

# I형 골다공증의 요인분석과 다랑어골분 複合製劑의 pilot study를 통한 평가

지규용\* · 김영만<sup>1</sup>

동의대학교 한의학과, 1: 동의대학교 식품영양학과

## Factor Analysis of Type I Osteoporosis and Evaluation on Tuna Bone Powder Compounds through Small Scale Pilot Study

Gyoo Yong Chi\*, Young Man Kim<sup>1</sup>

Department of Oriental Medicine, Dongeui University, 1: Department of Food and Nutrition, Dongeui University

This study was carried out for analyzing pathological and epidemiological factors of osteoporosis and doing pilot test using trial compounds of tuna bone and oriental herbs based on the factors. Osteoporosis is originated from osteoblast, osteoclast, organic and inorganic factors etc. Therefore the pathology of osteoporosis is not simple because the cytokine, growth factors and hormones of the components are various a lot. Taking a view of epidemiological factors of type I osteoporosis, age · menarche · cholesterol · BMI etc. have definite relation to them. So we can approach to aging or consumptive disease in oriental medicine, specifically differential diagnosis of blood depletion with deficiency of qi, deficiency of kidney, deficiency of yin, bony weakness etc. And it should be considered together with rules for maintaining good health or habit concomitantly. Therefore IL1 · 6 or TNF α · β are generally used as molecular biological index for osteoblast and osteoclast because the most important index is bone mineral density and strength, but the factors like collagen and noncollagen protein must be accounted as biomarkers. Trial compounds generally showed favorable effects on accompanying subjective symptoms of osteoporosis in the pilot test for menopausal woman. But if she didn't have specific symptoms of osteoporosis there wasn't any specific change. And osteocalcin was increased in case of being under standard level, but wasn't changed in case of normal level. Therefore these trial compounds can be used as a functional diet for type I osteoporotic patients or preventive measures

Key words : Type I osteoporosis, pilot test, tuna bone powder compounds

### 서 론

骨多孔症은 단위용적당 골량(bone mass per volume)의 감소를 일으키는 여러 원인에 의한 질병으로 정의하며 감소 정도는 젊은 성인의 골밀도 평균값을 100으로 했을 때 30% 이상인 경우를 말한다. 이러한 골량의 감소는 골재형성과정(bone remodelling), 즉 골형성과 골흡수간의 불균형으로 인해 발생되므로 대사성 골질환에 속한다.

대사성 골질환은 병리학적으로 무기질 침착의 장애나 감소

에 의한 골연화증(osteomalacia)과 구루병(rickets), 그리고 골흡수율이 골형성률보다 큰 부갑상선기능항진증과 골다공증, 반대로 골형성률이 골흡수율보다 큰 부갑상선기능저하증과 골화석증(osteopetrosis) 등으로 세분된다<sup>1)</sup>.

이러한 골량의 감소는 특히 老人이나 閉經期가 지난 女性들에게서 다발하는데 노령인구가 급속히 증가하면서 노인성 골다공증에 의한 골절이 사회적인 의료문제로 부각되고 있다<sup>2)</sup>. 1999년 현재 보건사회연구원 통계<sup>3)</sup>에 의하면 평균기대수명이 남성은 약 71세, 여성은 약 78세이며 이로 인해 골다공증의 유병률이 현저하게 증가하여 골다공증 위험군이 1995년에는 18%이지만 2010년에는 27%, 2020년에는 약 35%에 달할 것으로 예측된다고 한다. 이렇게 보면 여성의 경우 1995년 기준으로 인생의 약 38%

\* 교신저자 : 지규용, 부산시 부산진구 엄광로 995, 동의대학교 한의과대학

· E-mail : cgyu@deu.ac.kr, · Tel : 051-850-8659

· 접수 : 2003/10/24 · 수정 : 2003/12/01 · 채택 : 2004/01/12

정도, 그 이후는 50%에 육박하는 기간을 폐경후 상태로 살아가게 된다.

통계청의 사망원인별 사망자수를 보면 2000년도의 전체 근골격계 사망자(2130명)중 골밀도 및 구조장애(785명) 비율이 약 36.8%를 차지하는데 골밀도 및 구조장애 중에서도 골다공증(459명)이 전체의 58.5%를 차지할 만큼 골질환의 주요한 사망원인이다. 골다공증은 남녀와 시기에 따라서 관련된 기전들이 조금씩 다르기 때문에 임상 진단에서도 크게 3가지로 분류한다. 첫째는 성장기의 아동이나 청소년과 관련된 juvenile idiopathic osteoporosis이고 둘째는 51세에서 70세 사이의 폐경후 여성과 관련된 Type I osteoporosis인데 이는 치밀골(cortical)보다 해면골(trabecular bone)에 잘 발생하며 추체(vertebral body)와 下膊(distal forearm)에 호발하는 특징이 있고 代價的으로 부갑상선 호르몬이 감소하는 경향을 보인다. 셋째는 70세 이후의 남녀에게 모두 흔한 Type II osteoporosis로서 치밀골과 해면골에 고루 발생하며 대퇴골(femoral neck), 상완골과 정강이뼈(proximal humerus and tibia), 골반뼈(pelvis) 등이 가장 호발부위인데 부갑상선호르몬의 혈청치가 정상보다 상대적으로 높은 경향이 있다<sup>4)</sup>. 그렇지만 I II형 모두 활성형 비타민 D의 수치는 감소된다<sup>5)</sup>. 그러므로 골격강화기능을 갖는 기능성 식이제품을 구성하기 위해서도 이들 세 그룹에 각기 적합하도록 하며 동시에 골다공증 위험인자들<sup>6)</sup>을 고려하는 것이 타당하다고 생각한다.

본 논문은 이들 세가지 골다공증 중에서 특히 가장 빈발하는 폐경기 여성의 I형 골다공증을 중심으로 한의학적으로 중시해야 할 병리요인 및 역학적 요인과 이론들을 검토하고 종합하였다. 골다공증은 일반적으로 이<sup>7)</sup>, 이<sup>8)</sup>등의 칼슘급원에 관한 연구처럼 기능성 식품산업계에서는 칼슘제 연구가 많이 진행되고 있다. 그렇지만 실제 인체에서 발생하는 골량감소의 주요병리는 칼슘공급의 부족보다는<sup>9)</sup> 골흡수의 증가에 기인하기 때문에 의학 임상에 있어서는 더 세부적인 고려사항들이 필요하다.

따라서 건식제품을 만들기 위해 우선 다량어의 골분을 회화 처리하고 착염가공을 통하여 흡수효과를 높이는 한편 기능성을 추가하기 위하여 한약재와 혼합하는 방안을 탐색하였다. 또한 이와 아울러 폐경기 여성 골다공증의 치료를 위한 의학적인 고려사항을 조사하여 향후 한방식이제품 처방의 기본자료로 제시하고 시범적으로 골다공증의 기본제품을 구성한 다음 소규모의 pilot study를 실시하여 결과를 분석하였다.

### 골다공증의 병리요인과 역학

#### 1. 골대사의 병리와 골다공증 예방식이의 의학적 요구

뼈(骨)는 세포와 기질로 구성되며 세포로서는 조골세포 계열세포(osteoblast lineage cells)와 파골세포(osteoclast)가 있고 기질(bone matrix)은 유기질(35%)과 무기질(65%)로 구성된다. 이 중 무기질 부분은 수산화인회석(hydroxyapatite)이 주성분이고 인체 칼슘의 99%, 인의 85%, 나트륨 및 마그네슘의 65%를 제공하며 골의 장력과 견고성을 만드는 본질이다. 유기질 성분은 기질단백과 세포로 구성되는데 기질단백의 88%는 type

I collagen이고 10%는 비교원질성 단백질이며 1-2%는 지방 및 당단백이다. 비교원질성 단백질의 양은 비록 적지만 세포 부착 단백질인 fibronectin, osteopontin, thrombospondin등을 포함하며 무기질 침착에 관여하는 osteocalcin등이 있어 매우 중요하다.(Fig. 1)

造骨細胞는 여러 종류의 cytokine들과 growth factor들을 생성하고 분비함으로써 뼈를 만드는데 촉진인자로는 parathyroid hormone, Vitamin D, glucocorticoid, calcitonin, sex hormone, insulin 등의 전신호르몬과 PTHrP, TGFβ1 · β2 · β3, FGF1 · 2, IGF, PDGF, BMPs2-7등의 국소인자들이 있다<sup>10)11)</sup>.

파골세포는 석회화된 골기질에 바짝 붙어서 미토콘드리아와 라이소좀, 골지체 등이 풍부하여 골흡수를 위한 구조를 갖추고 있으며 이의 형성과 작용을 조절하는 인자로는 IL 1, M-CSF, TGF α, TNF α · β, IL-6(병리상태), IL-11(생리상태)등이 enhancing에 관여하고, TGF β, IFN-γ, IL-4, NO, sex steroids, IL-18, osteoprotegerin<sup>12)</sup> 등이 inhibition에 관여하며 systemic hormone으로서는 calcitriol, PTH/PTHrP, calcitonin, prostaglandins 등이 관여한다<sup>13)</sup>.(Fig. 2)

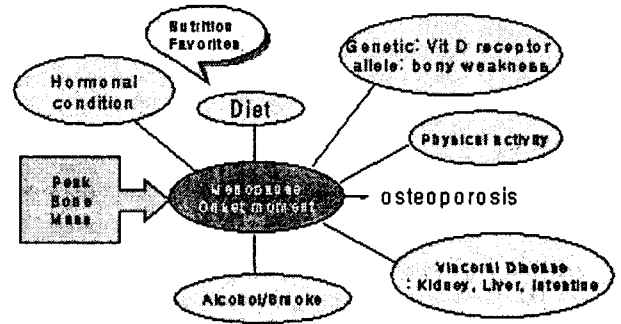


Fig. 1. Diagram of bone component

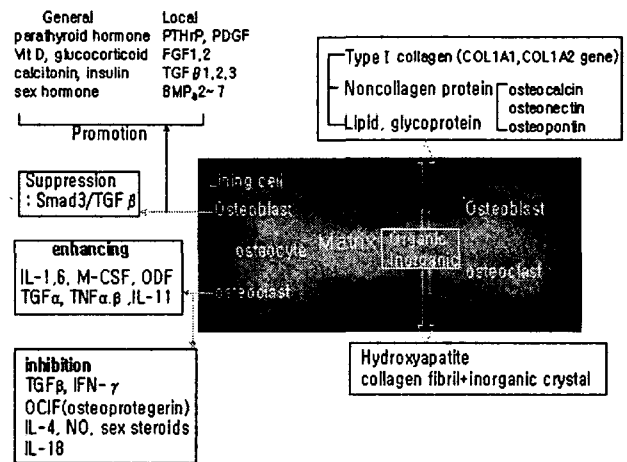


Fig. 2. Diagram of molecular markers of osteoporosis

골흡수부터 골기질이 만들어지기까지는 약 8-12주가 걸리며 곧 이어서 석회화가 진행되는데 이것이 끝나면 뼈가 완성되지만

그 시점부터 다시 골흡수가 시작된다. 석회화는 보통 12-15일이 걸리므로 전체적인 골재형성주기는 약 10-14주가 된다.

골다공증이란 일련의 골재형성 과정 중에서 일정 시점에 존재하는 骨量이 작은 충격으로도 골절이 생길 정도로 낮아진 것이다. 일정 시점에서 남은 골량은 성장이 끝난 후 갖게 되는 최고골량에서 여러 가지 원인으로 골소실이 일어나고 남은 골량이므로 최고골량(peak bone mass)이 골다공증 형성에 중요한 기준이 된다. 최고골량은 주로 유전요인(Vit D receptor allele)에 의해 결정되지만 육체활동이나 근력, 食餌, 호르몬 상태 등이 모두 관련된다<sup>14)</sup>.

골량의 형성과정을 보면 여자는 11세부터 14세까지 약 3년간 급격하게 골밀도가 증가하여 거의 최고골량에 도달하며 신장의 증가가 가장 급격한 시기에는 골절 발생률도 높은 것으로 알려져 있는데 이는 왕성한 육체활동증가와 함께 상대적인 피질골의 다공성(porosity) 증가도 일부 기여할 것으로 짐작된다. 이것이 청소년기의 외적인 건강에도 불구하고 생리적 필요성으로 인해 골다공증에 대비한 예방적 식이가 필요한 이유이다.(Fig. 3) 최고골량의 수준은 20대 초반에서 30대 중반까지 유지되는데 그 후부터는 계속 감소하게 된다. 이러한 장년기 이후의 골다공증 발생은 남녀의 두 패턴으로 나누어지며 가장 중요한 인자는 공히 老化이다. 노화와 함께 칼슘의 흡수가 감소하는 것은 위와 같이 칼슘흡수를 증가시키는 활성 비타민D의 감소에도 기인하지만 일반적으로 세뇨관 재흡수기능의 감소, 혹은 단백질이나 염분 섭취 증가로 인해 공복시 칼슘의 소변배설량이 증가한다거나<sup>15)</sup> 혈청 인농도의 감소 및 에스트로젠 감소<sup>16)17)</sup>로 인해서도 비롯된다. 특히 여성에 있어서의 estrogen hormone의 효능은 골다공증에 대해서도 이론의 여지가 없다<sup>18)</sup>.

## 2. I형 골다공증의 역학

골다공증용 기능성 식이제품의 주요 타겟을 설정하려면 역학통계를 분석할 필요가 있다. 유럽에서 50세 이후의 여성과 남성에서 척추골절 발생률을 분석한 논문<sup>19)</sup>을 보면 여성이 적어도 2배에서 4배까지 빈발하였음을 알 수 있다. 이러한 점은 대퇴골 골절의 유병률에서도 그대로 반영되는데 1995년 국내의료보험 분석자료에 의하면 여성 1000명당 0.94명, 남성은 1000명당 0.3명으로 나타났다<sup>20)</sup>.

또한 특히 여성에 있어서 골밀도와 상관관계를 갖는 여러 인자들을 분석한 자료를 보면 음의 상관관계를 갖는 것으로는 연령, 초경연령, 폐경후 기간, 출산 수, 총콜레스테롤(mg/dl), 중성 지방(mg/dl), LDL콜레스테롤(mg/dl), 난포자극호르몬의 농도(mIU/ml) 등이 있고 양(+)의 상관관계를 갖는 것으로는 체질량지수(kg/m<sup>2</sup>), 교육수준, 운동 등이 있다. 또 체질량지수와 관련하여 체중이 5% 이상 줄어든 여성은 1.7%의 골밀도 감소가 있는 반면, 체중 변화가 없는 여성은 0.8%의 골밀도 감소가 있었고 체중이 증가된 경우에는 0.1%의 골밀도 증가를 나타내어 체중이 골밀도 보호효과가 있는 것으로 나타났다.(Fig. 3)

충분한 Ca 섭취와 정기적인 운동이 최대골량을 유지하기 위해 가장 중요하다는 사실은 이미 수많은 논문<sup>21)22)23)24)</sup>에서 증명

된 바 있는데 2,30대 여성(20-39세) 91명에 대한 횡단연구(cross-sectional study)에 의하면<sup>25)</sup> 야구, 농구, 테니스 같은 고강도 운동(high impact activity)을 시행한 경우가 탁구, 수영, 소프트볼 같은 저강도 운동(low impact)을 시행한 경우보다 유의하게 골밀도(whole-body BMD & lumbar BMD)가 높았다고 하여 운동의 실시여부 뿐만 아니라 종류에 따라서도 골밀도에 미치는 영향이 다른 것을 알 수 있다.

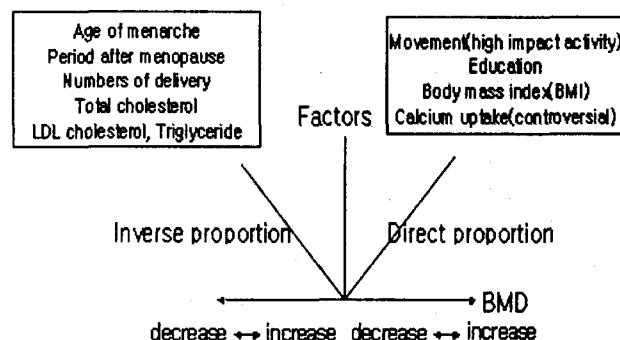


Fig. 3. Correlation between individual factors and bone mineral density

적절한 칼슘섭취량에 대해서는 일반적으로 하루에 1000mg<sup>26)</sup>에서부터 특별히 사용할 필요가 있는 경우, 예컨대 임신부, 수유기, 폐경후 칼슘투여시에는 1500mg까지의 사이에서 조절하는 것이 적당하다고 할 수 있으나 폐경후 노령의 여성 1419명에 대한 대규모 코호트조사에서는 칼슘섭취의 부족이 곧 골절발생을 증가시키지 않는다는 보고<sup>27)</sup>도 있다.

염분섭취와 관련된 일본의 역학조사에서 Mizushima는 칼슘섭취량이 적은 여성(600mg/day)과 칼슘 섭취는 많으나 염분을 많이 섭취한 여성들은 낮은 골밀도를 보인 것으로 나타났으며<sup>28)</sup> 호주의 중규모(154명) 역학조사에서도 Jones는 salt intake가 bone resorption의 marker로 쓰인다거나 골다공증의 risk factor가 될 수 있다<sup>29)</sup>는 결론을 내렸다.

## 3. 분석

서의학적으로는 골다공증에 관련된 대부분의 연구가 조골세포와 파골세포를 중심으로 한 cytokine과 growth factor, 혹은 estrogen, PTH 등과 같은 호르몬에 집중되어 있지만 한방입상에서 녹용, 구판 등을 類用하는 점에서 본다면 무기질과 collagen, 비교원질성 단백질 등 기질의 역할도 매우 중요하다고 할 수 있다. 따라서 Sykes 등의 연구처럼<sup>30)31)32)</sup> 한의학분야에서의 골다공증 연구도 지표로 다양화함으로써 한방처방의 효과를 입체화시킬 필요가 있다고 생각된다.

또한 장년기 이후에 여성의 골다공증 발생률이 현저하게 높고 월경이라는 생리현상이 가장 중요한 원인 및 유발인자로 작용하기 때문에 생리주기를 정상화하고 月經血의 질을 정상수준으로 유지할 수 있는 종합적인 치료방안이 요구된다. 따라서 예방적으로 폐경기 이전부터 여러 인자를 고려하여 상복할 수 있는 식이제품의 필요성이 더욱 인정된다.

## I형 골다공증용 식이제품의 기본조건

여성은 평생 30년 이상 난소로부터 규칙적으로 월경시마다 일정한 수의 난모세포가 배출되는데 이는 점차 estrogen과 inhibin의 감소를 초래하고 이로 인해 무배란과 무월경이 오게 된다. 폐경 자체가 항상 특정한 질환을 일으키지는 않으나 폐경 부인의 약 25%가 초기에는 홍조, 작열감, 불면증, 冷汗 등의 혈관운동계 증상이 주로 나타나다가 점차 동맥경화증, 성교통, 재발성 요도염, 골다공증, 비뇨생식기 위축 등이 나타나고 자율신경 계통의 불균형으로 인한 情志症狀, 예컨대 피로감, 의기소침, 현기증, 홍조, 불면, 성욕감퇴, 짜증, 불쾌감, 집중력 감퇴, 호흡곤란감, 정서불안, 긴장감 등이 함께 나타난다.

그러므로 의학적인 치료에 있어서는 특별한 금기증상, 예컨대 estrogen 의존성 종양, 유방암, 원인 불명의 자궁출혈, 자궁암, 뇌졸중(CVA), 동맥경화증, 혈전 색전성질환 등이 없다면 estrogen을 우선적으로 처방하는 것도 이와 같은 이유이다. 골다공증의 발생빈도를 보더라도 에스트로젠을 투여하지 않은 40대 이후의 부인들은 1,000명중 75명 꼴이었으나 estrogen 투여후에는 25명 정도로 감소한다.

폐경으로 인한 골다공증의 직접적인 발생기전은 위에 살펴본 1 $\alpha$ -hydroxylase와 관련된다. 이 효소는 prolactin에 의해 영향을 받는데 prolactin은 estrogen농도와 비례하여 변동한다. 따라서 폐경으로 인해 estrogen이 감소하면 prolactin의 감소와 함께 1 $\alpha$ -hydroxylase가 감소되고 이는 vitamin D의 활성화를 저해하여 Ca 흡수를 더욱 감소시키게 되는 것이다.

물론 이 외에도 부갑상선 호르몬의 감소나 운동량 감소, 흡연, 음주 등 여러 요인이 관여하고 있지만 가장 중요한 것은 estrogen이다.

그렇지만 estrogen 치료에는 금기가 있는만큼 위험성이 내포되어 있다. estrogen의 발암성이 그것인데 수년 전에는 프로제스틴 병용요법이 권장되기도 하였지만 최근에는 오히려 유방암을 심화시킨다는 보고가 많다<sup>33)34)35)</sup>.

어쨌든 이로써 골다공증이 복합적인 질환의 일부이며 폐경이라는 생물리적 현상과 직접적인 관계를 갖고 있으므로 치료에 접근하기 위해서는 老化和 虛勞라는 거시적 관점에서 접근해야 한다. 그렇지만 정밀한 원인분석을 필요로 하는 의학적 목적이 아니므로 위에서 제시한 것처럼 운동과 기호, 영양, 체중, 생활습관 등에 대한 종합적 기능개선에 비중을 두어야 한다. 그리고 병리·방제학적으로는 血衰氣消, 腎虛, 陰虛, 骨弱 등의 범주에서 기본진단과 처방이 구성되어야 한다.

한방부인과학에서는 만성 갱년기 장애의 한 유형으로 보고 폐경의 전반적인 신체변화에 근거하여 六味地黃湯 加味方, 左歸丸合四君子湯 등을 활용하며<sup>36)</sup> 연구자들도 대개 이 범주에서 左歸飲과 右歸飲, 大補元煎, 杜仲 등을 사용하고 있다<sup>37)38)39)40)</sup>. 이를 근거로 골다공증에 적합한 기본 보충식으로 본고에서는 景岳의 처방인 大營煎을 원용하여 골분과 기타 佐使藥을 가미하고 <식품공전>에서 식품원료로 허용되지 않은 약재는 사용하지 않았다.

## 한방식이제품의 구성 및 pilot study

### 1. 골격강화 기능성 식품보조제 구성에

#### 1) 當歸

당귀(當歸)는 미나리과(Umbelliferae)에 속하며 *Angelica gigas* 혹은 *Angelica sinensis*의 뿌리이다. 대한약전에서는 효능을 “養血活血, 調經止痛, 潤燥滑腸, 溫中發汗, 和血破瘀, 益五臟, 潤腸胃, 生肌肉, 澤皮膚, 舒筋排膿, 制雄黃, 養血潤燥”한다 하였는데 骨病에 대한 직접적인 설명은 없지만 養血活血하는 작용을 통하여 관여하는데 Choline, Decursinol 등을 포함하며 adenine, alanine, arginine, aspartic acid 등의 필수아미노산들을 풍부하게 함유한다<sup>41)</sup>.

약물분석연구에 의하면 뿌리의 주성분은 pyranocoumarin계의 물질인 decursin<sup>42)43)</sup>이라고 했으며 기타 decursinol의 AChE 억제작용<sup>44)</sup>이 보고되어 있고 최근에는 angelan의 기능<sup>45)46)</sup>에 관한 연구가 많이 있다.

골다공증과 관련해서는 Niwa 등에 의한 brefeldin A(BFA)의 작용<sup>47)</sup>이 보고되어 있다. 그들은 BFA가 p53 의존성 기전에 의해 파골세포의 apoptosis를 유도함으로써 골흡수(osteoclastic bone resorption)를 저해한다고 설명하였다.

#### 2) 우슬

우슬은 Amaranthaceae과인 쇠무릎(*Achyranthes bidentata*, *A. japonica*)의 뿌리를 지칭한다. 효능은 瘀血을 제거하고 消腫止痛하며 補肝腎, 強筋骨하는 작용을 한다. 따라서 經閉, 難產, 胞衣不下, 打撲傷 뿐만 아니라 腰膝關節疼痛, 老人小便失禁 등의 노화성 골질환에 사용할 수 있다. 우슬에 대해 Xie<sup>48)</sup>등은 SOD활성을 증가시키고 T/K ratio와 MDA content를 낮추며 ALT와 AST를 저하시켜 산소라디칼을 제거함으로써 혈액순환과 어혈제거를 촉진하여 만성 간손상을 회복시킨다고 하였다. 또한 Li<sup>49)</sup>등은 항산화활을 통한 항노화작용을 갖고 있다고 약리작용을 보고하였다.

#### 3) 숙지황

熟地黃은 Scrophulariaceae과에 속하는 지황(*Rehmannia glutinosa* var. *purpurea*)의 뿌리(*Rehmanniae Radix et Rhizoma Preparata*)를 九蒸하여 건조한 것이다. 본초학적으로 滋補肝腎하고 養血補虛하며 填骨髓하는 효능을 가지고 있으므로 腰膝痿弱, 遺精, 崩漏, 月經不順, 鬚髮早白 등의 생식기능감퇴와 노화성으로 온 골다공증에 적용할 수 있게 된다. 최근 국내에서도 숙지황 추출물의 조골세포의 골형성 촉진 및 파골세포의 골흡수 억제작용이 보고된 바 있다<sup>50)</sup>. 화학성분으로는  $\beta$ -sitosterol, mannitol, stigmasterol, campesterol, catalpol, rehmannin, and vitamin<sup>55)51)</sup>, aucubin 등이 있으며 aucubin은 두층에도 들어있는 것으로 collagen 합성촉진작용을 한다.

#### 4) 두중

두중은 Eucommiaceae과에 속한 두중(*Eucommia ulmoides*)의 樹皮(*Eucommiae Cortex*)이다. 益肝腎, 補腰膝, 堅筋骨, 祛風濕하는 효능을 갖고 있어서 腎虛腰痛과 足膝痿弱, 脚中痛, 胎動, 胎漏, 墮胎 등에 응용한다 하였으니 골격기능과 생식기능 및 임신의 유지와 관련된 작용을 함을 알 수 있다. 화학성분으로는

1-deoxyeucommiol, 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde, ajugoside, aucubin, betulin, caffeic acid, eucommioside I·II, genipin, geniposide, geniposidic acid, syringin, syringoside, alyposide, ligustrin, beta-sitosterol 등이 밝혀져 있다.

두층의 약리작용은 활성산소를 제거<sup>52)</sup>하여 항산화작용<sup>53)</sup>을 갖는 한편 Li등은<sup>54)</sup> 葉에 함유되어 있는 geniposidic acid와 aucubin(monoterpenoid)이 collagen 합성을 촉진함으로써 筋骨을 강화시킨다고 하였다.

5) 가용성 골분 제조

칼슘 소재로 이용하기 위해 사용한 다량어(Thunnus thynnus)뼈는 2001년 10월에 경남 고성소재 정필(주)로부터 원료를 구입하였다. 구입한 원료뼈는 근육과 이물질을 제거하고 고온가압처리(121℃, 60분), 진탕처리(60℃, 6시간) 및 회화처리(80℃, 20분)를 하였다.

고온가압처리(121℃, 60분)한 다량어골분을 전기 회화로(Dongwon scientific co.)로 900℃에서 20분간 회화시켜 얻은 회화분 10g(0.02mol as Ca5(PO4)3OH에 유기산(구연산, 젖산, 사과산, 초산) 등을 1M 100ml씩 첨가하여 감압하에서 30분간 교반시키고 농축(90℃, 1시간), 건조(60℃, 24시간)시킨 후 막자사발로 분쇄한 후 120mesh 체로 걸러 사용하였다. 그리고 비교시험을 통하여 구연산과의 물비가 1:3~5로 혼합한 제품이 가장 흡수율이 좋았으므로 이 조건에서 구연산 칼슘을 제조하였다.

2. 소규모 pilot study

1) 연구방법 및 재료

(1) 연구재료

본 임상시험을 진행하기 위해 일간신문 건강면에 임상시험 공고를 내고 지원자를 15일간 모집하였다. 여기에 지원한 여자 10명중에서 인터뷰를 통하여 시험조건에 맞는 6명의 임상자료를 획득하였다. 연령은 45세부터 63세까지의 골다공증 관련 진단을 받은 적이 있고 현재 병원에서 골절치료를 받고 있지는 않는 개체, 즉 골다공증에 의한 임상증상이 병원의 집중치료 대상이 아니면서 DEXA 검사에서 확인된 초·중기의 개체를 선정하였다. 시제품은 위에 제시한 약재들을 일정 비율로 혼합하고 水煎한 다음 75cc/회×2회/day를 골분 750mg/회×2회/day과 함께 복용하도록 하였다.

(2) 연구방법

일반적인 임상시험 프로토콜을 준용하여 피험자에게 임상시험계획을 설명하고 동의서를 받았으며 주의사항과 임상시험중 의무수칙 등을 전달하였다.

시험진행 중에는 본 골다공증용 기능성제품 외에는 어떤 약물이나 녹즙을 포함한 건강음료, 혹은 녹차나 커피, 주류, 흡연 등도 금지토록 하였으며 만 2일 이상을 연속해서 복용하지 못하는 경우도 시험대상에서 제외하였다. 혈액검사는 검사 당일 오전까지 시제품을 복용하고 오후 2시 30분~3시 30분 사이에 실시하였다. 혈액학 지표로서는 동물실험에서 유의한 결과가 있었던 osteocalcin과, 유의한 결과는 없었으나 골분의 직접적인 칼슘증가여부를 관찰하기 위하여 혈중 칼슘량을 측정하였다. 또한 증거

로 사용되지 못하지만 자각효과를 기술하기 위한 설문지를 사용하였다.

혈액채취는 동의의료원 임상병리검사실에서 이루어졌고, 플라시보효과를 방지하기 위해 검사결과는 최종 채취가 이루어진 후 일괄적으로 받았다. 결과에 대한 통계는 Microsoft 2000 Excel을 이용하여 Student's T test를 실시하였다.

2) 결과

① Osteocalcin 수치의 변화

Table 1. Changes of Osteocalcin Level

	2월 14일	4월 14일	5월 14일
박○영	5.02	5.72	6.48
박○연	16.53	14.33	21.22
전○자	8.26	11.52	13.96
김○숙	25.64	26.46	31.16
정○숙	11.31	13.26	12.13
이○란	11.72	12.09	11.56
평균	13.08	13.89	16.08

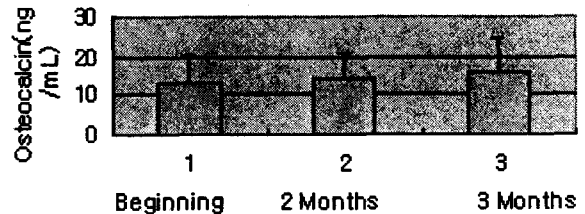


Fig. 4. Changes of Osteocalcin Level of Women

② 혈중칼슘 수치의 변화

Table 2. Changes of Blood Calcium Level

	2월 14일	4월 14일	5월 14일
박○영	8.5	8.9	8.7
박○연	8.8	8.6	9.1
전○자	9.0	9.2	9.7
김○숙	8.9	8.5	9.2
정○숙	8.8	8.6	8.8
이○란	8.7	8.7	9.0
평균	8.78	8.75	9.08

3) 분석

골다공증에 대한 유효성을 평가하기 위한 가장 직접적인 지표는 골밀도(BMD)와 골강도이다. 그러나 이 지표들은 변화관찰에 긴 시간이 소요되고 직접측정이 어렵기 때문에 단기적인 유효성을 평가하기 위해 생화학적인 지표시험을 통하여 확인하게 된다. 먼저 osteocalcin 측정결과를 보면 약간의 예외는 있지만 비교적 고르게 상승하고 있어서 완만한 효과가 있었음을 보여준다. 실제로 주관감각에 대한 설문조사에서도 골다공증성 신체증상을 가지고 있던 피험자는 대개 증상이 호전되었다고 평가하고 있다. 다만 평소 골다공증에 관련된 신체자각증상이 없었던 정○숙씨는 시제품 복용 후에도 여전히 특별한 변화를 자각하지 못한다고 하였다.

시험개체수가 적고 분산범위가 커서 T Test는 전혀 의미가 없었는데 평균 3.00의 상승이 있었다. 이는 비특 생리적인 변동범위

내에 있기는 하지만 자각증상 변화와 관련하여 임상적인 의의를 나타낸 것으로 평가할 수 있다.

혈중칼슘 수치는 남녀 시험 전후 모두 정상 수준이었고 시제품 복용에 의해서도 특별한 유의있는 변화는 없었다. 이것은 혈중칼슘 수치 자체는 골다공증을 진단함에 있어 별 유의성이 없다는 것을 의미한다.

전반적으로 피험자들이 대부분 호전반응을 보였으나 이오란씨는 골다공증에 의한 관절통증보다는 紅潮증상이 나아졌다고 기술하였다. 그런데 紅潮는 갱년기에 여성 호르몬의 생선이 감소하면서 수반되는 증상으로 골다공증과 밀접한 관련이 있으며 이는 아마도 골다공증 진단시기가 4년 이상을 경과한 만큼 통증개선 속도보다 여성호르몬 분비수준조절에 더 빨리 작용하였던 것으로 짐작된다.

한편 정○숙씨는 평소 자각증상이 없었던 관계로 특별한 변화를 기술하지 않았다. 따라서 이의 효과여부는 DEXA를 통해 판정되어야 한다.

결국 본 pilot test를 통하여 본 시제품의 특성과 효과에 대해 다음과 같이 설명할 수 있다.

첫째 골다공증에 관련된 특정 증상, 예컨대 관절통이나 骨痛 혹은 紅潮 등이 있을 경우 해당 증상에 대한 개선효과가 있었다. 둘째 시제품 복용시 전체 대상자에서 특별한 부작용은 보고되지 않았다. 또한 자각증상이 없어서 치료효과를 자각하지 못하였던 경우에도 부작용은 전혀 발생하지 않았다. 셋째 여성의 골다공증에 대한 시험에서 본 시제품은 오스테오칼신의 분비수준을 상승시키는 경향성을 관찰할 수 있었으나 혈중칼슘의 양은 시험 전후 모두 정상범위에 있었으며 유의성있는 변화를 나타내지 않았다.

## 결 론

I형 골다공증의 병리요인과 역학적 요인들에 근거하여 다량어골분과 한약재를 혼합한 골격대사기능호전용 시제품을 개발하고 시제품에 관한 pilot study를 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

골다공증은 뼈를 구성하는 조골세포, 파골세포, 유기질과 무기질 등 매우 다양한 기원을 가지며 각각의 발생과 관련된 cytokine과 growth factor, hormone들도 매우 다양하므로 병리를 단순화시키기가 어렵다. 또한 I형 골다공증의 역학적 요인을 보면 연령과 월경, 콜레스테롤, 체질량지수 등이 일정한 상관관계를 갖고 있으므로 기능성 식이제품을 제조하기 위해서는 老化和 虛勞라는 거시적 관점에서 접근하되 血衰氣消, 腎虛, 陰虛, 骨弱 등의 변증론적 개념을 기본으로 하여야 한다. 또한 복용시에는 섭생과 생활습관, 기호식품 등의 포괄적인 고려가 요구된다. 따라서 가장 직접적인 진단지표는 골밀도와 골강도이지만 약효를 판정하고 작용기전을 연구하기 위한 biomarker로서 흔히 사용되는 IL-1·6나 TNF- $\alpha$ · $\beta$  등의 cytokine 및 호르몬 외에도 collagen과 비콜라젠 단백질 및 무기질 요인도 중시되어야 한다.

시제품을 제조하여 폐경기 여성 골다공증에 사용한 pilot test에서 본 시제품은 골다공증에 의한 신체자각증상에 대해 전

반적으로 호전반응을 나타냈으며 신체자각증상이 없는 경우 특별한 변화를 나타내지 않았다. 또 본 시제품의 오스테오칼신에 대한 효과는 정상보다 저하된 상태에 있을 경우는 상승시키는 경향이 있지만 정상범위에 있는 경우에는 특별한 변화를 일으키지 않았고 정상 범위에 있는 혈중 칼슘에 대해서는 어떤 변화도 나타내지 않았다.

따라서 본 시제품은 골다공증을 가진 既診斷者나 예방을 목적으로 하는 자를 대상으로 하여 골격기능 호전용 식품첨가물로 충분히 활용할 수 있다고 보며 차후 좀 더 광범위하고 더 많은 골다공증 환자를 대상으로 장기간의 임상효과 관찰과 진단방법을 다양화한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 2001-3년도 해양수산부 수산특정연구개발사업지원에 의하여 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 대한병리학회편, 병리학 제2판, 고문사, p. 1141, 1995.
2. 김기수 주편, 골다공증, 대한골대사학회, p. 1, 2, 3, 11-12, 27-28, 53, 2000.
3. 통계청 홈페이지 [http://www.nso.go.kr/cgi-bin/sws\\_999.cgi](http://www.nso.go.kr/cgi-bin/sws_999.cgi)
4. David J Hunter, Philip N Sambrook: Bone loss: Epidemiology of bone loss, Arthritis Res. 2(6):441-445, 2000.
5. Jean Wilson, Eugene Braunwald et al, Harrison's Principles of Internal Medicine 12th, McGraw Hill, p.1922, 1991.
6. Ross PD. Osteoporosis. Frequency, consequences, and risk factors, Arch Intern Med. 8:156(13):1399-411, 1996.
7. 이성현, 장순옥: 칼슘공급원으로서 건멸치, 두부, 탈지분유의 체내이용성 연구, 한국영양학회지, 27:473-82, 1994.
8. 이연숙, 오주환: 골다공증 실험모델 흰쥐의 칼슘대사에 대한 소뼈회분과 인산칼슘의 섭취 효과, 한국영양학회지 28(5): 434-441, 1995.
9. Charles N. Bernstein, Savita Bector, William D. Leslie: Lack of relationship of calcium and vitamin D intake to bone mineral density in premenopausal women with inflammatory bowel disease, The American Journal of Gastroenterology 98(11): 2468-2473, 2003.
10. Stein GS, Lian JB, Stein JL, Wijnen AJ, Frenkel B, Montecino M: Mechanisms regulating osteoblast proliferation and differentiation. In: Bilezikian JP and Raisz LG(eds). Principles of Bone Biology, Academic Press, San Diego, CA, pp. 69-86, 1996.
11. Alliston T, Choy L, Ducy P, Karsenty G, Derynck R.: TGF- $\beta$ -induced repression of CBFA1 by Smad3 decreases cbfa1 and osteocalcin expression and inhibits osteoblast differentiation, EMBO J 20(9): 2254-2272, 2000.

12. Nakchbandi IA, Weir EE, Insogna KL, Philbrick WM, Broadus AE: Parathyroid hormone-related protein induces spontaneous osteoclast formation via a paracrine cascade, *Proc Natl Acad Sci* 97(13): 7296-7300, 2000.
13. Roodman GD. Cell biology of the osteoclast, *Exp Hematol.* 27(8):1229-41, 1999.
14. Chestnut CH: Theoretical overview: bone development, peak bone loss, and fracture risk. *Am J Med* 91(suppl 5B):25, 1991.
15. I. Legroux-Gerot, L. Catanzariti, X. Marchandise, B. Duquesnoy and B. Cortet: Bone mineral density changes in hypercalciuretic osteoporotic men treated with thiazide diuretics, *Joint Bone Spine*, In Press, Uncorrected Proof, Available online 5 November 2003,
16. G. Wells, P. Tugwell, B. Shea, G. Guyatt, J. Peterson, N. Zytaruk, V. Robinson, D. Henry, D. O'Connell and A. Cranney, V.: Meta-analysis of the efficacy of hormone replacement therapy in treating and preventing osteoporosis in postmenopausal women. *Endocr. Rev.* 23: 529-539, 2002.
17. S. Palomba, F. Orio, Jr., A. Colao, C. Di Carlo, T. Sena, G. Lombardi, F. Zullo and P. Mastrantonio, Effect of estrogen replacement plus low-dose alendronate treatment on bone density in surgically postmenopausal women with osteoporosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87: 1502-1508, 2002.
18. Ginger D Constantine and James H Pickar: Estrogens in postmenopausal women: recent insights, *Current Opinion in Pharmacology* 3(6): 626-634, 2003.
19. Steven R Cummings, L Joseph Melton, III: Osteoporosis I: Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures, *The Lancet* 359(9319): 1761-1767, 2002.
20. 조남한, 한인권, 김효민, 임승지. 한국 대퇴골골절 발병률 현황과약: 1995년 공무원-교원 의료보험 자료분석, *대한골대사학회지* 6:104-112, In 김기수 주편, *전계서* p. 8, 1999.
21. Suleiman S, Nelson M, Li F, Buxton-Thomas M, Moriz C. Effect of calcium intake and physical activity level on bone mass and turnover in healthy, white, postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 66:937-943, 1997.
22. Specker BL. Evidence for an interaction between calcium intake and physical activity on changes in bone mineral density. *J Bone Miner Res* 11:1539-1544, 1996.
23. Thompson JL, Gylfadottir UK, Moynihan S, Jensen CD, Butterfird GE. Effect of diet and exercise on energy expenditure in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 66:867-873, 1997.
24. Krall EA, Dawson-Hughes B. Walking is related to bone density and rates of bone loss. *Am J Med* 96:20-26, 1994.
25. Hara S, Yanagi H, Amagai H, Endoh K, Tsuchiya S, Tomura S. Effect of physical activity during teenage years, based on type of sport and duration of exercise, on bone mineral density of young, premenopausal Japanese women. *Calcif Tissue Int* 68(1):23-30, 2001.
26. Storm D, Eslin R, Porter ES, Musgrave K, Vereault D, Patton C, Kessenich C, Mohan S, Chen T, Hollick MF, Rosen CJ. *J Clin Endocrinol Metab* 83(11): 3817-25, 1998.
27. Wickham CA, Walsh K, Cooper C, Barker DJ, Margettis BM, Morris J, Bruce SA. Dietary calcium, physical activity, and risk of hip fracture: a prospective study. *BMJ* 299:889-892, 1989.
28. Mizushima S, Tsuchida K, Yamori Y, Preventive nutritional factors in epidemiology: interaction between sodium and calcium, *Clin Exp Pharmacol Physiol* 26:573-5, 1999.
29. Jones G, Beard T, Parameswaran V, Greenaway T, von Witt R. A population-based study of the relationship between salt intake, bone resorption and bone mass. *Eur J Clin Nutr* 51(8):561-5, 1997.
30. Sykes, B: Bone disease cracks genetics, *Nature* 348:18-20, 1990.
31. Grant, SFA, Reid, DM, Blake, G, Herd, R, Fogelman, I, & Ralston, SH: Reduced bone density and osteoporosis associated with polymorphic SP1 site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 14: 203-205, 1996.
32. Uitterlinden, AG, Burger, H, Huang, Q, Yue, F, McGuian, FEA, Grant, SFA, Hofman, A, van Leeuwen, JPTM, Pols, HAP, & Ralston, SH: Relation of alleles of the collagen type Ia1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 338:1016-1021, 1998.
33. Schairer C, Lubin J, Troisi R, Sturgeon S, Brinton L, Hoover R. Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA* 283(4):485-91, 2000.
34. Stephens MB. Estrogen-progestin increases breast cancer risk. *J Fam Pract* 49(4):301-2, 2000.
35. Roca CA, Schmidt PJ, Daly RC, Rubinow DR. Estrogen-progestin replacement and risk of breast cancer. *JAMA* 284(6):693-4, 2000.
36. 한방부인과학교재편찬위원회, *韓方婦人科學*, 정담, pp.218-37, 2001.
37. 김근모, 녹용 및 육미지황탕가녹용이 백서의 운동역제성 골다공증에 미치는 영향, *경산대학교 대학원*, 1993.
38. 박종철, 좌귀음과 우귀음이 난소적출백서의 성호르몬과 지질 및 골대사에 미치는 영향, *경산대학교 대학원*, 1995.
39. 조한백, 박병렬, 대보원전이 난소적출로 골다공증이 유발된 백서에 미치는 영향, *대한한방부인과학회지*, 12(1): 343-363, 1999.

40. 오하식, 김호철, 이상인, 안덕균. 두충의 수피와 잎이 난소적 출로 유발한 골다공증에 미치는 영향, 대한본초학회지 10(1): 59-68, 1995.
41. 서울대학교천연물화학연구소, 신동의약보감 CD-ROM, 동방 미디어, 2000.
42. Konoshima M, Chi HJ, Hata K. Coumarins from the root of *Angelica gigas* Nakai. *Chem Pharm Bull*(Tokyo) 16(6):1139-40, 1968.
43. Hata K, Sano K. Studies on coumarins from the root of *Angelica decursiva* FR et SAV. I. The structure of decursin and decursidin. *Yakugaku Zasshi* 89(4):549-57, 1969.
44. Kang SY, Lee KY, Sung SH, Park MJ, Kim YC. Coumarins isolated from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships. *J Nat Prod* 64(5) : 683-5, 2001.
45. Jeon YJ, Han SB, Ahn KS, Kim HM. Activation of NF-kappaB/Rel in angolan-stimulated macrophages. *Immunopharmacology* 43(1):1-9, 1999.
46. Jeon YJ, Han SB, Ahn KS, Kim HM. Differential activation of murine macrophages by angelan and LPS. *Immunopharmacology* 49(3):275-84, 2000.
47. Niwa S, Ishibashi O, Inui T. Brefeldin A inhibits osteoclastic bone resorption through induction of apoptosis. *Life Sci*. 70(3):315-24, 2001.
48. Xie F, Li X, Sun K, Chu Y, Cao H, Chen N, Wang W, Liu M, Liu W, Mao D. An experimental study on drugs for improving blood circulation and removing blood stasis in treating mild chronic hepatic damage. *J Tradit Chin Med* 21(3):225-31, 2001.
49. Li XP. Experimental study on anti-senility of the 4 famous Chinese herbs produced in Huaiqing area. *ZhongXiYiJieHeZaZhi* 11(8):486-7, 454, 1991.
50. Oh KO, Kim SW, Kim JY, Ko SY, Kim HM, Baek JH, Ryoo HM, Kim JK: Effect of *Rehmannia glutinosa* Libosch extracts on bone metabolism, *Clin Chim Acta* 334(1-2) :185-95, 2003.
51. M. Ni, B. Bian and H. Wang, Constituents of the dry roots of *Rehmannia glutinosa* Libosch. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 17: 297 - 298, 1992.
52. Yen GC, Hsieh CL. Reactive oxygen species scavenging activity of Du-zhong(*Eucommia ulmoides* Oliv.) and its active compounds. *J Agric Food Chem* 48(8):3431-6, 2000.
53. Hsieh CL, Yen GC. Antioxidant actions of du-zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) toward oxidative damage in biomolecules. *Life Sci* 66(15):1387-400, 2000.
54. Li Y, Sato T, Metori K, Koike K, Che QM, Takahashi S. The promoting effects of geniposidic acid and aucubin in *Eucommia ulmoides* Oliver leaves on collagen synthesis. *Biol Pharm Bull* 21(12):1306-10, 1998.