

加味左歸飲이 卵巢摘出로 誘導된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響

대전대학교 한의과대학 부인과학교실
최진경, 유동열

ABSTRACT

The Effect of *Kamijoaguem* on Osteoporosis Induced by Ovariectomy in Rats

Choi Jin-kyung, Yoo Dong-Youl

Dept. of Ob & Gyn, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Purpose : This study was performed to evaluate the effect of *Kamijoaguem*(JGE) on the bone mass and its related factors.

Methods : We used ovariectomized rat as an estrogen-deficient animal model. The model rats of osteoporosis showed a significant decrease in bone density, bone ash density, calcium content of femur bone. At the 7th day after operating ovariectomy, rats were administered with JGE per orally, and continued for 10 weeks. And osteoporosis related parameters were determined to investigate the effect of JGE.

Results : Bone density, bone ash density, bone calcium, magnesium and phosphorus was decreased in osteoporotic rats. JGE improved the decreased bone density, bone ash density and the decreased bone magnesium, but JGE didn't improve the decreased bone calcium and phosphorus in osteoporotic rats. Osteocalcin in serum and hydroxy-proline excretion in urine were increased in osteoporotic rats. Their levels were decreased when JGE was administered. ALP activity in serum was increased in osteoporotic rats. JGE didn't induce any significant changes. JGE showed significant increase in serum calcium level, total protein level, albumin level, BUN level, serum LDH activity. JGE didn't show significant increase in serum T-cholesterol density, triglyceride density, HDL-cholesterol density. JGE didn't show significant increase in RBC number, hemoglobin level, platelet number, hematocrit level. JGE showed inhibitory effect on the degradation of bone-matrix in osteoporotic rats, in histological examination to Hematoxylin-eosin stain.

Conclusion : JGE might improve bone density due to inhibition of bone resorption in osteoporotic rats. It suggest that JGE may be useful prescription in osteoporosis.

Key words : *Kamijoaguem*, Osteoporosis, Ovariectomy

I. 緒 論

左歸飲은 明代 張景岳¹⁾의 《景岳全書·新方八陣·補陣》에 “此壯水之劑也. 凡命門之陰衰陽勝者, 宜此方加減主之”라 하여 최초로 수록된 이래, 月經病이나 崩漏, 갱년기장애 등 부인과 질환에 다양하게 활용되고 있다¹⁻⁶⁾.

加味左歸飲은 左歸飲 本方에서 熟地黃을 重用하고 補血調經하는 當歸, 益血補精 補肝腎하는 鹿角膠, 續筋接骨하는 自然銅을 加하여 滋陰補血의 效能을 倍加한 處方이다⁷⁻⁹⁾.

《素問·痿論》에 “腎氣熱則 腰脊不舉 骨枯而髓減 發爲骨痿. 腎生骨髓 在體爲骨 腎氣熱而精液竭 則髓減骨枯而發爲骨痿也”, 그리고 “腎者水藏也 今水不勝火 則骨枯而髓虛 故足不任身 發爲骨痿”라 하였는데, 이는 腎氣가 熱하여 腎水가 不足하면, 骨이 乾枯하며 骨髓가 骨腔내에 充滿되지 못하고 마르게 되어 骨의 萎縮과 枯竭이 나타날 수 있는 疾患을 ‘骨痿’라고 表現한 것으로, 現代의 意味의 骨多孔症과 類似한 것으로 認識되어 진다¹⁰⁻¹⁴⁾.

西洋醫學의 骨多孔症은 骨組鬆症이라고도 하는데 代謝性 骨疾患 中 가장 흔하며 骨의 構成成分의 量的 감소가 主된 病變으로, 骨의 化學的 조성에는 變化가 없고 단위 容積내의 骨量만 감소하는 骨疾患으로¹⁵⁻²³⁾, 크게 原發性 骨多孔症과 續發性 骨多孔症으로 분류된다. 原發性 骨多孔症에는 Type I인 閉經後 骨多孔症과 Type II인 老人性 骨多孔症이 있으며, 續發性 骨多孔症에는 甲狀腺 및 副甲狀腺 機能 亢進症, 쿠싱 症候群, 末端肥大症, 妊娠, 糖尿病, 性腺

機能 低下症으로 인한 內分泌性 骨多孔症과 營養不良으로 인한 營養性 骨多孔症이 있다. 일반적으로 女性의 경우 更年期 以後에 骨多孔症이 빈발하는데, 이는 閉經後 骨多孔症으로 性호르몬인 estrogen이 결핍 되어 나타난다^{24,25)}

骨多孔症은 韓醫學에서 陰陽의 不調를 그 原因으로 보고 있으며, 治療는 脾氣虛, 腎陰虛, 腎陽虛, 腎陰陽兩虛, 氣血兩虛, 風邪偏勝으로 구분하여 辨證施治하나, 주된 辨證은 ‘腎陰虛’와 ‘腎陽虛’이다. 腎陰虛는 滋陰壯骨, 調補肝腎, 滋陰補腎하는 治法을 쓰고, 腎陽虛는 溫補脾腎, 溫陽壯骨, 補腎壯陽하는 治法을 쓰는데, 滋陰補腎하는 대표적 처방이 左歸飲이다²⁶⁻³¹⁾. 서양의학적으로 치료는 골밀도가 낮은 사람과 骨吸收率이 빠른 사람을 對象으로 하며, 現在 處方되고 있는 骨多孔症에 對한 西洋醫學 藥劑 中 estrogen과 calcitonin 등이 活用되고 있지만 이미 發生한 骨多孔症을 治療하는데는 많은 限界點을 가지고 있다^{15,32,33)}.

骨多孔症에 對한 實驗的 研究로는, 정³⁴⁾의 生血補髓湯이 卵巢摘出로 誘發된 白鼠에서 골골세포의 활성을 억제하고 골밀도를 증가시킨다는 報告와, 金³⁵⁾의 鹿茸 및 六味地黃湯加鹿茸이 坐骨神經切斷으로 誘發된 白鼠의 骨多孔症에서 骨消失을 恢復시킨다는 報告, 朴³⁶⁾의 左歸飲과 右歸飲이 卵巢摘出로 惹起된 白鼠의 性호르몬 및 脂質과 骨代謝에 效果가 있다는 報告, 李³⁷⁾의 四物湯과 六味地黃湯이 卵巢摘出로 因하여 實驗的으로 誘導된 骨多孔症에 對하여 有意한 效能을 發揮한다는 報告와, 曹³⁸⁾의 借力丸變方이 卵巢摘出로 因하여 實驗的으로 誘導된 骨多孔症에서 골밀도 감소를

抑制한다는 報告가 있으나, 加味左歸飲에 대한 실험적 연구는 아직 接하지 못하였다.

이에 著者は 腎陰虛로 인한 骨多孔症의 치료에 應用할 수 있는 處方인 加味左歸飲을 卵巢 摘出로 誘導된 骨多孔症 白鼠에 投與하여, 골밀도와 骨의 無機質 含量에 미치는 影響을 檢索하였으며, osteocalcin, ALP, hydroxy-proline 등 骨吸收 및 骨形成 指標로 使用되는 代謝 物質과 酵素에 對한 定量을 試圖하였다. 또한 各種 血液學的 檢査와 脂質 代謝物質에 對한 影響을 관찰하였고, 顯微鏡 檢査를 통해 骨組織을 觀察하여 有意性있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 動物

實驗動物은 體重 200±20g의 4주령인 S.D.계 白鼠를 大韓實驗動物센터에서 購入하여 使用하였다. 實驗期間 동안 固形 飼料과 물을 充分히 供給하여 자유롭게 攝取하도록 하였으며, 2주간 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

2) 藥材

實驗에 使用한 藥材는 大田大學校 附屬 韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였으며, 處方內容과 用量은 《景岳全書》¹⁾에 收錄된 左歸飲에 根據하여 加味, 增量하였다.

Prescription of Kamijoaguem (JGE)

韓藥名	生藥名	重量(g)
熟地黃	Rehmanniae Radix	80
山 藥	Dioscoreae Radix	8
山茱萸	Corni Fructus	8
枸杞子	Lycii Fructus	8
白茯苓	Hoelen alba	6
炙甘草	Glycyrrhizae Radix	4
當 歸	Angelicae Gigantis Radix	8
鹿角膠	Cervi Cornus Colla	8
自然銅	Native Copper	(別용)
Total		130

2. 方法

1) 檢液 調製

處方 4 첩 分量을 蒸溜水 2,000 ml를 加하고 6 시간 以上 還流 抽出하였다. 濾過紙를 利用하여 濾過한 다음, 濾液을 rotary evaporator(EYERA, Japan)를 利用하여 減壓 濃縮한 다음 濃縮液을 凍結乾燥하여 投與藥物로 하였다. 投與藥物은 凍結乾燥한 분말을 200 mg/ml이 되도록 生理食鹽水에 녹인 後, 1 일 1 회씩 70 일간 經口 投與하였다.

2) 骨多孔症 모델

(1) 卵巢摘出 手術

白鼠에 ketamine을 1 ml/kg 用量으로 筋肉注射하여 全身麻酔를 시킨 다음 腹部털을 除去하였다. 70 % EtOH로 手術部位를 消毒한 다음 1 cm 정도로 皮膚, 腹筋, 腹膜을 切開하고 卵巢 摘出手術을 施行하고 다시 봉합하였다.

(2) 模擬 手術

白鼠의 腹膜 切開까지만 卵巢切除手術과 같은 方法으로 施行하고, 卵巢摘出은 하지 않은 채로 다시 縫合하는 模擬手術(Sham operation)을 施行하였다.

3) 群 設定 및 藥物 投與

實驗은 實驗動物을 4 個群으로 나누어 施行하였다. 즉 腹膜 切開後 卵巢를 摘出하지 않은 模擬手術 正常群 (Sham 群), 卵巢摘出後 藥物을 投與하지 않은

實驗對照群(OVX群), 卵巢 摘出後 抽出 藥物 1,000 mg/kg씩 경구 投與한 高用量 투여군(JGE-high群), 卵巢摘出後 500 mg/kg씩 경구 投與한 低用量 투여군(JGE-low群)으로 나누었다. 藥物 투여는 난소적출 14일 후부터 시행하였으며, 藥物 투여군에는 韓藥 抽出物 投與와는 별도로 自然銅을 생리식염수에 섞어 高用量 투여군에는 10 mg/kg, 低用量 투여군에는 5 mg/kg씩 經口 投與하였다.

實驗에 使用한 動物은 模擬 手術群 및 對照群은 10 마리, 高用量 및 低用量 투여군은 8 마리씩으로 하였다.

4) 體重 측정

1 주에서 7 주까지 매주 1 회 電子저울로 白鼠의 體重을 측정하였다.

5) 骨分離 및 灰分 定量

白鼠를 頸椎脫骨하여 致死시킨 後, 大腿骨을 分離한 다음 電子저울을 利用하여 무게를 재고, 부피를 측정하였다. 그리고 dry oven(Daeil, Korea)을 利用하여 80°C에서 6 시간 동안 乾燥하고 900°C furnace에서 24 시간 灰火하고 남은 無機物質을 定量하였다.

6) 骨의 無機質 分析

灰火後 남은 無機質을 6N HCl에 녹인 후, 100 배 稀釋한 다음 ICP를 利用하여 Ca, Mg, P 含量을 定量하였다.

7) 骨吸收 指標 檢索

藥物投與 마지막날에 白鼠의 小便을 採取하였다. 小便을 11,000 rpm으로 遠心分離하여 上層液을 取하여 creatinine 含量을 측정하였다. 骨吸收指標인 hydroxy-proline은 aminoacid analyzer를 이용하여 측정하였다.

8) 骨生成 指標 檢索

實驗에 必要한 血清을 얻기 위하여

心臟을 穿刺하여 採血하였으며, 30 분 放置後 3,000 rpm에서 15 분간 遠心分離하여 血清을 取하였다. 血中の osteocalcin 濃度는 ELISA kit(Osteometer A/S, DK)를 利用하여 定量하였다.

9) 生化學的 指標 檢査

8)과 같은 方法으로 얻은 血清에서 Ca, Mg, P을 측정하였고, 總 cholesterol, HDL, LDL, albumin, protein, glucose 含量을 측정하였다.

10) 血球細胞 檢索

藥物投與 마지막 날, heparin 處理된 毛細管을 利用하여 眼窩血管으로부터 採血하였다. 採血即時 cell counter(Toa sysmex F820, Japan)를 利用하여 RBC, platelet, hematocrit, hemoglobin량을 측정 하였다.

11) 組織 觀察

大腿部에서 大腿骨을 分離한 다음 10 % formalin 溶液에 넣어 1 주일간 고정시켰다. 骨組織을 1.5 mm두께로 切除한 다음, Decal Rapid(National Diagnostics, HS-105)를 利用하여 20 시간 정도 탈회시키고 흐르는 물로 씻었다. 탈회된 組織切片을 75 % 알코올에서 2 시간, 95 % 알코올에서 2 시간 2 회, 100 % 알코올에서 2 시간 處理하고 脫水 시켰다. 이것을 xylene으로 2 時間 處理하고, paraffin을 60°C에서 2 시간 2 회 浸透시켜 組織들을 포매하고 block을 만든다. 파라핀 포매된 組織을 microtome을 利用하여 5 μm 두께로 박리한 다음 슬라이드에 附着시킨 다음 染色하였다. 즉, xylene 溶液에 1 분씩 3 회 적시고, 다시 100 % 무수 알코올에 5 분씩 2 회, 95 % 알코올에 5 분씩 2

회 처리한 다음 蒸溜水에 합수시켰다. 이 슬라이드를 hematoxylin-eosin으로 染色하고, 酸性알콜로 洗滌하고 다시 蒸溜水로 洗滌하였다. 다시 eosin으로 處理하고, 95 % 알코올로 5 분씩 2 회, 100 % 알코올로 2 회 處理한 다음 顯微鏡으로 觀察하였다.

12) 統計學의 分析

各 結果에 對한 有意性 檢證은 Student's t-test를 利用하였다.

Ⅲ. 結果

1. 加味左歸飲(JGE)이 體重 變化에 미치는 影響

正常群(Sham)은 체중이 266.3 g에서 345.6 g으로 10 주간에 79.3 g이 증가한 반면, 卵巢除去 手術群(OVX)은 271.9 g에서 410.0 g으로 138.1 g의 급격한 체중 증가를 보였다. 加味左歸飲 抽出物 低用量(500 mg/kg) 투여군(JGE-low)의 체중 증가는 138.4 g, 高用量(1,000 mg/kg) 투여군(JGE-high)의 체중 증가는 133.2 g으로 모두 난소제거 수술군과 類似한 체중 증가를 보였다(Fig. 1).

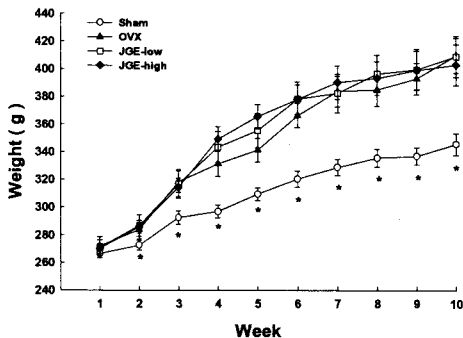


Fig. 1. Weight change in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O. *; Significance compared with OVX(p<0.05).

2. 加味左歸飲이 골밀도 變化에 미치는 影響

골밀도는 白鼠의 大腿骨을 利用하여 측정하였다. 난소제거 수술군의 골밀도는 1.16 mg/μl로써 正常群의 1.30 mg/μl에 비해 有意적으로 감소하였다. 加味左歸飲 抽出物 高用量(1,000 mg/kg) 투여군은 난소제거 수술군에 比하여 골밀도의 감소를 有意적으로 抑制하였다. 加味左歸飲 抽出物 低用量(500 mg/kg) 투여군의 골밀도는 1.19 mg/μl로 난소제거 수술군에 比하여 골밀도의 감소를 抑制하였으나 有意성은 없었다(Fig. 2).

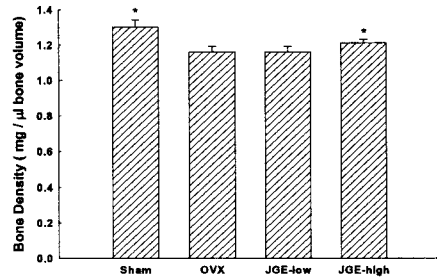


Fig. 2. Femur bone density in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

3. 加味左歸飲이 骨灰分量 變化에 미치는 影響

卵巢除去 手術群의 骨灰分量은 0.68 mg/μl로, 正常群 0.76 mg/μl에 비해 감소하였다. 加味左歸飲 抽出物 低用量(500 mg/kg) 투여군의 灰分量은 0.71 mg/μl로, 高用量(1,000 mg/kg) 투여군의 灰分量은 0.72 mg/μl로 난소제거 수술군에 比해 有意적으로 증가하였다(Fig. 3).

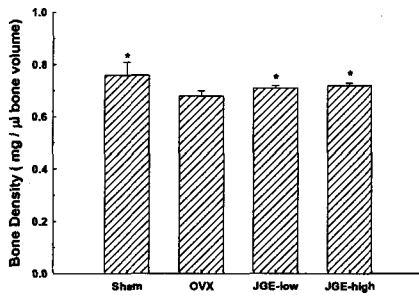


Fig. 3. Bone ash density in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

4. 加味左歸飲이 骨의 無機質 含量 變化에 미치는 影響

난소제거 수술군의 칼슘 함량은 358.51 mg/g으로 正常群 384.65 mg/g에 비해 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群에서의 칼슘 함량은 362.50 mg/g, 高低량을 投與한 群의 칼슘 함량은 363.34 mg/g으로 난소제거 수술군에 비해 칼슘 含量 損失을 抑制하였으나 유의적인 차이는 없었다(Fig. 4).

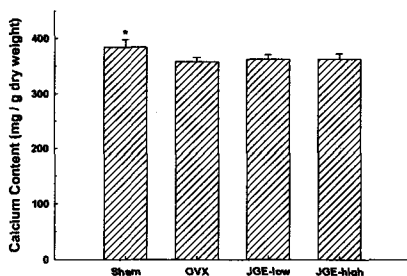


Fig. 4. Bone calcium content in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

난소제거 수술군의 마그네슘 함량은 5.85 mg/g으로 正常群 7.58 mg/g에 비해 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群에서의 마그네슘 함량은 6.42 mg/g로 난소제거 수술군에 비해 마그네슘 含量 損失을 抑制하였으며, 高低량을 投與한 群의 마그네슘 함량은 6.31 mg/g으로 난소제거 수술군에 비해 마그네슘 含量 損失을 抑制하였으나 유의적인 차이는 없었다(Fig. 5).

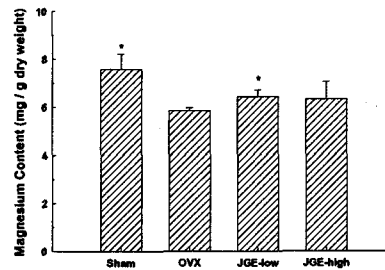


Fig. 5. Bone magnesium content in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

난소제거 수술군의 磷 함량은 126.93 mg/g으로 正常群 145.33 mg/g에 비해 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群에서의 磷의 量은 129.9 mg/g, 高用量을 投與한 群의 磷의 量은 126.3 mg/g으로, 低用量群에서 난소제거 수술군에 비해 磷 含量 損失이 약간 抑制되었으나 유의적인 차이는 없었다(Fig. 6).

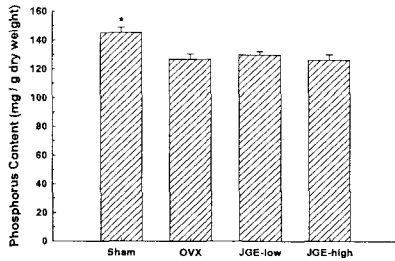


Fig. 6. Bone phosphorus content in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O. The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

5. 加味左歸飲이 血中 osteocalcin에 미치는 影響

난소제거 수술군의 osteocalcin은 3.79 μmol/ml로써 정상군의 3.39 μmol/ml에 비해 유의적인 증가를 보였다. 加味左歸飲 抽出物 高用量 (1,000 mg/kg) 투여군의 osteocalcin은 3.27 μmol/ml로 난소제거 수술군에 비하여 유의적으로 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物 低用量 (500 mg/kg) 투여군의 osteocalcin은 3.64 μmol/ml로 난소제거 수술군에 비하여 감소하였으나 有意性은 없었다(Fig. 7).

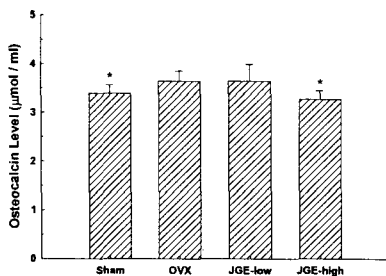


Fig. 7. Serum osteocalcin level in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

6. 加味左歸飲이 alkaline phosphatase(ALP) 活性에 미치는 影響

난소제거 수술군의 ALP 値는 53.5 IU/ml로 정상군 40.5 IU/ml에 비해 ALP活性이 증가하였다. 또한 加味左歸飲 抽出物의 低用量 투여군 58.9 IU/ml과 高用量 투여군 60.3 IU/ml에서 모두 난소제거 수술군에 비하여 ALP 活性이 증가하였으나 有意性은 없었다(Fig. 8).

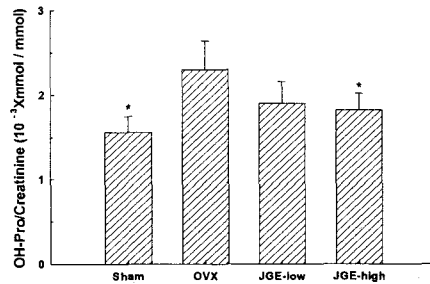


Fig. 8. Serum ALP activities in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

7. 加味左歸飲이 尿中 hydroxy-proline의 遊離에 미치는 影響

난소제거 수술군 尿에서의 hydroxy-proline (OH-P)/creatinine 値는 2.30×10^3 mmol/mmol로, 정상군 尿 1.56×10^3 mmol/mmol에 비해 유의적인 증가가 있었다. 加味左歸飲 抽出物의 低用量 투여군 (500 mg/kg)은 1.90×10^3 mmol/mmol으로 난소제거 수술군 比해 감소하는 傾向을 보였으며, 高用量 (1,000 mg/kg) 투여군의 尿中 濃度는 1.82×10^3 mmol/mmol로 유의적인 감소를 보였다(Fig. 9).

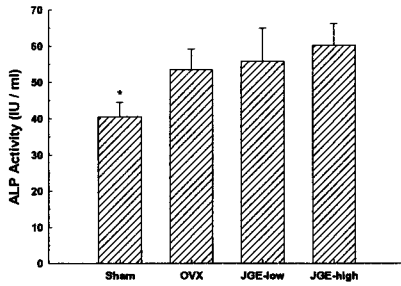


Fig. 9. Urine hydroxy-proline content in JGE-treated rats.

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

8. 加味左歸飲이 血中 脂質 濃度에 미치는 影響

난소제거 수술군은 正常群에 비해 血中 total cholesterol, triglyceride의 濃도가 有意적으로 높아졌고, HDL-cholesterol 濃度は 낮아졌다. 加味左歸飲 抽出物의 低用量 투여군과 高用量 투여군에서는 모두 난소제거 수술군에 比하여 血中 T-cholesterol의 濃도가 낮아졌고, triglyceride, HDL-cholesterol의 濃度は 높아졌으나 有意性은 없었다 (Table I).

Table I. Total cholesterol, triglyceride and HDL contents in JGE-treated rats

Group	T-cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	HDL (mg/dl)
Sham	78.5 ± 2.50*	33.5 ± 9.71*	43.9 ± 2.86
OVX	87.1 ± 4.07	44.2 ± 5.23	41.2 ± 4.09
JGE-low	86.3 ± 6.58	49.1 ± 7.08	44.0 ± 4.09
JGE-high	85.7 ± 4.99	50.2 ± 8.15	44.2 ± 4.28

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

9. 加味左歸飲이 血中 無機質과 總蛋白質 量 및 各種 酵素의 活性에 미치는 影響

난소제거 수술군의 血中 칼슘量은 9.2 mg/dl로, 正常群 10.9 mg/dl에 比해 유 의적으로 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 칼슘量은 10.1 mg/dl, 高用量을 投與한 群의 칼슘量은 9.9 mg/dl로 모두 난소제거 수술군에 比해 血中 칼슘量이 유 의적으로 증가하였다.

난소제거 수술군의 血中 磷量은 6.2 mg/dl로, 正常群 6.4 mg/dl에 比해 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 磷量은 6.5 mg/dl, 高用量을 投與한 群의 磷量은 6.6 mg/dl로 모두 난소제거 수술군에 比해 血中 磷量이 증가하였으나 유 의적인 차이는 없었다 (Table II).

Table II. Serum calcium and phosphorus contents in JGE-treated rats

Group	Calcium (mg/dl)	Phosphorus (mg/dl)
Sham	10.9 ± 0.94*	6.4 ± 0.95
OVX	9.2 ± 0.32	6.2 ± 0.31
JGE-low	10.1 ± 0.29*	6.5 ± 0.23
JGE-high	9.9 ± 0.24*	6.6 ± 0.61

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

난소제거 수술군의 血中 總蛋白質의 量과 albumin의 量은 各各 6.1 g/dl과

3.1 g/dl로, 正常群 (各各 6.5 g/dl, 3.8 g/dl)에 비해 유의적으로 감소되었다.

加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 總蛋白質量은 6.5 g/dl로 난소제거 수술군에 비해 증가하였고, 高用量을 投與한 群의 總蛋白質量은 6.7 g/dl로 난소제거 수술군에 비해 혈중 總蛋白質量이 유의적으로 증가하였다. 加味左歸

飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 albumin量은 3.6 g/dl로, 高用量을 投與한 群의 albumin量은 3.9 g/dl로 모두 난소제거 수술군에 비해 혈중 albumin量이 유의적으로 증가하였다.

난소제거 수술군의 血中 BUN量은 15.0 mg/L로, 正常群 15.1 mg/L에 비해

유의적으로 감소되었고, 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 BUN量은 15.8 mg/L로 난소제거 수술군에 비해 증가하였고, 高用量을 投與한 群의 BUN量은 16.6 mg/L로 난소제거 수술군에 비해 혈중 BUN量이 유의적으로 증가하였다.

난소제거 수술군의 血中 LDH는 269.5 IU/L로, 正常群 272.5 IU/L에 비해 감소되었으나 별 차이는 없었고, 加味左歸飲을 低用量으로 投與한 群의 LDH는 431.5 IU/L, 高用量을 投與한 群의 LDH는 489.0 IU/L로 모두 난소제거 수술군에 비해 血中 LDH의 活性이 유의적으로 증가하였다(Table III).

Table III. Effect of JGE on the contents of total protein, albumin, BUN and LDH

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	BUN (mg/L)	LDH (IU/L)
Sham	6.5 ± 0.05*	3.8 ± 0.05*	15.1 ± 3.75*	272.5 ± 14.50
OVX	6.1 ± 0.14	3.1 ± 0.14	15.0 ± 0.45	269.5 ± 47.30
JGE-low	6.3 ± 0.34	3.6 ± 0.31*	15.8 ± 0.58	432.5 ± 102.30*
JGE-high	6.7 ± 0.22*	3.9 ± 0.15*	16.6 ± 1.62*	189.0 ± 41.82*

JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean ± SE.

*: Significance compared with OVX (p<0.05).

10. 加味左歸飲이 血球數 等 血液學的 指標에 미치는 影響

난소제거 수술군의 赤血球數, 헤모글로빈 含量, 血小板數, hematocrit 値는 各各 8.26 × 10⁶/μl, 15.9 g/dl, 293 × 10³/μl, 44.4%로, 正常群 8.33 × 10⁶/μl, 16.1 g/dl, 307 × 10³/μl, 44.0 %에 비해 유의적인 차이가 없었다.

加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投

與한 群의 赤血球數, 헤모글로빈 含量, 血小板數, hematocrit 値는 各各 8.18 × 10⁶/μl, 16.1 g/dl, 309 × 10³/μl, 44.6 %, 高用量을 投與한 群의 赤血球數, 헤모글로빈 含量, 血小板數, hematocrit 値는 各各 8.38 × 10⁶/μl, 16.2 g/dl, 305 × 10³/μl, 45.3 %로 모두 난소제거 수술군에 비해 유의적인 差異가 없었다 (Table IV).

Table IV. Effect of JGE on RBC, HGB, PLT and HCT

Group	RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	HGB (g/dl)	PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	HCT (%)
Sham	8.33 ± 0.30	16.1 ± 0.28	307 ± 16.2	44.0 ± 1.33
OVX	8.26 ± 0.22	15.9 ± 0.31	293 ± 18.8	44.4 ± 1.26
JGE- low	8.18 ± 0.15	16.1 ± 0.32	309 ± 20.2	44.6 ± 1.09
JGE- high	8.38 ± 0.10	16.2 ± 0.40	305 ± 11.3	45.3 ± 1.47

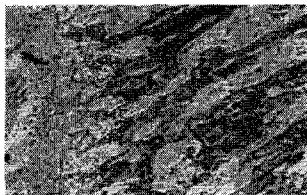
JGE-low: JGE 500 mg/kg, P.O., JGE-high: JGE 1,000 mg/kg, P.O.

The data represents the mean \pm SE.

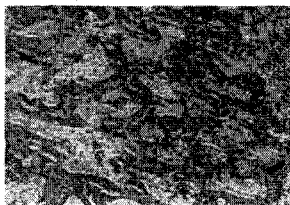
: Significance compared with OVX ($p < 0.05$).

11. 組織學的 檢査

Hematoxylin-eosin染色을 통한 組織學的 檢査에서 加味左歸飲 투여군은 난소 제거 수술군에서 보인 骨의 破壞를 抑制하는 것을 觀察할 수 있었다. 즉 加味左歸飲을 投與했을 때 海綿骨의 골소주에 있어 그 크기와 숫자가 모두 증가하였다(Fig. 10).



OVX



JGE-low



JGE-high

Fig. 10. Photomicrographs (magnification, X25) of bone density in GJE-treated rats.

IV. 考 察

左歸飲은 明代 張景岳¹⁾의 《景岳全書·新方八陣·補陣》에 “此壯水之劑也. 凡命門之陰衰陽勝者, 宜此方加減主之”라 하여 최초로 수록된 이래, 月經病이나 崩漏, 갱년기장애 등 부인과 질환에 다양하게 활용되고 있다¹⁻⁶⁾.

加味左歸飲은 左歸飲 本方에서 熟地黃을 重用하고 補血調經하는 當歸, 益血補精 補肝腎하는 鹿角膠, 續筋接骨하는 自然銅을 加하여 滋陰補血의 效能을 倍加한 處方이다⁷⁻⁹⁾.

陰陽學說의 이론에 따라 臨床經驗을 結合시켜 右歸飲·右歸丸과 함께 만든 方劑인 左歸飲은 命門의 陰이 쇠약하여지면 陽이 이기게 되는데, 이 때 左腎의 元陰을 培養하면 精血이 스스로 充足해 지므로 左歸飲이라고 하였다³⁹⁾.

腎은 腰部에 위치하고 척추의 양측에 있으며 좌우에 각각 한 개의 腎이 있다. 腎은 人體內에 있는 중요한 臟器중의 하나로 “先天之精”을 저장하고 있어 生命의 근본으로 “先天之本”이 되며 左腎은 元陰을, 右腎은 元陽을 의미한다. 左歸飲의 ‘歸’는 北宋의 邵康節의 詩(三月春光留不住, 春歸春意難分付. 凡言歸者必歸家, 爲問春家在何處)에서 引用되었는데

所向, 所處, 所藏, 所留의 의미가 있으나 여기에서는 藏留의 의미를 나타낸다³⁹⁾.

韓醫學에서는 骨多孔症이라는 病名을 直接 表現하지는 않았으나, “腎主骨”이라 하여 五臟中 腎과 關聯을 두고 있으며, ‘骨痿’ ‘骨極’ ‘骨痺’ ‘骨寒’ ‘骨熱’ ‘骨痛’ ‘骨傷證’ ‘骨病外證’ ‘骨絕證’ ‘腎虛腰痛’ 등과 關聯지를 수 있다^{10-13,18,40,41)}.

《素門·痿論》에서 “腎氣熱則 腰脊不舉 骨枯而髓減 發爲骨痿. 腎生骨髓 在體爲骨 腎氣熱而精液竭 則髓減骨枯而發爲骨痿也”, 또 “腎者 水藏也 今水不勝火 則骨枯而骨虛 故足不任身 發爲骨痿라 하였는데^{10-13,26)}, 이는 腎氣가 熱하여 腎水가 不足하면, 骨이 乾枯하며 骨髓가 骨腔內에 充滿되지 못하고 마르게 되어 骨의 萎縮과 枯竭이 나타날 수 있는 疾患을 ‘骨痿’라고 表現한 것으로, 現代의 意味의 骨多孔症과 類似한 것으로 認識되어진다.

骨은 “腎主骨”이라 하여 五臟中 腎과 關聯을 두고 있는데, 《素問·五臟生成篇》에 “腎主合骨也 腎藏精而主水 故所合在骨”^{10,11)}이라 하여 骨은 腎에 屬하고 腎은 骨을 主管하며 腎의 合은 骨이라 하였으며, 또 《素問·宣明五氣篇》에 “腎藏精髓而主於骨 故所主在骨”^{10,11)}이라 하여, 骨은 髓를 藏하는 腑며, 髓는 腎에 所藏된 精氣가 變化하여 生成되어서 骨空을 充填하는 것인 바, 髓가 虛하면 骨도 역시 虛해지며 髓는 骨格을 滋養하므로 骨格의 生長과 機能은 腎氣의 盛衰에 따라 決定된다²⁶⁾고 하였다. 즉 腎은 藏精 生髓 및 養骨作用이 있으므로 腎虛하면 腎精이 不足해짐에 따라 骨과 髓가 失養되므로 骨病이 發生하는 것이다.

韓醫學에서는 骨多孔症이라는 病名을 直接 表現하지는 않았으나, 女性에게 있어서는 閉經後期 症狀의 하나로써 陰陽의 不調를 그 原因으로 보고 있는 바, 《素問·上古天真論》에 “女子.....七七歲 任脈虛 太衝脈衰少 天癸竭 地道不通 故形壞而無子也”, 《產寶》에 “女子生於申 申屬金陰中有陽 故女子得七數. 女而血爲主 七七則封數已終 終則經水絕 衝任脈虛衰 天癸絕 地道不通 而無子矣”라고 하여^{10,11)}, 女性이 49歲를 前後하여 腎氣가 衰하고 天癸가 竭하며 衝任二脈이 虧虛하면, 精血이 不足해지고 腎陰陽의 氣가 모두 衰하여 臟腑의 機能喪失이 招來되어 更年期 障礙가 發生하는 것으로 보고 있는데^{27,42)}, 특히 閉經期 後期 症狀인 性交痛, 尿道炎, 心血管疾患, 骨多孔症은 臨床上 큰 比重을 차지한다^{16,19)}.

韓醫學 文獻에서 女性의 閉經期 骨多孔症과 연관되어지는 部分은 ‘天癸過期’ ‘過期不止’ ‘老年行經’ ‘四十六七經證’ ‘四九五旬經證’ ‘五旬以後經證’ ‘經斷前後症候’ ‘絕經前後諸證’ ‘更年期’ 및 ‘更年期症候群’ 등이며, 그 症狀은 腰腹疼痛, 腰痛, 偏身作痛, 腰膝痠軟, 肢冷, 腰痠腿軟, 尾骨痛, 疼痛, 肩痛, 腰痛, 神經痛, 腰膝痠疼 및 腰膝痠冷 등으로 表現되어 있다^{13,27,43-50)}.

骨多孔症의 治療로, 藏 등²⁹⁾은 脾氣虛와 腎陰虛로, 陳²⁸⁾과 채³¹⁾는 腎陰虛와 腎陽虛로, 呂³⁰⁾는 腎陰虛, 腎陽虛, 腎陰陽兩虛로, 《東醫 再活醫學科學》²⁶⁾에서는 腎陰不足, 腎陽不足, 氣血兩虛, 風邪偏勝로 나누어 辨證施治하나, 共通되는 辨證은 腎陰虛(腎陰不足)과, 腎陽虛(腎陽不足)이다. 腎陰虛인 경우에는 滋陰壯骨,

調補肝腎, 滋陰補腎하는 左歸丸加減, 補陰煎加減, 六味地黃丸加減方 등이 활용되고 있고, 腎陽虛인 경우에는 濫補脾腎, 濫陽壯骨, 補腎壯陽하는 右歸丸加減, 補腎丸加減, 右歸飲加減方 등이 활용되고 있다²⁶⁻³¹⁾.

西洋醫學的으로 骨多孔症은 骨組鬆症이라고도 하는데 代謝性 骨疾患 中 가장 흔하며 骨의 構成成分의 量的 감소가 主된 病變으로, 骨의 化學的 조성에는 변화가 없고 단위 용적내의 骨量만 감소하는 骨疾患이다¹⁵⁻²³⁾.

骨代謝는 骨의 形成과 分解科程으로 이루어져 있으며, 여기에는 骨機質을 생성하고 칼슘을 침착시켜 骨을 形成하는 造骨細胞와 骨機質을 分解하여 칼슘의 再吸收를 촉진하는 破骨細胞가 상호작용하여 調節한다. 骨組織의 代謝에 參與하는 造骨細胞나 破骨細胞는 다양한 因子들에 의해 調節되며, 이들 細胞에는 골기질의 形成과 分解에 영향을 주는 growth factor들에 대한 수용체가 있다. 骨細胞와 관련이 있는 growth factor에는 TGF-beta, IGF-I, IGF-II, BMP, PDGF, IL-1, IL-6, CSF등이 있다. 또한, 骨의 吸收와 形成은 여러 호르몬에 의해 調節되고 있는데, 副甲狀腺 호르몬 (parathyroid hormone), 活性形 Vitamin-D, calcitonin, thyroid hormone, estrogen 등이다. 正常狀態에서는 이들 호르몬의 均衡이 維持되어 骨代謝가 圓滑히 이루어지기 때문에 骨量도 一定하게 維持되지만, 閉經後 骨多孔症에서는 卵巢機能의 衰退로 estrogen 缺乏이 일어나고 calcitonin의 分泌는 低下되고 活性形 Vitamin D의 水準이 低下되는 반면 副甲狀腺 호르몬은 높아지

게 되어 호르몬의 均衡이 깨어진 狀態가 된다. 그렇게 되면 骨吸收가 骨形成보다 相對的으로 우세하여 骨多孔症이 생기는 것으로 보고 있다⁵¹⁻⁵³⁾.

骨多孔症은 여러 原因에 依해 誘發되는데, 全身性 原因으로는 遺傳 및 體質要因, 身體活性의 감소, 칼슘 調節 호르몬의 役割, 成長에 關與하는 호르몬의 감소 및 甲狀腺 호르몬 증가와 性호르몬 缺乏이 있고, 局所的 原因으로는 PGE2, 破骨細胞 活性因子 및 骨에서 由來하는 成長關與因子(IGF-I, TGF-β) 등이 關與한다. 危險群으로는 女性, 白人, 아시아人, 閉經, 早期閉經, 非外傷性 骨折, 非活動, 甲狀腺 機能 亢進症, 장기간의 스테로이드 服用, 왜소증, 마른체격, 骨多孔症의 家族歷, 적은 칼슘攝取, 알코올중독, 副甲狀腺 機能 亢進症, 胃切除患者등이 알려져 있다⁵⁴⁾.

骨多孔症을 分類^{24,25)}해보면 크게 原發性 骨多孔症과 續發性 骨多孔症으로 나누는데, 續發性 骨多孔症은 甲狀腺 및 副甲狀腺 機能 亢進症, 쿠싱 症候群, 末端肥大症, 妊娠, 糖尿病, 性腺機能 低下症으로 因한 內分泌性 骨多孔症이 있고, 營養不良으로 因한 營養性 骨多孔症이 있다. 그리고 原發性 骨多孔症에는 Type I 인 閉經後 骨多孔症과 Type II 인 老人性 骨多孔症이 있다.

骨多孔症의 症狀는 脊椎의 압박과 미소골절로 인한 胸部 또는 腰部의 疼痛, 體重을 지탱하는 脊椎의 陷沒로 인한 격심한 背痛과 身長의 감소 및 腰脊椎의 前屈症, 大腿脛部나 손목 또는 다른 뼈의 骨折등이다^{18,54)}. 그러나 臨床에서는 骨折이 되기 前에는 그 증세가 확연히 드러나지 않고, 初期에는 단순한 疲勞를

호소한다거나 脊椎部位의 나른함을 호소하는 정도에서부터 시작해 肩胛痛, 腰背痛, 四肢痛 및 關節痛, 身長의 감소 등의 症狀程度가 나타난다.

骨多孔症을 判斷하려면, 골밀도를 評價^{15,32,55)}해야 하는데, 우선 疼痛(腰背痛)과, 身長의 감소程度와, 骨折의 發生率 程度의 臨床症狀을 보고, 다음 各種 臨床檢査로 血中 osteocalcin, 骨中 無機質 含量측정, ALP 측정, 尿中 OH-P의 變化측정과 血中 칼슘 및 無機質 含量을 측정한다. 그리고 機器를 利用하는데 放射線學的으로 胸腰椎椎體의 骨량을 보는 伊丹指數, 大腿骨 近位部 骨량을 보는 Singh指數, 중수골 지수, DEXA라는 양에너지 방사선 골밀도 측정기, QCT라는 정량적 컴퓨터 골밀도 측정기를 활용하거나, 방사선 동위원소를 利用하는 方法으로 SPA(단광자 골밀도 측정기)나 DPA(양광자 골밀도 측정기)가 있다. 이 중 DEXA는 동위원소를 使用하지 않고 X-ray를 發生시켜 측정하기 때문에 檢査時間이 짧고 正確性이 改善된 것으로 알려져 있으나 완벽한 診斷法은 아직 開發되어 있지 못하다.

골밀도 측정이 現在 臨床的으로 適用되고 있는 경우는, 骨에 影響을 미치는 代謝性 疾患 患者의 측정, 更年期 女性에서 estrogen 治療 시작전 골밀도 측정, 危險因子를 가진 女性의 骨多孔症의 診斷과 重症度 評價, 疾病의 經過 또는 治療結果의 評價等이다.

骨多孔症의 治療는, 골밀도가 낮은 사람과 骨吸收率이 빠른 사람을 對象으로 하며, 西洋醫學 治療藥物^{15,24,32,33)}로는 두 가지가 있는데, 하나는 骨吸收 抑制劑인 estrogen과 calcitonin등이고, 다른 하나

는 骨形成刺戟劑로 불소가 이에 속한다.

이 中 現在 處方되고 있는 骨多孔症에 대한 西洋醫學 藥劑中에서 가장 확실한 效果를 나타내고 있는 것은 estrogen이지만, 長期間(5-10年 以上) 治療가 必要하며 陰出血, 帶下증가, 乳房痛 등의 경미한 副作用 외에 子宮內膜癌과 乳房癌의 發生率을 높인다는 것이 우려되는 점이다. 한편 calcitonin은 比較的 安全하며 骨多孔症에 同伴된 鎮痛效果가 뛰어나서 많이 使用되고 있다. 특히 老人性 骨多孔症에 隨伴된 腰痛의 改善에 效果가 있는데 投與 2주以內에 腰痛이 호전되는 境遇가 많다. 그 以外 thyroid hormone, Vitamin-D, 칼슘, 불소(sodium fluoride) 등이 있고, 最近에는 새로운 治療方法으로 ADFR 療法이 있는데 이것은 여러 가지 藥物을 時期를 놓치지 않고 連續的으로 投與하는 連續治療法으로서 평소 쉬고 있는 상태에서 骨組織을 한번 깨우고(activation) 그 結果 發生하는 骨吸收作用을 抑制(depression) 시킨 다음 藥의 使用을 中斷(free)하면 自然的으로 骨形成이 이루어진다. 이것을 反復하는 方法은 remodeling의 特性을 利用하고자 하는 점에 意義가 있다.

左歸飲은 《小兒藥證訣》六味地黃丸의 변방으로써 熟地黃을 君藥으로 사용하고 있으며, 牡丹皮와 澤瀉를 빼고 枸杞子와 炙甘草를 더한 처방⁹⁾으로 熟地黃, 山藥, 枸杞子, 炙甘草, 白茯苓, 山茱萸로 構成되어 있으며, 실험에 사용한 加味左歸飲은 左歸飲 本方에 當歸, 鹿角膠, 自然銅을 加한 처방이다.

構成藥物의 效能을 살펴보면 熟地黃은 滋陰補血 益精填髓하고, 山藥은 健脾

補肺 固腎益精하며, 枸杞子是 滋腎 潤肺 補肝하고, 炙甘草는 補三焦元氣 散表寒 補脾하며, 白茯苓은 健脾寧心 利水滲濕하고, 山茱萸는 補益肝腎 澁精固脫하며, 當歸는 補血調經 活血止痛하고, 鹿角膠는 益血補精 補肝腎하며, 自然銅은 續筋接骨 去瘀止痛한다^{7-9,56,57}. 이상을 종합하면 加味左歸飲은 滋陰補血, 益精填髓, 補肝腎, 續筋接骨 去瘀止痛하는 효능이 있으므로 腎陰虛로 인한 骨多孔症의 치료에 適合한 方劑라고 할 수 있다.

이에 著者는 卵巢를 摘出하여 誘導된 骨多孔症 白鼠에 加味左歸飲을 投與하여 골밀도와 骨의 無機質 含量에 미치는 影響을 檢索하였으며, 骨의 吸收 및 形成 等에 미치는 影響을 측정하기 위하여 osteocalcin, ALP, hydroxy-proline 등 骨吸收 및 骨形成 指標로 使用되는 代謝物質과 酵素에 對한 정량을 試圖하였다. 또한 各種 血液學的 檢査와 脂質 代謝物質에 對한 影響을 測定하였고, 顯微鏡 檢査를 통해 骨組織을 觀察하였다.

加味左歸飲이 體重변화에 미치는 影響을 살펴보기 위하여 各 群別로 매주 한번씩 10 주간 體重의 變化를 測定하였다. 閉經後는 體重이 增加하는 것이 一般的인 傾向인데, 난소제거 수술군은 正常群에 비해 큰 폭의 體重 增加를 보였고, 加味左歸飲 抽出物 低用量(500 mg/kg) 투여군과 高用量(1,000 mg/kg) 투여군은 모두 난소제거 수술군과 類似한 體重 增加를 보였다(Fig. 1).

골밀도는 白鼠의 大腿骨을 利用하여 測定하였다. 난소제거 수술군의 골밀도는 1.16 mg/μl로써 正常群의 1.30 mg/μl에 비해 有意적으로 減少하였다. 加味左歸飲 抽出物 高用量(1,000 mg/kg) 투여

군은 난소제거 수술군에 比하여 골밀도의 減少를 有意적으로 抑制하였다. 加味左歸飲 抽出物 低用量(500 mg/kg) 투여군의 골밀도는 1.19 mg/μl로 난소제거 수술군에 比하여 골밀도의 減少를 抑制하였으나 有意성은 없었다. 이는 加味左歸飲이 estrogen 缺乏으로 誘發되는 骨多孔症 治療 또는 豫防에 效果的일 수 있음을 시사한다(Fig. 2).

骨組織은 collagen을 비롯한 機質蛋白質과 칼슘, 마그네슘等을 비롯한 無機質成分으로 構成되어 있다. 골밀도의 變化는 骨機質을 構成하는 機質蛋白質이 破骨細胞의 作用으로 破壞되어 유리되면 機質과 結合된 無機質 成分이 血中에 유리되어 골밀도가 낮아지게 된다⁵⁸⁻⁶⁰. 本 實驗에서 正常群의 灰分量은 0.76 mg/μl 이었으며, 卵巢除去 手術群의 骨灰分量은 0.68 mg/μl로써 有意적인 減少를 나타내었다. 加味左歸飲 抽出物 低用量 투여군의 灰分量은 0.71 mg/μl, 高用量 투여군의 灰分量은 0.7 mg/μl로 모두 난소제거 수술군에 비해 骨灰分量이 有意적으로 增加하였다. 이는 骨多孔症에 依해 減少하는 骨의 無機質 含量이 加味左歸飲 投與로 抑制되었음을 의미한다(Fig. 3).

난소제거 수술군의 칼슘 含量은 358.51 mg/g으로 正常群 384.65 mg/g에 비해 減少되었다. 加味左歸飲 抽出物 低用量 투여군의 칼슘량은 362.50 mg/g, 高用量 투여군의 칼슘 含量은 363.34 mg/g으로 모두 난소제거 수술군에 비해 칼슘 含量 損失을 抑制하였으나 有意적인 차이는 없었다.

난소제거 수술군의 마그네슘 含量은 5.85 mg/g으로 正常群 7.58 mg/g에 比

해 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物 低用量 투여군의 마그네슘량은 6.42 mg/g로 난소제거 수술군에 비해 마그네슘 함유 손실을 유의적으로 억제하였으며, 高用量 투여군의 마그네슘 함유량은 6.31 mg/g으로 난소제거 수술군에 비해 마그네슘 함유 손실을 억제하였으나 유의적인 차이는 없었다.

난소제거 수술군의 인 함유량은 126.93 mg/g으로 正常群 145.33 mg/g에 비해 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物 低用量 투여군의 인량은 129.9 mg/g, 高用量 투여군의 인량은 126.3 mg/g으로 低用量群에서 난소제거 수술군에 비해 인 함유 손실이 약간 억제되었으나 유의적인 차이는 없었다. 이는 加味左歸飲이 骨多孔症으로 인하여 감소되는 骨의 無機質 함유량을 약간이나마 증가시킬 수 있음을 시사한다(Fig. 4, 5, 6).

加味左歸飲이 骨의 吸收 및 骨形成에 미치는 영향을 측정하기 위하여 骨形成細胞의 代謝産物인 osteocalcin, ALP를 指標로 하여 定量하였다. Osteocalcin은 Gla-protein이라고도 불리는 骨格系의 가장 豊富한 比較원질 蛋白質로서 造骨細胞에서 형성된 후 相當部分이 骨機質속에 沈着되며 새로이 生成되는 것의 一部는 血液內로 유리된다. Osteocalcin은 뼈에 매우 特異的인 蛋白質로서 骨代謝 評價에 있어 銳敏度와 特異度가 높아 骨形成의 指標로 利用되고 있다. 破骨細胞의 機能이 活性化되어 骨吸收가 증가하면, 造骨細胞의 機能도 증가한다^{20,32,54}). 本 實驗에서 난소제거 수술군의 osteocalcin은 3.79 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ 로, 正常群의 3.39 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ 에 비해 유의적인 증가를 보였다. 加味左歸飲 抽出物

高用量 1,000 mg/kg 투여군의 osteocalcin은 3.27 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ 로 난소제거 수술군에 비하여 유의적으로 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物 低用量 500 mg/kg 투여군의 osteocalcin은 3.64 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ 로 난소제거 수술군에 비하여 감소하였으나 有意性은 없었다. 이는 加味左歸飲이 骨의 形成을 돕고, 卵巢除去時 증가하는 骨의 再吸收를 抑制할 수 있음을 시사한다(Fig. 7).

Alkaline phosphatase는 骨芽細胞에서 分泌되는 glycoprotein으로서 臨床에서 가장 흔히 利用되는 骨形成 指標이다. 閉經期 女性의 境遇 骨吸收가 증가함에 따라 骨 形成을 促進하는 骨芽細胞가 活性化되어 alkaline phosphatase活性이 증가한다. 이 酵素는 뼈 以外에 肝, 腎臟, 胎盤 等에서도 分泌되며, 年齡이 증가함에 따라 증가하는 傾向이 있다. 따라서 肝疾患이나 肝代謝에 影響을 미치는 藥劑에 의해서도 증가될 수 있다^{20,32,54}). 本 實驗에서 正常群 40.5 IU/ml에 비해 난소제거 수술군 53.5 IU/ml에서 ALP 活性이 증가하였다. 또한 加味左歸飲 抽出物의 低用量 투여군 58.9 IU/ml과 高用量 투여군 60.3 IU/ml에서 모두 난소제거 수술군에 비하여 ALP 活性이 증가하였으나 有意性은 없었다(Fig. 8).

Hydroxy-proline은 주로 交원질內에 存在하며 全體 아미노산의 13 %를 차지하고 있다. 交원질이 分解되면, 아미노산인 hydroxy-proline, hydroxy-lysine 等과 collagen crosslinks 産物인 DPyD, pyrilinks, PyD 等 多樣한 交원질 分解成分이 유리되어 나온다. 體內 交원질의 약 절반은 뼈에 存在하고 뼈의 代謝가

다른 組織보다 훨씬 빠르기 때문에, 유리된 collagen 分解 産物들은 대부분 骨吸收 結果 生成된 物質이다. 이러한 物質들은 交원질 合成에 다시 使用되지 않기 때문에 血液中에 循環하다가 腎臟에서 濾過된 後 再吸收되고 나머지는 小便으로 排泄된다. 따라서 腎臟機能과 密接한 關聯이 있어 hydroxy-proline 量을 creatinine 量으로 나눈 값을 이용하여 尿中에 유리되는 hydroxy-proline 値를 측정한다^{20,24,32,54}). 本 實驗에서 난소 제거 수술군 尿의 OH-P/creatinine 値는 2.30×10^{-3} mmol/mmol로, 正常群 尿 1.56×10^{-3} mmol/mmol)에 비해 유의적인 증가가 있었다. 加味左歸飲 抽出物의 低用量 500 mg/kg 투여군은 1.90×10^{-3} mmol/mmol로 난소 제거 수술군에 비해 감소하는 傾向을 보였으며, 高用量 1,000 mg/kg 투여군의 尿中 濃度는 1.82×10^{-3} mmol/mmol로 유의적인 감소를 보였다. 이는 加味左歸飲이 卵巢除去로 estrogen이 缺乏되어 생기는 골밀도 감소를 改善시키며, 卵巢除去時 發生하는 骨吸收의 증가를 遮斷할 수 있음을 시사한다(Fig. 9).

加味左歸飲이 血中 脂質濃도에 미치는 影響을 살펴본 결과 난소 제거 수술군은 正常群에 비해 血中 total cholesterol, triglyceride의 濃도가 유의적으로 높아졌고, HDL-cholesterol 濃도는 낮아졌다. 加味左歸飲 抽出物의 低用量 투여군과 高用量 투여군에서는 모두 난소 제거 수술군에 비하여 혈중 T-cholesterol의 濃도가 낮아졌고, triglyceride, HDL-cholesterol의 濃도는 높아졌으나 有意性은 없었다. 이는 加味左歸飲이 estrogen缺乏으로 인한 心血管

系 疾患에 유의적이지 못함을 시사한다 (Table I).

加味左歸飲이 血中 無機質과 蛋白質量 및 各種 酵素의 活性에 미치는 影響을 살펴본 결과, 난소 제거 수술군의 血中 칼슘량은 9.2 mg/dl로, 正常群 10.9 mg/dl에 비해 유의적으로 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 칼슘량은 10.1 mg/dl, 高用量을 投與한 群의 칼슘량은 9.9 mg/dl로 모두 난소 제거 수술군에 비해 血中 칼슘량이 유의적으로 증가하였다(Table II).

난소 제거 수술군의 血中 磷량은 6.2 mg/dl로, 正常群 6.4 mg/dl에 비해 감소되었다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 磷량은 6.5 mg/dl, 高用量을 投與한 群의 磷량은 6.6 mg/dl로 모두 난소 제거 수술군에 비해 血中 磷량이 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다(Table II).

난소 제거 수술군의 血中 總蛋白質의 量과 albumin의 量은 各各 6.1 g/dl과 3.1 g/dl로, 正常群 各各 6.5 g/dl, 3.8 g/dl에 비해 유의적으로 감소되었다.

加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 總蛋白質량은 6.5 g/dl로 난소 제거 수술군에 비해 증가하였고, 高用量을 投與한 群의 總蛋白質량은 6.7 g/dl로 난소 제거 수술군에 비해 혈중 總蛋白質량이 유의적으로 증가하였다. 加味左歸飲 抽出物을 低用量으로 投與한 群의 albumin량은 3.6 g/dl로, 高用量을 投與한 群의 albumin량은 3.9 g/dl로 모두 난소 제거 수술군에 비해 혈중 albumin량이 유의적으로 증가하였다 (Table III).

난소제거 수술군의 血中 BUN量은 15.0 mg/L로, 正常群 15.1 mg/L에 비해 유의적으로 감소되었고, 加味左歸飲 抽出물을 低用量으로 投與한 群의 BUN量은 15.8 mg/L로 난소제거 수술군에 비해 증가하였고, 高用量을 投與한 群의 BUN量은 16.6 mg/L로 난소제거 수술군에 비해 血中 BUN量이 유의적으로 증가하였다(Table III).

난소제거 수술군의 血中 LDH는 269.5 IU/L로, 正常群 272.5 IU/L에 비해 감소되었으나 유의적인 차이는 없었고, 加味左歸飲 抽出물을 低用量으로 投與한 群의 LDH는 431.5 IU/L, 高用量을 投與한 群의 LDH는 489.0 IU/L로 모두 난소제거 수술군에 비해 血中 LDH의 活性이 유의적으로 증가하였다(Table III).

加味左歸飲이 血球數 등 血液學的 指標에 미치는 影響을 살펴본 결과, 난소제거 수술군의 赤血球 數, 헤모글로빈 含量, 血小板 數, hematocrit 値는 각각 $8.26 \times 10^6/\mu\text{l}$, 15.9 g/dl, $293 \times 10^3/\mu\text{l}$, 44.4 %로, 正常群 $8.33 \times 10^6/\mu\text{l}$, 16.1 g/dl, $307 \times 10^3/\mu\text{l}$, 44.0 %에 비해 유의적인 차이가 없었다.

加味左歸飲 抽出물을 低用量으로 投與한 群의 赤血球 數, 헤모글로빈 含量, 血小板 數, hematocrit 値는 각각 $8.18 \times 10^6/\mu\text{l}$, 16.1 g/dl, $309 \times 10^3/\mu\text{l}$, 44.6 %, 高用量을 投與한 群의 赤血球 數, 헤모글로빈 含量, 血小板 數, hematocrit 値는 각각 $8.38 \times 10^6/\mu\text{l}$, 16.2 g/dl, $305 \times 10^3/\mu\text{l}$, 45.3 %로 모두 난소제거 수술군에 비해 유의적인 差異가 없었다. 이는 加味左歸飲이 骨髓의 造血機能에 影響을 미치지 않음을 시사한다(Table

IV).

Hematoxylin-eosin 染色을 통한 組織學的 檢査에서 加味左歸飲 투여군이 난소제거 수술군에서 보인 骨組織의 破壞를 抑制하는 것을 觀察할 수 있었다. 즉 加味左歸飲을 投與했을 때 海綿骨 骨小柱의 크기와 숫자가 모두 증가하였다(Fig. 10).

이상의 실험결과 加味左歸飲은 卵巢除去 白鼠에서 나타나는 골밀도의 감소를 抑制시키고, 骨灰分量을 증가시켰으며, 骨中 마그네슘 含量을 증가시켰다. 그리고 卵巢除去 白鼠에서 증가된 osteocalcin과 hydroxy-proline (OH-P) 値를 감소시켰으며, 血中 칼슘량과 총단백질량 및 BUN量을 증가시켰고, 血中 LDH의 活性을 증가시켰으며, 조직학적 檢査에서 海綿骨 骨小柱의 크기와 숫자를 증가시켰다. 따라서 加味左歸飲은 estrogen이 缺乏되어 생기는 골밀도 감소를 改善시키며, 骨의 形成을 돕고 骨의 재흡수를 억제하는 작용이 있으므로 骨多孔症의 예방과 치료에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 結 論

加味左歸飲이 卵巢 摘出로 誘導된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響은 다음과 같다.

1. 加味左歸飲은 감소한 골밀도와 骨灰分量을 증가시켰다.
2. 加味左歸飲은 감소된 骨中 마그네슘 含量을 증가시켰으나, 칼슘 含量과 인 含量에는 영향을 주지 않았다.
3. 加味左歸飲은 증가된 osteocalcin과 hydroxy-proline 値를 감소시켰다.

4. 加味左歸飲은 血中 alkaline phosphatase 活性에 影響을 주지 않았다.
5. 加味左歸飲은 血中 無機質인 칼슘量을 증가시켰으나, 인산量에는 影響을 주지 않았다.
6. 加味左歸飲은 血中 T-cholesterol과 triglyceride 및 HDL-cholesterol의 濃度에 影響을 주지 않았다.
7. 加味左歸飲은 血中 總蛋白質, albumin, BUN 및 LDH를 증가시켰다.
8. 加味左歸飲은 赤血球數, 헤모글로빈量, 血小板數, hematocrit值에 影響을 주지 않았다.
9. 加味左歸飲은 海綿骨 骨小柱의 크기와 숫자를 증가시켰다.

以上の 實驗結果 加味左歸飲은 estrogen이 缺乏되어 생기는 골밀도 감소를 改善시키며 骨의 形成을 돕고 骨의 재흡수를 억제하는 作用이 있으므로, 腎陰虛로 인한 閉經期 骨多孔症의 예방과 치료에 活用될 수 있을 것으로 料된다.

- 투 고 일 : 2006년 04월 28일
- 심 사 일 : 2006년 05월 01일
- 심사완료일 : 2006년 05월 09일

參考文獻

1. 張介賓. 景岳全書 婦人規. 서울: 법인문화사. 1999;41-46, 94-106, 303-305.
2. 대전대학교 제12기 졸업위. 婦人科方劑學, 서울: 木과土. 2000;26, 39.
3. 消淑春. 東醫臨床婦人科學. 서울: 법인문화사. 1999;98-99, 149-151.

4. 羅元愷. 中醫婦科學. 北京: 人民衛生出版社. 1988;45, 71-72, 93-94, 133-134, 161-162.
5. 邵崩黎 等. 女科診療全書. 天津: 中國醫藥科學出版社. 2000;123-124, 213, 217.
6. 洪家鐵. 東西醫臨床婦科學. 北京: 中醫中醫藥出版社. 1996;392-393, 407-408, 417
7. 김재익. 臨床本草學講座, 서울: 대성의학사. 2001;179-185.
8. 신민교. 原色臨床本草學. 서울: 永林出版社. 1986;186.
9. 李尙仁. 本草學. 서울: 修書院. 1981;58, 69, 101, 106, 114, 115, 119, 281, 474.
10. 王水 注. 黃帝內經素問. 서울: 大成出版社. 1986;21, 101, 212, 274, 340, 768.
11. 陣夢雷. 醫部全錄. 서울: 大星文化史. 1989;8; 665-680, 15; 10, 19.
12. 許 浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂. 1994; 278-296.
13. 金定濟. 診療要鑑 上. 서울: 東洋醫學研究員. 1893;416-417.
14. 이웅세. 골다공증의 동의학적 임상문헌에 관한 고찰. 한방재활의학회지. 1997;7(1):437-456.
15. 대한의사협회. 폐경과 골다공증, 대한의학협회지. 5월호.1992;587-597.
16. 해리슨내과학편찬위원회. 해리슨내과학. 서울; 정담. 1997;2342-2348.
17. 김희진 외. 폐경기 골다공증에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지. 1998;1(11):131-148.
18. 杜鎬京. 東醫 腎系學. 서울: 東洋醫學研究員. 1992;578-584, 1240-1253.
19. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학. 서울; 칼빈서적. 1991; .309-336.

20. 大韓 骨代謝 學會. 骨多孔症(骨粗鬆症). 最新醫學社. 1991;1, 27-29, 52-56.
21. 大韓 整形外科學會編. 整形外科學. 서울; 大韓整形外科學會. 1989;13-14, 81-82.
22. 金寅相. 骨關節疾患. 서울; 一中社. 1988;62-63.
23. Albright, F. Osteoporosis. Ann. Intern. Med. 1947;861-882.
24. 徐舞圭. 成人病 老人醫學. 서울; 고려의학. 1993;483-486.
25. 민헌기. 임상 내분비학. 서울; 고려의학. 1990;220-222, 415-421, 489-498.
26. 全國韓醫科大學 再活醫學科教授室篇. 東洋再活醫學科學. 書苑堂. 1995;26-37, 48, 181-184.
27. 羅元愷. 中醫婦科學. 河北省. 人民衛生出版社. 1988; 17-22, 161-163.
28. 陳可培. 中國傳統康復醫學. 北京; 人民衛生出版社. 1988; 555-558.
29. 藏位壓, 王和鳴編. 中國骨病學. 北京; 人民衛生出版社. 1990;249-258.
30. 呂執政. 常見丙 最新療法. 北京; 中國中醫學 出版社. 1994;371-373.
31. 채신길. 腎虛證與 骨廣物含量的 關係. 山東: 山東中醫學院學報. 1992;16(2):52.
32. 최영길. 내분비학. 의학출판사. 1994; 483-490, 573-580.
33. 김영설. 골다공증의 약물치료. 서울; 제44회 대한내과학회 추계학회지. 1992;50-53.
34. 정재숙. 生血補髓湯이 난소적출 흰쥐 대퇴골의 형태적측학적 변화 및 골대사 관련 인자에 미치는 영향. 世明大學校 大學院. 2005.
35. 金根模. 鹿茸 및 六味地黃湯加鹿茸이 白鼠의 運動抑制性 骨多孔症에 미치는 影響. 慶山大學校 大學院. 1994.
36. 朴鍾徹. 左歸飲과 右歸飲이 卵巢摘出 白鼠의 性호르몬과 脂質및 骨代謝에 미치는 影響. 大韓 韓方婦人科學會誌. 1995;8(1):1-27.
37. 李相坤. 四物湯과 六味地黃湯이 卵巢摘出로 誘導된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響. 慶山大學校 大學院. 1996.
38. 曹永任. 借力丸變方이 卵巢摘出로 誘導된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響. 大田大學校 大學院. 1999.
39. 趙存義. 中國古方方名考. 北京: 中國中醫藥出版社. 1994;109-122.
40. 許叔微. 普濟本事方. 上海: 上海科學技術 出版社. 1978;145.
41. 李 挺. 編註 醫學入門. 서울: 南山堂. 1990;1592-1594.
42. 申天浩. 問答式 婦人 小兒科學. 서울: 成輔社. 1992;145-146.
43. 陳自明. 婦人良方大全. 文光도서유한공사. 1987;1:38.
44. 武之望. 濟陰綱目. 大成出版社. 1989;9.
45. 蘇 堯. 女科經綸. 江蘇科學技術 出版社. 1986;35.
46. 葉天士. 葉天士女科. 서울: 大星文化史. 1989;212-213.
47. 宋炳基. 韓方婦人科學. 서울: 杏林出版. 1978;32-40, 193-196.
48. 李種華, 朴炳烈. 標準 韓方婦人科. 서울; 醫藥社. 1979;46.
49. 國際韓醫學 學生會. 東洋醫學 叢書. 7 권. 一中社. 1990;86-89.
50. 羅元愷, 唐吉父. 醫林189호. 서울: 醫林社. 1989;65-66.
51. Burkhart, J, M., Jowsey, J. Parathyroid and thyroid hormones in the development of immobilization osteoporosis.

- rosis, *Endocrinology*, 1967;81:1053.
52. Council report. Estrogen replacement in the menopause. *JAMA* 1983;249:359.
53. McKenna, M. J., Frame, B. Hormonal influences on osteoporosis. *Am. J. Med.*, 1987;82(1B):61-67.
54. 대한 병리학회. 병리학. 고문사. 1991; 1183-1185.
55. Johnston, C.C., et al. Clinical, biochemical, radiographic, epidemiologic, and economic features of osteoporosis. *Orthop. Clin. North. Am*, 1981;12:559-569.
56. 康秉秀. 本草學. 서울: 永林社. 1991;302, 537, 580, 596, 626.
57. 楊東喜. 本草備要解析. 中華民國. 國興出版社. 1980;18-21.
58. Hauffenberger, t, et al. Bone remodeling and calcium metabolism, correlated histomorphometric calcium, kinetic and biochemical study in patients with osteoporosis and Paget's diseases. *Metabolism*. 1977;26:589-606.
59. Heaney, R.P., et al. Calcium balance and calcium requirements in middle-aged women. *Am J. Clin Nutr* 1977;30:1603.
60. Nilas, I. et al. calcium supplementation and postmenopausal bone loss. *Br. Med. J.*, 1984;289:1103-1106.