

## 녹용추출물이 성장기 흰쥐의 혈중 IGF-I 농도, 골격성장 및 비장세포 증식능에 미치는 영향

장수정\* · 전호남\*\* · 윤승섭\*\* · 이임식\*\* · 이연숙\*<sup>§</sup>

서울대학교 식품영양학과, 생활과학연구소,\* 매일유업(주) 중앙연구소\*\*

### Effects of Deer Antler Extract on Serum IGF-I, Bone Growth and Splenocyte Proliferation in Growing Rats\*

Jang, Soo Jung\* · Chun, Ho Nam\*\* · Yun, Sung Seob\*\* · Lee, Im Sik\*\* · Lee, Yeon Sook\*<sup>§</sup>

Department of Food and Nutrition,\* Seoul National University, Seoul 151-742, Korea  
Research Institute of Human Ecology,\* Seoul National University, Seoul 151-742, Korea  
R & D Center,\*\* Mael Dairy Industry Co. Ltd., Pyungtaek-si 451-861, Korea

#### ABSTRACT

Although it has traditionally known that deer antler and medicinal herbs extract contain some functional components for health promotion, the nutritional significance remains to be elucidated. This study examined the efficacy of deer antler extract (DA), medicinal herbs extract (MH) and their mixture (DAMH) on serum IGF-I, bone growth with growing rats *in vivo* and splenocyte proliferation with spleen cells *in vitro*. Three week-old young female rats (Sprague-Dawley) were divided into 4 groups and then fed basal diet (AIN-93G) or experimental diets containing DA, MH, DAMH, respectively, for 7 weeks. We collected blood, liver, kidney, spleen, femur and tibia from rats. There was no significant difference in weight gain, but food intake increased in DA- and MH-fed groups. There were no signs of liver and kidney damage in the DA, MH and DAMH-fed groups compared to basal diet group. In femur and tibia, wet weights; breaking forces and bone minerals (Ca, Mg and Zn) were significantly higher in the DA-fed group than in the other groups. Serum alkaline phosphatase (ALP), bone-specific alkaline phosphatase (BALP) activities were significantly lower in the DA, MH, DAMH-fed groups than in basal diet group. Also, serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentrations were significantly increased in DA-fed group compared to the other groups. Therefore DA was shown to have an activity of bone growth promotion by increasing the IGF-I, a major bone growth factor. The deer antler extract showed an enhanced immune action on the primary cultured-cells from spleen of rats, representing that splenocytes were proliferated by lipopolysaccharide (LPS), but not by concanavalin A (Con A). These results indicate that deer antler extract has beneficial effects on bone growth via IGF-I and on splenocyte activation. (*Korean J Nutrition* 39(3): 225~235, 2006)

**KEY WORDS** : deer antler extract, IGF-I, bone-specific alkaline phosphatase activities, bone minerals, splenocyte activation.

#### 서 론

녹용은 사슴의 각질화 되지 않은 어린 뿔로서, 한방에서 인삼과 더불어 가장 우수한 보혈강장제로 사용되어온 동물 생약의 하나이며, 생약재와 더불어 예로부터 민간요법을 통

하여 질병치료의 목적으로 널리 애용되어 왔다.<sup>1)</sup> 녹용의 성분에 관한 연구에서 헥소스 (hexose), 펜토스 (pentose), 헥소사민 (hexosamine), 유로닉산 (uronic acid), 시알릭산 (sialic acid), 유리 아미노산, 무기질, 동물조직에 널리 분포되어 있는 특수지방산의 일종인 프로스타글란딘 (prostaglandins)류, 당지질 중 강글리오사이드 (gangliosides)의 존재가 확인되었으며, 녹혈에는 인슐린유사 성장인자 (insulin-like growth factor; IGF), 유즙분비 호르몬 (prolactin; PRL), 황체형성호르몬 (lutening hormone; LH), 난포자극 호르몬 (follicle stimulating hormone; FSH),

접수일 : 2006년 1월 31일

채택일 : 2006년 4월 17일

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail : lysook@snu.ac.kr

테스토스테론 (testosterone)이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.<sup>2,3,4)</sup>

녹용의 생리활성과 활성성분을 구명하기 위한 최근까지의 연구를 살펴보면, 녹용은 그 추출물 수준에서 면역기능 증진, 항 피로, 항 스트레스, 진통, 항산화, 항 혈전, 항 노화, 혈압강하, 항염증작용 등 매우 다양한 효능이 있는 것으로 보고 되고 있다.<sup>1)</sup> 특히 녹용은 핵산과 단백질의 합성을 촉진함으로써 동물의 성장발육을 촉진한다고 보고<sup>5)</sup> 되었으며, 이 작용의 유효성분은 polyamine으로서 RNA-polymerase II의 활성을 증가시키는 것으로 통하여 작용이 이루어진다고 추정되었다. 또한 녹용에서 추출한 chondroitin sulfate와 같은 glycosaminoglycan은 *in vitro*에서 소 피부의 섬유아세포 (fibroblast)의 성장을 촉진하였다는 보고도 있다.<sup>6)</sup> 특히 녹용은 분골 부위에 IGF, transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )와 같은 성장인자들을 가지고 있어서 매년 재생되는 특징을 가지고 있으므로,<sup>7)</sup> 골격성장 및 골분화의 연구모델로 제시되어 왔다. 이에 녹용의 추출액이 조골세포의 증식을 촉진시키고 세포 생존율을 증가시키며 ALP 활성을 증가시킨다는 보고<sup>8)</sup> 등, 녹용이 골 형성에 미치는 영향에 대한 연구<sup>9)</sup>가 있으나, 녹용의 섭취에 따른 골격성장 및 생리효능에 관한 체계적인 실험 및 연구결과는 매우 미미하며, 그러한 효과를 입증할 만한 임상적인 실험결과 또한 거의 없는 실정이다.

한편 녹용은 일반적으로 단독으로 섭취하기보다는 여러 가지의 생약재와 혼합하여 그 추출물을 복용하고 있다. 생약재의 약효 및 약리작용으로는 진통작용, 항염증작용, 혈압강하작용 등이 보고 되어 있으며, 현재 구기자, 감초, 당귀 등 한방에서 만성질환 예방 및 치료에 사용되었던 생약재들의 효능에 관한 연구들<sup>10,11)</sup>이 진행되고 있지만, 실제 섭취하고 있는 혼합물에 대한 연구는 부족한 실정이다. 더욱이 녹용과 생약재를 혼합하여 사용하는 경우에는 두 성분의 상호보완 또는 길항작용이 기대되나, 지금까지의 연구는 녹용 단일추출물의 연구가 대부분이며, 녹용에 생약재를 가하여 추출한 혼합추출물에 대한 연구는 거의 없다.

녹용의 수요량 및 소비량은 해마다 늘어가고 있는 추세이다. 그러나 현재 국내의 연간 녹용 생산량은 총 수요량의 약 20% 수준으로, 우리나라는 세계 녹용 총 생산량의 80% 정도를 수입하고 있는 실정이다.<sup>12)</sup> 또한 생약재의 소비현황도 수출에 비하여 수입이 훨씬 많은 것으로 보고 되고 있다. 그러므로 녹용의 과학적인 효능 규명을 통한 국내 생산 활성화를 위해서, 전통적으로 알려진 녹용 및 생약의 효능에 대한 체계적이고 과학적인 입증은 특히 요구된다고 본다. 한편 지금까지 녹용의 약효와 관련된 약리활

성과 그 작용성분 및 작용기작의 해명 등에 관해 수행된 연구를 보면 주로 *in vitro* 실험에만 치중되어 있을 뿐, *in vivo* 실험은 많지 않다. 특히 녹용은 동물의 성장을 촉진시키는 효과가 있다고 알려져 있으나, 성장촉진지표 분석을 통한 과학적이고 체계적인 입증은 거의 없었다. 따라서 본 연구는 실험동물을 이용하여 녹용추출물, 생약추출물 및 그 혼합추출물의 생리적 효능을 혈중 IGF-I (insulin-like growth factor-I) 농도, 골격성장 및 비장세포 증식능 등을 통해 종합적으로 분석함으로써 그 영양적 가치에 대해 검토하고자 하였다.

## 연구방법

### 1. 실험동물 및 사육

갓 이유했던 3주령의 암컷 흰쥐 (Sprague-Dawley, female)를 서울대학교 동물사육장에서 구입하여 평균체중이 약 60 g 되었을 때, 4군으로 나누어 각 군당 8마리씩 배치하였다. 4군의 실험군은 각각 ① 대조군 (Control) ② 정제된 녹용추출물군 (DA) ③ 정제된 생약추출물군 (MH) ④ 녹용생약혼합추출물군 (DAMH) 이다.

실험동물들은 shoe-box cage에서 한 마리씩 분리 사육하였다. 사육실의 환경은 온도  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도  $65 \pm 5\%$ 로 유지하고, 명암은 12시간 주기 (light: 6 : 00 a.m.~6 : 00 p.m.)로 조절하였다. 실험식이와 3차 탈 이온수는 *ad-libitum*으로 급여하였으며, 실험기간 동안에 체중과 식이섭취량은 일주일에 두 번 일정 시간에 측정하였다.

### 2. 실험식이

실험식은 7주간 공급하였다. 본 실험에 사용한 녹용 (Antler, *Cervus Parvum Cornu*)은 매일유업 (주)에서 사육한 마록 (*Cervus elaphus*, Red deer)에서 채취한 생 녹용을 사용하여, 정제수를 투입하여  $100 \sim 110^\circ\text{C}$ 에서 5시간 열수 추출한 추출물을 분말형태로 만들어 사용하였다. 생약추출물의 구성 생약재들로는 황기, 당귀, 천궁, 백복령, 창출, 산사, 진피, 계피, 감초, 두충지, 구기자, 작약, 숙지황, 오가피, 하수오, 둥글레, 계지, 인진쑥, 생강, 대추, 산약, 맥아, 검은콩, 영지 등 24종이 포함되었다. 또한 녹용생약혼합추출물은 녹용과 생약재를 1 : 1의 비율로 배합하여 추출, 여과, 농축 및 건조하는 공정을 거쳐 제조 (매일유업(주) 중앙연구소)된 것을 사용하였다. 본 실험식의 배합시 녹용추출물과 생약추출물의 식이 중 수준은 각각 2.5% wt/wt (예비실험결과에서 효능측정에 적정수준임)로 하였으며, 이들의 혼합물인 녹용생약혼합추출물의 식이 중

수준은 5% wt/wt로 하였다. 각각의 실험물질에 함유되어 있는 단백질과 무기질 (칼슘, 인)의 함량을 분석하였으며, 이를 실험식이 조성을 동일하도록 하는 데에 이용하였다. 실험식은 정제식이 (purified diet)로서 기본적으로 AIN-93G<sup>1)</sup>를 따랐다. 식이내의 칼슘함량은 녹용추출물의 칼슘 함량을 고려하여 저 수준 (필요량의 1/3인 0.15%)으로 하였고, 단백질수준은 성장유지수준 (AIN-93M)인 14%로 하였으며, 모든 실험식이의 조성은 동일하도록 조정하였다. 단백질과 칼슘조성을 정상보다 약간 낮은 수준으로 정한 이유는, 녹용추출물 중 칼슘함량을 고려하고 시험물질의 효과를 보다 적절히 평가하기 위함이었다. 실험식이의 원료로는 정제된 카제인, 옥수수 전분, 식용유 및 비타민혼합물 (AIN-93G Vitamin Mixture, MP Biomedicals, Inc.)을 구입하여 사용하였다. 무기질혼합물은 AIN-93G 조성에서 칼슘과 인을 제외하고 조제하였으며, 이 때 실험식이 내 칼슘은 0.15%로, 인의 함량은 0.3%로 동일하도록 하였다. 칼슘 급원으로는 CaCO<sub>3</sub>로 하며 인의 급원으로는 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 사용하였다. 실험식이 성분은 Table 1에 제시하였다.

**3. 시료수집**

실험동물을 희생시키기 전에 하룻밤 동안 절식시킨 후 (overnight fasting), 염산케타민 (케타라, 유한양행㈜)으로 복강 내 마취 (투여농도: 80 mg/kg BW)에 의해 희생시켰다. 혈액은 복대동맥에서 채취하였으며, 4℃에서 2~3시간 방치 후, 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 얻은 혈청을 microcentrifuge tube에 여러 개로 나누어 담아서, 분석 전까지 -80℃ 냉동고에 보관하였다. 혈액 채취 후 간과 양쪽 신장, 흉선을 적출하여 장기에 부착되어 있는 지방이나 근육을 깨끗이 제거한 후, 냉장 생리식염수 (0.9% NaCl 용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음, 여과지로 물기를 닦고 전자천평으로 생 조직의 무게를 측정하였다. 양쪽 대퇴골과 경골은 적출한 후 부착되어 있는 근육, 지방, 인대 등 부착물을 모두 제거한 다음 무게와 길이를 측정하였다. 비장은 무균적으로 적출하여 즉시 70% ethanol에 약 30초간 침지하여 표면을 살균한 다음, *in vitro* 실험에 이용하였다. 비장을 제외한 모든 시료는 분석할 때까지 -70℃에서 보관하였다.

**4. 시료분석**

**1) 혈액성분 분석**

혈청 칼슘, alkaline phosphatase (ALP), 신장기능 지표 (Blood Urea Nitrogen (BUN), creatinine) 및 간기능 지표 (GOT, GPT, Albumin, Total Protein, Total Bilirubin)

**Table 1.** Composition of experimental diets (g/kg diet)

Diet ingredients <sup>1)</sup>	Control	DA	MH	DAMH
Cornstarch	572.536	553.266	547.996	522.966
Casein	140.0	140.0	140.0	140.0
Sucrose	100.0	100.0	100.0	100.0
Soybean oil	70.0	70.0	70.0	70.0
Fiber	50.0	50.0	50.0	50.0
Min. Mix <sup>2)</sup> (Ca,P free)	35.0	35.0	35.0	35.0
Vit. Mix <sup>3)</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0
DL-Methionine	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
t-Butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
CaCO <sub>3</sub> <sup>4)</sup>	3.75	-	3.73	3.43
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>5)</sup>	13.20	11.22	12.76	13.09
DA	-	25.0	-	-
MH	-	-	25.0	-
DAMH	-	-	-	50.0

- 1) Control (AIN-93G diet), DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)
- 2) AIN-93G mineral mixture
- 3) AIN-93G vitamin mixture
- 4) Ca and P in DA, MH, DAMH were analyzed by Atomic absorption spectrophotometer (Hitachi Z-6000), Ca is contained 6015.7 mg/100 g, 31.1 mg/100 g, 252.8 mg/100g in DA, MH, DAMH, respectively
- 5) P is contained 1807.9 mg/100 g, 404.8 mg/100 g, 50.6 mg/100 g in DA, MH, DAMH, respectively

의 분석은 혈액 자동분석기 (fully automated dry chemistry system; SPOTCHEM; Daiichi Kagaku Co., Japan)을 이용하여 측정하였다. 혈청 bone-specific alkaline phosphatase (BALP)의 측정은 wheat germ agglutinin이 혈청 내 BALP의 N-acetylglucosamine과 결합하는 성질을 이용한 Rosalki & Foo의 방법<sup>14)</sup>을 응용하여 측정하였다. 즉, 혈청은 4℃에서 24시간 해동하고, lectin solution은 wheat germ agglutinin (Triticum vulgare wheat germ lectin, Sigma Chem. Co. U.S.A)을 5 g/L의 비율로 희석하여 만들었다. Triton-X 100 sol.은 Triton-X surfactant (Sigma Chem. Co. U.S.A)를 20 g/L의 비율로 희석하여 준비하였다. 준비된 혈청 50 ul에 동량의 lectin sol.을 첨가한 뒤, 37℃에서 30분간 incubation하고 이 용액에 Triton-X 100 sol. 5 ul를 첨가하여 잘 혼합하여 37℃에서 30분간 다시 incubation 하였다. 이렇게 만든 serum mixture를 2,000 × g에서 15분간 원심 분리하여 상층액과 침전물을 분리하였다. 침전물에는 혈청 내에 존재하는 BALP가 wheat germ agglutinin과 결합하여 있는 것으로 알려져 있다. 상층액을 취하여 ALP의 측정법과 동일한 방법으로 측정한 다음, BALP는 ALP에서 상층액의 ALP를 뺀 값으로 하였다.

## 2) 뼈의 강도 및 무기질 함량 분석

대퇴골과 경골의 파단력 (breaking forces)은 Instron (Instron Universal Testing Instrument, Model 100, England)을 이용하여 측정하였다. 측정조건은 Load transducer type을 50 kg (100 lb)으로 하였고, Range는 5 LB, Crosshead control은 500 min/min, Chart speed는 200 min/min으로 각각 고정하여 뼈의 중심 부위에서 일정하게 측정하였다.

대퇴골 및 경골의 무기질 분석을 위해서 각각 0.5~1 g 정도의 무게를 측정하여 각 용기에 넣은 후, 7 ml 65% HNO<sub>3</sub>와 1 ml 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가하여 습식회화 (ETHOS PLUS, MILESTONES, USA) 시켰다. 이후, 칼슘과 마그네슘은 2% LaCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O로, 철, 구리 및 아연은 1% HNO<sub>3</sub> 용액으로 각각 시료를 희석한 다음, 원자흡광계 (Atomic Absorption Spectrophotometry, GBC904AA, USA)를 이용하여 Ca (422.7 nm), Mg (285 nm), Zn (213.9 nm), Fe (248.3 nm), Cu (324.7 nm)를 측정하였다. 인의 함량은 증류수로 희석하여 Fisk-Subbarow 방법<sup>15)</sup>으로 측정하였다. 무기질 분석에 사용한 모든 초자기구는 10% HCl 용액에 12시간 이상 담갔다 3차 증류수로 헹구어 건조시킨 후, 사용하였다.

## 3) 혈중 성장호르몬과 IGF-I 측정

혈중 성장호르몬 (growth hormone; GH) 농도의 측정은 sandwich-type immunoassay를 응용한 MOUSE/Rat Growth Hormone ELISA kit (DSL-10-72100, USA)을 이용하였으며, 혈중 IGF-I 농도의 측정은 competitive enzyme immunoassay format을 응용한 MOUSE/Rat IGF-1 EIA kit (DSL-10-2900, USA)를 이용하여 microplate reader (Bio-Rad, USA)로 측정하였다.

## 4) 비장세포 증식능 측정 (*in vitro*)

비장세포의 증식능 측정을 위해서, 적출한 비장을 RPMI-1640 배지로 2회 세척한 다음, syringe plunger로 파쇄하여 세포를 유리시켰다. 이 때 배지의 조성은 10% FBS, 10 mM hepes, non-essential amino acid, antibiotic solution

을 첨가한 것을 사용하였다. 분리된 세포 현탁액을 동일 배지에 약 1% 정도 첨가하여 배양용기에서 약 4시간 배양한 후, 배양 상등액을 제거하고 PBS로 2~3회 세척하여 불순물을 제거하였다. Trypsin-EDTA 용액을 첨가하여 부착된 세포를 떼어낸 후 원심 분리하여 trypsin을 제거한 다음, 동일 배지를 적당량 첨가하여 피펫팅 후 haemocytometer를 이용하여 세포수를 측정하였다. 비장세포 증식능을 알아보기 위하여, 세포부유액을 RPMI-1640 배지로 희석하고 96 well plate에  $2 \times 10^5$  cells/ml 농도로 분주한 다음, lipopolysaccharide (LPS 1 ug/ml), concanavalin A (Con A 0.1 ug/ml), sample (DA, MH, DAMH; 100 ug/ml)을 각각 100 ul/well 씩 첨가하였다. 이 때 Con A는 T 세포를, LPS는 B 세포를 각각 선택적으로 증식시키는 mitogen으로 알려져 있다. 이후 CO<sub>2</sub> incubator에서 시간별로 (48시간, 72시간, 96시간) 배양한 다음, MTT assay를 실시하였다.

## 5. 통계분석

실험결과는 SAS program (SAS 8.1 version)을 이용하여 통계 처리하였으며, 모든 실험결과는 평균과 표준 오차 (Mean  $\pm$  SE)로 나타내었다. 군 간의 차이는  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중 및 식이섭취량

갓 이유한 성장기 흰쥐에게 7주간 실험 식이를 급여한 결과, 실험동물의 체중, 식이 섭취량을 Table 2에 제시하였다. 체중증가량은 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않은 반면, 식이섭취량은 DA군과 MH군에서 유의적으로 높았다. 지금까지 보고된, 동물의 증체량과 사료섭취량에 미치는 녹용의 효과는 일률적이지 않다. 본 연구결과는 녹용분말을 쥐에게 체중 kg 당 1.5 g과 3.0 g을 경구투여 했을 때 체중 증가에는 차이가 없었다는 Shin 등<sup>1)</sup>의 보고 및, 90일 동안 체중 kg 당 1 g을 경구투여 했을 때 증체량에 차

**Table 2.** Body weight, weight gain, food intake of rats fed experimental diets

Groups <sup>1)</sup>	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/d)	Food intake (g/d)
Control	62.6 $\pm$ 3.6 <sup>2)NS3)</sup>	212.2 $\pm$ 4.5 <sup>NS</sup>	3.05 $\pm$ 0.15 <sup>NS</sup>	13.9 $\pm$ 0.3 <sup>bd1)</sup>
DA	62.9 $\pm$ 2.3	219.2 $\pm$ 3.5	3.19 $\pm$ 0.05	14.8 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>
MH	63.7 $\pm$ 3.0	211.8 $\pm$ 6.2	3.02 $\pm$ 0.18	15.1 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>
DAMH	63.4 $\pm$ 3.2	216.9 $\pm$ 5.1	3.13 $\pm$ 0.06	14.5 $\pm$ 0.3 <sup>cd</sup>

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)

2) Values are Mean  $\pm$  SE of 8 rats per group

3) NS: not significantly different among groups

4) a, b values with different superscripts within a column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test

이가 없었다는 Zhang 등<sup>16)</sup>의 결과와는 비슷하였으나, 육용 종 병아리에서 녹용처리가 증체량 및 사료섭취량을 증가시켰다는 Bae 등<sup>17)</sup>의 보고와는 상이하였다.

**2. 조직무게**

간, 신장, 비장, 흉선의 무게를 측정된 결과와 체중에 대한 조직 무게의 비율을 Table 3에 제시하였다. 간, 신장, 비장 및 흉선의 조직 무게는 실험식이 섭취에 따른 차이가 없었다. Zhang 등<sup>16)</sup>은 녹용분말을 0, 5, 50, 500, 2,000 mg/kg BW로 양을 달리하며 경구 투여하여 급성 독성시험을 수행함과 동시에, 90일 동안 1,000 mg/kg BW를 경구 투여하여 독성시험을 수행하였을 때, 간 무게는 약간 감소하였으나 어떠한 혈액지표나 조직형태학적 이상은 발견되지 않았음을 보고하였다. 지금까지 녹용 및 생약재의 사용에 있어서 안정성, 특히 간과 신장에서 나타나는 독성문제에 관심이 모아져 왔는데, 녹용 및 생약추출물을 급여한 본 실험결과에서, 간, 신장 및 신체 각 중요기관에 있어서 외관이나 무게차이는 거의 나타나지 않았다.

**3. 간 기능 및 신장 기능의 혈액 지표**

간 기능의 지표 (혈청 총 단백질, 알부민, 총 빌리루빈 농도 및 GOT, GPT 효소활성) 및 신장기능의 지표 (혈청 BUN, creatinine 농도)는 Table 4에 제시하였다. 간 기능의 지표 중에서, 혈청 총 단백질, 알부민 및 총 빌리루빈 농도는 실험 군 간에 차이를 나타내지 않았다. 그러나 GOT, GPT는 실험식이 섭취군에서 대조군에 비해 유의적으로 감

소하였으며, 특히 녹용 또는 생약추출물을 단독으로 급여했을 때 혼합추출물에 비해 더 유의적인 감소를 보였다. 신장기능의 지표 중, 혈청 BUN 농도는 DA, MH군에서 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, creatinine 농도는 실험식이 섭취군에서 대조군에 비해 모두 유의적으로 낮게 나타났다.

영양상태의 하나의 지표가 되는 혈청 알부민 농도는 정상 암컷 흰쥐 (Albino)의 경우 3.1~4.1 g/dl 로 보고<sup>17)</sup> 되고 있으며, 본 실험결과에서 나타난 수치들은 모두 정상범위에 속하였다. 한편 GOT, GPT는 간세포의 세포질에 있는 효소로서 고지방식, 알코올 등으로 지방간이 유발되거나 간 유해물질이 존재할 때, 간세포가 손상되어 혈액 속으로 GOT, GPT의 유리가 항진되어 활성이 높아진다.<sup>19)</sup> 따라서 이 효소들이 간 질환이나 간조직의 괴사의 지표 중 하나로 사용되었다. 본 실험결과, 모든 실험식이 섭취군의 GOT 및 GPT 활성이 암컷 흰쥐 (SD)의 정상범위 (GOT: 59.0-173.8 (IU/L), GPT: 19.6-94.2 (IU/L))<sup>20)</sup>를 벗어나지 않았고, 대조군과 비슷하거나 오히려 낮은 값을 보였으므로, 녹용 및 생약추출물의 섭취가 간에 독성을 유발하지는 않는다고 생각된다. 이러한 결과는 임신 18일째부터 출생 후 88일까지 10% 녹용분말을 함유한 식이를 급여하였을 때, 신생쥐의 GOT 수치가 대조군에 비해 50% 감소하였음을 보고한 연구결과<sup>21)</sup>와 비슷하였다. 한편 혈청 BUN 농도에 있어서 암컷 흰쥐 (SD)의 정상범위는 11.7~25.6 (mg/dl)로 보고 되어 있다.<sup>20)</sup> Hwang 등<sup>22)</sup>은 2,3,7,8-Tetrachloro-

**Table 3.** Tissue weights of rats fed experimental diets

Groups <sup>1)</sup>	Spleen (g, fresh wt)	Liver (g, fresh wt)	Kidney (g, fresh wt)	Thymus (g, fresh wt)
Control	0.54 ± 0.02 <sup>2)NS</sup>	5.80 ± 0.19 <sup>NS</sup>	1.46 ± 0.08 <sup>NS</sup>	0.35 ± 0.02 <sup>NS</sup>
DA	0.56 ± 0.02	6.03 ± 0.18	1.59 ± 0.08	0.38 ± 0.03
MH	0.54 ± 0.03	6.50 ± 0.24	1.62 ± 0.04	0.39 ± 0.03
DAMH	0.53 ± 0.02	6.13 ± 0.19	1.62 ± 0.07	0.39 ± 0.02

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)

2) Values are Mean ± SE of 8 rats per group

3) NS: not significantly different among groups

**Table 4.** Parameters of liver and kidney function in serum of rats fed experimental diets

Groups <sup>1)</sup>	Liver function					Kidney function	
	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	Albumin (g/dl)	T-Protein (g/dl)	T-Bilirubin (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Control	144.1 ± 5.2 <sup>a</sup>	66.4 ± 5.3 <sup>a</sup>	3.28 ± 0.04 <sup>(NS3)</sup>	6.29 ± 0.11 <sup>NS</sup>	0.50 ± 0.03 <sup>NS</sup>	23.6 ± 1.4 <sup>2)a</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>2)d</sup>
DA	106.3 ± 2.8 <sup>c</sup>	27.7 ± 3.4 <sup>c</sup>	3.29 ± 0.07	5.83 ± 0.10	0.45 ± 0.02	16.4 ± 1.0 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>b</sup>
MH	99.7 ± 3.9 <sup>c</sup>	36.7 ± 3.5 <sup>bc</sup>	3.16 ± 0.07	5.77 ± 0.14	0.50 ± 0.03	15.3 ± 0.7 <sup>b</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>b</sup>
DAMH	129.1 ± 4.7 <sup>b</sup>	43.4 ± 2.4 <sup>b</sup>	3.26 ± 0.05	5.73 ± 0.23	0.45 ± 0.02	22.3 ± 2.1 <sup>c</sup>	1.2 ± 0.1 <sup>b</sup>

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)

2) Values are Mean ± SE of 8 rats per group

3) NS: not significantly different among groups

4) a, b, c values with different superscripts within a column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

dibenzo-p-dioxin (TCDD)을 복강투여하고 각각 10 mg/kg BW과 20 mg/kg BW의 녹용추출물을 병용하여 경구 투여했을 때, 20 mg/kg BW의 녹용추출물이 TCDD의 독성에 의한 BUN 농도를 유의적으로 회복시킴으로써, 간 및 신장독성에 대해 방어효과가 있는 것으로 보고 하였으며, 이 때 creatinine과 BUN이 높은 경향을 나타내는 것은 신장기능의 저하를 의미하는 것으로 제시되었다. 따라서 본 실험결과에서는 신장기능지표들이 낮은 값을 나타냈으므로, 녹용 및 생약추출물의 섭취가 신장기능에 악영향을 주지 않는다고 생각된다.

**4. 골격상태**

대퇴골과 경골의 중량, 길이 및 강도는 Table 5에 제시하였다. 대퇴골의 중량은 DA군에서 유의적으로 증가하였으며, MH, DAMH군에서는 대조군에 비해 증가하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 대퇴골의 길이는 실험 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 또한, 뼈의 강도는 organic matrix의 무기질의 성질과 함량에 의존하는데, 대퇴골의 강도는 DA군에서 유의적으로 높게 나타났으며, 전체적으로 실험 식이를 섭취한 군에서 대조군에 비해 높은 경향을 보였다. 경골의 경우는, 중량은 DA군에서 유의적으로 증가하였으며 MH, DAMH군에서는 대퇴골의 경우와 마찬가지로, 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다. 경골의 길이 역시 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 경골의 파단력은 DA군에서 유의적으로 증가하였으며, MH군과 DAMH군에서는 대조군과 차이가 없었다.

본 실험결과에서 녹용추출물의 골격성장 효과는 현저히 나타났던 반면, 생약추출물의 급여는 대퇴골과 경골의 무게 및 길이를 유의적으로 증가시키지는 못하였다. 또한 대퇴골과 경골의 강도 측면에서 볼 때, 녹용과 생약을 함께 사용하는 경우에는 단독으로 사용하는 경우보다 오히려 상쇄작용을 나타내는 것으로 사료되었다. 따라서 녹용과 생약을 사용하는 데 있어서 단독 또는 혼합형태에 따른 고려 또한 필요하다고 사료된다.

**Table 5.** Weight, length and breaking forces of bone in rats fed experimental diets

Groups <sup>1)</sup>	Femur			Tibia		
	Fresh wt (g)	Length (mm)	Breaking force (kg/g)	Fresh wt (g)	Length (mm)	Breaking force (kg/g)
Control	0.63 ± 0.01 <sup>2b</sup>	32.69 ± 0.15 <sup>NS3)</sup>	6.56 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.01 <sup>c</sup>	36.83 ± 0.19 <sup>NS</sup>	3.41 ± 0.18 <sup>b</sup>
DA	0.77 ± 0.01 <sup>a</sup>	33.36 ± 0.25	8.49 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.01 <sup>a</sup>	37.21 ± 0.18	4.31 ± 0.20 <sup>a</sup>
MH	0.66 ± 0.01 <sup>b</sup>	32.53 ± 0.28	7.13 ± 0.32 <sup>b</sup>	0.55 ± 0.02 <sup>bc</sup>	36.72 ± 0.14	4.03 ± 0.19 <sup>ab</sup>
DAMH	0.66 ± 0.02 <sup>b</sup>	32.87 ± 0.18	6.67 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.56 ± 0.01 <sup>b</sup>	36.97 ± 0.18	3.76 ± 0.30 <sup>ab</sup>

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)  
 2) Values are Mean ± SE of 8 rats per group  
 3) NS: not significantly different among groups  
 4) a, b, c values with different superscripts within a column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

**5. 혈청 성장호르몬, IGF- I 농도**

혈청 성장호르몬과 IGF- I의 농도를 측정된 결과는 Table 6에 제시하였다. 혈청 성장호르몬 농도는 실험 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 혈청 IGF- I 농도는 군 간에 차이를 나타내었다. 즉, DA군에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, MH군에서는 유의적인 차이는 없었지만, 대조군에 비해 증가하는 경향을 나타내었다.

성장발달 과정에는 성장호르몬이 깊이 관여하고 있으며, 성장호르몬은 글루코스와 아미노산의 이용을 감소시키기 위하여 지방산의 이용을 증가시키는 물론, 세포막을 통한 아미노산의 수송을 촉진하고 핵 (nucleus) 내 전사작용에 영향을 주어 RNA의 양을 증가시킴으로써, 단백질의 합성을 촉진하고 뼈와 연골조직을 성장시키는 등 신체의 성장에 관여하는 주된 호르몬이다.<sup>23)</sup> 성장호르몬의 합성과 분비는 IGF- I에 의한 장축의 negative feedback 메커니즘에 의하여 조절된다. IGF- I은 70개의 아미노산으로 이루어진 골 성장의 주요한 인자로서, 간에서 주로 합성되며, 간에 있는 성장호르몬 수용체와 성장호르몬의 상호작용으로 간에서 IGF- I mRNA 발현이 촉진되고, IGF- I이 분비된다. 특히 골 형성에 관여하는 조골세포 (osteoblast)는 IGF- I에 의해서 분화와 증식이 촉진된다. 즉, IGF- I은 성장판 (growth plate) 내의 연골세포와 조골세포의 증식에 영향을 주어, 장골 말단 성장판을 증식시키고 장골의 길이성

**Table 6.** GH and IGF-1 concentrations of serum in rats fed experimental diets

Groups <sup>1)</sup>	GH (ng/ml)	IGF-1 (nmol/L)
Control	46.05 ± 4.70 <sup>2)NS</sup>	354.39 ± 12.56 <sup>3)b</sup>
DA	52.80 ± 2.46	436.41 ± 16.26 <sup>a</sup>
MH	49.85 ± 4.05	398.83 ± 16.90 <sup>ab</sup>
DAMH	46.28 ± 3.45	359.65 ± 17.27 <sup>b</sup>

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)  
 2) Values are Mean ± SE of 8 rats per group  
 3) NS: not significantly different among groups  
 4) a, b, c values with different superscripts within a column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

장을 가능케 한다.<sup>24)</sup> IGF-I 이 결핍된 환자에게 IGF-I 을 투여한 경우에는 체조성, 인슐린 민감성, 골 무기질 밀도 및 길이 성장이 개선된다는 보고가 있다.<sup>25)</sup> 한편 이렇게 성장을 촉진시키는 데 중요한 역할을 하는 IGF-I 의 합성 및 분비는 성장호르몬-의존적, 또는 성장호르몬-비의존적 조절을 받는 것으로 보인다. 즉 IGF-I 의 가장 중요한 조절인자로서 성장호르몬을 들 수 있지만, IGF-I 의 생성은 성장호르몬 이외에도 또 다른 다양한 조절인자 (PTH, estradiol, testosterone, thyroid hormone, bone morphogenetic proteins, TGF-β, ILs) 들의 영향을 받는다.

녹용의 성장촉진 효과는 옛 문헌을 통해 알려져 있으나, 성장촉진지표 분석을 통한 과학적이고 체계적인 입증은 거의 없었다. 단지, 그 활성성분이 열에 불안정한 polypeptide 인 인슐린유사 성장인자일 것으로 *in vitro* 실험을 통해 추정되었을 뿐이다.<sup>5)</sup> 이에, 본 실험에서는 녹용의 골격 성장효과에 대한 메커니즘을 알아보기 위하여 성장촉진지표로서 혈청 성장호르몬과 IGF-I 의 농도를 측정하였다. 그 결과, 실험식이의 섭취에 의한 성장호르몬의 분비촉진 효과는 나타나지 않았으나, 녹용추출물의 급여로 인하여 IGF-I 농도가 유의적으로 증가함을 관찰하였다. 이러한 결과는 4주령 수컷 흰쥐에게 400 mg/kg의 녹용추출물을 경구 투여했을 때, 시상하부에서의 GHRH (Growth hormone-releasing hormone) mRNA 발현은 유의적인 차이가 없었으나, IGF-I mRNA 발현이 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였음을 보고한 Kang 등<sup>26)</sup>의 연구결과와 비슷하였다.

한편 최근, 성장 호르몬 분비촉진제 (secretagogue)라 불리는 다양한 물질들이 뇌하수체에서의 성장 호르몬 분비를 촉진하는 것으로 알려져 있다. 이러한 성장 호르몬 분비촉진제들은 아미노산류 (branch chain amino acids, ornithine, glutamine, arginine and glycine), inositol hexanicotinate과 같은 비타민들이 있으며, 인디안 약초인 *Coleus forskohlii*의 뿌리에서 추출된 Forskolin과 같이, 천연식물체에서 존재하는 물질들도 알려져 있다. 최근, Ra 등<sup>27)</sup>은 오가피와 인진쑥의 일부 성분이 성장호르몬과 IGF-I 의 농도에 유의적인 차이를 나타냄으로써, 성장촉진 효과를 보였다고 보고한 바 있다. 또한, Choi 등<sup>28)</sup>도 한국 식품공전에 식품으로 사용 가능한 식물들 중 IGF-I 분비 촉진을 유발하는 것으로 추정되는 수십 종의 식물들의 추출물을 이용하여 동물실험을 한 결과, IGF-I 의 분비촉진 및 뼈 성장효과가 있었음을 보고하였다. 본 실험결과에서도 생약추출물의 급여가 통계적으로 유의한 수준은 아니지만 IGF-I 의 농도를 증가시키는 경향이 있는 것으로 나타

났다. 녹용과 생약의 혼합추출물의 경우는 IGF-I 농도가 증가하지 않아, 이들 성분의 상쇄효과가 보였다. 따라서 부작용 없이 성장촉진 효과를 나타내는 천연 식물체의 탐색 뿐만 아니라, 녹용과 생약의 섭취방법에 있어서도 연구가 필요함을 시사한다.

### 6. 혈청 칼슘 농도 및 ALP, BALP 효소활성

실험식이 섭취에 따른 혈청 칼슘 농도 및 alkaline phosphatase (ALP), bone-specific alkaline phosphatase (BALP) 효소활성을 Table 7에 제시하였다. 혈청 칼슘 농도는 실험군 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. ALP, BALP 효소의 활성은 대조군에 비해 DA, MH, DAMH군에서 유의적으로 낮게 나타났다.

혈청 칼슘 농도는 부갑상선 호르몬 (parathyroid hormone; PTH), 1,25 (OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>, 칼시토닌 (calcitonin) 등의 호르몬에 의해 엄격하게 항상성이 유지되고 있으며, 여러 연구에서 많은 식이 요인에 따라 혈청 칼슘농도가 다양하게 제시되어 왔으나 대체로 정상범위를 유지한다. 본 실험결과, 녹용 및 생약추출물의 섭취가 혈청 칼슘 농도에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났으며, 그 농도는 모두 정상범위 (7.2~13.9 mg/dl)에 속하였다.

혈청 중 ALP 활성은 골형성 지표로 알려져 있어서, 칼슘의 이용성을 평가하는 요소로 사용된다. ALP는 조골세포와 관련이 있으며, 뼈의 성장에 필수적이라고 알려져 있다. Hamalainen<sup>29)</sup>는 성장기 초기와 칼슘 결핍시 ALP가 증가된다고 하였는데, 이것은 조골세포의 활성을 증가시키기 위한 골격 isoenzyme의 분비를 ALP의 활성증가가 자극시키기 때문이라고 하였다. ALP 활성은 또한 생애주기 중 임신, 수유기에도 증가한다고 알려져 있으며 이는 태반이나 모유로의 칼슘이동을 위해 뼈에서의 turnover가 증가하기 때문으로 설명되고 있다. 이같이 혈청 ALP 활성은 골격형성의 지표로 골격대사가 활발할수록 증가되는데, 본

**Table 7.** Serum calcium, ALP (alkaline phosphatase), BALP (bone-specific alkaline phosphatase) of rats fed experimental diet

Groups <sup>1)</sup>	Ca (mg/dl)	ALP (IU/L)	BALP (IU/L)
Control	11.13 ± 0.21 <sup>2)NS3)</sup>	1114.57 ± 24.92 <sup>3a)</sup>	550.25 ± 52.56 <sup>3a)</sup>
DA	10.94 ± 0.20	425.25 ± 30.88 <sup>c)</sup>	239.63 ± 37.47 <sup>b)</sup>
MH	10.75 ± 0.12	523.86 ± 34.52 <sup>b)</sup>	283.50 ± 55.89 <sup>b)</sup>
DAMH	10.64 ± 0.16	528.00 ± 18.14 <sup>b)</sup>	293.50 ± 25.11 <sup>b)</sup>

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)

2) Values are Mean ± SE of 8 rats per group

3) NS: not significantly different among groups

4) a, b, c values with different superscripts within a column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

실험에서 7주간 실험식이를 급여한 결과, ALP의 활성에 있어서 녹용추출물, 생약추출물 및 그 혼합물의 급여가 대조군에 비해 유의적인 감소를 나타내었으며, 특히 녹용추출물을 급여한 군에서 감소폭이 가장 컸다. 이러한 결과는 bone turnover의 감소 때문으로 해석된다.

한편, ALP는 골 형성 과정 이외에도 50% 이상이 간이나 신장, 소화관, 태반, 악성종양 등에서도 생성되기 때문에, 정상적인 범위의 폭이 넓고 골 아세포의 활성을 반영하는 데는 그 특이도와 예민도가 결여되는 단점이 있으므로, 최근에는 BALP 만을 분리 측정하여 골 형성의 생화학적 지표로 이용하는 추세이다.<sup>30)</sup> BALP는 골 아세포의 세포막에 존재하다가 혈중으로 유리되는 당 단백질 효소이다. 본 실험에서는 혈청 BALP 효소활성을 측정하였으며, 그 결과 또한, ALP와 마찬가지로 DA, MH, DAMH군에서 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다.

### 7. 대퇴골 및 경골의 무기질 함량

대퇴골의 무기질 (Ca, P, Mg, Zn, Fe, Cu) 함량은 Table 8에 제시하였다. 대퇴골의 칼슘 함량은 DA, MH군에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으나, DAMH군에서는 대조군과 차이가 없었다. 인 함량은 실험 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 대퇴골의 마그네슘과 아연 함량은 DA군에서 유의적으로 증가하였다. 철분 함량은 MH, DAMH군에서는 대조군에 비해 유의적으로 증가한 반면, DA군에서는 대조군과 차이가 없었다. 흰쥐를 이용한 실험모델에서 대퇴골의 무기질조성에 관한 연구들을 살펴보면 철분의 경우 49.5~61.2  $\mu\text{g/g}$  dry weight을 보고하고 있고,<sup>31)</sup> 본 실험

결과 DA군에서 철분농도가 약간 감소하는 경향을 나타냈는데, 이는 무기질 상호간의 흡수저해작용에 의한 것으로 해석된다. 구리 함량은 실험 군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

경골의 무기질 (Ca, Mg, Zn, Fe, Cu) 함량은 Table 9에 제시하였다. 경골의 칼슘 함량은 대퇴골의 칼슘 함량과 다른 양상을 나타내었다. 즉, DA군에서 대조군에 비하여 유의적으로 증가한 반면에, MH군과 DAMH군에서는 오히려 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 마그네슘 함량은 DA군과 DAMH군에서 유의적으로 높게 나타났다. 아연 함량은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 철분 함량은 DA군과 MH군에서 유의적으로 감소하였으며, 구리 함량은 MH군에서 유의적으로 증가하였다.

본 실험결과 녹용추출물이 대퇴골의 무기질 (칼슘, 마그네슘, 아연)의 함량을 크게 증가시키는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 성장기에 녹용의 섭취가 골격대사에 긍정적인 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다. 그러나 이러한 효과는 녹용과 생약을 혼합하여 사용하는 경우에는 상쇄되었으므로, 골격성장 촉진효과를 나타내기 위해서는 녹용과 생약의 단독 또는 혼합사용에 대한 고려가 필요하다고 제안한다.

### 8. 비장세포 증식능 (*in vitro*)

본 연구에서는 비장세포 증식능을 알아보기 위하여 DA, MH, DAMH를 배양하여 MTT assay를 실시하였다. 이 때, 음의 대조군 (negative control)으로는 DA, MH, DAMH 대신 배양액 (10% FBS-RPMI 1640)을 첨가하였고, 양

**Table 8.** Mineral contents in femur of rats fed experimental diets

Groups <sup>1)</sup>	Ca (mg/g fresh wt)	P (mg/g fresh wt)	Mg (mg/g fresh wt)	Zn ( $\mu\text{g/g}$ fresh wt)	Fe ( $\mu\text{g/g}$ fresh wt)	Cu ( $\mu\text{g/g}$ fresh wt)
Control	119.70 $\pm$ 5.26 <sup>2)c</sup>	88.36 $\pm$ 5.95 <sup>NS3)</sup>	2.28 $\pm$ 0.09 <sup>b4)</sup>	175.76 $\pm$ 3.34 <sup>bc</sup>	46.21 $\pm$ 2.34 <sup>b</sup>	1.58 $\pm$ 0.02 <sup>NS</sup>
DA	162.48 $\pm$ 2.05 <sup>b</sup>	104.47 $\pm$ 2.58	3.24 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	192.84 $\pm$ 3.79 <sup>a</sup>	40.39 $\pm$ 1.46 <sup>b</sup>	1.60 $\pm$ 0.05
MH	132.46 $\pm$ 4.14 <sup>b</sup>	98.89 $\pm$ 6.60	2.36 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	182.59 $\pm$ 5.33 <sup>ab</sup>	56.85 $\pm$ 2.08 <sup>a</sup>	1.54 $\pm$ 0.09
DAMH	114.91 $\pm$ 3.46 <sup>c</sup>	96.70 $\pm$ 6.16	2.26 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	162.93 $\pm$ 2.99 <sup>c</sup>	56.70 $\pm$ 2.08 <sup>c</sup>	1.51 $\pm$ 0.07

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)

2) Values are Mean  $\pm$  SE of 8 rats per group

3) NS: not significantly different among groups

4) a, b, c values with different superscripts within a column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test

**Table 9.** Mineral contents in tibia of rats fed experimental diets

Groups <sup>1)</sup>	Ca (mg/g fresh wt)	Mg (mg/g fresh wt)	Zn ( $\mu\text{g/g}$ fresh wt)	Fe ( $\mu\text{g/g}$ fresh wt)	Cu ( $\mu\text{g/g}$ fresh wt)
Control	162.08 $\pm$ 7.65 <sup>2)b</sup>	2.35 $\pm$ 0.15 <sup>b4)</sup>	161.05 $\pm$ 7.10 <sup>NS3)</sup>	44.77 $\pm$ 1.33 <sup>a</sup>	1.38 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>
DA	191.39 $\pm$ 7.03 <sup>a</sup>	2.85 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	159.46 $\pm$ 2.14	28.69 $\pm$ 1.38 <sup>c</sup>	1.47 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>
MH	132.75 $\pm$ 5.32 <sup>c</sup>	2.56 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	168.55 $\pm$ 8.25	36.96 $\pm$ 1.56 <sup>b</sup>	1.92 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
DAMH	122.29 $\pm$ 2.68 <sup>c</sup>	2.79 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	153.96 $\pm$ 6.99	47.71 $\pm$ 2.04 <sup>a</sup>	1.45 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>

1) Control, DA (Deer Antler), MH (Medicinal Herbs), DAMH (DA + MH)

2) Values are Mean  $\pm$  SE of 8 rats per group

3) NS: not significantly different among groups

4) a, b, c values with different superscripts within a column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test



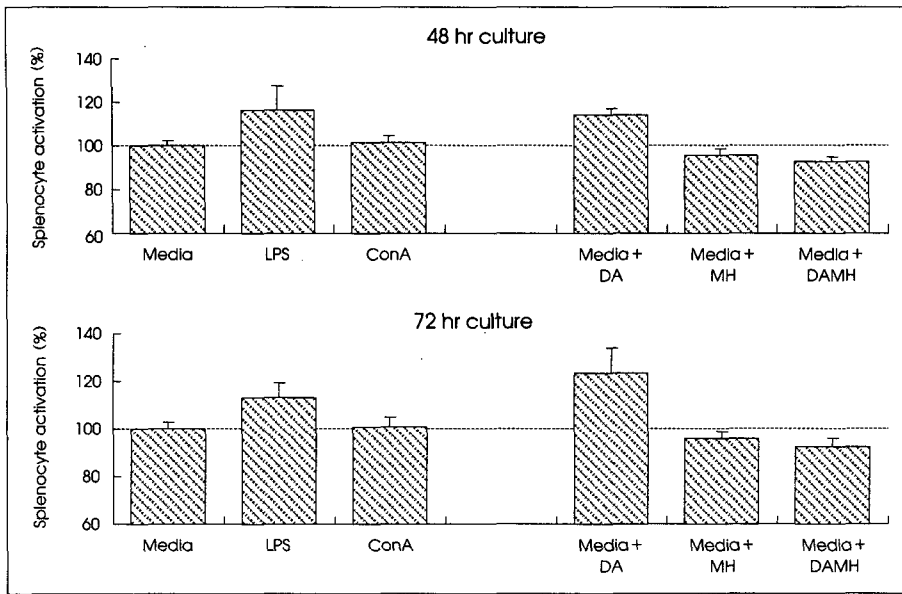


Fig. 1. Proliferation rate of the splenocyte activated with experimental substances (DA, MH, DAMH).

의 대조군 (positive control)으로는 Con A와 LPS를 첨가하여 배양하였다. Con A는 세포성 면역과 관련 있는 T 세포를, LPS는 체액성 면역과 관련 있는 B 세포를 각각 선택적으로 증가시키는 mitogen으로 알려져 있다. 비장세포 증식능은 배양액을 넣은 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다. DA, MH, DAMH의 첨가가 비장세포 증식능에 미치는 영향에 대한 검색 결과는 Fig. 1과 같다.

Con A와 LPS를 첨가하여 배양한 경우, 비장세포 증식능이 LPS에 의해 상승하였으나, Con A에 의해서는 증가하지 않았다. 또한 DA를 첨가하여 시간별로 (48시간, 72시간, 96시간) 배양한 경우에는, 비장세포 증식이 48시간과 72시간에서 각각 대조군에 비해 14%, 23% 증가를 보였다. 그러나 MH, DAMH의 첨가에 의해서는 비장세포 증식효과가 나타나지 않았다. 따라서 녹용추출물에 비장세포의 활성을 촉진시키거나 면역 반응을 증가시킬 수 있는 면역 활성 물질이 있으리라 사료된다.

녹용은 한방에서 기력이 떨어지는 것을 막고 정신력을 강건케 하고 늙지 않고 오래 장수할 수 있게 해 준다고 하여 오래 전부터 신체의 전반적인 면역기능을 증진시킬 것이라는 기대 하에 많은 연구가 진행되어 왔다. Jeon 등<sup>32)</sup>은 녹용 70% 에탄올 분획이 면역기전에 미치는 영향을 고찰한 결과, 흉선세포와 비장세포 중 helper T 세포의 세포수 (population)를 증가시켰음을 보고하였다. 또한 녹용을 에탄올로 추출하고 남은 잔사에서 얻은 분획을 투여하였을 때 대식세포의 면역 보체 제거능이 촉진되고,<sup>33)</sup> 녹용 약침액의 투여로 glucocorticoid에 의해 억제되었던 B 세포를

증가시켜 항체 생성을 촉진하며 T 세포의 증식을 촉진한다는 연구들이 보고<sup>34)</sup> 된 바 있다.

## 요약 및 결론

본 연구는 녹용, 생약추출물 및 그 혼합추출물의 급여가 성장기 동물의 골격성장과 면역기능에 미치는 영향을 알아보기 위해, 생후 3주령된 암컷 흰쥐를 4개의 군 (대조군, 녹용추출물군, 생약추출물군, 녹용생약혼합추출물군)으로 나누어 동물실험을 수행하고 (*in vivo*), *in vitro* 실험을 통해 비장세포의 증식능을 측정하였다. 총 7주 동안 실험식을 공급하여 희생시킨 후, 동맥혈, 간, 신장, 흉선, 비장조직, 대퇴골 및 경골을 취하였다. *In vivo* 실험 분석을 통해 혈중 성장호르몬과 IGF-1 농도, 골격상태, 대퇴골과 경골에서의 무기질 함량 등을 측정하였다. 비장세포의 증식능은 MTT assay를 통해 측정하였다 (*in vitro*). 실험 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 모든 실험 군에서 실험 기간 동안 체중증가량에는 차이가 없었으나, 식이 섭취량은 녹용추출물과 생약추출물의 급여로 인해 증가하였다.
- 2) 간, 신장, 비장 및 흉선의 무게에는 차이가 없었다.
- 3) 간 기능 및 신장 기능의 혈액지표들은 대조군과 비슷하거나 낮은 값을 나타냈으므로, 녹용 및 생약추출물의 섭취가 간과 신장 기능에 악영향을 미치지 않는 것으로 보였다.
- 4) 대퇴골과 경골의 무게, 길이 및 파단력 측정을 통해 녹용추출물의 골격성장 효과가 현저히 높게 나타났다. 그러나 녹용과 생약을 단독섭취하기보다는 혼합하여 섭취하는

경우에 골격성장 효과는 상쇄되었다.

5) 혈중 성장지표분석 결과, 성장호르몬은 모든 실험 군에서 차이가 없었으나, 녹용추출물의 급여가 IGF-I 농도를 유의적으로 증가시켰으며 생약추출물 군에서도 높은 경향을 보였으며, 이는 이들 성분이 IGF-I 농도를 상승시킴으로써 골격성장 촉진효과를 내는 것으로 인정되었다.

6) 혈청 칼슘 농도는 모든 실험 군에서 차이가 없었으며, 모두 정상 값을 보였다. 칼슘 대사의 지표인 ALP와 BALP 효소활성은 녹용추출물의 섭취에 의해 가장 유의적으로 감소하였다.

7) 녹용추출물의 급여가 대퇴골의 무기질 (칼슘, 마그네슘, 아연)의 함량을 유의적으로 증가시켰다. 또한 녹용추출물 섭취는 경골의 칼슘, 마그네슘 함량도 증가시켰다.

8) *In vitro* 실험으로 비장세포 증식능을 검색한 결과, 녹용추출물에서 비장세포 증식능을 촉진하는 효과가 있는 것으로 나타났고, 특히 72시간 배양했을 때 가장 높은 증식능을 보이는 것으로 확인되었다.

결론적으로 녹용추출물, 생약추출물 및 그 혼합추출물은 동물의 성장 및 안전성을 저해하지 않음과 동시에 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 평가되었다. 또한, *in vitro* 실험결과에서는 녹용추출물이 면역기능을 향상시키는 것으로 사료되었다. 특히 녹용추출물은 골격성장 촉진효과가 약하게 인정되었다. 이러한 효과는 혈중 성장지표인 IGF-I 농도의 측정을 통해 보다 분명히 확인되었다. 그러나 본 실험결과에서는 혈중 성장호르몬에는 영향을 주지 않으면서 성장인자인 IGF-I 농도를 증가시키는 것으로 나타났으므로, 녹용추출물이 IGF-I의 생성에 직접적으로 관여하는 것에 대해서는 추가연구가 필요하며, 이와 같은 생리활성을 나타내는 활성성분에 대한 체계적인 실험이 앞으로 더욱 필요하다고 사료된다.

#### Literature cited

- 1) Shin KH, Lim EB, Kim JH, Chung MS, Cho SI. Pharmacological studies on powdered whole part of unossified antler. *Kor J Pharmacogn* 20(3): 180-187, 1989
- 2) Ha H, Yoon SH. Analytical studies of constituents of antlers. *J Kor Soc Food Nutr* 25(2): 279-282, 1996
- 3) Hong ND, Won DH, Kim NJ, Chang SY, Youn WG, Kim HS. Studies of analysis of constituents of deer horn (I). *Kor J Pharmacogn* 22(3): 171-182, 1991
- 4) Ivankina NF, Isay SV, Busarova NG, Mischenko TY. Prostaglandin-like activity, fatty acid and phospholipid composition of sika deer (*Cervus Nippon*) antlers at different growth stages. *Comp Biochem Physiol* 106B(1): 159-162, 1993
- 5) Wang BX, Chen XG, Zhang W. Influence of the active compounds isolated from pilose antler in syntheses of protein and RNA in mouse liver. *Acta Pharma Sini* 25(5): 321-325, 1990
- 6) Sunwoo HH, Nakano T, Sim JS. Effect of water soluble extract from antler of wapiti (*Cervus elaphus*) on the growth of fibroblasts. *Can J Anim Sci* 77: 343, 1997
- 7) Francis SM, Suttie JM. Detection of growth factors and proto-oncogene mRNA in the growing tip of red deer (*Cervus elaphus*) antler using reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *J Exp Zool* 281: 36-42, 1998
- 8) Ok SH, Lee HC, Kang JH, Jhon KJ. The effects of deer (*Cervus nippon*) antler extracts on differentiation of MC3T3 Cells. *Kor J Perio Sci* 30(4): 885-894, 2000
- 9) Han SW, Choi JY, Lee YH. Healing of bone defects by Cervi Pantotrichum Cornu Acupuncture. *Kor J Moxibus Soc* 18(5): 135-146
- 10) Chung HK, Choi CS, Yang EJ, Kang MH. The effect of Lycil fructus beer intake on serum lipid profiles and antioxidant activity in rats. *Kor J Food Cul* 19(1): 52-60, 2004
- 11) Cho YJ, Hou WN. Effects of dietary Bong-ip (*Morus alba* L.), Gam-chei (*Glycyrrhizae glabra*), Sol-ip (*Pinus densiflora*) and Dang-gi (*Angelica gigas*) on serum composition in rats. *Kor J Food Cul* 20(1): 123-129, 2005
- 12) Ministry of Agriculture & Forestry Rep. of Korea, 2003
- 13) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1993
- 14) Rosalki SB, Foo AY. Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. *Clin Chem* 30: 1182-1186, 1984
- 15) Fisk CH, Subbarow Y. The coloric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66: 375-400, 1925
- 16) Zhang H, Wanwimolruk S, Coville PF, Schofield JC, Williams G, Haines SR, Suttie JM. Toxicological evaluation of New Zealand deer velvet powder. Part I: acute and subchronic oral toxicity studies in rats. *Food Chem Toxicol* 38: 985-990, 2000
- 17) Bae DS. Study of the effects of velvet on growth of animals. *Kor J Ani Sci* 17(5): 571-576, 1975
- 18) Mitruka BM, Rawnsley HM. Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans. 2ed. Masson Publishing USA Inc, pp.160-166, 1981
- 19) Ozardali I, Bitiren M, Karakilcik AZ, Zerim M, Aksoy N, Musa D. Effects of selenium on histopathological and enzymatic changes in experimental liver injury of rats. *Exp Toxicol Pathol* 56: 59-64, 2004
- 20) Kang BH, Son HY, Ha CS, Lee HS, Song SW. Reference values of hematology and serum chemistry in Krc: Sprague-Dawley rats. *Kor J of Lab Ani Sci* 11(2): 141-145, 1995
- 21) Hemmings SJ, Song X. The effects of elk velvet antler consumption on the rat: development, behavior, toxicity and the activity of liver  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 138(1): 105-112, 2004
- 22) Hwang SY, Yang JB, Chang CS, Lee YC, Lee HC. Protective

- effect of Comu Cervi Parvum extract on toxicity included by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. *Kor J Ori Physiol & Pathol* 16(4) : 674-679, 2002
- 23) Ohlsson C, Bengtsson BA, Isaksson OG, Andreassen TT, Słotweg MC. Growth Hormone and Bone. *Endocr Rev* 19(1) : 55-79, 2005
- 24) Wang J, Zhou J, Cheng CM, Kopchick JJ, Bondy CA. Evidence supporting dual, IGF-I-independent and IGF-I-dependent, roles for GH in promoting longitudinal bone growth. *J Endocrinol* 180: 247-255, 2004
- 25) Rosen HN, Chen V, Cittadini A, Greenspan SL, Douglas PS, Moses AC, Beamer WG. Treatment with growth hormone and IGF-I in growing rats increases bone mineral content but not bone mineral density. *J Bone Miner Res* 10: 1352-1358, 1995
- 26) Kang KW, Koh HK, Lee YH. The effects of Nokyongsageunhwan Herbal Acupuncture and oral administration on the growth and the intellectual development of rats. *J Kor Moxibus Soc* 20(6) : 45-62, 2003
- 27) Ra JC, Park HG, Choi MK, Lee HY, Kang KS. The development of functional food with plant extracts for enhancing growth rate. *J Fd Hyg Safety* 19(3) : 112-118, 2004
- 28) Choi CS, Kim JS, Lee CW, Park JS, Hong EK. Effect of plant extract (YGF) on including IGF-I secretion. *Kor J Biotechnol Bioeng* 17(2) : 203-206, 2002.
- 29) Hamalainen MM. Bone repair in calcium-deficient rats: Comparison of xylitol + Calcium carbonate with calcium carbonate, calcium lactate and calcium citrate on the repletion of calcium. *J Nutr* 124: 874-881, 1994
- 30) Allen LC, Allen MJ, Breur GJ, Hoffmann WE, Richardson DC. A comparison of two techniques for the determination of serum bone-specific alkaline phosphatase activity in dogs. *Res Vet Sci* 68(3) : 231-235, 2000
- 31) Seaborn CD, Nielsen FH. Dietary silicon and arginine affect mineral element composition of rat femur and vertebrae. *Biol Trace Element Res* 89: 239-250, 2002b
- 32) Jeon KJ, Suh JS, Oh CH, Yum JY, Eun JS. Effect of ethyl alcohol fraction of Cervus nippon on mouse T-lymphocyte. *Kor J Pharmacogn* 29(4) : 312-317, 1998
- 33) Suh JS, Kwon J. Immunoregulative action of ethyl alcohol fraction of Cervus nippon. *Kor J Food Nutr* 14(2) : 99-105, 2001
- 34) Eun JS, So JN, Seo JT, John GJ. Phagocytic activity of ethyl alcohol fraction of deer antler in murine peritoneal macrophage. *Biol Pharm Bull* 22(9) : 932-935, 1999