

歸腎丸이 卵巢摘出 白鼠의 골다공증에 미치는 영향

김태희 · 강영금 · 안규환 · 김송백 · 조한백 · 유심근*

원광대학교 한의과대학 부인과학교실

Effects of Guisinhwan on the Ovariectomized Rat Model of Postmenopausal Osteoporosis

Tae Hee Kim, Young Keum Kang, Kyu Hwan Ahn, Song Baeg Kim, Han Baek Cho, Sim Keun Yoo*

Department of Gynecology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Aging is characterized by an age-dependent reduction in bone density. Pronounced bone loss by postmenopausal estrogen deficiency induces a bad effect on dynamic balance of bone metabolism. When the bone density is reduced to the level below the fracture threshold, the risk for fracture is greatly increased. The purpose of this study is to examine what are the effects of the Guisinhwan(GSH : 歸腎丸) on the ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis. The results of the experiment are as follows: Body weight in control group showed significant increase in comparison with sham, but that in GSH-treated showed no change in comparison with control. The level of serum albumin in control group showed significant decrease in comparison with sham. That in GSH-treated was slightly decreased in comparison with control. The level of serum ALP activity in control group showed significant increase in comparison with sham, but that in GSH-treated was significantly decreased in comparison with control. The level of serum phosphorous, calcium, GOT, GPT, T3 did not significant change among the three groups. The level of serum estrogen in control group showed slightly decreased in comparison with sham, but that in GSH-treated showed no change in comparison with control. The level of serum T4 in control group showed significant increase in comparison with sham, but that in GSH-treated was significantly decreased in comparison with control. Trabecular bone area as well as trabecular thickness in control group showed significant decrease in comparison with sham. Those in GSH-treated showed significant increase in comparison with control. Trabecular number did not significant change among the three groups. Trabecular separation only in GSH-treated showed significant decrease in comparison with control. Osteoclast number in control group showed significant increase in comparison with sham. That in GSH-treated showed significant decrease in comparison with control. Osteoblast surface in control group showed significant increase in comparison with sham, but that in GSH-treated showed no change in comparison with control. According to the above these results, GSH has shown to be capable of preventing and curing osteoporosis caused by old-aged and postmenopause.

Key words : Guisinhwan(GSH: 歸腎丸), postmenopause, Osteoporosis

서 론

骨多孔症이란 뼈의 화학적 조성에는 변화가 없고, 단위 용적 내의骨量감소를 초래하여 경미한 충격에도 쉽게骨折을 일으킬 수 있는疾患으로¹⁾, typeI과 typeII로 분류할 수 있다²⁾. 骨多孔症

을 韓醫學에서는 “骨痿” 및 “骨痺”와 類似하며 骨多孔症을 學者에 따라서는 “虛勞”나 “虛痺”, “腎虧”, “骨寒”, “骨熱”, “骨枯”, “骨痛” 등의 범위에 포함시키기도 한다³⁾.

《素問》⁴⁾에서 骨은 腎之腑이고 骨格의 生長과 機能은 腎氣의 盛衰에 따라 결정되며 骨病은 대개 先天稟賦不足이나 腎氣虛弱者에 많으며 骨痿의 주요원인은 腎陰陽虛로 파악할 수 있다⁵⁾. 골다공증의 치료법은 “滋陰壯骨”, “溫陽壯骨”, “補腎壯陽”, “滋陰補腎” 등이 있다⁶⁾.

歸腎丸은 최초로 明代 張⁷⁾의 《景岳全書·新方八陣》에 “治

* 교신저자 : 유심근, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 익산한방병원

· E-mail : rumpie@hanmail.net, · Tel : 063-850-2113

· 접수 : 2004/08/23 · 수정 : 2004/09/15 · 채택 : 2004/10/04

腎水不足, 精衰血少, 腰痠脚軟, 形容憔悴, 遺泄陽衰等證”이라 기재된 이래 주로 腎虛로 인한 腰痠脚軟, 月經不調의 치료에 응용되어 온 처방이다^{7,8)}. 최근 골다공증에 대해서 김 등^{6,9,10)}이 문헌적 고찰을 하였고, 실험적 연구로는 이 등^{11,12)}이 卵巢摘出로 유도된 골다공증 白鼠를 관찰한 결과 골다공증에 유의성이 있다고 보고하였다. 이상의 연구는 대부분이 腎과 骨의 관계에 대한 인식을 바탕으로 하여 시행되고 있으며, 사용된 약물들도 보신의 작용이 있는 약물이 주를 이루고 있다.

이에 저자는 골격의 생장과 기능은 腎氣의 盛衰에 따라서 결정된다는 인식이라 腎虛로 인한 腰痠脚軟, 月經不調에 쓰이는 歸腎丸을, 卵巢를 적출하여 인위적으로 type I 골다공증을 유발한 白鼠에 투여하여 혈청중의 대사산물과 大腿骨近位骨端部骨小柱의 변화를 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

골다공증을 유발하는 동물모형은 여러가지가 알려져 있으며 본 연구에서는 폐경기이후의 type I 골다공증의 모형으로 白鼠의 난소적출모형을 이용하였다. 본 연구의 type I 골다공증동물모형은 한국화학연구소에서 분양받은 생후 12주된 체중 250-300g 정도의 Sprague-Dawley계 암컷 白鼠를 사용하였다. 동물을 entobar(한립제약) 25mg/kg을 腹腔內로 주사하여 전신마취시킨 다음, 하복부의 털을 제거하고, 포타딘액(삼일제약)으로 수술부위를 소독한 후, 무균조작하에서 양측난소적출수술을 시행하였고, 항생제로 펜브렉스(동아제약) 0.3ml를 복강내주입하여 감염을 방지하였다. 실험군은 3군으로 나누었으며 각군은 10마리씩 배정하여 모두 30마리를 사용하였다. 각군은 개복수술만을 시행한 sham군(Sham operated group), 開腹手術을 하여 양측 卵巢를 제거한 대조군 및 兩側卵巢를 제거하고 歸腎丸을 투여한 歸腎丸 투여군으로 나누었다.

2) 약물

본 실험에 사용된 약재들은 원광대학교 부속익산한방병원에서 구입하여 양질의 것을 정선해서 사용하였으며 그 처방의 구성은 장⁷⁾의 《경약전서》에 준하였고, 1첩의 구성과 내용은 다음과 같다.

Table 1. Prescription of Guisinhwan(GSH)

韓藥名	生藥名	重量(g)
熟地黃	RHIZOMA REHMANNIAE	8
山藥	RHIZOMA DIOSCOREA	4
山茱萸	FRUCTUS CORNI	4
白茯苓	PORIA	4
枸杞子	FRUCTUS LYCHII	4
杜仲	CORTEX EUCOMMIAE	4
菟絲子	SEMEN CUSCUTAE	4
當歸	RADIX ANGELICAE GIGANTIS	3
	總計	35

3) 검액의 제조 및 투여

歸腎丸 10첩 분량을 증류수 1500ml와 함께 환저플라스크에

넣고 냉각기를 부착하여 2시간 동안 전열기로 전탕한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하고 진공 농축기로 감압, 농축한 후 동결건조기에서 24시간 동결건조하여 건조액기스 50g을 제조하였다. 歸腎丸(10mg/ml)은 白鼠의 체중 100g당 0.5ml를 각 1일 1회 7주간 경구투여하였고 sham군과 control군에는 체중 100g당 생리식염수 0.5ml를 歸腎丸투여군과 같이 투여하였다.

2. 방법

1) 체중측정

난소적출직전과 난소적출후 7주째 되는 날 전자저울을 사용하여 측정하였다.

2) 혈액채취 및 조직표본제작

혈청성분의 변화를 측정하기 위하여 혈액은 7주 동안 약물과 생리식염수를 투여한 후 白鼠를 마취시켜 심장에서 채혈하였다. 혈액은 4℃에서 1시간 방치한 후 냉동원심분리기를 이용하여 3,000rpm에서 15분간 원심분리시켜 혈청을 분리하여 혈청중 여러 대사산물측정에 이용하였다. 조직표본을 제작하기 위하여 희생시킨 白鼠의 大腿骨 주위의 軟部組織을 외과용 칼과 가위로 제거한 후 大腿骨을 10% formalin 용액에 12시간 동안 고정시켰다. 절취한 뼈를 奪灰하기 위하여 formic acid-formalin 방법으로 10일간 奪灰한 후 4시간 동안 수도물에 水洗하고 통상적인 조직표본 제작 방법에 의하여 파라핀 포매하여 5µm 두께로 절단한 후 hematoxylin-eosin(H&E) staining을 시행하여 관찰하였다.

3) 혈청중 대사산물 측정

(1) 혈청중 albumin 측정

혈청중 albumin의 측정을 위한 시약으로 embiel(주식회사 엠비엘)을 사용하였고, 기기는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

(2) 혈청중 alkaline phosphatase(ALP) 활성도 측정

혈청중 alkaline phosphatase 활성도 측정을 위한 시약으로는 자동분석기용 ALP 측정용 시약(아산제약, 한국)을 사용하였고, 기기는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

(3) 혈청중 phosphorus 측정

혈청중 phosphorus의 측정을 위한 시약으로는 자동분석기용 phosphorus 측정용 시약(아산제약, 한국)을 사용하였고, 기기는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

(4) 혈청중 calcium 측정

혈청중 calcium의 측정을 위한 시약으로 칼슘-HR II kit(Wako pure chemical industries, Ltd., Japan)를 사용하였고, 기기는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

(5) 혈청중 GOT, GPT 측정

혈청중 GOT와 GPT활성도 측정을 위한 시약으로는 자동분석기용 트랜스 아미나제-HR II(아산제약, 한국)을 사용하였고 기기는 Hitachi 747(automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

(6) 혈청중 estradiol(E2) 측정

혈청중 estradiol(E2) 함량은 Immunochem coated tube estradiol-17 beta kit(ICN Biomedical, Inc.)를 이용하여 Radioimmunoassay법에 따라 측정하였으며 Gamma counter (Packard, Auto Gamma 5550)을 이용하여 측정하였다.

(7) 혈청중 T3, T4 측정

혈청중 T3, T4 측정은 Access Chemiluminescent Immunoassay 기기(Sanofi-Diagnostic pasteur, USA)를 이용하였으며, 측정용 kit와 calibrator 시약은 같은 회사제품을 사용하였다. T3, T4의 측정은 competitive immunoenzymatic assay 원리를 이용하였다. 측정방법은 T3의 경우 혈장 110μl를 anti-T3 항체와 반응시킨 다음 goat anti-mouse 항체가 붙어있는 paramagnetic particle과 T3-alkaline phosphatase가 부착된 anti-T3 항체와 경쟁적으로 반응시켜 chemiluminescent substrate가 발광하는 정도를 측정하여 T3를 정량하였다. T4의 측정은 혈장 30μl를 anti-thyroxine 항체와 thyroxine-alkaline phosphatase, goat anti-mouse antibody가 붙어있는 paramagnetic particle이 함유된 시험관에 넣고 반응시킨 다음 chemiluminescent substrate를 가하여 발광정도를 측정하여 T4의 농도를 정하였다.

4) 대퇴골 조직의 영상분석

Image analyzer system(BMI plus)을 이용하여 기본적으로 H&E 염색된 조직의 slide를 직접 이용하여 골다공증에 의한 골소주의 소실정도를 영상분석을 통하여 형태계측학적으로 분석하였다. 형태계측학적 검사로 정량적 영상분석기의 digitalizer로 각 骨小柱의 외곽선을 따라 컴퓨터 화면에서 영상의 면적을 자동으로 계산하여 이를 骨小柱의 면적(trabecular bone area)으로 구하였다. 각각의 大腿骨의 근위부에서 성장판의 직하부의 부분 중에서 가로변의 길이가 성장판의 길이의 약 2/3 정도 되는 길이로 하는 기준면적 $0.196304 \times 10n(n=7) \mu m^2$ 인 직사각형 내부의 모든 骨小柱들을 개별적으로 면적을 구한 다음 骨小柱의 개수를 곱하여 骨小柱의 총면적을 구하였으며 trabecular thickness와 trabecular separation도 위와 같은 방법으로 구하였다. 또한 trabecular number와 osteoclast number를 측정하였다.

5) 통계학적 분석

자료의 통계적 처리는 SPSS를 이용하여 두 group간의 비교는 student t-test를, 세 group간의 비교는 ANOVA를 이용하였으며, 통계적 유의수준은 $P < 0.05$, < 0.01 , < 0.001 이하로 하였다.

실험성적

1. 체중의 변화

卵巢摘出 7주후의 平均體重은 Sharm군이 265g, 대조군은 285g으로 유의성 있는 증가를 보였다($P < 0.05$). 歸腎丸투여군은 대조군에 비하여 유의한 차이는 보이지 않았다(Table 2).

2. 血清 성분의 변화

1) 혈청중 albumin의 함량

혈청중 albumin의 함량은 대조군 3.62 ± 0.31 로 Sharm군

4.83 ± 0.54 보다 유의하게 감소하였다($P < 0.01$). 歸腎丸투여군 3.49 ± 0.52 로 대조군에 유의성은 없었다(Table 3).

Table 2. Effect of GSH on the body weight(gram) of ovariectomized rats

Groups	No.of Animals	First day	After 7weeks
Sham(n = 10)	10	230	265
Control(n = 10)	10	235	285*
GSH(n = 10)	10	240	275

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. *: Statistical significance as compared with sham group(*: $P < 0.05$).

Table 3. Effect of GSH on the albumin level of ovariectomized rats

Groups	Albumin(g/dl)
Sham(n = 10)	4.83±0.54
Control(n = 10)	3.62±0.31**
GSH(n = 10)	3.49±0.52

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. *: Statistical significance as compared with Sham group(*: $P < 0.01$).

2) 혈청중 alkaline phosphatase의 활성도

혈청중 alkaline phosphatase의 活性度는 대조군 348.82 ± 37.48 로 Sharm군 184.48 ± 34.89 보다 유의한 증가를($P < 0.001$), 歸腎丸투여군 257.02 ± 39.14 로 대조군에 유의한 감소를 보였다($P < 0.05$)(Table 4).

Table 4. Effect of GSH on the alkaline phosphatase activity of ovariectomized rats

Groups	Alkaline phosphatase activity(U/L)
Sham(n = 10)	184.48±34.89
Control(n = 10)	348.82±37.48**
GSH(n = 10)	257.02±39.14#

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. *: Statistical significance as compared with sham group(*: $P < 0.001$). #: Statistical significance as compared with control group#: $P < 0.05$.

3) 혈청중 phosphorus의 함량

혈청중 phosphorus 함량은 대조군 6.91 ± 1.14 로 Sharm군 6.78 ± 0.99 과 유의한 차이를 보이지 않았고 歸腎丸투여군 6.82 ± 1.48 로 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 5. Effect of GSH on the phosphorus level of ovariectomized rats

Groups	Phosphorus(mg/dl)
Sham(n = 10)	6.78±0.99
Control(n = 10)	6.91±1.14
GSH(n = 10)	6.82±1.48

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline.

4) 혈청중 calcium의 측정

혈청중 calcium의 측정치는 대조군인 경우는 13.41 ± 0.74 으로 Sharm군의 12.78 ± 0.93 과 유의성이 없었으며 歸腎丸투여군도 12.97 ± 0.87 로 대조군에 유의성이 없었다(Table 6).

Table 6. Effect of GSH on the calcium level of ovariectomized rats

Groups	Calcium(mg/dl)
Sham(n = 10)	12.78±0.93
Control(n = 10)	13.41±0.74
GSH(n = 10)	12.97±0.87

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline.

5) 혈청중 GOT, GPT의 측정

혈청중 GOT 측정치는 대조군 277.6±29.4로 Sharm군 282.7±24.3과 유의성이 없었고 歸腎丸투여군 269.3±35.4로 대조군에 유의성이 없었다(Table 7). 혈청중 GPT 측정치는 대조군 53.6± 5.4, Sharm군 54.1±4.8, 歸腎丸투여군 56.9±5.9로 유의한 차이가 없었다(Table 8).

Table 7. Effect of GSH on the GOT level of ovariectomized rats

Groups	GOT(IU/ℓ)
Sham(n=10)	282.7±24.3
Control(n=10)	277.6±29.4
GSH(n=10)	269.3±35.4

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline.

Table 8. Effect of GSH on the GPT level of ovariectomized rats

Groups	GPT(IU/ℓ)
Sham(n=10)	54.1±4.8
Control(n=10)	53.6±5.4
GSH(n=10)	56.9±5.9

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline.

6) 혈청중 estrogen의 측정

혈청중 estrogen 측정치는 대조군이 49.2±5.48(ng/ml)로 Sharm군의 53.4±5.88(ng/ml)과 유의성은 없었으며, 歸腎丸투여군에 있어서는 53.1±6.42로 유의성은 없었다(Table 9).

Table 9. Effect of GSH on the estrogen level of ovariectomized rats

Groups	estrogen(ng/ml)
Sham(n=10)	53.4±5.88
Control(n=10)	49.2±5.48
GSH(n=10)	53.1±6.42

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline.

7) 혈청중 triiodothyronine(T3)의 측정

혈청중 triiodothyronine(T3)의 측정치는 대조군은 1.34±0.36로 Sharm군의 1.42±0.42와 유의성이 없었으며 歸腎丸투여군도 1.51±0.88로 대조군과 유의성은 없었다(Table 10).

Table 10. Effect of GSH on the triiodothyronine(T3) level of ovariectomized rats

Groups	T3 level(ng/ml)
Sham(n=10)	1.42±0.42
Control(n=10)	1.34±0.36
GSH(n=10)	1.51±0.88

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline.

8) 혈청중 thyroxine(T4)의 측정

혈청중 thyroxine(T4)은 대조군이 3.45±0.63으로 Sharm군의 1.42±0.56에 유의한 증가를(P<0.001), 歸腎丸투여군은 2.58±0.46로 대조군에 유의한 감소를 보였다(P<0.01)(Table 11).

Table 11. Effect of GSH on the thyroxine(T4) level of ovariectomized rats

Groups	T4 level(μg/dl)
Sham(n=10)	1.42±0.56
Control(n=10)	3.45±0.63***
GSH(n=10)	2.58±0.46##

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. *: Statistical significance as compared with sham group(***: P<0.001). #: Statistical significance as compared with control group(##: P<0.01).

3. 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 변화

1) Trabecular bone area 측정

大腿骨近位骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱의 면적(trabecular bone area) 비율변화는 Sharm군에서는 52.45±9.2%, 대조군에서는 36.48±6.1%로 유의한 감소를 보였으며(P<0.001) 歸腎丸투여군에서는 43.39±6.7로 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다(P<0.05)(Table 12).

Table 12. Effect of GSH on the trabecular bone area(%) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular bone area(%)
Sham(n=10)	52.45±9.2
Control(n=10)	36.48±6.1***
GSH(n=10)	43.39±6.7#

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. *: Statistical significance as compared with sham group(***: P<0.001). #: Statistical significance as compared with control group(##: P<0.05).

2) Trabecular thickness 측정

大腿骨近位骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱의 두께(trabecular thickness)의 변화는 Sharm군에서는 90.11±8.8μm, 대조군에서는 60.92±6.1로 유의한 감소를 보였으며(P<0.001) 歸腎丸 투여군에서는 75.30±5.1로 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였다(P<0.001)(Table 13).

Table 13. Effect of GSH on the trabecular thickness (μm) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular thickness(μm)
Sham(n=10)	90.11±8.8
Control(n=10)	60.92±6.1***
GSH(n=10)	75.30±5.1###

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. *: Statistical significance as compared with sham group(***: P<0.001). #: Statistical significance as compared with control group(###: P<0.001).

3) Trabecular number 측정

大腿骨近位骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱의 數(trabecular number)의 변화는 Sharm군에서는 5.48±0.8, 대조군에서는 4.99±1.6로 유의한 차이는 보이지 않았으며 歸腎丸투여군에서도 4.79±0.9 대조군과 유의한 차이는 보이지 않았다(Table 14).

Table 14. Effect of GSH on the trabecular number(No/mm) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular number(No/mm)
Sham(n=10)	5.48±0.8
Control(n=10)	4.99±1.6
GSH(n=10)	4.79±0.9

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline.

4) Trabecular separation 측정

大腿骨近位骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱의 간격(trabecular separation)의 변화는 Sharm군에서는 128.08±25.4μm, 대조군에서는 143.11±42.2 μm로 유의성은 없었다. 歸腎丸투여군에서는 113.45±34.2μm로 대조군에 비해 유의한 감소를 보였다(P<0.05)(Table 15).

5) Osteoclast number 측정

大腿骨近位骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱에서의

osteoclast의 수는 단위 mm당 Sham군에서는 0.65±0.6, 대조군에서는 1.43±0.5로 유의한 증가를 관찰하였다(P<0.001). 歸腎丸 투여군에서는 0.94±0.6으로 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였다(P<0.01)(Table 16).

Table 15. Effect of GSH on the trabecular separation(μm) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular separation(μm)
Sham(n=10)	128.08±25.4
Control(n=10)	143.11±42.2
GSH(n=10)	113.45±34.2#

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. #: Statistical significance as compared with control group; P<0.05.

Table 16. Effect of GSH on the osteoclast number(No/mm) of the ovariectomized rats

Groups	Osteoclast number(No/mm)
Sham(n=10)	0.65±0.6
Control(n=10)	1.43±0.5***
GSH(n=10)	0.94±0.6#

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. #: Statistical significance as compared with sham group; P<0.001. #: Statistical significance as compared with control group; P<0.05.

6) Osteoblast surface 측정

大腿骨近位骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱에서의 osteoblast surface는 Sham군에서는 7.46±3.1%, 대조군에서는 14.35±3.8%로 유의한 증가를 관찰한 반면(P<0.001) 歸腎丸 투여군에서는 13.89±4.5%로 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 17).

Table 17. Effect of GSH on the osteoblast surface(%) of the ovariectomized rats

Groups	Osteoblast surface(%)
Sham(n=10)	7.46±3.1
Control(n=10)	14.35±3.8***
GSH(n=10)	13.89±4.5

Values are Mean±Standard Deviation. Control: Ovariectomized, administration of saline. #: Statistical significance as compared with sham group; P<0.001.

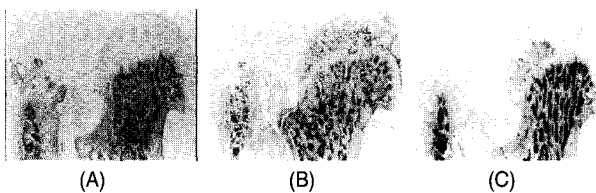


Fig. 1. Schematic representation of the proximal femur including the femoral head and neck in sham-operated group(A), control group(B), and GSH group(C)(magnification, ×5).



Fig. 2. The sample area within Fig. 3. Schematic representation the femoral neck for of the trabecular bone area, measurement of trabecular thickness, number, and separation bone variables is depicted by in sham-operated group(magnification, ×25). Trabeculae were well distal to the growth plate(GP) and extends developed, nearly to the junction of the femoral neck and greater trochanter(GT).

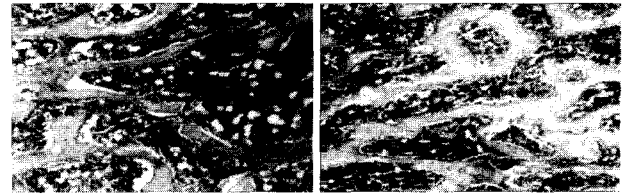


Fig. 4. Schematic representation of the trabecular bone area, thickness, number, and separation in control group(magnification, ×25). Trabeculae were disappeared and thickened. Fig. 5. Schematic representation of the trabecular bone area, thickness, number, and separation in GSH group(magnification, ×25). Trabeculae were developed, but trabeculae were slightly decreased compared to that in the sham-group.

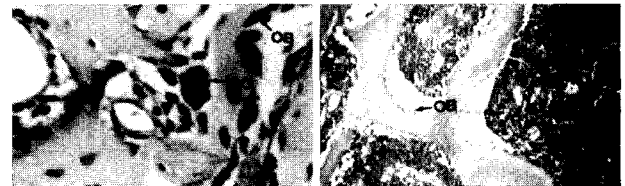


Fig. 6. Schematic representation of the osteoclast number(No/mm) in sham-operated group(magnification, ×200). Fig. 7. Schematic representation of the osteoblast surface(%) in sham-operated group(magnification, ×25).

고찰

인간의 정상적인 노화과정중에 모든 장기가 퇴행 과정을 밟지만 특히 뼈는 여성에서 갱년기 이후에 갑작스러운 소실이 오며 노령화에 따르는 骨量 소실은 남녀 모두에서 중요한 문제로 대두되고 있다¹³.

골다공증은 骨의 화학적 조성에는 변화가 없고 단위용적내 骨質량의 감소를 초래하여 경미한 충격에도 쉽게 骨折를 일으킬 수 있는 질환으로¹⁴, 임상적으로는 骨折의 존재, 조직형태학적으로는 단위 용적당 骨基質의 감소, 생화학적으로는 骨의 강도 감소, 역학적으로는 骨折의 위험도 증가상태 등으로 정의할 수 있고¹⁵, 진단에 있어서는 정상인의 최대 骨밀도에 비해 표준 편차 2.5 이하로 骨질량이 감소된 상태를 말하며¹⁶ 주증상으로는 腰痛, 脊椎畸形, 身長감소 및 骨折 등이 있고¹⁴ 이로 인해 심각한 신체적, 精神的 손상과 개인 및 사회경제적 손실을 가져올 수 있어 임상적으로 중요하게 취급된다¹⁷.

골다공증은 크게 원발성 골다공증과 속발성 골다공증으로 분류되는데¹⁸ 원발성 골다공증은 다시 type I 인 폐경후 골다공증과 type II 인 노인성 골다공증으로 나누며 에스트로겐 감소에 기인하는 type I 골다공증은 폐경 전후 50-60세를 전후에 호발하며, 주로 海綿骨의 감소를 일으켜 脊椎體의 압박 骨折과 遠位 橈骨의 骨折 등을 일으키며, type II 골다공증은 70세 이후의 고령에서 많이 발생하고 骨형성의 감소와 骨흡수의 증가 및 calcium 흡수감소 등이 皮質骨과 海綿骨에 영향을 주어 大腿骨 및 上腕骨 近位部 등에 骨折를 일으킨다^{37,38}. 폐경기 이후 처음 15년간 발생하는 骨밀도 감소의 75% 이상은 노령화 현상이라기보다는 바로 estrogen 결핍 때문이다¹⁹. 속발성 골다공증에는 내분비성 골다공증인 갑상선 및 부갑상선 기능항진증, cushing 증후군, 당뇨병, 性腺 기능저하증이 있고, 蛋白質, calcium, vitamin D 등의

영양불량으로 인한 영양성 골다공증, 유전성 골다공증이 있다¹⁸⁾.

골다공증은 한의학에서의 “骨痿” 및 “骨痺”와 유사하며 증상을 辨證論治하면 腎陰虛, 腎陽虛, 肝腎虧虛, 脾胃氣虛, 氣滯血瘀, 氣血兩虛 등으로 나눌 수 있다⁹⁾.

“骨痿”는 《素問·痿論》에 모든 骨枯髓減하여 일어나는痿痺症狀를 骨痿라고 하였고, “骨痺”는 《素問·痺論》 《素問·長刺節論》에 骨酸痛을 骨痺라고 하였으며, 《素問·痺論》에서는 風寒濕邪가 痺를 발생시키며 또한 발생하는 부위와 病이 發病되는 시기에 따라 五痺로 분류하였다.⁴⁾

골다공증의 치료법으로는 “滋陰壯骨”, “調補肝腎”, “溫補脾腎”, “溫陽壯骨”, “補腎壯陽”, “滋陰補腎” 등이 사용되고 있으며⁶⁾ 대부분이 補腎法을 그 기본으로 삼고 있다.

歸腎丸은 최초로 明代 張⁷⁾의 《景岳全書·新方八陣》에 “治腎水不足, 精衰血少, 腰痠脚軟, 形容憔悴, 遺泄陽衰等證”이라記載된 이래 주로 腎虛로 인한 腰痠脚軟, 月經不調의 치료에 응용되어 온 처방이다^{7,8)}. 구성약물을 살펴보면 熟地黃 八兩, 山藥 四兩, 山茱萸肉 四兩, 白茯苓 四兩, 枸杞子 四兩, 杜仲鹽水炒 四兩, 兔絲子制 四兩, 當歸 三兩으로 이루어져 있다⁷⁾. 이 처방은 六味地黃丸 加減方으로 腎氣虧虛, 精血不足하여 나타나는 病症으로 陰陽을 并補하고 益精養血之法을 重하게 하여 치료한다⁸⁾.

최근 골다공증에 대해서 김 등^{6,9,10)}이 문헌적 고찰을 하였고, 실험적 연구로는 난소적출로 유도된 골다공증 白鼠에 當歸地黃飲¹¹⁾, 紅花子¹²⁾ 등을 경구투여하여 관찰한 결과 골다공증에 유의성이 있다고 보고하였다.

이에 저자는 骨格의 生長과 기능은 腎氣의 盛衰에 따라서 결정된다는 인식아래 補腎調陽, 益精調經의 효능이 있는 歸腎丸이 골다공증에 미치는 치료기전을 실험적으로 구명하고자 전탕액을 난소적출로 유발된 제 I형 폐경후 골다공증 모형의 白鼠에 경구 투여하고 혈청중의 대사산물과 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 변화를 관찰하였다. 白鼠에서 卵巢를 제거하면 骨質量(bone mass)과 骨強度(bone strength)가 현저하게 감소한다. Durbridge 등²⁰⁾은 흰쥐에서 卵巢切除術을 시행하여 骨小柱容積이 유의하게 감소되었다 하였고, Guarkan 등²¹⁾은 卵巢를 제거한 쥐에서 骨密度가 감소하고 骨에서 calcium과 hydroxyproline의 함량이 감소하는 것을 觀察하여 골다공증의 有效한 標本이 될 수 있음을 提示하였으며, Dike N. Kalu²²⁾도 白鼠에서 卵巢切除術을 시행하면 骨形成을 능가하는 骨吸收 소견을 가진 骨交替率의 증가, 초기 급속한 骨消失이 있는 후 나중에 완만한 骨消失時期가 따라온다는 점, 皮質骨보다 海綿骨에서 더 많은 骨消失이 생기고 腸內 갈슘 흡수감소를 보인다는 점에서 폐경기 女性의 骨消失에 대한 실험동물로서 卵巢切除術을 실시한 白鼠가 적합하다고 하였다. 실험결과를 살펴보면, 먼저 체중의 변동은 대조군이 정상군에 비하여 유의성 있는 증가를 보였다. Dike N. Kalu 등²³⁾의 보고에 의하면, 卵巢를 제거한 쥐의 체중은 증가하고, estrogen의 투여는 증가를 억제한다고 하였다.

본 실험에서 歸腎丸투여군과 대조군에 있어서는 유의성있는 체중의 변화가 없었다(Table 1). 이는 흰쥐의 개체차이가 크기 때문이라고 사료되며 歸腎丸이 卵巢를 적출한 흰쥐에 대하여

estrogen과 같은 체중증가 억제효과가 있다고는 기대할 수 없었다. 血清에는 보통 6.4-8.0g/dl의 蛋白質이 존재하지만 그것의 약 60%는 albumin이고 나머지는 매우 다양한 蛋白成分이 혼재한 globulin분획이다. 혈청 albumin은 분자량이 67,000인 蛋白質로서 주로 肝에서 합성되어 순환혈류로 분비되지만 組織間液이나 피부, 근육 등에도 분포하여 생체의 전신적인 환경에 따라 서로 이행되고 있다. Albumin의 생리적 의의는 전신의 조직, 세포의 營養蛋白의 보급원으로서 유용하지만 Ca, P, S 등 電解質, 甲狀腺 호르몬, 脂肪酸, bilirubin, vitamin, 약물 등 각종 성분을 결합·운반하여 필요한 것을 세포로 운반하고 불필요한 것을 제거하는 역할을 담당하고 있으며 특히 albumin의 감소는 합성재료(蛋白質이나 아미노산) 부족이나 합성기능 저하로 발생하며 이로 인하여 제반기능이 떨어지게 된다²⁴⁾. 혈청중 albumin의 함량은 대조군 3.62±0.31로 정상군 4.83±0.54 보다 유의하게 감소하였고(P<0.01), 歸腎丸투여군 3.49±0.52로 대조군에 비하여 유의성은 없었다(Table 2). ALP는 肝膽道系 질환, 骨疾患 등에서 증가하는 것으로 알려져 있으며²⁴⁾ 혈장 또는 혈청에서 측정된 total alkaline phosphatase(TALP)는 가장 널리 쓰이는 골형성지표이다. 조골세포는 alkaline phosphatase(ALP)를 생성하여 조골세포막의 소포에 저장하는데, 이중 일부가 혈액내로 유리되어 나오게 된다²⁵⁾. 혈청내 골 교체율의 지표인 ALP는 破骨細胞의 활동성이 骨芽細胞의 활동성보다 증가하여 골질량을 감소시키면 상승하게 된다. 골질환으로 인한 ALP증가는 골신생이 있는 경우에 볼 수 있고, 골과괴가 주된 질환에서도 증가를 볼 수 있으나 파괴에 수반하여 골신생이 없는 경우에는 증가하지 않는다²⁴⁻²⁶⁾. ALP는 閉經後 에 증가하며, 폐경후 골다공증 환자에서는 더 올라가고 칼슘제나 骨吸收억제제의 사용으로 감소되나 절대치는 정상 폐경후여성에서 보이는 값을 보인다. 신성골이양증(renal osteodystrophy), 원발성 또는 속발성 부갑상선기능항진증, 뼈의 원발성 또는 전이성암, 갑상선기능항진증, 골연화증, 골절의 회복기에도 TALP는 증가된다²⁵⁻²⁷⁾. 혈청중 alkaline phosphatase의 활성도는 대조군 348.82±37.48로 Sharm군 184.48±34.89보다 유의한 증가를(P<0.001), 歸腎丸투여군 257.02±39.14로 대조군에 유의한 감소를 보였다(P<0.05)(Table 3). 이러한 歸腎丸투여군에 있어서 ALP의 유의한 감소는 歸腎丸이 骨代謝에 관하여 뚜렷한 작용을 하고 있음을 시사하지만 이것이 骨吸收를 억제하여 나타나는 효과인지는 명확하지 않으며 이에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. phosphorus는 성인 체내에 1kg정도 존재하는데, 85%가 골격에 존재하면서 체내 거의 모든 대사과정에 관여하며, 폐경후 여성에서는 정상 성인에 비해 약간의 증가가 일어난다^{14,28)}. 혈청중 phosphorus는 혈중 인슐린 농도의 증가, 혈중 순환 catecho-lamines 농도의 증가, 호흡성 酸症, 세포형성과 동화의 증가, 骨組織으로의 빠른 무기질의 재공급이 일어날 때 증가한다²⁹⁾. 또한 뼈가 흡수될 때 phosphorus는 calcium과 함께 세포외액으로 방출되고 有機基質이 흡수되며 骨代謝가 일어나고 있을 때 증가한다¹⁴⁾. 혈청중 phosphorus의 함량은 대조군 6.91±1.14로 Sharm군 6.78±0.99과 유의한 차이를 보이지 않았으며 歸腎丸투여군 6.82±1.48로 대조군과 유의한 차이를 보이지 않

았다(Table 4). 칼슘은 체내에서 그 99%가 뼈에 존재하고, 支持組織으로서의 역할을 담당한다. 성인은 약 1-1.2kg의 칼슘이 뼈에 포함되어 있다. 나머지 1%의 칼슘은 혈액, 세포외액, 근육, 혈관, 외·내분비선등의 연부조직의 세포내에 존재한다. 1%의 칼슘은 신경의 전달이나 흥분, 심근이나 골격근의 수축, 응고인자의 활성화, 외·내분비선에서의 소화효소나 호르몬 분비, 그 표적기관에서의 작용, 적혈구등의 막의 안정화등 여러 조직의 기능유지에 필요하다¹⁸⁾. 혈중 calcium농도의 변화는 뼈에 존재하는 calcium의 영향을 받게되고 난소적출로 인한 뼈교체율의 증가는 골질의 감소를 초래하여 혈중 calcium의 상승을 가져오게 하므로³⁰⁾ 혈중의 calcium의 농도변화는 뼈흡수와 관련이 있다. 혈청중 calcium의 측정치는 대조군 13.41±0.74로 Sharm군 12.78±0.93, 歸腎丸투여군 12.97±0.87로 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 5). 난소적출 白鼠의 혈청 ALP의 증가가 뼈에서 유래한 것인지 肝膽道系에서 유래한 것인지 알아보고, 歸腎丸은 어떠한 영향을 미치는지 관찰하기 위하여 혈청중 GOT와 GPT를 측정하였다. 혈청중 GOT 측정치는 대조군 277.6±29.4로 Sharm군 282.7±24.3과 유의한 차이를 보이지 않았으며 歸腎丸투여군 269.3±35.4로 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 6). 혈청중 GPT 측정치는 대조군 53.6±5.4, Sharm군 54.1±4.8, 歸腎丸투여군 56.9±5.9로 각 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 7). 이 결과는 난소적출 白鼠의 혈청 total ALP의 증가가 肝膽道系에서 유래한 것이 아님을 시사한다.

歸腎丸이 卵巢切除 白鼠의 estrogen에 미치는 영향에 대하여 알아보기 위하여 혈청중 estradiol(E2)을 측정하였다. 혈청중 estrogen 측정치는 대조군 49.2±5.48(ng/ml) Sharm군 53.4±5.88(ng/ml)로 약간 감소하였으나 통계상의 유의성은 없었으며, 歸腎丸투여군 53.1±6.42로 대조군에 비하여 별다른 변화가 없었다(Table 8). 이는 卵巢切除후 혈청 estrogen이 현저하게 감소하였다고 보고한 연구들^{31,32)}과는 차이를 보이는 결과로 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 갑상선 호르몬은 90%의 T4(thyroxine, tetraiodothyronine)와 10%의 T3(triiodothyronine)으로 구성되어 있으며, 뼈흡수와 뼈형성을 촉진시켜 뼈交替율을 증가시키며^{33,34)} 甲状腺機能亢進症에서는 갑상선호르몬의 過剩分泌에 의하여 뼈形成과 뼈흡수가 亢進하여 뼈代謝回傳이 가속되지만, 뼈흡수가 뼈형성을 능가하기 때문에 뼈량이 감소하여 골다공증이 생긴다¹⁸⁾. 갑상선 호르몬이 뼈密도를 감소시키는 기전은 갑상선 호르몬이 직접 뼈흡수에 작용하여 血液內로 calcium분비를 증가시키는 것이며 갑상선 호르몬에 의한 破骨細胞의 뼈흡수 작용은 조골세포가 媒介하는 것으로 알려져 있다³⁵⁾. 혈청중 triiodothyronine(T3)의 측정치는 대조군 1.34±0.36로 Sharm군 1.42±0.42, 歸腎丸투여군에서도 1.51±0.88로 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 9). 혈청중 thyroxine(T4)의 측정치는 대조군 3.45±0.63으로 Sharm군 1.42±0.56에 비하여 유의한 증가를 보였으며(P<0.001) 歸腎丸투여군 2.58±0.46은 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였으며(P<0.01)(Table 10). 歸腎丸의 골다공증 예방 및 치료효과 검증의 또 다른 방법으로 뼈의 변형을 탈회화, 즉 뼈의 hematoxyline과 eosin염색을 이용한 조직

검사를 시행하여 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 변화를 관찰하였다(Fig.1, 2). 大腿骨 近位 骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱의 면적(trabecular bone area) 비율변화는 Sharm군 52.45±9.2%이었으며 대조군 36.48±6.1%로 유의한 감소를 보였으며(P<0.001) 歸腎丸투여군 43.39±6.7는 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였다(P<0.05)(Table 11). 大腿骨 近位 骨端部 1mm 하방에서의 骨小柱의 두께(trabecular thickness)의 변화는 Sharm군 90.11±8.8μm이었으며 대조군 60.92±6.1로 유의한 감소를 보였으며(P<0.001) 歸腎丸투여군 75.30±5.1은 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였다(P<0.001)(Table 12, Fig. 3-5). 이는 白鼠에서 卵巢를 제거하면 骨質量(bone mass)과 骨強度(bone strength)가 현저하게 감소한다는 여러 보고와 일치한 결과를 보인 것으로 Durbridge 등³⁶⁾은 흰쥐에서 卵巢 절제술을 시행하여 骨小柱 容積이 유의하게 감소되었음을 보고한 바 있다. Guurkan 등³⁷⁾은 卵巢를 제거한 쥐에서 骨密度가 감소하고, 뼈에서 칼슘과 hydroxyproline의 함량이 감소하는 것을 증명하였다. 지금까지 골다공증으로 인한 骨折의 위험도를 예측할 수 있는 가장 정확한 방법은 骨密度를 측정하는 것으로 Black³⁸⁾ 등은 골다공증에 의한 骨折를 예측하는데 骨密度 測定은 매우 큰 도움을 주는 검사라고 보고하였다. 그러나 骨小柱의 數(trabecular number)의 변화는 Sharm군(5.48±0.8)에 비해 대조군(4.99±1.6) 歸腎丸투여군(4.79±0.9)은 대조군과 유의한 차이는 보이지 않았다(Table 13). 骨小柱의 간격 (trabecular separation)의 변화는 Sharm군 128.08±25.4μm이었으며 대조군 143.11±42.2μm로 약간 증가하였으나 유의성은 없었다. 歸腎丸투여군 113.45±34.2μm는 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였으며(P<0.05)(Table 14, Fig. 3-5). 骨小柱에서의 osteoclast의 수는 단위 mm당 정상군 0.65±0.6이었으며 대조군 1.43±0.5로 유의한 증가를 관찰하였다(P<0.001). 歸腎丸투여군 0.94±0.6은 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였으며(P<0.01)(Table 15, Fig.6). 骨小柱에서의 osteoblast surface는 Sharm군 7.46±3.1%이었으며 대조군 14.35±3.8%로 유의한 증가를 관찰한 반면(P<0.001) 歸腎丸투여군 13.89±4.5%는 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 16, Fig. 7).

이상의 연구결과를 볼 때 歸腎丸抽出物의 생화학적 성분이나 주요효 인자들이 아직 밝혀지지 않았으나 혈청 중 alkaline phosphatase 활성도의 감소, T4의 감소, 骨端部骨小柱의 면적비율 및 骨小柱의 두께의 증가, 骨小柱의 분리감소, 破骨細胞의 감소 등을 관찰하였으며, 歸腎丸抽出液이 type I 골다공증에 유효한 작용을 가지고 있어 임상에 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

결론

歸腎丸投與 후 卵巢摘出로 유발된 제 I형 골다공증 白鼠의 體重의變動, 血清成分의變動, 大腿骨近位 骨端部骨小柱의 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

卵巢摘出 후 대조군의 체중은 Sharm군에 비해 유의하게 증가하였으며, 歸腎丸투여군의 체중은 유의한 변동을 보이지 않았다. 혈청 중 albumin 함량은 대조군이 Sharm군에 비해 유의하게

감소한 반면, 歸腎丸투여군은 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 없었다. 혈청중 ALP의 활성도는 대조군이 Sharm군에 비해 유의하게 증가한 반면, 歸腎丸투여군은 대조군에 비해 유의한 감소를 보였다. 혈청중 phosphorous 함량, calcium, GOT, GPT, T3 측정치는 각 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 혈청중 Estradiol(E2)의 측정치는 대조군이 Sharm군에 비해 약간 감소하였으나 유의성은 없었으며, 歸腎丸투여군은 대조군에 비해 별다른 변화가 없었다. 혈청중 T4의 측정치는 대조군이 Sharm군에 비해 유의하게 증가한 반면, 歸腎丸투여군은 대조군에 비해 유의한 감소를 보였다. 大腿骨近位 骨端部 1mm 下方에서 骨小柱面積 비례변화와 骨小柱의 두께 변화는 대조군이 Sharm군에 비해 유의한 감소를 보였고, 歸腎丸투여군에서는 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였다. 大腿骨近位骨端部 1mm 下方에서 骨小柱數의 변화는 대조군이 Sharm군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았으며, 歸腎丸투여군은 대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다. 大腿骨近位骨端部 1mm 下方에서 骨小柱間隔변화는 대조군이 Sharm군에 비해 약간 증가하였으나 유의성은 없었으며, 歸腎丸투여군은 대조군에 비해 유의한 감소를 보였다. 大腿骨近位骨端部 1mm 下方에서 骨小柱의 破骨세포의 수는 대조군이 Sharm군에 비해 유의하게 증가한 반면, 歸腎丸투여군은 대조군에 비해 유의한 감소를 보였다. 大腿骨近位骨端部 1mm 下方에서 骨小柱의 骨芽細胞 면적은 대조군이 Sharm군에 비해 유의하게 증가한 반면, 歸腎丸투여군은 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다.

이상의 실험결과는 歸腎丸投與後 卵巢摘出로 유발된 제 I 형 골다공증 白鼠에서 alkaline phosphatase 활성도의 감소, T4의 감소, 骨小柱의 면적비율 및 骨小柱의 두께의 증가, 骨小柱의 분리감소, 破骨細胞의 감소를 나타내므로 노화 및 폐경기 후 여성의 estrogen 결핍에 의한 골다공증의 예방 및 치료에 임상적으로 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 韓醫婦人科學 教材編纂委員會, 韓醫婦人科學 上, p.240, 鼎談, 서울, 2002.
2. 문명상 등, 골다공증(골조송증), p.1, pp.27-9, 32-7, 52-6, 최신 의학사, 서울, 1997.
3. 金貞娟, 宋勇善, 골다공증에 대한 東西醫學의 考察, 한방재활 의학회지, 6(1):293-315, 1996.
4. 金鍾桓, 골다공증에 관한 文獻의 考察(주로 最近 韓醫學의 臨床 및 實驗論文을 中心으로), 大韓針灸學會誌, 15(2):437-54, 1998.
5. 楊維傑, 內經素問譯解, p.30, 52, 90, 94, 133, 210, 269, 399 pp.328-30, 337-8, 大星文化社, 서울, 1990.
6. 김완희 등, 臟象學의 理論과 臨床, p.54, 一中社, 서울, 1996.
7. 李鎮赫, 柳同烈, 골다공증에 응용되는 數種의 強筋骨藥物에 대한 文獻의 考察, 大韓韓方婦人科學會誌, 12(1):105-24, 1999.
8. 박영배, 강성길, 안현석, 골다공증의 침구치료에 관한 문헌적 고찰, 대한침구학회지, 11(2):171-90, 1995.

9. 박철훈, 홍화자가 난소를 적출한 백서의 골다공증에 미치는 영향, 대한한방부인과학회지, 14(1):73-87, 2001.
10. 이정재, 당귀지황음이 난소적출 백서의 골다공증에 미치는 영향, 대한한방부인과학회지, 17(1):111-28, 2004.
11. 張介賓, 景岳全書 下, p.423, 大星文化社, 서울, 1988.
12. 鄭鎭鴻 監修, 婦人科方劑學, p.35, 木과 土, 서울, 2000.
13. 대한골대사학회, 골다공증, p.1, 61, pp.19-21, 28-32, 서흥출판사, 서울, 2000.
14. 해리슨번역편찬위원회 譯, HARRISON'S 내과학(II권), pp.2310-21, 2342-8정답, 서울, 1997.
15. 曹滋鉉, 폐경과 골다공증, 대한의학협회지, 35(5):587-98, 1992.
16. 한인권, 골다공증의 진단과 치료의 최신지견, 가정의학회지, 18(11):1291-8, 1997.
17. 박형무, 서대원, 허민, 한국여성의 요추 골밀도(정량적전산화 단층촬영에 의한 평가), 대한골대사학회지, 1(1):61-9, 1994.
18. 岡野一年 著, 서광 편집부 譯, 골다공증, p.1, 3, 46, 165, pp.6-12, 15-6, 36-7, 80-1, 114-62, 서광, 광주, 2000.
19. 권동진, 정상 한국 여성의 폐경 전, 후 요추 골밀도 변화, 대한산부인과학회지, 37(12):2395-9, 1994.
20. Durbridge TC et al, Progressive cancellous bone loss in rats after adrenaectomy and oophorectomy, Calcif. Tissue Int, 47-383, 1990.
21. Guurkan L et al, Bone changes after castration in rats. A model for osteoporosis, Acta. Orthop. Scand, 57(1):67-70, 1986.
22. Kalu DN, The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss, Bone Miner, 1255:447-52, 1992.
23. Kalu DN et al, Effects of ovariectomy and estrogen on the serum level of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3, Bone Miner, 25(2):135-48, 1994.
24. 이귀녕, 이종순, 임상병리파일, pp.171-2, p.229, 의학문화사, 서울, 1993.
25. 김기수, 골다공증, pp.102-3, 여성신문사, 서울, 1998.
26. 육태한, 이창현, 이학인, 홍화자, 녹용, 자하거 약침이 골다공증에 미치는 영향, 대한침구학회지, 18(1):61-75, 2001.
27. 김기수, 내분비질환의 진단과 치료, p.1, pp.10-5, 한국의학, 서울, 1998.
28. 강세윤 외, 오늘의 진단 및 치료, p.1218, pp.1295-6, 도서출판 한우리, 서울, 1999.
29. Bilezikian JP et al, Principle of Bone Biology, p.263, Academic Press, USA, 1996.
30. Yeh JK et al, Effects of 17 β -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bones of the ovariectomized rat, Bone Miner, 24(3):223-34, 1994.
31. 김남수 등, 혼취에서 난소제거술로 유발시킨 골다공증시 osteocalcin bone-specific alkaline phosphatase, estrogen, IGF-I, Ca^{2+} , P와 bone density의 변화, 대한수의학회지, 40(4):755-62, 2000.
32. Richelson LS et al, Relative contributions of aging and

- estrogen deficiency to postmenopausal bone loss, *N Engl J Med*, 311(20):1273-5, 1984.
33. Reeve J et al, Anabolic effect of human parathyroid hormone fragment on trabecular bone in involutional osteoporosis. A multicenter trial, *Br. Med. J*, 280(6228):1340-4, 1980.
34. Coindre JM et al, Bone loss in hypothyroidism with hormone replacement. A histomorphometric study, *Arch intern Med*, 146(1):48-53, 1986.
35. Mundy GR et al, Direct stimulation of bone resorption by thyroid hormones, *J Clin Invest*, 58(3), 529-34, 1976.
36. Durbridge TC et al, Progressive cancellous bone loss in rats after adrenaectomy and oophorectomy, *Calcif. Tissue Int*, 47(6):83-7, 1990.
37. Gurkan L et al, Bone changes after castration in rats. A model for osteoporosis, *Acta Orthop Scand*, 57(1):67-70, 1986.
38. Black DM et al, Comparison of methods for defining prevalent vertebral deformities: the study of Osteoporotic fractures, *J. Bone Miner. Res*, 10(6):890-902, 1995.