

# 음곡 육종용 약침이 난소적출 생쥐의 골다공증에 미치는 영향

정년식<sup>1</sup> · 이병렬<sup>2</sup> · 구성태<sup>3</sup> · 임윤경<sup>1</sup>

대전대학교 한의과대학 <sup>1</sup>경락경혈학교실, <sup>2</sup>침구학교실

<sup>3</sup>부산대학교 한의학전문대학원 경락구조의학부

## Effects of Herbal-Acupuncture with Cistanches Herba Extract at KI10 (Eumgok) on Osteoporosis in Ovariectomized Mice

Neon-Sik Jeung<sup>1</sup>, Byung-Ryul Lee<sup>2</sup>, Sung-Tae Koo<sup>3</sup>, Yun-Kyoung Yim<sup>1</sup>

Dept. of <sup>1</sup>Meridian & Acupoint, <sup>2</sup>Acupuncture & Moxibution, College of Oriental Medicine, Deajeon University  
<sup>3</sup>Division of Meridian and Structural Medicine, School of Oriental Medicine, Pusan National University

### Abstract

**Objective & Methods** : This study aimed to evaluate the effects of Cistanches Herba herbal-acupuncture (CH-HA) at KI10 (Umgok) on osteoporosis induced by ovariectomy in mice. The results were as follows;

**Results** : CH-HA at KI10 significantly inhibited the overgrowth of tibia, the elevation of serum osteocalcin level, the reduction of tibial Ca and P level, the increase of tibial osteoclast like cells, the reduction of tibial TBV (trabecular bone volume), the overgrowth of tibial GPL (growth plate length) in ovariectomized mice. NP at KI10 significantly inhibited the reduction of BMD (bone mineral density) in ovariectomized mice, but CH-HA did not.

**Conclusion** : Taken together, CH-HA at KI10 has a protective or therapeutic effect for osteoporosis in ovariectomized mice. Therefore, it is suggested that CH-HA may be an useful therapeutics in clinical filed after further researches.

**Key words** : Osteoporosis, Herbal-acupuncture, Cistanches Herba, KI10 (Umgok)

## 1. 서 론

골다공증이란 낮은 골량과 골의 미세구조 이상으로 골절에 대한 감수성이 증가하는 전신성, 대사성 골질환이다<sup>1)</sup>. 최근 의학의

발달로 인간의 수명이 증가함에 따라 노인 인구 및 폐경기 이후의 여성인구도 급격히 증가하고 있으며, 이에 따라 골다공증의 빈도 또한 증가하고 있다<sup>2,3)</sup>.

한의학에서 골다공증은 ‘骨萎’, ‘骨痺’, ‘痺證’, ‘虛勞’ 등의 범위에 속하며,腎의 盛衰와 밀접한 관련이 있는 것으로 인식하여, 그 주요 원인을 腎虛에 의한 骨髓의 不足으로 보

· 교신저자: 임윤경, 대전광역시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실, Tel 042-280-2610, Fax 042-280-2641 E-mail : docwindy@dj.ac.kr

· 투고 : 2008/05/30 심사 : 2008/06/07 채택 : 2008/09/16

고, ‘腎虛骨弱證’, ‘腎虛絡阻證’, ‘腎虛濕熱證’ 등으로 변증하여 치료하고 있다<sup>4-6)</sup>.

육종용(Cistanches Herba)은 列當科(더부살이과 Orobanchaceae)에 속한 다년생 기생초목으로, 性은 溫無毒하며, 味는 甘酸鹹하다. 腎經과 大腸經에 들어가며, 補腎益精, 潤燥滑腸하는 효능이 있다<sup>7)</sup>.

음곡(KI10)은 足少陰腎經의 合水穴로서, 滋補肝腎의 效能이 있어 腎虛로 인한 각종 증상을 主治한다<sup>8)</sup>.

骨多孔症에 관한 기존의 실험 연구로는 獨活寄生湯<sup>9)</sup>, 滋陰八味煎<sup>10)</sup>, 歸腎丸<sup>11)</sup>, 身痛逐瘀湯<sup>12)</sup> 등의 한약복합처방을 이용한 연구와, 加味獨活寄生湯과 志室·懸鐘 電鍼을 병용한 연구<sup>13)</sup>, 紅花子<sup>14)</sup>, 人蔘<sup>15)</sup>, 熟地黃<sup>16)</sup>, 何首烏<sup>17)</sup>, 巴戟<sup>18)</sup>, 接骨木<sup>19)</sup> 등의 單味劑를 이용한 연구가 있었으며, 巴戟天<sup>20)</sup>, 紅花子·鹿茸·紫河車<sup>21)</sup> 등의 약침이 골다공증 유발백서에 미치는 영향에 대한 보고가 있었다.

이에 저자는 난소적출로 골다공증이 유발된 생쥐의 음곡에 補腎益精, 潤燥滑腸하는 효능을 지닌 육종용 약침을 시술하고 골다공증과 관련된 여러 인자들을 관찰 분석하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 재료

#### 1) 동물

4주령에 난소를 적출한 7주령 암컷 ddY

생쥐 (체중 22±5g)를 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)로부터 공급받아, 실험당일까지 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하고, 실온(22±2℃)을 유지하여 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 약침액의 제조

유 등<sup>22)</sup>의 연구에서 사용한 방법을 사용하여 약침액을 제조하였다. 분쇄기를 이용하여 육종용 55 g을 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500 ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축 하였다. 농축액에 95% ethyl alcohol 30 ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30 ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30 ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20 ml가 되게 하였다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4℃에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filter를 실시한 뒤, 총 농축

액이 20 ml가 되게 하였으며, 동결건조를 통하여 1.931 g의 분말을 얻을 수 있었다. 여과된 농축액 1.25 ml에 PBS 48.75 ml를 첨가하여 2.5%로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

## 2) 세포독성 측정

정상 ddY 생쥐의 골세포  $1 \times 10^5$  cell/well에 5%, 1%, 0.5%의 육종용 약침액을 처리한 후 MTT assay를 이용하여, 세포 생존률을 측정하였다.

## 3) 취혈

骨度分寸法에 의거하여 생쥐의 뒷다리에서 인체의 음곡(Umgog; KI10)에 상응하는 부위를 취하였다.

## 4) 실험군 분류 및 처치

ddY생쥐 9마리씩을 한 군으로 하여 normal군(정상군), control군(대조군), N.P.군(needle prick군), saline군(saline injection군), CH-HA군(육종용약침군)의 5군으로 나누었다.

정상군은 아무런 처치도 하지 않았다. 대조군은 난소 적출 이외의 처치는 하지 않았다. Saline군은 난소적출 후 saline 0.2 ml를 음곡(KI10) 상응부위에 注入하였다. N.P.군은 난소적출 후, 음곡(KI10) 상응부위에 26 gauge 주사기를 0.5 cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. 육종용약침군은 난소적출 후, 음곡(KI10) 상응부위에 2.5%의 육종용약침액(CH-HAS) 0.2ml를 자입하였다.

N.P., saline 자입, 육종용약침 처치는 모두 난소적출 4주 이후부터 8주간 주 3회 시행하였고, N.P., saline 자입, 육종용약침 시술은 실험동물의 後肢에서 음곡(KI10) 상응부위를 매 시술시마다 좌우 교대로 취하여 시술하였다.

## 5) 골다공증 평가

### (1) 체중 측정

난소적출 4주 이후부터 실험 종료 시까지 1주일 간격으로 각 실험군의 실험동물의 체중을 측정하여 기록하였다.

### (2) 자궁 무게 및 자궁지수 측정

실험 종료 후, 각 실험군의 실험동물의 자궁 무게를 측정하여 기록하였다. 자궁지수는 실험동물의 몸무게에 대한 자궁무게의 백분율로 계산하였다.

$$\text{uterus index} = \frac{\text{uterus 무게 (g)}}{\text{실험동물 체중 (g)}} \times 100$$

### (3) 경골 길이 및 경골 회분 무게 측정

실험 종료 후, 각 실험동물의 경골을 적출하여 주위 근육 및 연 조직을 제거한 다음 경골의 길이를 측정하였다. 경골 회분의 무게는 경골을 120℃에서 8시간 동안 건조시킨 후, furnace (Lab companion, Korea)에서 800℃에서 6시간 동안 가열한 뒤 측정하였다.

### (4) 골밀도 측정

실험 종료 후, 각 실험군의 실험동물의 경골을 적출하여 주위 근육 및 연 조직을 제거한 다음 24시간 동안 10%의 formalin에 고정한다. 24시간 이후, 경골을 흐르는 물에

씻은 후, PIXImus (Lunar meison,WI) 기기를 사용하여 DEXA (dual-energy x-ray absorptionmetry)의 방법으로 골밀도(bone mineral density, BMD)를 측정하였다.

### 6) 혈청 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취하고, 심장 채혈 법으로 혈액을 채취하였다. 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, (주)이원 임상검사센터(대전, 한국)에 의뢰하여 혈청 ALP, calcium의 함량을 측정하였다. 혈청 중 osteocalcin 함량은 Mouse Osteocalcin ELISA Kit (Cat No. BT-470, Biomedical Tech. Inc., USA)와 ELISA reader를 이용하여 ng/ml의 단위로 측정하였다.

### 7) 경골 내 Ca 및 P 함량 평가

경골을 적출하여 주위의 근육조직들을 제거한 다음, 경골을 120℃에서 8시간 동안 건조시킨 후, furnace (Lab companion, Korea)에서 800℃에서 6시간 동안 가열하여 탄화시키고 HCl 500 μl에 완전히 용해시켰다. 용해된 탄화 골 200 μl에 증류수를 10ml 첨가하여 희석한 다음, 탄화 골의 단위 무게 당 칼슘과 인의 양을 측정하여 mg/g 단위로 나타냈다. 칼슘과 인의 비율 Ca/P ratio (%)은 아래의 공식을 이용하여 나타내었다.

$$\text{Ca/P ratio (\%)} = \left( \frac{\text{Calcium contents of tibia}}{\text{Phosphorus contents of tibia}} \right) \times 100$$

### 8) 경골 내 osteoclast like cell 분석

각 군에서 절취한 경골에서 골세포를 15 ml tube에 모아, 차가운 PBS를 이용하여 세척한 후 trypan blue를 사용하여 세포를 계수한다. 계수한 골세포를  $2 \times 10^6$  cell/vial으로 FACs전용 tube에 분주한다. 골세포 중 osteoclast like cell의 비율을 확인하기 위하여 표식항체 MHC II 와 CD115를 반응시켜 flow cytometry로 분석하였다.

### 9) 경골의 조직학적 분석

#### (1) H&E 염색 분석

실험 종료 후, 각 군의 실험동물의 경골을 절취하여, 주변의 근육조직을 제거한 다음, 10%의 formalin에 고정하고 paraffin에 박정을 실시하였다. 박정한 조직을 (주)바이오톡스텍(오창, 한국)에 의뢰하여 microtome을 이용하여 5μm으로 절편하고 Hematoxylin and eosin염색을 실시하였다.

#### (2) Histomorphometry

H&E 염색한 조직을 형광현미경 (ECLIPSE E600, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰한 후, digital camera (DXM 1200F, Nikon, Japan)를 이용하여 사진을 촬영하고, ACT-1 program을 이용하여 분석하였다. TBV (trabecular bone volume)는 다음 수식을 이용하여 계산하였으며, TBT (trabecular bone thickness)와 GPL (growth plate length)는 자동 조직분석 프로그램(I-solution)을 이용하여 측정하였다.

$$\text{TBV (\%)} = \left( \frac{\text{trabecular bone volume of sample section}}{\text{total bone volume of sample section}} \right) \times 100$$

### 10) 통계처리

본 실험의 결과는 각 실험군에서 얻은 데이터의 평균과 표준편차로 나타내었으며, SPSS (14.0 KO) 통계프로그램을 사용하여 군간 평균 비교를 하였다. 정상군과 대조군의 평균비교는 대응 t-test를 사용하였으며, 대조군, N.P.군, saline군 및 육종용약침군의 평균비교는 ANOVA test를 사용하였고, 사후검정은 Scheffe's test를 이용하였다. 각 실험군의 결과값을 비교하여 신뢰도 95%이상(p<0.05)일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## III. 성 적

### 1. 약침액의 세포 독성

정상 생쥐로부터 얻은 골세포 중 조골세포만을 취하여 육종용약침액을 여러 가지 농도로 처리한 후 세포생존율을 확인하였다. 육종용약침액을 처리한 경우 대조군에 비하여 조골세포의 생존율에 유의한 변화를 나타내지 않았다(Fig. 1).

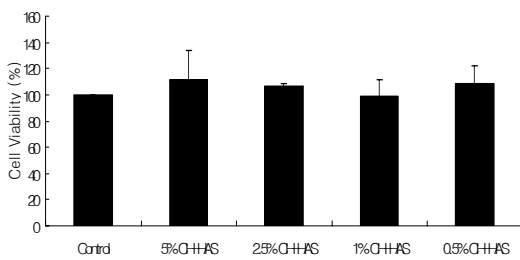


Fig. 1. Cell viability rate with various concentrations of CH-HAS.

## 2. 골다공증 평가

### 1) 체중 변화

실험동물의 몸무게를 주 1회 측정하였다. Normal군에 비하여 control군에서 몸무게가 전반적으로 높게 나타났으며, CH-HA군에서는 control군에 비하여 몸무게가 낮게 나타났다(Fig. 2-A).

실험동물의 몸무게의 변화를 주간 단위로 측정한 결과 normal군에 비하여 control군에서 몸무게의 변화가 전반적으로 높게 나타났으며, CH-HA군에서는 normal군과 control군에 비하여 몸무게의 변화가 적게 나타났다(Fig. 2-B).

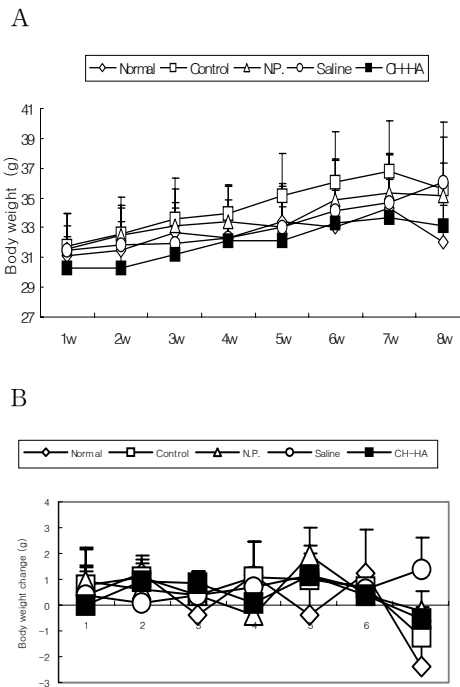


Fig. 2. Effect of CH-HA on body weight increasing rate in ovariectomized mice.

## 2) 자궁 무게와 자궁 지수

실험 종료 후, 실험동물의 자궁을 적출하여 무게를 측정된 결과 normal군에 비하여 control군에서 자궁 무게가 유의하게 감소하였다. NP군, saline군 및 CH-HA군에서는 control군에 비하여 자궁 무게에 유의한 차이가 없었다(Fig. 3-A).

실험동물의 몸무게에 대한 자궁 무게의 백분율을 계산한 결과 normal군에 비하여 control군에서 자궁 지수가 유의하게 감소하였다. NP군, saline군 및 CH-HA군에서는 control군에 비하여 자궁 지수에 유의한 차이가 없었다(Fig. 3-B).

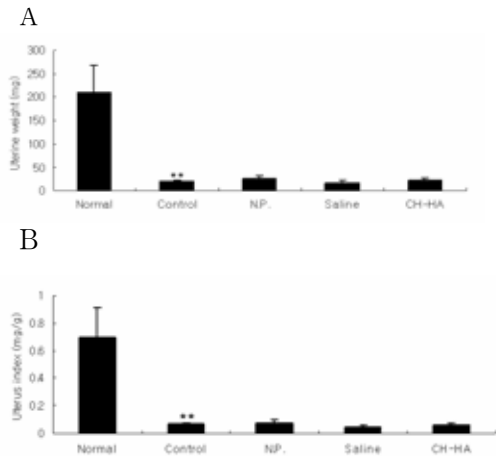


Fig. 3. Effect of CH-HA on the uterine weight and the uterus index in ovariectomized mice.

## 3) 경골 길이

실험 종료 후, 실험동물의 경골을 적출하여 길이를 측정하였다. Normal군에 비하여 control군에서 경골 길이가 유의하게 증가하였다. CH-HA군에서 control군 및 saline군에 비하여 경골길이가 유의하게 감소하였다 (Fig. 4).

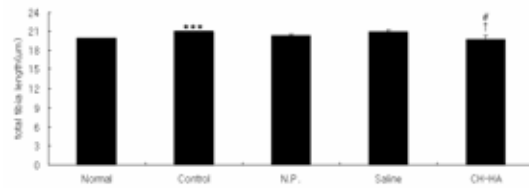


Fig. 4. Effect of CH-HA on the tibial length in ovariectomized mice.

## 4) 경골 회분 무게

실험 종료 후, 실험 동물의 경골을 태워 경골 내 회분 함량을 측정하였다. Control군에서 normal군에 비하여 회분함량이 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. CH-HA군에서는 control군, NP.군 및 saline군에 비하여 경골의 회분 함량이 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Data not shown).

## 5) 골밀도

실험 종료 후, 동물의 경골을 적출하여, 골밀도를 측정하였다. Control군에서 normal군에 비하여 골밀도가 유의하게 감소하였다. N.P.군에서는 control군에 비하여 골밀도가 유의하게 증가하였다. CH-HA군에서는 control군에 비하여 골밀도에 유의한 변화가 나타나지 않았으며, N.P.군에 비하여 골밀도가 유의하게 낮았다(Fig. 5).

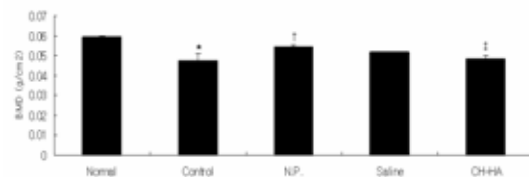


Fig. 5. Effect of CH-HA on tibial BMD in ovariectomized mice.

### 3. 혈청 분석

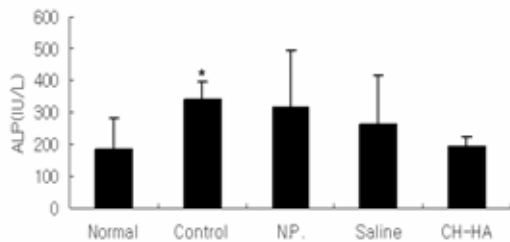
각 실험동물에서 취한 혈청에서 alkaline phosphatase(ALP), osteocalcin, calcium의 농도를 측정하였다. (Table 1).

**Table 1. Effect of CH-HA on various components in serum of ovariectomized mice.**

Parameter	Normal	Control	N.P.	Saline	CH-HA
ALP (IU/L)	187 ±91.71 7	338.5 ±57.651	317.5 ±179.19 9	261.75 ±153.048	196 ±30.735
Osteocalcin (O.D.)	0.420 ±0.12	0.586 ±0.065	0.508 ±0.06	0.646 ±0.048	0.412 ±0.074 <sup>##</sup>
Calcium (mg/dl)	7.35 ±0.208	7.05 ±0.835	7.9 ±0.716	6.55 ±0.719	7.5 ±0.141

#### 1) Alkaline phosphatase (ALP)

Normal군에 비하여 control군에서 혈청 ALP가 유의하게 증가하였고, CH-HA군에서 control군에 비하여 혈청 ALP가 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 6).

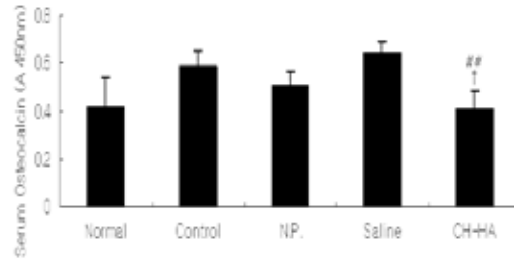


**Fig. 6. Effect of CH-HA on serum ALP level in ovariectomized mice.**

#### 2) Osteocalcin

Osteocalcin의 농도는 normal군에 비하여 control군에서 증가하였으나 통계적 유의성은 없었고, CH-HA군에서 control군 및

saline군에 비해 혈청 osteocalcin의 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 7).



**Fig. 7. Effect of CH-HA on serum osteocalcin level in ovariectomized mice.**

#### 3) Calcium

각 실험군의 혈청 calcium 농도는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 1).

### 4. 경골 내 Ca 및 P 함량 평가

각 실험군의 경골을 회분하여 얻은 시료를 이용하여 경골 내 Ca 및 P 함량과 Ca/P ratio를 측정하였다(Table 2).

**Table 2. Effect of CH-HA on Ca, P, Ca/P ratio in tibia of ovariectomized mice.**

Group	Levels in tibia (mg/g bone)		Ca/P ratio (%)
	Ca levels	P levels	
Normal	96.89±5.55	20.30±2.81	482.7±57.02
Control	74.56±10.61*	17.76±2.31	419.57±14.88
N.P.	89.62±5.64	20.09±1.19	446.14±12.64
Saline	122.12±3.13 <sup>####</sup>	26.96±1.71 <sup>###</sup>	465.38±32.86
CH-HA	104.49±6.11 <sup>###</sup>	25.24±2.06 <sup>###</sup>	418.28±22.75

#### 1) Calcium

각 실험군에서 취한 경골을 회분한 뒤, 경골 내 calcium의 함량을 측정하였다.

Control군에서 normal군에 비하여 calcium 함량이 유의하게 감소하였다. Saline군에서는 control군 및 N.P.군에 비하여, CH-HA군에서는 control군에 비하여 calcium 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 8).

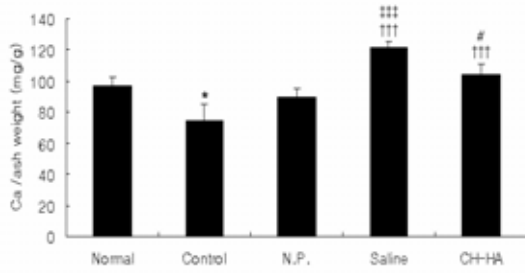


Fig. 8. Effect of CH-HA on tibial Ca level in ovariectomized mice.

### 2) Phosphorus

각 실험군에서 취한 경골을 회분한 뒤, 경골 내 phosphorus의 함량을 측정하였다. Control군에서 normal군에 비하여 경골내 phosphorus의 함량이 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. Saline군에서는 control군 및 N.P.군에 비하여, CH-HA군에서는 control군 및 N.P.군에 비하여 경골내 phosphorus 함량이 유의하게 증가하였다 (Fig. 9).

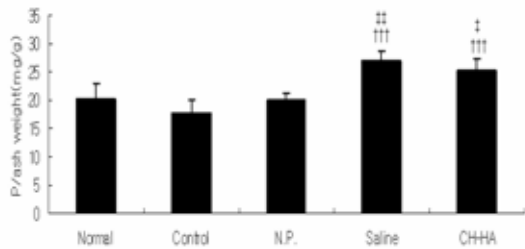


Fig. 9. Effect of CH-HA on tibial phosphorus level in ovariectomized mice.

### 3) Ca/P ratio

각 실험군에서 취한 경골을 회분한 뒤, 경골 내에서 calcium과 phosphorus의 비율을 측정하였다. Control군에서 normal군에 비하여 Ca/P 비율이 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. CH-HA군에서는 control군에 비하여 Ca/P 비율에 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 2).

### 5. 경골 내 osteoclast like cell 분석

경골 내 osteoclast like cell의 비율을 flow cytometry assay를 이용하여 측정하였다. Control군에서 MHCII<sup>+</sup>/CD115<sup>+</sup>세포의 비율은 5.47±0.4로 나타나 normal군의 2±0.079에 비하여 현저하게 증가하였으며, CH-HA군에서는 2.42±0.52로 나타나 control군, N.P.군 및 saline군에 비하여 감소하였다(Fig. 10).

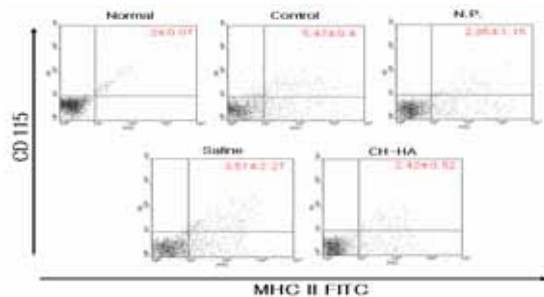


Fig. 10. Effect of CH-HA on osteoclast like cell in tibia of ovariectomized mice.

경골 내 osteoclast like cell의 비율을 flow cytometry assay로 측정하여 군간 비교한 결과, control군에서 osteoclast like cell 비율은 normal군에 비하여 유의하게 증가



였으며, CH-HA군에서는 control군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 11).

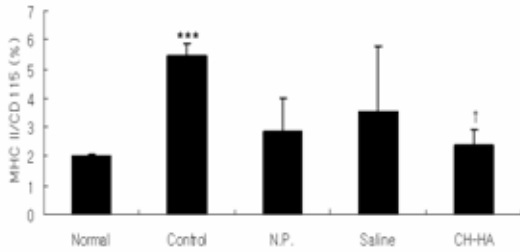


Fig. 11. Effect of CH-HA on osteoclast like cell in tibia of ovariectomized mice.

## 6. 경골의 조직학적 분석

### 1) H&E 염색 분석

실험동물의 경골조직을 절편하여 Hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 실시하였다. Control군에서 normal군에 비하여 골 내부에 pore가 많이 나타났고, 지주골이 적게 분포하였다. CH-HA군에서는 control군, N.P.군 및 saline군에 비하여 pore의 생성이 감소되었으며, 지주골도 normal군과 유사하게 유지되었다(Fig. 12).

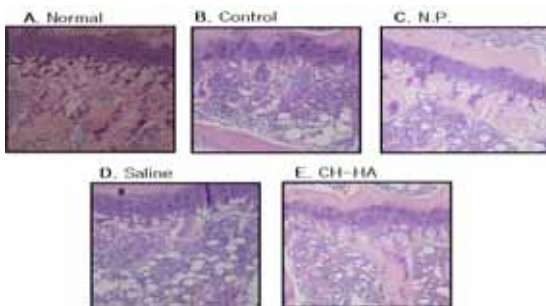


Fig. 12. Histological analysis (H&E stain) of tibia in ovariectomized mice

### 2) Histomorphometry

실험동물의 경골조직을 절편하여 H&E 염색을 한 후, 자동분석 프로그램을 이용하여 지주골량(TBV), 지주골의 두께(TBT), 성장판의 길이(GPL)를 측정하였다.

#### (1) TBV (trabecular bone volume)

Control군에서 normal군에 비해 지주골량(TBV)이 유의하게 감소하였으며, CH-HA군에서는 control군에 비하여 지주골량(TBV)이 유의하게 증가하였다(Fig. 13).

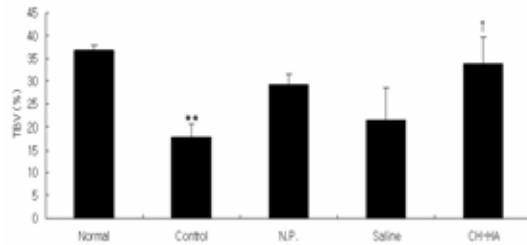


Fig. 13. Effect of CH-HA on the trabecular bone volume of tibia in ovariectomized mice.

#### (2) TBT (trabecular bone thickness)

Control군에서 normal군에 비하여 TBT가 유의하게 감소하였으며, CH-HA군에서는 control군에 비하여 TBT가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 14).

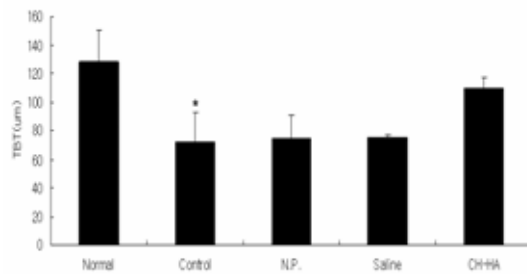


Fig. 14. Effect of CH-HA on the trabecular bone thickness of tibia in ovariectomized mice.

(3) GPL (growth plate length)

Control군에서 normal군에 비해 성장판의 길이가 증가하였으나, 통계적 유의성은 없었다. CH-HA군에서는 control군에 비하여 성장판의 길이가 유의하게 감소하였다 (Fig. 15).

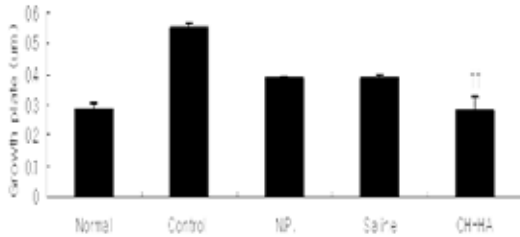


Fig. 15. Effect of CH-HA on growth plate length of tibia in ovariectomized mice.

IV. 고 찰

골다공증이란 낮은 골량과 골의 미세구조 이상으로 골절에 대한 감수성이 증가하는 전신성 골질환으로서, 대사성 골질환중 가장 흔한 질환이다<sup>1)</sup>.

골강도의 감소로 특징지어지는 골다공증은 폐경기 여성에서 많지만 뼈의 탈회 (demineralization)가 동반되는 질환 혹은 주된 위험인자가 있는 남성 및 여성에도 발생한다<sup>23,24)</sup>.

골다공증은 크게 일차성과 이차성 골다공증으로 나누는데, 이차성 골다공증은 약물복용이나 각종 내분비 질환에 의해 생기는 골다공증이고, 일차성 골다공증은 폐경(1형 골다공증, 폐경기 골다공증)과 노화(2형 골다공증, 노인성 골다공증)에 의한 생리적 골소실 및 유전적인 소인, 그릇된 생활습관 등

환경적인 요인과 호르몬의 부조화 등이 복합적으로 작용하여 초래되는 골다공증으로, 대부분이 여기에 속한다<sup>25)</sup>.

성인의 골밀도는 태아에서 성장기에 걸쳐 형성된 최대골량과 이후의 골소실에 의해 결정된다. 따라서 성장기까지의 최대 골량 형성 과정과 골의 재형성 과정에서의 이상은 골다공증의 유발 요인이 된다<sup>27)</sup>. 비록 유전적인 요인이 최대골량 형성과 밀접한 관계를 가지는 것으로 알려져 있으나<sup>28)</sup>, 칼슘 및 비타민D 섭취, 육체적 활동 등의 환경요인도 중요하다<sup>29)</sup>.

골다공증 환자의 치료는 기저질환의 처치 및 급성기 골절의 치료가 포함된다. 골다공증의 예방을 위해서는 우선적으로 운동, 위험인자 감소 등의 생활습관의 교정과 함께 칼슘, 비타민 D의 보충이 필요하며, 골다공증이 있는 경우 약물치료가 필요하다. 현재 골다공증의 치료 및 예방에 사용되는 약제는 골흡수억제제인 비스포스포네이트, 에스트로겐, 선택적 에스트로겐 수용체의 조절제, 칼시토닌이 있으며, 유일한 골합성 제제인 부갑상선 호르몬 등이 있다<sup>23,30-32)</sup>. 그러나 이러한 약제들은 유방암, 뇌졸중, 혈전색전증 등의 부작용을 유발할 수 있으며, 부갑상선 호르몬 제제의 경우 치료기간이나 용량에 대한 연구가 아직까지 부족한 실정이다. 또한, 치료 중단시 골소실 정도가 시간에 따라 치료 이전의 수준으로 되돌아가는 등의 문제점들을 안고 있다<sup>30,33)</sup>.

韓醫學 文獻上 骨多孔症이라는 病名은 없으나, 골다공증은 骨의 脆弱한 상태를 나타내는 ‘骨枯’, ‘骨極’ 등의 병명과 가장 유사하

며<sup>6)</sup>, ‘骨痿’, ‘骨痺’, ‘痺證’, ‘虛勞’ 등의 범위에 속한다고 볼 수 있다<sup>4,5)</sup>.

骨多孔症은 五臟六腑 中 腎과 직접적인 관계가 있는 것으로 생각되고 있다<sup>34,35)</sup>.

『素問·宣明五氣論』에서는 “腎主骨”이라 하였고, 『素問·陰陽應象大論』에서는 “腎主骨髓”라 하였으며, 『靈樞·經脈篇』에서는 “人始生, 先成精, … 脈道以通, 血氣乃行”이라 하였다. 즉, 腎이 骨髓를 主管하고 腎精이 人體의 生長發育을 촉진시키므로, 腎精이 充足하면 骨髓가 豊富해지고 骨格이 生長하고 堅實해 진다고 하여, 骨과 腎의 生理를 밀접하게 연관시키고 있다<sup>36,37)</sup>.

『東醫再活醫學科學』<sup>4)</sup>에서는 골다공증을 腎陽虛型, 腎陰虛型, 氣血不足型, 風邪偏勝型의 4가지로 분류하였다. 이 중 “腎主骨”의 原理에 의하여 腎虛를 골다공증의 주요 원인으로 보고 있으며, 이를 腎陽 또는 腎陰의 不足으로 구분하고, 그 외 肝·脾의 등의 虛證을 兼하거나 氣血의 虛證을 兼하는 것으로 보았다<sup>39)</sup>.

이 등에 따르면, 骨多孔症과 有關한 骨疾患의 치료에 다용된 經絡으로는 足太陽膀胱經, 足少陰腎經, 足少陽膽經 등이 있으며, 그 중 足少陰腎經은 직접적으로 骨髓를 濡養하는 작용을 수행하여 骨多孔症의 치료와 예방에 응용할 수 있을 것이라고 하였다<sup>39)</sup>.

약침요법은 신침요법의 일종으로 혈위주사요법이라고도 하며, 經絡학설과 약물이론에 근거하여 환자의 질병에 상응하는 經絡과 약물을 선택하고 약침액을 經絡내에 자입하여 經絡과 약물이 질병에 대해 종합적인 작용을 발휘하여 질병을 치료하는 방법

으로<sup>40)</sup>, 약물의 흡수가 빠르고, 경구투여가 불가능한 경우에 처치할 수 있으며, 환처에 처치할 수 있는 등의 장점이 있다<sup>8,41)</sup>.

음곡(KI10)은 足少陰腎經의 經穴로 膝下 內輔骨後大筋下 小筋上에 위치한다. 足少陰의 合水穴이며 自性穴로서, 滋補肝腎의 效能이 있어 腎虛에 의한 骨髓의 不足으로 인한 骨多孔症 및 股關節痛, 膝關節炎, 膝不能屈伸, 膝股內側痛 등을 主治한다<sup>8)</sup>.

육종용(*Cistanches Herba*)은 列當科(더부살이과 *Orobanchaceae*)에 속한 다년생 기생 초목인 육종용(*Cistanches deserticola* Y. M)과 同屬 近緣植物인 肉質莖을 건조한 것으로, 性은 溫無毒하며, 味는 甘酸鹹하고, 腎經과 大腸經에 入하며, 補腎益精, 潤燥滑腸하는 효능이 있어서 男子陽痿, 女子不孕, 帶下, 崩漏, 腰膝冷痛, 血枯便閉 등을 치료한다<sup>7)</sup>. 腎은 骨을 主하므로 腎經으로 入하여 補腎益精하는 육종용은 골다공증에도 효과가 있을 것으로 사료된다.

현재까지 가장 많이 사용되고 있는 골다공증 실험동물모델로는 크게 난소적출모델과 신경절단에 의한 immobilization 모델 두 가지가 있으며, 이 외에 corticosteroid 제제로 유발시킨 모델도 사용되고 있다. 이 중 난소적출에 의한 골다공증 모델은 전형적인 estrogen 결핍성 모델로 알려져 있으며, 주로 폐경기 후 초래되는 여성의 골다공증에 중점을 둔 치료제의 개발에 적용된다<sup>42,43)</sup>.

이에 著者는 腎虛의 범주로 파악할 수 있는 骨多孔症에, 補腎益精의 효능이 있는 육종용의 활용이 적합하리라 생각되어, 卵巢摘出로 estrogen 결핍성 골다공증이 유발된

白鼠의 陰谷에 육종용 藥鍼을 시술한 후 골다공증에 미친 영향을 분석하였다.

정상 생쥐의 조골 세포에 육종용 약침액을 여러 가지 농도로 처리한 후 세포생존율을 확인한 결과, 육종용 약침액(CH-HAS)은 조골세포의 생존율에 유의한 영향을 미치지 않음을 확인하였다(Fig. 1).

Estrogen의 결핍과 체중과의 상관관계에 대해서, Kalu 등<sup>44)</sup>은 난소를 제거한 생쥐의 체중은 증가하고 estrogen의 투여는 체중증가를 억제한다고 하였고, Yamazaki 등<sup>45)</sup>은 白鼠의 난소를 제거하면 체중이 증가하는데 체중증가의 대부분은 체내지방질의 축적에 기인한다고 하였다<sup>46)</sup>.

본 연구에서, 실험기간동안 매주 실험동물의 몸무게를 측정하여 그 변화를 관찰한 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 몸무게가 전반적으로 높게 나타났으며, 육종용 약침군에서는 대조군에 비하여 몸무게가 낮게 나타났다(Fig. 2-A, B). 따라서 음극 육종용 약침은 estrogen의 투여와 마찬가지로, 난소적출 백서의 체중증가와 지방축적을 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

子宮內膜 및 子宮筋은 estrogen에 의존적이고, estrogen은 난소에서 분비되므로 난소가 제거되면 子宮萎縮現象이 발생하게 된다<sup>47,48)</sup>. 따라서 자궁 위축은 난소적출술의 성공여부를 판단하는 기준이 된다.

본 연구에서, 실험 종료 후 실험동물의 자궁을 적출하여 자궁무게를 측정하고 실험동물의 몸무게에 대한 자궁무게의 백분율을 환산한 결과, 대조군에서 정상군 및 위수술군에 비하여 자궁 무게와 자궁지수가 유의

하게 감소하여 난소 적출로 인한 자궁의 구조적 퇴행이 유발되었음을 시사하였다. 육종용 약침군의 자궁 무게 및 자궁지수는 모든 실험군에 비해 통계적으로 유의한 차이가 없어, 음극 육종용 약침이 난소적출로 인한 자궁의 퇴행을 억제하지는 못한 것으로 나타났다(Fig. 3).

난소를 제거한 후 나타나는 골소실은 estrogen의 감소와 밀접한 관계가 있다. 보고에 의하면 estrogen이 결핍된 생쥐에서는 골형성의 감소, 골흡수의 증가, 해면골과 피질골의 골량 감소 등이 나타난다고 한다<sup>49)</sup>.

본 실험에서 경골내 회분함량은, 대조군에서 정상군에 비해 감소하고 육종용약침군에서 모든 실험군에 비해 감소하였으나, 모두 통계적 유의성은 없었다.

경골의 골밀도 측정 결과에서는, 대조군에서 정상군 및 위수술군에 비해 골밀도가 유의하게 감소하여 난소적출로 인한 estrogen 결핍으로 골소실이 증가하였음을 보여 주었다. 육종용 약침군의 골밀도는 대조군에 비해 유의한 차이가 없었으나, N.P.군의 골밀도는 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다. 즉, 음극 자극이 난소적출 백서의 골소실을 억제하는 효과를 나타내었으며, 이는 음극이 足少陰腎經의 含水穴로서 補肝腎 強筋骨하는 효능을 지녔기 때문인 것으로 사료된다(Fig. 5).

ALP는 골아세포가 골형성을 하는 동안 생성되어 그 중 일부가 혈 중에 분비되는 효소이다. 이는 임상에서 가장 흔히 이용되는 골형성 표지자로<sup>49)</sup>, 간담도계 질환, 골질환 등에서 증가한다. 골질환으로 인한 ALP

의 증가는 골신생이 있는 경우로, 주로 골파괴가 일어나는 질환 또는 골파괴에 수반하여 골신생이 일어나는 경우이다<sup>50)</sup>. 또한 난소절제 후 ALP 활동이 증가한다는 것으로 보고되어 있다<sup>51)</sup>.

본 실험에서 혈청 ALP는, 정상군에 비해 대조군에서 상승하고 육종용약침군에서 대조군에 비해 감소하였으나, 모두 통계적 유의성은 없었다(Fig. 6).

Osteocalcin은 bone Gla-containing(BGP)으로도 알려진  $\gamma$ -carboxyglutamic acid(Cla) 2~3 잔기를 함유한 amino산 49개로 된 분자량 약 5.9kDa인 peptide이다. 이는 골 matrix의 비 collagen 단백질로 골중 또는 혈중에 존재한다. 단백질 중 glutamic acid는 Vit. K 의존성 carboxylase의 작용으로  $\gamma$ -carboxyglutamic acid( $\gamma$ -Cla)로 되어 Ca 결합능이 있다. 최근 이 혈중 BGP는 골대사 회전의 지표, 특히 골형성의 생화학적 지표로 여러 가지 대사성 골질환에서 측정되고 있다. 골대사 회전이 항진되면 혈중 level이 증가하며, 종래 골대사 marker로 사용된 혈중 ALP나 요중 hydroxyproline 보다도 골대사회전을 정확하게 반영하는 지표로 관심의 대상이 되고 있다. 加齡에 따라 BGP는 태생기 골형성이 시작되면서 증가하기 시작하여 소아에서는 높고 사춘기에서 성인에 이르기까지 서서히 감소하여 성인 이후 거의 일정하게 유지되다가 여성에서 폐경기 이후 증가하는데, 이는 폐경 후 골조송증으로 인한 것으로 이해되고 있다. 골조송증에서의 혈중 BGP에 대해서는 기준범위에 있는 것, 고농도를 보이는 것, 반대로 저

농도를 보이는 것 등 여러 가지 보고가 있으나, I형 골조송증이라고 알려진 폐경 후 골조송증은 골대사회전이 빠른 고회전형(high turnover)에 속하는 것으로, 혈청 BGP의 농도가 높아진다<sup>50)</sup>. 폐경이 된 여성을 아무 치료 없이 골밀도를 측정하면서 2~4년을 추적 관찰한 결과 혈중 osteocalcin이 가장 좋은 골교체율의 생화학적 지표였다는 보고가 있었고<sup>52)</sup>, 폐경 후 2배 정도 증가된 osteocalcin 수치가 에스트로젠을 투여하면 다시 폐경 전 수치로 회복되는 것으로 알려져 있으며<sup>53)</sup>, 폐경기 골감소증 여성에게 에스트로젠 요법과 flucalcin effervescent 병합치료 후 osteocalcin이 감소되었다는 보고도 있다<sup>54)</sup>.

본 실험에서 혈청 osteocalcin은 정상군에 비하여 대조군에서 농도가 증가하였으나 유의성이 없었고, 육종용 약침군에서는 대조군 및 saline군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig. 7). 따라서 음곡 육종용 약침이 난소적출 생쥐의 골다공증에서 골흡수과정을 억제하는 효과가 있는 것으로 보이며, 이는 육종용의 약리적 작용을 통하여 발휘된 것으로 사료된다.

Calcium(Ca)은 생체내 약 1kg 정도 존재하는데 그 중 99.9%가 뼈에, 나머지 0.1%는 세포외액 중에서 평형상태를 유지하고 있다. 세포내 Ca는 세포외액의 약 1/1000 정도를 유지하며 세포상호작용, 혈액응고, 신경전달, 근수축, hormone 자극 전달 등의 중요한 기능을 담당하고 있다<sup>50)</sup>. 정상적으로 세포외액의 칼슘농도는 매우 정밀하게 조절되어 정상수치를 많이 벗어나지 않는데, 이는 골격

이 세포의 Ca의 농도가 감소하면 Ca를 분비하고, 과량의 Ca는 다시 저장하는 칼슘 저장도로서의 역할을 담당하기 때문이다<sup>55)</sup>. 골의 급격한 파괴나 급성 불용성 골위축의 경우에 혈청 Ca이 증가하며<sup>50)</sup>, 난소적출 후에도 혈중 Ca이 상승하는 것으로 알려져 있다<sup>56)</sup>. 그러나 본 실험에서는 난소 적출 및 음곡 육종용 약침에 의한 혈청 calcium 농도의 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 1).

골격은 칼슘염의 침착에 의해 신장된 거친 유기기질로 구성되어 있는데, 평균적으로 경골은 30%의 기질과 70%의 염으로 이루어져 있고 새로 형성된 골격의 경우는 염에 비하여 기질의 함유량이 더욱 높다. 골격의 유기기질은 90~95%가 collagen 섬유로 이루어져 있고 그 나머지는 기반물질이라고 불리어지는 균일한 젤라틴 성분으로 이루어져 있다. 골격의 유기기질에 침착하는 결정성 염은 주로 Ca와 P로 구성되어 있으며 대부분의 결정성 염은 수산화인회석이다. Ca의 경우는 상기한 것과 같이 인체 내 칼슘의 거의 대부분이 골격에 저장된다. P (phosphorus)은 모든 세포의 중요한 구성성분이면서 에너지 대사, 근수축, 조직으로의 산소공급 등에 관여하며 건강성인의 체내 총량은 500~800g 정도이며, 그 중 80~90%는 골에, 15%가 근육에 존재한다<sup>50)</sup>.

본 연구에서 경골내 Ca 함량이 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 감소하였고, 육종용 약침군에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 8). 또한 경골내 P 함량의 경우도 대조군에서 정상군에 비해 감소

하였으나 통계적 유의성은 없었고, 육종용약침군에서는 대조군 및 N.P.군에 비하여 경골내 phosphorus 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 9). 따라서 음곡 육종용 약침이 난소적출로 감소된 골내 Ca함량과 P함량을 회복킨 것으로 사료된다.

골내 Ca/P ratio는 hypomineralization bone loss, aging 등에서 감소하며 또한 섭취하는 음식물에 따라 변할 수 있다<sup>55)</sup>.

본 실험에서는 대조군에서 정상군에 비해 경골내 Ca/P 비율이 감소하였으나 통계적 유의성은 없었고, 육종용 약침군에서는 대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 10). 따라서 음곡 육종용 약침은 난소적출 생쥐의 골다공증에서 경골내 Ca/P ratio의 감소를 유의하게 회복하지는 못한 것으로 나타났다.

골격은 골아세포에 의하여 지속적인 침착이 일어나고 파골세포가 활성화된 부위에서는 지속적인 흡수가 일어나는데, 성숙되는 모든 골격에서 골아세포의 활성화는 지속적으로 유지되며, 성장 중인 골격을 제외하고는 골침착률과 골흡수률은 동등하여 골격의 총량을 일정하게 유지한다. 그러나 30~45세 이후 이러한 균형은 깨지고 흡수가 침착을 능가하게 된다. 과도한 골소실은 파골세포의 기능 증가와 혹은 조골세포의 기능 감소 때문에 일어날 수 있다<sup>55)</sup>.

본 실험에서 경골 내 osteoclast like cell의 비율을 측정한 결과 대조군에서 정상군에 비하여 osteoclast like cell 비율이 유의하게 증가하였다. 육종용약침군에서는 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 11). 따

라서 음곡 육종용 약침이 난소절제에 따른 파골세포의 활성증가를 유의하게 억제한 것으로 나타났다.

골다공증은 조직학적으로 골피질이 얇아지고 골지주(trabecula)의 수량과 크기가 감소되며 하버시안 계(Haversian system, osteon)와 골수강이 넓어지는 소견을 보인다<sup>1)</sup>.

본 실험에서 H&E 염색을 통해 관찰한 백서의 경골 조직 절편에서는 대조군이 정상군에 비해 골 내부에 pore가 많이 나타나고 지주골이 적게 분포하였고, 육종용 약침군에서는 대조군, N.P.군 및 saline군에 비하여 pore의 생성이 감소되었으며, 지주골량이 증가한 것으로 나타났다(Fig. 12). 자동분석 프로그램을 이용하여 측정한 경골 내 TBV(지주골량)는 정상군에 비해 대조군에서 유의하게 감소하였고, 육종용 약침군에서는 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 13). 따라서 음곡 육종용 약침이 난소적출 생쥐의 골다공증에서 골조직을 보호하고 지주골량을 증가하는 데 유의한 효과가 있는 것으로 사료된다.

Estrogen 등의 성호르몬은 남녀 모두에서 사춘기 골단 폐쇄에 중요한 역할을 하므로<sup>2)</sup> 난소 적출로 인해 성호르몬이 억제된 생쥐에서는 골의 길이 성장이 증가한다<sup>57)</sup>.

본 실험에서 경골의 길이는 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가하고 육종용 약침군에서 대조군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 4). 자동분석 프로그램을 이용하여 측정한 경골 내 성장판 길이(GPL)는, 대조군에서 정상군에 비하여 증가

하였으나 유의성이 없었고, 육종용 약침군에서는 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 15). 즉, 음곡 육종용 약침이 경골의 길이성장을 유의하게 억제하였고, 성장판 길이를 유의하게 감소시켜 난소적출에 따른 성호르몬 결핍을 보상할 가능성을 시사하였다.

이상의 결과에서 음곡 육종용 약침은 난소적출로 골다공증이 유도된 백서의 경골내 Ca 함량과 골밀도, 경골조직내 지주골량을 증가시켰으며, 혈중 osteocalcin을 감소시키고, 경골내 성장판의 길이를 감소시켜, 난소적출로 인한 호르몬 부족을 보상하고 골손상을 억제하며 골을 보호하는 효과를 나타내었다. 여기에는 음곡의 경혈 특이성과 육종용의 약리적 특성이 복합적으로 작용한 것으로 보이나 정확한 기전에 대해서는 향후 더욱 상세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결론

음곡 육종용 약침이 난소적출로 유발된 생쥐의 골다공증에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 육종용 약침은 난소적출에 의해서 유도되는 경골의 과도한 성장을 유의하게 억제하였다.
2. 음곡 NP(needle prick)자극은 난소적출에 의해서 유도되는 골밀도의 감소를 유의하게 억제하였다.
3. 육종용 약침은 난소적출에 의해서 유도

되는 혈중 osteocalcin의 증가를 유의하게 억제하였다.

4. 육종용 약침은 난소적출에 의해서 유도되는 경골 내 Ca 함량과 P 함량의 감소를 유의하게 증가시켰다.
5. 육종용 약침은 난소적출에 의해서 유도되는 경골내 osteoclast like cell의 증가를 유의하게 감소시켰다.
6. 육종용 약침은 난소적출에 의해서 유도되는 경골 내 지주골량의 감소를 유의하게 억제시켰다.
7. 육종용 약침은 난소적출에 의해서 유도되는 경골 내 성장판 길이의 증가를 유의하게 억제시켰다.

이상의 결과, 음곡 육종용 약침은 난소적출 생쥐의 모델에서 골다공증으로 유발되는 일련의 증상들을 예방하거나 치료하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

### 참고문헌

1. 대한정형외과학회. 정형외과학. 5판. 서울: 최신의학사. 2001 : 13-4, 81-2, 152-6.
2. 이해남, 박용문, 장미경, 변용진. 한국 여성의 요골 골밀도치에 의한 골다공증의 빈도 및 폐경에 따른 변화. 대한산부회지. 2002 ; 45(7) : 1186-90.
3. 조수현. 폐경과 골다공증. 대한의학협회지. 1992 ; 35(5) : 587-98.
4. 한방재활의학과학회. 한방재활의학과학. 서울 : 군자출판사. 2003 : 105-6.
5. 김갑성, 김명동, 김윤범, 김장현, 김중호,

이원철 외. 실용 동서의학 임상총서. 서울 : 정담. 2001 : 553-62.

6. 강성길, 박영배, 안현석. 골다공증의 침구 치료에 관한 문헌적 고찰. 대한침구학회지. 1995 ; 15(2) : 171-89.
7. 전국한의과대학 본초학교실. 本草學. 서울 : 영림사. 2000 : 550-1.
8. 전국한의과대학 침구경혈학교실. 鍼灸學 (上). 서울 : 집문당. 2001 : 531-63, 1457-67.
9. 이영석, 김종환, 조한백, 최규섭. 독활기생탕이 난소적출로 골다공증이 유발된 백서에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2000 ; 13(2) : 104-19.
10. 김덕님. 滋陰八味煎이 난소적출 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2005 ; 18(2) : 12-25.
11. 김태희. 歸腎丸이 卵巢摘出 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響. 圓光大學校大學院. 2004.
12. 박재웅. 身痛逐瘀湯이 卵巢摘出 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響. 圓光大學校大學院. 2004.
13. 최원확, 조명래, 채우석. 加味獨活寄生湯의 經口投與와 志室·懸鐘 電鍼 併用 施術이 흰 쥐의 骨多孔症에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2006 ; 23(3) : 1-19.
14. 박철훈, 엄주오, 류심근, 김철원, 김종환, 조한백. 紅花子가 卵巢를 摘出した 白鼠의 骨多孔症에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2001 ; 14(1) : 73-87.
15. 정국영, 서부일, 이은숙, 변부형, 신순식, 박지하. 人蔘이 卵巢摘出로 誘發된 흰쥐의



- 骨多孔症 예방에 미치는 효능. 대한본초학회지. 2004 ; 19(1) : 1-11.
16. 이진아. 熟地黃이 卵巢摘出로 유발된 흰쥐의 骨多孔症에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2004 ; 17(4) : 112-24.
17. 김민정, 서부일, 신순식, 박지하. 하수오와 백하수오가 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 예방효과에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2004 ; 19(1) : 23-34.
18. 차언명, 박지하, 서부일, 김미려. 巴戟이 좌골신경 절단으로 유발된 ddY 마우스 骨多孔症 모델의 治癒效果에 미치는 影響. 한약응용학회지. 2006 ; 6(1) : 25-46.
19. 유학근, 정진홍. 接骨木 煎湯液이 난소적출로 유도된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2000 ; 13(1) : 262-302.
20. 석재욱, 이정훈, 한상원. 巴戟天 약침이 卵巢摘出로 유발된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 2000 ; 17(3) : 140-50.
21. 육태한, 이창현, 이학인. 紅花子, 鹿茸, 紫河車 藥鍼이 骨多孔症에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 61-7.
22. 유은주, 김종인, 고흥규. 웅담·우황·사향 약침액이 Nitric Oxide 소거에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006 ; 23(4) : 115-21.
23. 대한내과학회 편. Harrison's 내과학. 16th edition. 서울:도서출판 MIP. 2006 : 2269, 2481-92.
24. 이우석, 박형무, 배도환. 한국 여성의 골다공증의 유병률. 대한폐경학회지. 2003 ; 9(4) : 339-46.
25. 임승길. 골다공증 연구의 최근 동향. 생화학분자생물학뉴스. 2002 ; 22(3) : 270-6.
26. 백승훈, 김신윤. 골다공증의 병인론. 대한고관절학회지. 2006 ; 18(4) : 386-96.
27. Naganathan V, Macgregor A, Snieder H, Nguyen T, Spector T and Sambrook P.. Gender differences in the genetic factors responsible for variation in bone density and ultrasound. J Bone Miner Res. 2002 ; 17 : 725-33.
28. Sambrook P and Cooper C. osteoporosis. Lancet. 2006 ; 367 : 2010-8.
29. 폐경연구소위원회. WHI 발표이후 골다공증의 예방과 치료에 있어서 호르몬 치료에 대한 한국 임상인들의 인식변화. 대한폐경학회지. 2004 ; 10(4) : 292-5.
30. 강병문. 골다공증 치료의 의학약제와 대체 약물의 비교. 대한산부학회지. 2006 ; 49(12) : 2459-73.
31. 박형무, 김정연, 정여진, 김재준. 폐경여성에서 골다공증 치료시 비타민 D 사용에 대한 환자의 인식도 조사. 대한산부학회지. 2007 ; 50(7) : 1003-11.
32. 오영림, 윤건배, 김형중, 이천준, 김성한, 김홍열. 갱년기 여성에서 호르몬 보충요법과 Aledronate가 골대사 및 골밀도에 미치는 영향에 관한 연구. 대한폐경학회지. 2004 ; 10(2) : 111-20.
33. 폐경연구소위원회. WHI 발표이후 골다공증의 예방과 치료에 있어서 호르몬치료에 대한 한국 임상인들의 인식변화. 대한폐경학회지. 2004 ; 10(4) : 292-5.

34. 金炯均, 柳志允, 李彦政. 腎主骨에 關한 東西醫學的 考察. 大韓韓方內科學會誌. 1991 ; 12(2) : 26-9.
35. 金貞娟, 宋勇善. 骨多孔症에 對한 東西醫學的 考察. 韓方再活醫學學會誌. 1996 ; 6(1) : 293-315.
36. 王琦, 李炳文, 邱德文, 王慶其, 彭榮琛. 黃帝內經 素問今釋. 서울 : 의성당. 1994 : 26-8, 126-7.
37. 이응세, 김혜경. 骨多孔症의 東醫學的 臨床文獻에 關한 考察. 韓方再活醫學學會誌. 1997 ; 7(1) : 437-56.
38. 洪元植. 精校黃帝內經素問. 서울 : 동양의학연구원출판부. 1995 : 11.
39. 이채훈, 이인선. 骨多孔症의 韓醫學的 治療에 對한 文獻的 考察. 東義韓醫研. 2000 ; 4 : 107-27.
40. 대한약침학회. 약침제재와 임상응용. 서울 : 대한약침학회. 1997 : 1-5.
41. 崔旼燮. 수침요법에 關한 高찰. 대한한의학회지. 1990 ; 11(1) : 315-6, 324-6.
42. Sakai, A., Nishida, S., Okimoto, N., Okazaki, Y., Hirono, T., Norimura, T., Suda, T., Nakamura, T.. Bone marrow cell development and trabecular bonedynamics after ovariectomy in ddY mice. Bone. 1998 ; 23 : 443-51.
43. Sakai, A., Sakata, T., Ikeda, S., Uchida, S., Okazaki, R., Norimura, T., Hori, M., Nakamura, T.. Intermitted administration of human parathyroid hormone (1-34) prevents immobilization-related bone loss by regulating bone marrow capacity for bone cells in ddY mice. J. Bone Miner. Res. 1999 ; 14 : 1691-9.
44. Dike N kalu, Bahran H arjmandi, Chung ching Liu, Mohammed A Salih and Roger S Birnbarum. Effects of ovariectomy and estrogen on the serum levels of insulin-like growth factor binding protein-3. Bone and mineral. 1994 ; 25 : 135-48.
45. Yamazaki I, Yamazaki H.. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. J Bone Mirer Res. 1989 ; 4(1) : 13-22.
46. 대한비만학회. 임상비만학. 제2판. 서울 : 고려의학. 2000 : 144, 205.
47. 한의부인과학 교재편찬위원회. 한의부인과학(상). 서울 : 도서출판 정담. 2001 : 38.
48. 이환모, 한수봉, 박병문. 백서의 난소제거술 후 발생한 골조송증에 대한 Calcitonin의 효과. 대한정형학회지. 1992 ; 27(2) : 577-82.
49. 김덕윤. 골형성의 생화학적 표지자. 대한골대사학회지. 1994 ; 1(1) : 233-9.
50. 이귀녕, 권오현. 임상병리과일. 서울 : 의학문화사. 2003 : 102-5, 300-8, 328-31, 425-7, 734-6.
51. H.A., Morris, S. J., Porter, T. C., Durbright, R. J., Moore, A. G., Need, B. E. C., Nordin. Effects of oophorectomy on biochemical and bone variable in the rat. Bone and Mineral. 1992 ; 18 : 133-42.
52. Slovik DM. Gundberg CM. Neer R. Clinical evaluation of bone turnover by serum osteocalcin measurment in a hospital setting. J Clin Endocrinol Metabl. 1994 ;

- 59 : 228-36.
53. Blak D, Duncan A, Robbins SP.. Quantitative analysis of the pyridinium crosslink of collagen in urine using on paired reverse D phase high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1998 ; 169 : 197-204.
54. 김홍열, 박혜은, 어완규. 수술적 폐경기 골감소증 여성에서 에스트로겐 요법과 F1 ucalcic Effervescent 병합치료 후 골대사 지표의 변화. *대한산부회지*. 2006 ; 49(4) : 874-81.
55. Arthur C. Guyton, M.D., John E. Hall, P h.D. *의학생리학*. 서울 : 정담. 2002 : 1050-3.
56. Yeh JK, Aloia JF, Barilla ML.. Effects of  $\beta$ -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bone of the ovariectomized rat. *Bone Miner*. 1994 ; 24(3) : 223-34.
57. Falahati-Nini A, Riggs BL, Atkinson E J, O'Fallon WM, Eastell R and Khosla S. Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J Clin invest*. 2000 ; 106 : 1533-60.