

다시마 추출물이 갱년기 유도 흰쥐의 collagen 및 collagen 가교물질의 형성에 미치는 영향

이영애 · 김미향*

신라대학교 자연과학대학 식품영양학과

Received September 30, 2008 / Accepted November 18, 2008

Effects of Sea Tangle Extract on Formation of Collagen and Collagen Cross-link in Ovariectomized Rats. Young-Ae Lee and Mihyang Kim*. *Department of Food Science and Nutrition, Silla University, Busan 617-736, Korea* - The purpose of this study was to investigate the effects of sea tangle (ST) extracts on formation of collagen and collagen cross-link in ovariectomized rats. From day 3 until 42 after the ovariectomy, Sprague-Dawley female rats were randomly assigned to the following groups: sham-operated rats (Sham), ovariectomized control rats (OVX-control), ovariectomized rats supplemented with ST at 50 mg/kg bw/day (OVX-ST50), 200 mg/kg bw/day (OVX-ST200). The ethanol extract of ST was orally administered at 1 ml/day. The change of collagen content was investigated in bone, cartilage and skin of ovariectomized rats. Effects of ST extract on the amount of collagen was examined by measuring the hydroxyproline, which is a specific amino acid existing in collagen. The ovariectomy resulted in a decrease in the levels of collagen content in bone and cartilage tissues. However, the supplementation with the sea tangle extract prevented the decrease in the collagen level in bone and cartilage tissues. Pyridinoline is pyridinium cross-link formed in the mature form of collagen from lysine and hydroxylysine residues. Although the pyridinoline content in bone collagen declined after ovariectomy, it was recovered to a normal level of Sham group by the supplementation with the ST extracts. In addition, the deoxypyridinoline content in bone collagen, which was reduced after ovariectomy was enhanced to normal level by the supplementation with the ST extract. These results were consistent with the conclusions based on estrogenic activities of ST.

Key words : Sea tangle, collagen, pyridinoline, deoxypyridinoline, ovariectomized rat

서 론

해조류는 비소화성 다당류가 다량 함유되어 있어 열량소로서 큰 각광을 받지 못하여 왔으나, 근래에 들어서 식생활 패턴의 변화로 식이섬유의 생리 기능적인 역할이 중요시됨에 따라 식이섬유소가 비교적 다량 함유되어 있는 해조류의 섭취를 통하여 건강장해를 해결하려는 시도가 활발하게 진행되어 오고 있다[6,10,21,25,31]. 특히 갈조류에는 중성다당인 laminaran과 황산기를 함유한 산성다당이 다량 함유되어 있으며, 그 대표적인 것이 합황 산성다당인 fucoidan과 alginate이며, fucoidan은 항산화 활성, 항 혈액응고 작용 이외에 면역 등의 활성이 있다는 보고가 있다[4,9,10,36].

본 실험에 사용한 다시마(Sea tangle, ST)는 일찍이 동의보감에서 다시마를 끈포라 하여 신체의 저항성을 높여주고 노폐물의 배설을 촉진하며, 고혈압, 동맥경화, 갑상선종, 신장염에 효과가 있을 뿐 아니라 암세포의 증식을 억제하고, 노화를 예방하는 건강장수식품이라고 기록하고 있다. 실제로 다시마는 칼륨, 나트륨, 칼슘, 마그네슘 등 신체의 생리 대사에 관여하는 무기질을 다량 함유하며 갑상선 호르몬의 주성

분인 요오드를 4,000 ppm 이상 함유하고 있을 뿐 아니라 인체의 소화효소에 의해 분해되지 않는 식이섬유소인 알긴산을 풍부하게 함유하고 있다[6,11,15,22].

본 실험에 사용된 실험 model인 흰쥐의 난소절제 기술은 혈 중 estrogen 농도를 감소시키는 갱년기 장애 유발의 대표적인 방법으로서 골다공증 및 여성의 심혈관계 질환의 연구에서 광범위하게 이용되고 있다. 폐경 이후의 골 손실은 노화와 관련된 문제이기 때문에 12개월 정도로 성숙한 aged rat model이 적합하지만 비용문제와 골 반응을 나타내는데 상당한 기간이 소요된다는 점에서 덜 편리하고 실용적이지 못하므로, 어린 쥐에도 난소 절제 기술 후 빠른 골 손실을 나타내어 경제적인 면이나 시간적인 면에서 실용적이어서 유용하게 사용되고 있다[14,16].

노화 현상의 하나로 알려진 여성의 갱년기는 노인 수명이 연장됨으로 인해 일생의 1/3 이상을 갱년기가 차지한다는 점이 문제점으로 대두되고 있다[24]. 난소 기능의 감퇴로 야기된 시상하부-뇌하수체-난소로 이어지는 성선 축의 기능실조가 원인이 되고 이로 인하여 성호르몬, 지질 및 지단백질 변화와 골 대사 등의 신체 및 정신적인 변화가 나타난다[17].

노령화 현상과 더불어 조직 실질 세포 수는 감소하고 그 결과 고령기에 대부분의 조직 중량이 감소한다[3]. 이러한 감소현상은 심장, 폐, 뇌와 같이 개체의 생명유지에 직접 관계

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5620, Fax : +82-51-999-5457

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

하는 조직보다는 골, 연골, 골격근, 피부 등 개체의 생활 활동에 중요한 역할을 하는 조직에 현저하다. 연골 또는 골 등의 결합조직을 구성하고 있는 collagen은 연령과 함께 변화하며, 특히 collagen 가교 형성은 결합조직의 강도를 유지하기 위하여 필요하다[8,20,23,33,35]. 피부 섬유아세포 중의 collagen은 estrogen에 의하여 생성량이 증가한다는 연구보고도 있으나[30], 연령과 함께 나타나는 골기질량의 감소와 collagen 변화에 관해서는 불명확한 점이 많다.

여성의 생식기계 질환을 치료할 목적으로 시행되는 난소 절제술은 estrogen의 생성을 저하시켜서 인위적인 폐경을 야기하므로 이로 인한 골다공증의 연구에서 광범위하게 이용되고 있으며 골다공증에서 나타나는 골의 손실을 유발시키는 인자규명 및 골 손실을 방지하는 요인에 관한 연구가 다양하게 이루어지고 있다[13]. 난소를 절제한 흰쥐에서 해면골의 손실이 유발되었으며 이는 estrogen의 감소가 파골 세포의 활성을 촉진시키고 이는 다시 골조직의 연결을 약화시킨다고 하였다[29]. 최근에는 일상적으로 섭취하는 자연식품으로부터 체내 지질 및 갱년기 장애 개선효과가 있는 성분을 찾으려는 노력이 활발하다. 자연 식품 중의 식물성 phytoestrogen은 생식 호르몬 유사물로서 폐경기 여성에게 estrogen 대체 작용을 할 수 있는 것으로 알려져 있다[12].

본 연구에서는 인위적 폐경을 야기시켜 에스트로겐 분비가 저하되었을 때 흰쥐의 갱년기 장애에 미치는 다시마의 영향을 검토하고자 하였다. 식용식물인 다시마가 호르몬 대체 작용효과가 있다면 외인성 estrogen 공급으로 인한 부작용을 감소시킬 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

시료 제조 방법

본 실험에서 사용된 다시마(sea tangle, ST)는 2007년 부산광역시 기장군 대변항에서 채취된 다시마를 광명제약에서 구입하여 물로 3~4회 채로 씻어 내어 염분과 불순물을 제거하고 수세, 정선 및 탈수과정을 거쳐 자연 건조시켜 분말화하여 사용하였다. 건조 시료에 80% ethanol 2 l를 가해 3회 열 추출(78°C)하여 감압 농축기로 농축한 후 동결 건조한 에탄올 추출물을 0.9% 생리 식염수로 희석한 후 동물 실험에 사용하였다.

실험 동물

실험 동물은 체중이 평균 180 g (8주)되는 Sparague-dawley 계 암컷 흰쥐를 (주)오리엔트바이오(경기도, 성남시)로부터 구입하여 본 실험실에서 고형사료(삼양유지)로 사육하였고, 실험 시작 1주일 동안 적응시킨 후 동물의 체중에 따라 4군으로 나누었다. 즉 실험 동물은 난소절제 대조군(OVX-control), 비 난소절제군(Sham), 다시마 추출물 50 mg/kg투

Table 1. Experimental design of animals

Group (No.)	Treatment
Sham (7)	sham-operated rats
OVX-control (7)	ovariectomized rats
OVX-ST50 (7)	ovariectomized rats supplemented with sea tangle ethanol extracts at 50 mg/kg bw/day
OVX-ST200 (7)	ovariectomized rats supplemented with sea tangle ethanol extracts at 200 mg/kg bw/day

여군(OVX-ST50) 및 200 mg/kg투여군(OVX-ST200)으로 나누어 실험하였다(Table 1).

수술 후 대조식으로 2~3일간 회복하게 한 후 다시마 추출물을 매일 1 ml씩 6주간 경구투여 하였으며, 대조군은 동일용량의 생리식염수를 경구 투여하였다. 체중은 실험 사육 기간 중에 격일로 일정 시간에 측정하고, 식이 섭취량은 매일 식이 잔량을 측정하여 산출하였다. 동물 실험실의 사육조건은 온도 24±2°C, 습도 55~60%을 유지 시키며 물과 식이는 자유 공급하였다.

난소 절제 시술

1주일 동안 주위환경에 적응시켜 난괴법에 의해 군을 나누어 난소 절제 수술을 실시하였다. 수술은 ether 마취 후 심마취기에 이르면 늑골하부를 절개하여 난소를 제거하고 절개부는 봉합하였다. 시술 후 3일부터 매일 다시마 시료를 6주간 경구 투여 하였다.

혈청 분리 및 장기 적출

실험 동물을 해부 전 24시간 절식시킨 후 ether 마취 하에서 개복한 후 정맥에서 채혈하고 실온에서 30분간 방치 한 후 3,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였고, 실험 시까지 -70°C에 보관하였다. 혈청 분리 후 0.9% 생리 식염수 용액으로 관류 시킨 후 물기를 제거 하였고, 늑골과 연골은 경계면에서 분리하였으며 피부는 털을 잘라내고 표피 위의 지방을 제거하여 무게를 잰 후 분석할 때 까지 -70°C에 보관하였다.

분석 시료의 조제 및 분석 방법

골격형성의 지표인 serum alkaline phosphatase 활성은 alkaline phosphatase reagent kit (FUJIFILM Co, Japan)를 사용하여 혈액 자동 분석기(FUJI DRI-CHEM 3500, Japan)로 측정하였다.

적출한 결합조직 골, 연골, 피부는 6 N HCl 10 ml을 첨가하여 110°C에서 20시간 산 가수분해 후 여과 농축하여 시료 용액으로 하였다. 결합조직 중의 collagen양은 Woessner법에 의하여 hydroxyproline 양을 측정한 후 collagen 양으로 환산하였다[13]. Collagen의 아미노산 조성으로부터 collagen

Table 2. Instrumental conditions for pyridinoline analysis by HPLC

Item	Conditions
Apparatus	Shimadzu LC
Detector	Fluorescence HPLC RF
Column	Inertsil ODS-25 μm (250 \times 4.6 mm id)
Fluent	Acetonitrile/0.1 M sodium phosphate buffer pH 3.5 (25:75) containing SDS and Na ₂ EDTA
Flow rate	0.5 ml/min
Excitation wavelength	295 nm
Emission wavelength	395 nm

중의 hydroxyproline 비율은 평균 110잔기/1000잔기 이므로 collagen양의 환산은 일반적으로 다음 식에 준한다.

$$\text{Collagen } (\mu\text{g}) = 9.09 \times \text{hydroxyproline } (\mu\text{g})$$

결합 조직 중의 pyridinoline 함량은 collagen 측정 시 사용된 시료 중 골, 연골 시료를 0.2 μm membrane filter로 여과 한 후 HPLC를 이용하여 pyridinoline 함량 분석에 임하였고, 분석조건은 Table 2와 같다.

통계 처리

실험 결과는 SAS 8.2 프로그램을 이용하여 평균치와 표준편차로 표시하였고, ANOVA test 후 Duncan's multiple range test 하여 실험 군 사이의 유의한 차이를 p<0.05 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

체중 변화

실험 기간에 따른 체중 변화를 보면 난소를 절제한 OVX-control군이 난소를 절제하지 않은 Sham군보다 몸무게가 증가하는 경향을 보여 난소절제로 인한 체중 증가 현상이 나타났다. 또한 식이 섭취량에서도 난소절제군에 비하여 난

소비절제군이 낮게 나타났다(Table 3). 따라서 식이효율에 있어서 유의할 만한 변화가 인정되지 않았다. Estrogen은 지방조직의 지 단백 리파아제(lipoprotein lipase)의 활성을 저하시키고 호르몬 민감성 리파아제(hormone sensitive lipase) 활성을 증가시켜 체 지방 축적을 억제한다고 알려져 있다[34,37]. OVX-control군이 Sham 군에 비해 체중이 증가하는 것은 여성호르몬 부족으로 인한 체내 지방조직의 증가에 의한 것이며, 또한 지방조직에서도 여성호르몬을 생성 할 수 있는 기능을 갖고 있기 때문에 지방조직에서 난소의 기능을 대체 하고자 하는 체내의 비상대책으로 여겨진다. 난소 절제 후 다시마를 투여한 모든 군에서 Sham군과 비교해 높은 체중 증가량을 나타내어 다시마 추출물이 체중 감소에는 크게 영향을 미치지 않았다.

혈청 중 Alkaline phosphatase 활성

골은 재형성 과정을 통해 건강한 상태로 유지되며 골의 재형성은 골아 세포에 의한 골 형성과 파골세포에 의한 골 흡수가 끊임없이 반복되는 골 대사 회전을 통해 조절되고 있다. 또한 골 대사에는 다양한 내분비학, 영양학, 물리학 및 유전학적인 인자들이 관여하고 있다. 골다공증은 다양한 연령층에서 발병 가능하지만, 특히 여성 호르몬인 에스트로겐의 분비 감소에 의해 급격한 생리적 변화를 수반하는 폐경기 여성에 높게 나타난다. Alkaline phosphatase (ALP)는 osteocalcin과 함께 골아 세포의 활성도를 반영하는 대표적인 지표로 알려져 있다[5,26,38]. ALP는 phosphomonoesterase 및 phosphodiesterase의 경우 십이지장이나 장의 mucosa에 상당히 많은 양이 있으나 신장, 고등동물의 선(gland), bone, 정상적인 혈액에서는 적은 농도로 존재한다. 따라서 이러한 정상적인 조직에 이상이 생기거나 폐경기 또는 osteosarcoma의 경우 혈청 내에서 alkaline phosphatase의 활성도가 증가하게 된다[18]. Table 4는 난소 절제 흰쥐에 다시마 추출물을 농도별로 투여하여 혈청 중의 효소활성 변화를 나타낸 결과이다. 난소절제 시 에스트로겐 결핍으로 bone turnover이 증가되어 OVX-control군은 난소를 절제하지 않은 Sham군에

Table 3. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats supplement with sea tangle ethanol extracts for 6 weeks

Group ¹⁾	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio (FER) ²⁾
Sham	196.9 \pm 3.5 ³⁾	238.8 \pm 2.8 ^{NS}	1.77 \pm 3.55 ^{NS}	17.10 \pm 0.21 ^{b4)}	0.10 \pm 0.21 ^{NS}
OVX-Control	197.6 \pm 10.7	282.5 \pm 4.0	3.16 \pm 3.81	20.81 \pm 0.19 ^a	0.15 \pm 0.19
OVX-ST50	196.2 \pm 9.5	287.4 \pm 6.2	3.40 \pm 4.29	21.03 \pm 0.20 ^a	0.16 \pm 0.21
OVX-ST200	197.1 \pm 5.8	288.5 \pm 1.9	3.41 \pm 3.90	22.11 \pm 0.18 ^a	0.15 \pm 0.18

¹⁾Refer the legend to table 1.

²⁾FER: body weight gain/food intake.

³⁾Values are mean \pm S.D. (n=7).

⁴⁾Values with different alphabets are significantly different by Duncan's multiple range test.

NS: Not significant.

Table 4. Effect of sea tangle ethanol extracts on serum alkaline phosphatase activities in ovariectomized rats

Group ¹⁾	ALP (U/ml)
Sham	460.33±68.15 ^{2)a3)}
OVX-control	734.33±161.74 ^b
OVX-ST50	498.50±135.98 ^a
OVX-ST200	475.50±126.56 ^a

¹⁾Refer the legend to table 1.

²⁾Values are mean±S.D. (n=7).

³⁾Values with different alphabets are significantly different by Duncan's multiple range test.

비해 ALP 활성이 증가하였으나, 난소 절제 후 다시마 추출물 투여군(OVX-ST50, OVX-ST200)에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 이것은 난소 절제 후 에스트로겐의 분비가 감소되는데 반해 다시마 추출물 투여가 에스트로겐 대체 작용을 함으로써 난소 절제로 인한 골 손실 정도를 완화시켜 준 것으로 추측되어진다.

결합 조직 중의 collagen 함량

흰쥐의 난소 절제 후 다시마 추출물 투여군의 collagen 함량 변화를 Table 5에 나타내었다. 난소 절제 대조군은 난소를 절제하지 않은 Sham 군에 비하여 조직과 피부에서 모두 collagen 함량이 감소하였다. 반면, 난소 절제 후 다시마 추출물을 투여한 군에서는 연골 골 및 피부 조직에서 collagen 함량이 증가하는 경향을 보였고, 그 중에서 다시마 추출물 200 mg/kg bw/day 투여군(OVX-ST200)에서 collagen 합성이 유의적으로 증가하였다(p<0.05).

연골의 경우, 난소를 절제하지 않은 Sham군에 비해 OVX-control은 난소절제에 의해 collagen 함량이 감소하였으나, 난소 절제 후 다시마 추출물을 투여함으로써 연골 중 collagen 함량이 Sham군 수준으로 회복하는 경향을 보였고, 특히 OVX-ST200군은 유의적으로 증가하였다(p<0.05). 골 조직에서 또한 난소를 절제한 후 다시마 추출물을 투여한 군 모두 OVX-control군에 비해 유의적으로 증가하여 collagen 생성을 촉진하는 결과를 나타내었다. 피부조직의 경우 난소

Table 5. Effect of sea tangle ethanol extract on collagen content in cartilage, bone and skin of ovariectomized rats

Group ¹⁾	Cartilage (mg/g)	Bone (mg/g)	Skin (mg/g)
SHAM	141.62±22.30 ^{2)b3)}	165.61±24.85 ^a	255.33±51.91 ^{ac}
OVX-CON	137.65±16.38 ^b	144.74±18.38 ^b	219.23±59.31 ^b
OVX-ST50	145.30±13.62 ^{ab}	175.03±18.71 ^a	227.20±49.00 ^{bc}
OVX-ST200	162.09±23.11 ^a	178.76±19.74 ^a	256.75±61.24 ^{ac}

¹⁾Refer to comment table 1.

²⁾Values are mean±SD.

³⁾Values with different alphabets are significantly different by Duncan's multiple range test.

절제 후 다시마 추출물에 의해 collagen 함량은 증가하였으나 OVX-control군에 대한 유의성은 OVX-200군에서만 나타났다. 인체의 정상골은 파골세포(osteoclast)에 의한 골 흡수와 그에 따른 조골세포(osteoblast)에 의한 새로운 골기질 형성 과정이 끊임없이 반복적으로 일어난다. 폐경 후 에스트로겐의 감소에 의해 파골세포에 의한 골 흡수가 폐경 전에 비해 매우 많아져 1~5%의 빠른 골 손실을 초래한다고 한다 [28]. 이상의 결과에서 난소절제로 인한 골 대사의 지표로 이용되는 collagen 합성의 감소가 다시마 추출물을 투여함으로써 정상군 수준으로 증가하였다. 이러한 변화는 estrogen 부족으로 인한 골 손실에 다시마 추출물이 유의한 효과를 가지는 것으로 추측된다.

Collagen의 성숙 가교인 pyridinoline 함량

Collagen 합성의 여러 단계 중 마지막 단계에 이루어지는 교차결합은 collagen의 결합조직의 강도를 유지하기 위하여 필요한 과정으로 알려져 있다. Collagen의 아미노산 조성은 glycine이 전체 아미노산의 1/3, hydroxyproline이 1/10, hydroxylysine이 약 1/100을 차지하고 있다. Hydroxylysine은 collagen내의 다른 아미노산에 비해 양적으로 적으나 collagen특유의 아미노산으로 존재하고 있으며, lysine 및 hydroxylysine 잔유물로부터 형성된 pyridinoline은 deoxypyridinoline과 함께 collagen 가교를 형성하는 collagen의 성숙가교로 알려져 있다[1,2,7,27,32].

Table 6은 난소를 절제한 흰쥐에 다시마 추출물을 투여하여 골, 연골의 collagen 중의 pyridinoline 및 deoxypyridinoline 함량을 나타낸 것이다. 골 및 연골의 pyridinoline 함량은 난소를 절제하지 않은 Sham군이 난소를 절제한 OVX-control군에 비해 높은 경향을 나타냈고, 난소 절제 후 다시마 추출물을 투여한 군에서 난소 절제 시 감소되는 pyridinoline 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. 연골의 deoxypyridinoline 함량은 난소를 절제하지 않은 Sham군이 난소를 절제한 OVX-control군에 비해 높은 경향을 나타냈고, 난소 절제 후 다시마 추출물을 200 mg/kg bw/day 투여한 군(OVX-ST200)에서 Sham군 수준으로 증가하였다. 골에서 deoxypyridinoline 함량은 난소를 절제하지 않은 Sham군이 OVX-control군에 비해서 유의적으로 높은 값을 나타냈고(p<0.05), 난소 절제 후 다시마 추출물을 농도별로 투여한 군(OVX-ST50 및 OVX-ST200)에서 유의적으로 높은 값을 나타내어(p<0.05), 난소 절제 시 합성이 감소되는 deoxypyridinoline 생성량을 회복시켰다.

본 실험의 결과는 난소를 절제한 후 다시마 추출물을 투여한 군이 골과 연골에서의 pyridinoline 함량이 난소를 절제하지 않은 Sham군과 비슷한 수치로 회복되어 다시마가 난소 절제 시 collagen 가교 변화에 유의한 효과를 주는 것으로 사료되며, 본 실험에서는 조직 내 collagen중의 pyridinoline의

Table 6. Effect of sea tangle ethanol extract on pyridinoline and deoxypyridinoline content in cartilage and bone of ovariectomized rats

Group ¹⁾	Pyridinoline		Deoxypyridinoline	
	Cartilage (ug/g)	Bone (ug/g)	Cartilage (ug/g)	Bone (ug/g)
SHAM	4.26±0.53 ^{2)NS}	1.10±0.17 ^{NS}	0.36±0.12 ^{NS}	1.35±0.16 ^{b3)}
OVX-control	4.18±0.97	0.96±0.08	0.33±0.18	1.20±0.28 ^a
OVX-ST50	4.18±1.19	0.97±0.15	0.34±0.21	1.34±0.19 ^c
OVX-ST200	4.24±0.88	1.05±0.09	0.37±0.13	1.33±0.14 ^c

¹⁾Refer to comment in table 1.

²⁾Values are means±SD.

³⁾Values with different alphabets are significantly different by Duncan's multiple range test.

NS: Not significant.

생성량을 측정하였으나 정확한 골 분해 평가를 위해서 앞으로 urine의 pyridinoline 함량 측정 또한 병행하고자 한다.

한 것으로 생각된다.

요 약

폐경을 앞둔 여성에게는 폐경을 전후하여 지속되는 골 손실 가속화 등의 문제점을 가지고 있다. 그러므로 본 연구에서는 인위적 폐경을 유발시킨 난소 절제 쥐에서의 골 손실의 유무를 결합조직 중의 collagen 함량 변화를 통하여 그 효과를 검토하였다. 그 결과 생화학적 골 대사 지표인 혈 중 ALP 활성은 난소 절제(OVX-control)로 인하여 증가하는 반면, 난소 절제 후 다시마 추출물 투여(OVX-ST50, OVX-ST200)로 혈 중 ALP 활성은 감소하는 경향을 보여 골 흡수를 저하시킬 수 있는 가능성을 나타내었다. 한편 난소 절제 후 collagen 함량이 감소하였으나, 다시마 추출물 투여에 의해 피부 조직과 골·연골 조직에서 collagen 함량이 증가하는 경향을 보였고, 특히 OVX-ST200군은 각 조직 모두 OVX-control에 비하여 유의적으로 증가하였다(p<0.05). Collagen의 성숙 가교물질인 pyridinoline 함량 또한 난소 절제 후 골, 연골 조직 중에서 감소하였으나 다시마 추출물을 투여한 군에서 증가하는 경향을 나타내었다. 골에서의 deoxypyridinoline 함량은 난소를 절제하지 않은 Sham군이 OVX-control군에 비해서 유의적으로 높은 값을 나타냈고(p<0.05), 난소 절제 후 다시마 추출물을 농도별로 투여한 군(OVX-ST50 및 OVX-ST200)에서 유의적으로 높은 값을 나타내어(p<0.05), 난소 절제 시 합성이 감소되는 deoxypyridinoline 생성량을 증가시켰다. 에스트로겐 감소로 인한 결합조직 중 collagen 함량 저하가 다시마 추출물 투여에 의해 증가된 본 실험 결과로 미루어 보아 다시마 중의 phytoestrogen이 에스트로겐 유사효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이상과 같이 폐경으로 인한 장애를 감소시키기 위하여 에스트로겐의 장기간 복용에 의한 부작용을 다시마 중의 phytoestrogen이 estrogen 대체 작용을 함으로써 그 부작용을 감소시켜 줄 것으로 사료되며, 이들의 구조 및 기전에 대해서는 앞으로 연구가 더 필요

References

- Adamczyk, M. and D. D. Johnson. 2001. Bone collagen cross-Links: A convergent synthesis of (+)-deoxypyrrrololine. *J. Org. Chem.* **66**, 11-19.
- Black, D. and A. Duncan. 1988. Quantitative analysis of the pyridinium cross-links of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Analytical biochemistry* **169**, 197-203.
- Campos, H., W. F. Wilson Peter, D. Jimenez, J. R. Mcnamara, J. Ordovas and E. J. Schaefer. 1990. Differences in apolipoproteins and low density lipoprotein subfractions in postmenopausal women on and off estrogen therapy: Results from the Framingham offspring study. *Metabolism* **39**, 1033-1038.
- Collic, S., A. M. Fischer, H. Tapon-Bretaudivere, C. Boisson, P. Durand and J. Jozefonvicz. 1991. Anticoagulant of a fucoidan fraction. *Thrombosis Res.* **64**, 143-147.
- Delmas, P. D. 1993. Biological markers of bone metabolism. *Presse med.* **22**, 263-268.
- Ebihara, K., S. Kiriyaama. 1990. Physicochemical property and physiological function of dietary fiber. *Nippon Shokuhin Kohyo Gakkaishi* **37**, 916-925.
- Erick, K. and D. T. Rossi. 2000. Quantitative method for biomarkers of collagen degradation using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical Biochemistry* **283**, 71-76.
- Fujimoto, D., M. Hira and T. Iwa. 1982. Histidinoalanine, a new crosslinking amino acid in calcified tissue collagen. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **104**, 1102-1106.
- Hang, D., H. S. Choi, S. C. Kang, K. R. Kim, E. S. Sohn and M. H. Kim. 2005. Effects of Fucoidan on NO Production and Phagocytosis of Macrophages and the Proliferation of Neuron Cells. *J. Food Sci. Nutr.* **10**, 344-348.
- Haroun-Bouhedja, F., M. Ellouali, C. Siquin and C. Boisson-Vidal. 2000. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. *Thrombosis Res.* **100**, 453-459.

11. Hur, J. 1999. Dong-ui-bo-gam. Bupin Publishing Co., Seoul.
12. Ianghua Liu, E. B. Joanna, Xu Haiyan, Gu Chungang, B. B. Richard, P. L. B. Krishana, B. Nancy, I. C. Andreas, M. P. John, H. S. F. Harry, R. F. Norman and L. B. Juddy. 2001. Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 2472-2479.
13. Imble, R. B., J. L. Vannice and D. C. Bloedow. 1994. Interleukin-1 receptor antagonist decreases bone loss and resorption in ovariectomized rats. *J. Clin. Invest.* **93**, 1959-1967.
14. Kalu, Dn. 1991. The ovariectomized rat model on postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral* **15**, 175-192.
15. Kang, B. K., S. J. Hwang, D. J. Paik, J. K. Kim and H. S. Chung. 1997. A morphological study on ossification of callus after ribfracture in ovariectomized and estrogen-re-treated rats. *Han Yang J. Med.* **17**, 82-91.
16. Kimble, R. B., J. L. Vannice, D. C. Bloedow. 1994. Interleukin-1 receptor antagonist decrease bone loss and resorption in ovariectomized rats. *J. Clin. Invest.* **93**, 1959-1967.
17. Kim, C. W. 1996. The study on treatment of climacteric disorder I (osteoporosis). *Wonkwang Univ.* **32**, 109-136.
18. Kim, I. G., S. B. Kim, J. G. Kim and K. C. Kim. 1993. Serum enzymes as indicators of radiation exposure in rat. *Journal of the Korean academy of family medicine* **18**, 37-44.
19. Kim, H. S. and G. J. Kim. 1998. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 718-723.
20. Kim, M. H., M. Otsuka and N. Arakawa. 1994. Age-related changes in the pyridinoline content of guinea pigs cartilage and achilles tendon collagen. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **40**, 95-103.
21. Kim, Y. H. and S. S. Lee. 1995. The effect of diet containing different fiber sources on the serum lipid level and bowel function in rats. *Korean J. Nutr.* **28**, 825-833.
22. Koh, J. B. and M. A. Choi. 1999. Effects of tea fungus/kombucha on lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic male rats. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* **28**, 613-618.
23. Kuboki, Y. and G. L. Mechanic. 1982. Comparative molecular distribution of cross-links in bone and dentin collagen. *Calcif. Tissue. Int.* **34**, 306-308.
24. Kwon, S. C. 1998. Effects of continuously added oral progestin (medroxy progesterone acetate) on the levels of serum lipid and lipoprotein during estrogen replacement therapy in postmenopausal women. *Korean Soc. Obstetrics & Gynecology* **41**, 2442-2446.
25. Lee, H. S., M. S. Choi, Y. K. Lee, S. H. Park and Y. J. Kim. 1996. A study on the development of high-fiber supplements for the diabetic patients-Effect of seaweed supplement on the lipid and glucose metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J. Nutr.* **29**, 296-306.
26. Leung, K. S., K. P. Fung, A. H. Sher, C. K. Li and K. M. Lee. 1993. Plasma bone-specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity. *J. Bone Joint. Surg. Br.* **75**, 288-292.
27. Ninomiya, Y. and A. M. Showalter and B. R. Olsen. 1984. pp. 225, The role of extracellular matrix in development. *Alan R. Liss Inc, New York*
28. McConkey, B., G. M. Fraser, A. S. Bligh and H. Whiteley. 1963. Transparent skin and osteoporosis. *Lancet* **1**, 693-695.
29. Mpster, D. W., R. Birchman and R. Xu. 1995. Temporal changes in cancellous bone structure of rats immediately after ovariectomy. *Bone* **16**, 157-161.
30. Noda, M. and G. A. Roodon. 1989. Transcriptional regulation of osteopontin production in rat osteoblast-like cells by parathyroid hormone. *J. Cell Bio.* **108**, 713-718.
31. Park, J. C., Y. L. Jang, M. D. Doo, S. H. Kim and J. W. Choi. 1996. Effect of methanolic extract of pachymeniopsis elliptica on lipids component of hyperlipidemic rats. *Korean J. Nutr.* **25**, 958-962.
32. Pietro, A. and G. Matteo. 2002. A simple and convenient transformation of L-lysine into pyridinoline and deoxypyridinoline, two collagen cross-links of biochemical interest tetrahedron. *Asymmetry* **13**, 1901-1910.
33. Robins, S. P. and A. J. Bailey. 1977. The chemistry of the collagen cross-links. *Biochem. J.* **163**, 339-346.
34. Ross, R. K., A. Pagamm-Hill, T. M. Mark and B. E. Henderson. 1989. Cardiovascular benefits of estrogen replacement therapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **160**, 1301-1306.
35. Seigel, R. C. 1976. Collagen cross-linking. *J. B. C.* **251**, 5786-5792.
36. So, M. J., B. K. Kim, M. J. Choi, K. Y. Kim, S. H. Rhee and E. J. Cho. 2007. Protective activity of fucoidan and alginic acid against free radical-induced oxidative stress under *in vitro* and cellular system. *J. Food Sci. Nutr.* **12**, 191-196.
37. Women's Health Initiative Steering Committee. 2004. Effects of conjugated equine estrogen in Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* **291**, 1701-1712.
38. Van Straalen, J. P., E. Sanders, M. F. Prummel and G. T. Sanders. 1991. Bone-alkaline phosphatase as indicator of bone formation. *Clin. Chim. Acta.* **201**, 27-33.