***##

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Sample : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(***;P<0.001)

: Statistically significant compared with control group(#;P<0.05, ##;P<0.01)

Table 2. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Femur Weight and Femur/Body Weight of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	Femur Weight (g)	Femur/Body Weight(x100)
Normal	8	0.766 ± 0.016 ^{a)}	0.319 ± 0.006
Control	8	0.724 ± 0.009*	0.240 ± 0.004***
Treated	8	0.746 ± 0.013	0.270 ± 0.008***##

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(**;P<0.01, ***;P<0.001)

: Statistically significant compared with control group(##;P<0.01)

Table 3. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Thickness of Compact Bone of Body of Femur of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	Thickness (μm)
Normal	8	609.12 ± 13.85
Control	8	572.03 ± 05.76*
Treated	8	581.61 ± 04.30*

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(*;P<0.05)

Table 4. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Area of Cancellous Bone of Distal Epiphysis of Femur of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	Area(mm ³)
Normal	8	5538.67 ± 170.96
Control	8	4486.66 ± 144.41 ^{***}
Treated	8	4916.73 ± 114.80 ^{**#}

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(**; <P<0.01, ***; <P<0.001)

: Statistically significant compared with control group(#; <P<0.05)

Table 5. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Serum Estrogen level of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	Estrogen Level (pg/ml)
Normal	8	121.71 ± 12.73
Control	8	50.96 ± 3.01 ^{***}
Treated	8	49.81 ± 4.82 ^{***}

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(**; <P<0.001)

Table 6. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Serum Calcitonin Level of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	Calcitonin Level (pg/ml)
Normal	8	3.79 ± 0.35
Control	8	2.12 ± 0.25 ^{**}
Treated	8	2.43 ± 0.30 ^{**}

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(**; <P<0.01)

Table 7. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Serum parathormone Level of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	parathormone Level (pg/ml)
Normal	8	8.48 ± 0.77
Control	8	12.08 ± 0.92**
Treated	8	8.97 ± 0.81 [#]

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(**; P < 0.01)

: Statistically significant compared with control group(#; P < 0.01)

Table 8. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Serum Tumor Necrosis Factor- α Level of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	Tumor Necrosis Factor- α Level (pg/ml)
Normal	8	13.88 ± 1.19
Control	8	25.80 ± 1.34***
Treated	8	14.59 ± 2.03 ^{###}

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(***; P < 0.001)

: Statistically significant compared with control group(###; P < 0.001)

Table 9. Effect of Caraganae Sinicae Radix on the Serum Interleukin 1- β Level of Ovariectomized Rats at 7 Weeks after Treatment

Group	No. of Animals	Interleukin 1- β Level (pg/ml)
Normal	8	28.75 ± 1.91
Control	8	43.33 ± 3.67**
Treated	8	36.95 ± 2.60*

a) : Mean ± S.E.M.

Normal : Sham operation and distilled water treated

Control : Ovariectomized and distilled water treated

Treated : Ovariectomized and Caraganae Sinicae Radix treated

* : Statistically significant compared with normal group(*; P < 0.05, **; P < 0.01)

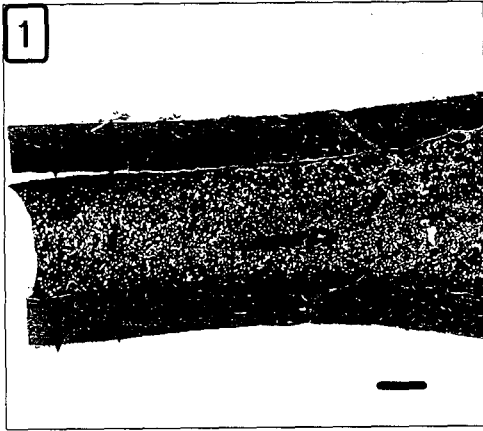


Fig. 1. The thickness of compact bone was measured at the different 4 points (arrows) of longitudinal section of body of femur. H&E stain, bar = $0.5\mu\text{m}$

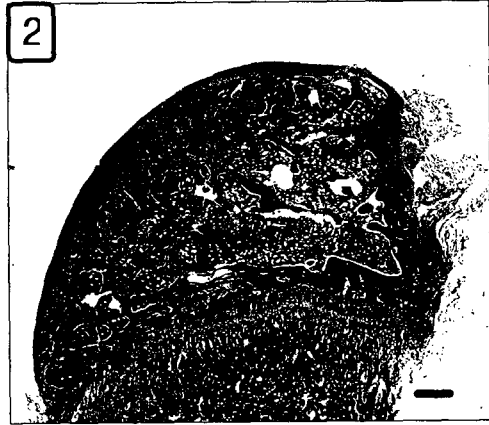


Fig. 2. Longitudinal section of distal epiphysis of femur from normal group. Note well developed cancellous bone around 2nd ossification center. H&E stain, bar = $0.5\mu\text{m}$

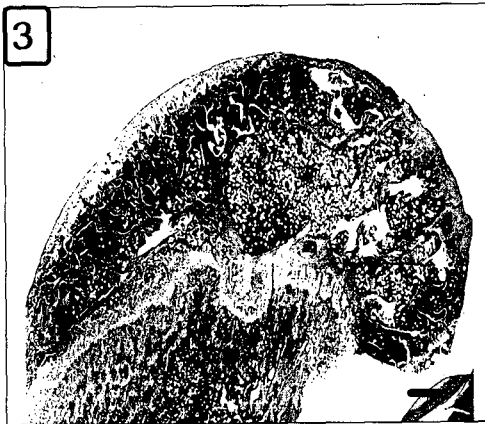


Fig. 3. Longitudinal section of distal epiphysis of femur from control group. Note thin and poorly developed cancellous bone around 2nd ossification center. H&E stain, bar = $0.5\mu\text{m}$

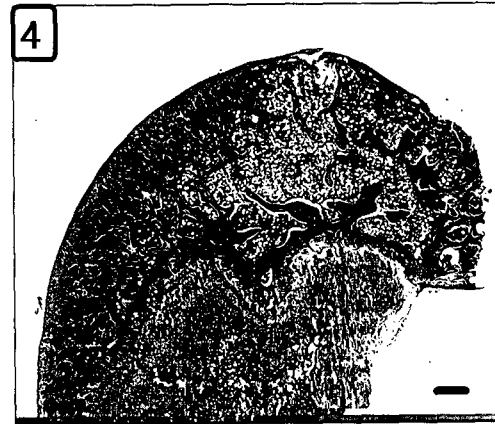


Fig. 4. Longitudinal section of distal epiphysis of femur from treated group. Note well developed and thick cancellous bone around 2nd ossification center. Compare with Fig. 3. H&E stain, bar = $0.5\mu\text{m}$