

加味逍遙散이 난소적출로 유발된 흰 쥐의 골다공증에 미치는 영향

상지대학교 한의과대학 부인과학 교실

박찬수, 손영주

ABSTRACT

A Study on the Effects of Gamisoyosan on Ovariectomized Osteoporosis in Rats

Chan-Soo Park, Young-Joo Sohn

Dept. of Gynecology, College of Oriental Medicine, Sangji Univ.

Purpose: Osteoporosis that occurred after menopause is one of the most common metabolic disease, and it is that bone mass significant decrease in comparison with normal people. Its symptoms are fracture, decrease of height, etc. The purpose of this study is to examine what are the effects of the *Gamisoyosan* on the aged ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis.

Methods: 24 female rats were ovariectomized and divided into normal group(normal), ovariectomized group(control), and treated with *Gamisoyosan* group(treated). During 8 weeks we dosed D.W to sham and control group, and dosed *Gamisoyosan*(105 mg/100 g) to experimental group. After 8 weeks we sacrificed rats and measured the body weight, albumin, P. Calcium, ALP, total cholesterol, triglyceride, AST, ALT, T4, estradiol, the femur weight, the tibia ash weight, trabecular bone area, trabecular thickness, osteoclast number.

Results: The level of serum albumin, calcium, AST, ALT, estradiol in *Gamisoyosan* group showed significant increase in comparison with control group. The level of serum triglyceride in *Gamisoyosan* group showed significant decrease in comparison with control group. Trabecular bone area and osteoclast number in *Gamisoyosan* group showed significant increase in comparison with control group.

Conclusions: Reviewing these experimental results, *Gamisoyosan* has shown to activate osteogenesis and prevent bone resorption, and it should show efficacy on prevention and improvement of osteoporosis after menopause.

Key Words: Osteoporosis, ovariectomized rat, *Gamisoyosan*, trabecular, osteoclast

I. 서론

골다공증은 뼈의 화학적 조성에 변화가 없이 단위 용적내 골량이 감소하는 질환으로^{1,2)}, 골조직이 엉성해져 뼈가 물러짐에 따라 골절 등을 주증상으로 하는 증후군으로 대사성 골질환 중 하나이다^{3,4)}. 골다공증의 원인에 대해서는 명확히 알려져 있지 않으나, 골다공증의 치료목표는 유발인자를 제거해 주어 골흡수를 억제하고, 골형성을 촉진하여 감소된 골량을 회복시키는 것이라고 할 수 있다⁵⁾.

골다공증은 그 발생 원인과 임상 특징에 따라 크게 일차성 골다공증과 이차성 골다공증으로 나누어지는데 일차성 골다공증은 다시 제1형(폐경후 골다공증)과 제2형(노인성 골다공증)으로 분류되고, 이차성 골다공증은 주로 그 원인이 확인될 수 있는 경우를 의미한다⁶⁾.

한의학 문헌에서 골다공증에 대한 직접적인 병명은 찾아볼 수는 없으나 그 병인병기와 임상증상으로 보아 骨痿, 骨痹 등의 범주에 속한다고 알려져 있고⁷⁾, 증상에 따라 腎陰虛, 腎陽虛, 肝腎虧虛, 脾胃氣虛, 氣滯血瘀, 氣血兩虛 등으로 辨證될 수 있는데 주된 병인병기는 腎虛로 보고 補腎의 처방을 가장 많이 활용하고 있으며⁸⁾ 최근까지 골다공증에 대한 한의학적 연구 성과도 주로 補腎의 치료 효과에 대한 보고가 대부분이다⁹⁻¹¹⁾.

한편, 加味逍遙散은 疏肝解鬱, 健脾補血, 調經, 清熱涼血에 주로 쓰이는 처방¹²⁾으로 부인과 질환 치료에 많이 사용되는데¹³⁾, 그 중 갱년기 장애 증상의 치료와 관련하여 유의한 결과가 보고된 바 있다¹⁴⁾. 그러나 현재까지 갱년기 증상 에 대한 치료에 다용되는 加味逍遙散이 폐

경기 후 골다공증에 미치는 영향에 대한 연구는 보고된 바 없었다. 이에 저자는 폐경기 이후의 estrogen부족 상태를 유발시킨 난소적출 모델을 이용하여^{15,16)} 加味逍遙散투여가 골다공증에 미치는 효과를 알아보기 위하여 혈청에서 albumin, calcium, phosphorus(P), alkaline phosphatase(ALP), total cholesterol, triglyceride, aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase (ALT), tetraiodothyronine(T4), estradiol 등의 변화와 대퇴골의 무게, 경골의 회분함량, 골소주의 두께, 골소주의 면적, osteoclast 수를 측정된 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험 방법

1. 재 료

1) 실험동물

실험동물은 오리엔트(주)에서 구입한 7주령, 약 170 g 전후의 Sprague-Dawley(SD)계 암컷 흰쥐를 사용하였으며 온도 21-23°C, 습도 40-60%, 낮과 밤의 주기는 각각 12시간으로 하였다. 모든 실험 동물은 실험실 환경에서 1주일 간 동안 적응시킨 후 사용하였다.

2) 검액의 제조

본 실험에 사용한 약재는 醫方集解¹⁷⁾에 수록된 加味逍遙散 처방에 따른 구성 약물로서 시중에서 엄선된 약재만을 구입하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 약재의 내용과 1첩의 분량은 아래와 같다(Table 1). 加味逍遙散 300 g을 3,000 ml의 증류수와 함께 냉각기가 부착된 전탕기에서 2시간 동안 가열하였다. 이를 다시 여과지로 여과한 다음 여

과액을 vacuum rotary evaporator에서 수득율을 얻었다.
 감압 농축한 후 동결건조하여 20.9%의

Table 1. Contents of Gamisoyosan.

Herbal name	Scientific name	Weight(g)
當歸炒(土當歸)	ANGELICAE GIGANTIS RADIX	4 g
茯苓	SMILACIS GLABRAE RHIZOMA	4 g
芍藥酒炒	PAEONIAE RADIX ALBA	4 g
柴胡(元柴胡)	BUPLEURI RADIX	4 g
白朮炒	ATRACTYLODIS MACROCEPHALAE RHIZOMA	4 g
甘草	GLYCYRRHIZAE RADIX	2 g
牡丹皮	MOUTAN CORTEX	2 g
山梔炒	GARDENIAE FRUCTUS	2 g
乾薑	ZINGIBERIS RHIZOMA	2 g
薄荷	MENTHAE HERBA	2 g
		30 g

3) 실험군의 분류

SD rat의 골다공증 유발 실험을 위한 분류는 다음과 같다. 수술을 하지 않은 정상군과, 난소를 적출한 대조군, 난소적출 후 加味逍遙散을 투여한 실험군으로 분류하였으며, 실험동물의 모든 군은 각각 8마리로 수행하였다.

2. 방 법

1) 골다공증의 수술 및 검액 투여

흰쥐 한 마리당 350 mg/kg의 chloral hydrate를 복강주사하여 전신 마취시킨 후 등쪽의 털을 제거하였다. 수술할 부위를 알코올로 소독한 다음, 피부를 절개하여 양측 난소를 적출한 후 봉합하였다. 난소 적출 2일 후부터 8주가 되는 날까지 매일 1회 흰쥐 체중 100 g당 105 mg/ml의 加味逍遙散을 투여하였고, 정상군과 대조군에는 동량의 물을 투여하였다.

2) 체중 측정

난소적출 직전과 난소적출 후 그리고 매주 2회씩 8주 동안 전자저울을 사용하여 측정하였다.

3) 채혈 및 혈액분석

난소적출 후 8주째 되는 날 SD-rat을 마취시켜 우심실에서 혈액을 채취한 후 2,000 rpm, 4℃, 10분 동안 원심 분리하였다. Albumin, calcium, P, ALP, total cholesterol, triglyceride, AST, ALT, T4, estradiol의 정량은 한국의과학연구소에 의뢰하였다.

4) 대퇴골 무게와 경골의 회분 함량 측정

수술 8주 후 동물을 희생시키고 양측 대퇴골과 경골을 적출하여 결합조직을 깨끗하게 정리한 후 각각의 중량을 측정하였으며, 경골은 회분 함량을 측정하기 위하여 900℃ 회화로에서 24시간 동안 완전히 회화시킨 다음 충분히 식힌 후 ash의 무게를 측정하였다.

5) 조직 화학적 염색

왼쪽 대퇴골은 neutral buffered formalin (NBF)에 1일간 고정한 후 수세, 탈지한 후 2주간 formic acid로 탈회하였으며, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀을 포맷하였다. 조직은 4 um로 절편하여 hematoxylin and eosin 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

6) 대퇴골 조직의 관찰

Hematoxylin and eosin 염색을 한 조직을 40배로 capture 후 각각의 근위부에서 성장판의 직하부 부분중 가로변의 길이가 성장판 길이의 2/3 정도 되는 길이로 하는 기준면적 $0.4126702 \times 10^7 \mu\text{m}^2$ 인 부분을 NIH image 1.62를 이용하여 골소주 면적, 골소주 두께를 측정하였다. Osteoclast의 수는 각각의 근위부에서 성장판의 직하부 부분 중 가로변의 길이가 성장판 길이의 2/3 정도 되는 부근까지 200배 시야에서 개수를 측정하였다.

3. 통계처리

실험결과는 통계 프로그램 SPSS® for windows (version 10.0, SPSS, Inc., Chicago, U.S.A.)를 사용하여 지표의 수치를 비교할 경우 oneway ANOVA를 실시하였으며, 유의수준 P value<0.05인 경우 유의성이 있다고 평가하였고 post hoc test로서 Scheffe's test를 시행하였다.

III. 실험 성적

1. 체중 변화

난소 적출 8주 후의 평균체중 변화는 정상군(Normal)이 214.50±5.95 g에서 282.75±9.71 g으로 대조군(OVX)이 205.29±1.43 g에서

335.86±7.73 g으로 加味逍遙散군(GMS)이 202.88±2.11 g에서 340.25±6.63 g으로 증가하였다. 대조군은 정상군에 비해 유의하게(P<0.001) 증가하였으며, 加味逍遙散군은 대조군과 별 차이를 보이지 않았다(Fig. 1, Table 2).

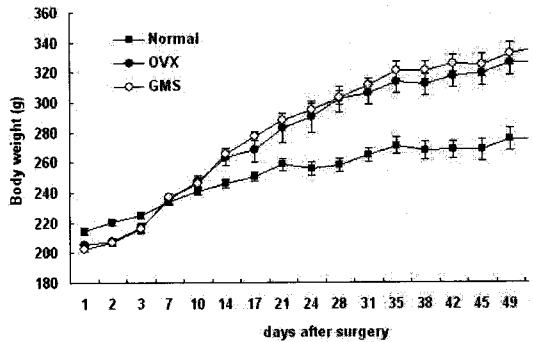


Fig. 1. Effect of Gamisoyosan on body weight(g) of ovariectomized rats. Each point represents the mean value±s.e (n=8) Normal: non-treated group. OVX: administrated with dextrose in distilled water(D.W) (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats. GMS: administrated with Gamisoyosan (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

Table 2. Effect of Gamisoyosan on body weight(g) of ovariectomized rats.

Groups	First day	After 8 weeks
Normal	214.50±5.95	282.75±9.71
OVX	205.29±1.43	335.86±7.73***
GMS	202.88±2.11	340.25±6.63

Normal: non-treated group. OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats. GMS: administrated with Gamisoyosan (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats. Data are expressed as mean±S.E *** P<0.001 : significantly different from normal group.

2. 혈액성분의 변화

1) Albumin

Albumin은 정상군이 4.10 ± 0.12 g/dL, 대조군이 3.66 ± 0.07 g/dL로 정상군에 비해 유의하게 ($P < 0.05$) 감소하였으며, 加味逍遙散군은 3.85 ± 0.05 g/dL로 대조군에 비해 유의하게 ($P < 0.05$) 증가하였다 (Fig. 2, Table 3).

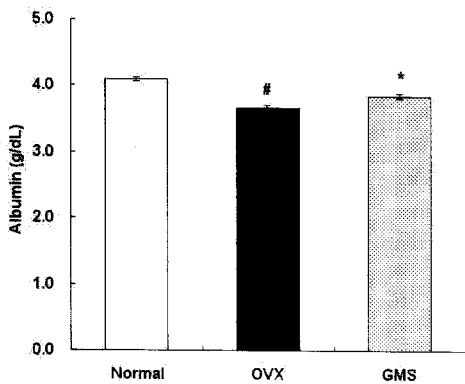


Fig. 2. Effect of *Gamisoyosan* on albumin(g/dL) of ovariectomized rats. Normal: non-treated group. OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats. GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats. # $P < 0.01$: significantly different from normal group. * $P < 0.01$: significantly different from OVX group.

2) Calcium

Calcium은 정상군이 10.75 ± 0.12 mg/dL, 대조군이 10.06 ± 0.16 mg/dL으로 정상군에 비해 유의하게 ($P < 0.01$) 감소하였으며, 加味逍遙散군은 10.46 ± 0.09 mg/dL로 대조군에 비해 유의하게 ($P < 0.05$) 증가하였다 (Fig. 3, Table 3).

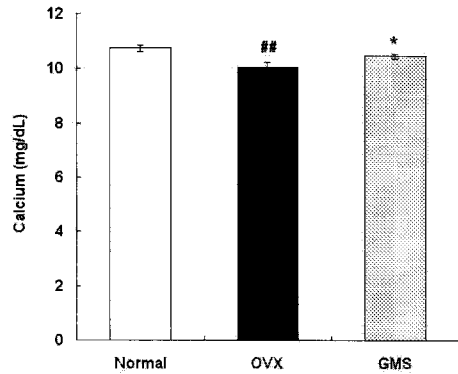


Fig. 3. Effect of *Gamisoyosan* on calcium(mg/dL) of ovariectomized rats. Normal: non-treated group. OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats. GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats. ## $P < 0.01$: significantly different from normal group. * $P < 0.05$: significantly different from OVX group.

3) P

P는 정상군이 6.23 ± 0.15 mg/dL, 대조군이 5.26 ± 0.35 mg/dL로 정상군에 비해 유의하게 ($P < 0.05$) 감소하였으며, 加味逍遙散군은 5.98 ± 0.25 mg/dL로 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다 (Table 3).

4) ALP

ALP는 정상군이 184.25 ± 32.07 U/L, 대조군이 179.71 ± 16.87 U/L, 加味逍遙散군이 199.25 ± 19.47 U/L로 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다 (Table 3).

5) Total cholesterol

Total cholesterol은 정상군이 80.50 ± 3.48 mg/dL, 대조군이 108.29 ± 7.03 mg/dL로 정상군에 비해 유의하게 ($P < 0.01$) 증가하였으며, 加味逍遙散군은 113.75 ± 5.94 mg/dL로 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다 (Table 3).

6) Triglyceride

Triglyceride는 정상군이 114.50±14.54 mg/dL, 대조군은 39.57±3.25 mg/dL로 정상군에 비해 유의하게(P<0.001) 감소하였으며, 加味逍遙散군은 30.13±2.52 mg/dL로 대조군에 비해 유의하게(P<0.05) 감소하였다(Fig. 4, Table 3).

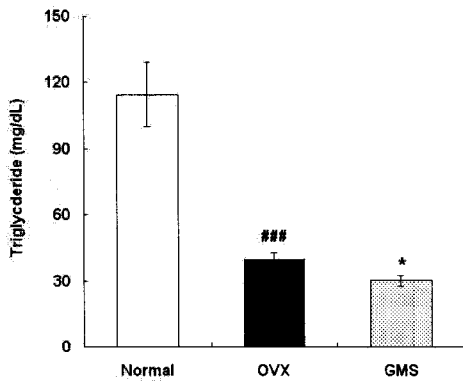


Fig. 4. Effect of *Gamisoyosan* on triglyceride(mg/dL) of ovariectomized rats.

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

P<0.001 : significantly different from normal group.

* P<0.05 : significantly different from OVX group.

7) AST

AST는 정상군이 115.25±16.98 IU/L, 대조군이 121.71±14.89 IU/L, 加味逍遙散군은 167.25±10.76 IU/L으로 대조군에 비해 유의하게(P<0.05) 증가하였다(Table 3).

8) ALT

ALT는 정상군이 58.00±13.06 IU/L, 대조군이 52.57±5.62 IU/L, 加味逍遙散

군이 87.75±11.94 IU/L로 대조군에 유의하게(P<0.05) 증가하였다(Table 3).

9) T4

T4는 정상군이 1.35±0.06 µg/dL, 대조군이 1.83±0.14 µg/dL로 정상군에 비해 유의하게(P<0.01) 증가하였으며, 加味逍遙散군은 1.73±0.08 µg/dL로 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였다(Table 3).

10) Estradiol

Estradiol은 정상군이 14.73±0.30 pg/dL, 대조군이 9.30±0.23 pg/dL로 정상군에 비해 유의하게(P<0.001) 감소하였으며, 加味逍遙散군은 10.85±0.48 pg/dL로 대조군에 비해 유의하게(P<0.05) 증가하였다(Fig. 5, Table 3).

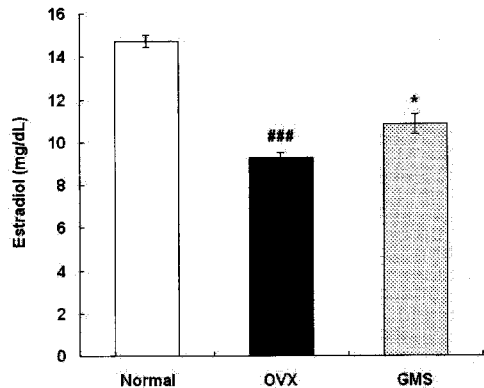


Fig. 5. Effect of *Gamisoyosan* on estradiol(pg/dL) of ovariectomized rats.

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

P<0.001 : significantly different from normal group.

* P<0.05 : significantly different from OVX group.

Table 3. Effects of *Gamisoyosan* on serum parameters of ovariectomized rats.

	Normal	OVX	GMS
Albumin (g/dL)	4.10±0.12	3.66±0.07 [#]	3.85±0.05*
Calcium (mg/dL)	10.75±0.12	10.06±0.16 ^{##}	10.46±0.09*
P (mg/dL)	6.23±0.15	5.26±0.35 [#]	5.98±0.25
ALP (U/L)	184.25±32.07	179.71±16.87	199.25±19.47
Total cholesterol (mg/dL)	80.50±3.48	108.29±7.03 ^{##}	113.75±5.94
Triglyceride (mg/dL)	114.50±14.54	39.57±3.25 ^{###}	30.13±2.52*
AST (IU/L)	115.25±16.98	121.71±14.89	167.25±10.76*
ALT (IU/L)	58.00±13.06	52.57±5.62	87.75±11.94*
T4 (μg/dL)	1.35±0.06	1.83±0.14 [#]	1.73±0.08
Estadiol (pg/dL)	14.73±0.30	9.30±0.23 ^{###}	10.85±0.48*

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage in ovariectomized rats.

Data are expressed as mean±S.E

P<0.05, ## P<0.01, ### P<0.001 : significantly different from normal group.

* P<0.05 : significantly different from OVX group

3. 대퇴골의 무게

대퇴골의 무게는 정상군에서 1.572±0.030 g, 대조군이 1.674±0.049 g, 加味逍遙散군이 1.660±0.035 g으로 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다(Fig. 6, Table 4).

4. 경골의 회분함량

경골의 회분 함량은 정상군에서 0.2524±0.0048 g, 대조군이 0.2647±0.0087 g, 加味逍遙散군이 0.2692±0.0051 g으로 대조군에 비해 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 7, Table 5).

5. 골소주의 두께

골소주 두께는 정상군이 118.61±5.31 μm, 대조군이 96.23±2.32 μm로 정상군에 비해 유의하게(P<0.01) 감소하였으며, 加味逍遙散군은 120.78±6.65 μm로 대조군에 비

해 유의하게(P<0.01) 증가하였다(Fig. 8, Table 6).

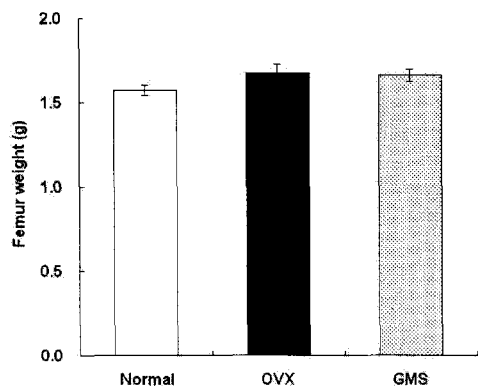


Fig. 6. Effect of *Gamisoyosan* on femur weight of ovariectomized rats.

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 in ovariectomized rats.

Table 4. Effect of *Gamisoyosan* on femur weight(g) of ovariectomized rats.

	Left femur(g)	Right femur(g)	Entire femur(g)
Normal	0.786±0.009	0.786±0.021	1.572±0.030
OVX	0.842±0.026	0.832±0.024	1.674±0.049
GMS	0.832±0.017	0.828±0.019	1.660±0.035

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

Data are expressed as mean±S.E

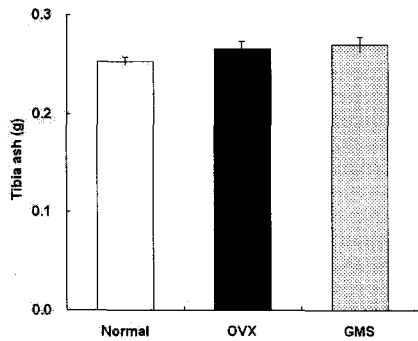


Fig. 7. Effect of *Gamisoyosan* on tibia ash weight(g) of ovariectomized rats.

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

Table 5. Effect of *Gamisoyosan* on tibia ash weight(g) of ovariectomized rats.

	Tibia ash weight(g)
Normal	0.2524±0.0048
OVX	0.2647±0.0087
GMS	0.2692±0.0080

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

Data are expressed as mean±S.E

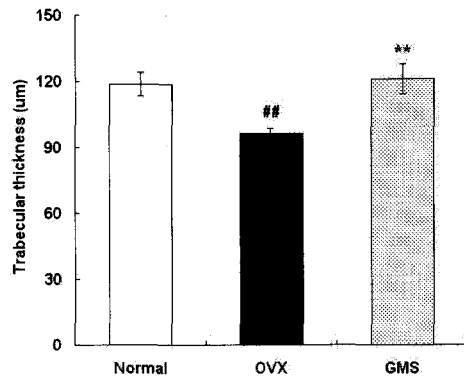


Fig. 8. Effect of *Gamisoyosan* on the trabecular thickness(µm) of ovariectomized rats.

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

P<0.01 : significantly different from normal group.

** P<0.001 : significantly different from OVX group.

Table 6. Effect of *Gamisoyosan* on the trabecular thickness(μm) of ovariectomized rats.

	Trabecular thickness (μm)
Normal	118.61 \pm 5.31
OVX	96.23 \pm 2.32 ^{##}
GMS	120.78 \pm 6.65 ^{**}

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

Data are expressed as mean \pm S.E

P<0.01 : significantly different from normal group.

** P<0.001 : significantly different from OVX group.

6. 골소주의 면적

골소주 면적은 정상군이 71.14 \pm 3.35%, 대조군이 56.02 \pm 0.47%로 정상군에 비해 유의하게(P<0.001) 감소하였으며, 加味逍遙散군은 59.16 \pm 1.62%로 대조군에 비

해 유의하게(P<0.01) 증가하는 경향을 보였다(Fig. 9, 10 and Table 7).

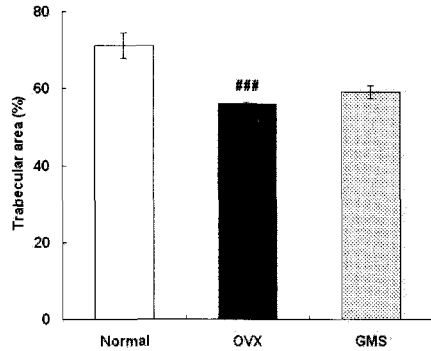


Fig. 9. Effect of *Gamisoyosan* on the trabecular area(%) of ovariectomized rats. Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

P<0.001 : significantly different from normal group.

** P<0.01 : significantly different from OVX group.

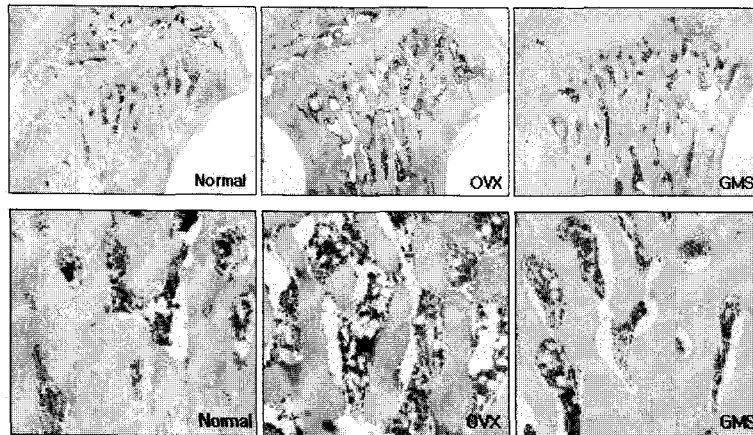


Fig. 10. Schematic representation of trabecular area.

Normal: non-treated group.

OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.

Table 7. Effect of *Gamisoyosan* on the trabecular area(%) of ovariectomized rats.

	Trabecular area (%)
Normal	71.14±3.35
OVX	56.02±0.47 ^{###}
GMS	59.16±1.62

Normal: non-treated group.
 OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.
 GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.
 Data are expressed as mean±S.E
^{###} P<0.001 : significantly different from normal group.
^{**} P<0.01 : significantly different from OVX group.

7. Osteoclast의 개수

Osteoclast의 개수는 정상군이 0.37±0.07 No/mm, 대조군이 0.56±0.07 No/mm로 정상군에 비해 증가하였으며, 加味逍遙散군은 0.31±0.05 No/mm로 대조군에 비해 유의하게(P<0.01) 감소하였다(Fig. 11, Table 8).

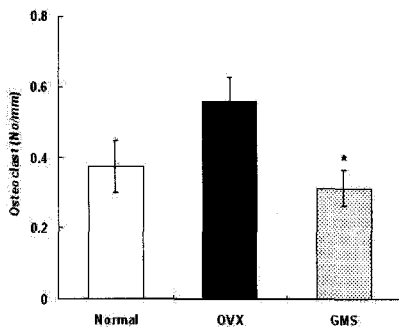


Fig. 11. Effect of *Gamisoyosan* on osteoclast number of ovariectomized rats.
 Normal: non-treated group.
 OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.
 GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks

in ovariectomized rats.
^{*} P<0.05 : significantly different from OVX group.

Table 8. Effect of *Gamisoyosan* on the osteoclast number of ovariectomized rats.

	Osteoclast (No/mm)
Normal	0.37±0.07
OVX	0.56±0.07
GMS	0.31±0.05 [*]

Normal: non-treated group.
 OVX: administrated with D.W (1 ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.
 GMS: administrated with *Gamisoyosan* (105 mg/1ml) daily by oral gavage for 8 weeks in ovariectomized rats.
 Data are expressed as mean±S.E
^{*} P<0.01 : significantly different from OVX group.

IV. 고 찰

골다공증은 뼈의 화학적 조성에 변화가 없이 골량이 병적으로 감소된 상태로 뼈의 무기질과 단백질이 줄어들어 골조직이 엉성해지고 뼈가 물러지는 현상이며^{3,4)}, 골의 동통, 요통 및 척추의 압박골절 등이 발생하며 그 외 대퇴경부 골절, 요골 원위부 골절, 상완골 골절 및 늑골 골절이 잘 나타나고 신장이 감소하기도 한다⁴⁾.

골다공증의 원인에 대해서 명확히 알려져 있는 것은 없으나, 칼슘 부족설, 인 및 단백질 결핍설, estrogen 결핍설, Vit.D 결핍설, calcitonin 결핍설 등이 있다¹⁸⁻²⁰⁾. 따라서 골다공증의 치료는 골다공증의 유발인자를 제거해 주는 한편, 골흡수를 억제하고, 골형성을 촉진하여 감소된 골량을 회복시키는 것이라고 할

수 있으며 현재 활용되고 있는 골다공증 치료법으로는 운동 및 생활습관의 변화를 요구하는 일반요법^{21,22)}과 칼슘제제와 비타민D, estrogen, calcitonin, bisphosphate²³⁾, fluoride²⁴⁾를 투여하는 약물요법이 있다. 호르몬 보충 요법은 골다공증에서 5~7년 이상 시행하며 복용이 용이하고 피질골에 비해 해면골에서의 골밀도 증가가 크다는 장점이 있으나⁶⁾ 장기간 활용할 경우 관상동맥질환, 뇌일혈, 유방암, 혈전색전증, 당뇨병, 자궁내부암등을 유발시킨다는 연구 결과들이 보고되고 있다^{25,26)}.

加味逍遙散은 丹梔逍遙散이라는 이름으로 明代 薛己의 內科摘要²⁷⁾에서 최초로 보이며 當歸, 白茯苓, 白芍藥, 白朮, 柴胡, 牡丹皮, 梔子, 甘草, 乾薑, 薄荷로 구성되어 있어¹⁷⁾ 자율신경실조증, 갱년기 증상, 월경곤란증 등의 부인과 질환에 활용된다¹²⁾. 최근 加味逍遙散이 갱년기 증상의 치료에 유의한 결과가 있다고 보고된 바¹⁴⁾ 있으나 estrogen 부족상태에서 발생하는 골다공증에 미치는 영향에 관한 연구는 아직까지 없었다.

골다공증 모델은 Saville²⁸⁾이 흰쥐에서 난소를 적출하여 골다공증을 유발시킨 이후로 연구에 많이 사용하고 있는데 흰쥐의 난소를 제거하면 피질골과 해면골의 교체현상이 증가하여 골다공증이 유발된다는 연구 보고가 있다. 또한 Kalu²⁹⁾의 연구에서 폐경기 여성의 골소실에 대한 연구에 있어 난소적출술을 시행한 백서의 골소실 모델이 적합하다고 보고하였다. 이에 加味逍遙散이 난소를 적출한 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향을 알아보기 위해, 골다공증 유발 모델에 加味逍遙散을 8주간 구강 투여한 후

체중 변화와 혈액에서의 albumin, calcium, P, ALP, total cholesterol, triglyceride, AST, ALT, T4, estradiol 등의 변화와 조직에서의 골소주 두께, 골소주 면적, osteoclast의 수 등을 관찰하였다.

Albumin의 생리적 의의는 전신의 조직, 세포의 영양단백의 공급원 외에 기타 금속이온, bilirubin, 지방산, vitamin, hormone, 약물 등 각종 성분을 결합, 운반하여 세포로 운반하고 불필요한 것을 제거하는 역할을 담당하고 있다. Albumin과 결합하여 운반되는 물질로서 calcium, P, sulfur(S) 등 전해질과 갑상선 호르몬 등을 들 수 있는데 albumin농도가 낮아지면 제반기능이 떨어지게 된다³⁰⁾. 본 실험에서는 혈청중 albumin의 농도는 정상군에 비해 대조군에서 유의하게 감소하였으며, 加味逍遙散군은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.

Calcium은 평균 성인의 체내에선 약 1-2 kg이 있으며 98% 이상이 골격 내에 있다^{30,31)}. 혈중 calcium 농도의 변화는 뼈에 존재하는 calcium의 영향을 받게 되고, 난소 적출로 인한 골교체율의 증가는 골질의 감소를 초래하여 혈청 calcium의 상승을 가져오게 하므로³²⁾ 혈청중 calcium의 변화는 골흡수와 연관이 있다. 이번 실험에서 혈청중 calcium의 농도는 대조군이 정상군에 비해 유의하게 감소하였으며, 加味逍遙散군의 calcium은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. P의 80-85%는 골과 치아에 존재하는데 P의 대사는 칼슘대사와 밀접하여 골흡수시 calcium과 더불어 감소되고 혈청중 calcium과 P의 농도는 상승한다³³⁾. 이번 실험에서 혈청중 P의 농도는 대조군이 정상군에 비해 유의하게 감소하였으며,

加味逍遙散군의 P는 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다. 이는 加味逍遙散이 골흡수를 억제하여 calcium과 P가 증가한 것으로 사료된다.

ALP는 골대사율이 높을 때 즉 골흡수와 함께 골재형성이 활발할 때 농도가 증가되는 골재형성 활동의 유용한 지표¹⁸⁾로 주로 간 및 뼈에서 유래하여 간질환이나 골질환에서 혈중 농도가 높아지며³⁴⁾ 난소적출 후 활성이 증가한다³³⁾. 본 실험에서의 ALP활성도는 加味逍遙散군이 대조군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었다.

Triglyceride와 cholesterol은 혈청내 지질로서 중요한 세포기능을 가지고 있으며 주로 간에서 합성되며 혈청내 cholesterol의 증가는 관상동맥 심질환의 위험율을 높인다³⁴⁾. 그러므로 폐경 후 여성이나 난소를 적출한 여성에게 투여될 약물은 혈청내 지질을 증가시키지 않아야 한다. 본 실험에서 혈청중 total cholesterol과 triglyceride의 농도는 대조군이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며, 加味逍遙散군의 total cholesterol은 대조군에 비해 증가하는 경향을, triglyceride는 감소하는 경향을 나타내었다.

AST, ALT는 간세포가 손상되면 혈청중 농도가 상승하므로 간계질환의 지표가 된다³⁰⁾. 이 효소들은 거의 모든 장기에 존재하며 이 중 AST는 심장, 간, 골격, 혈구내에 주로 존재하고 ALT는 주로 간에 분포한다³⁴⁾. AST는 심근경색이나 근육질환의 경우에도 증가하나, ALT는 간세포 손상시 특이하게 상승하므로 간세포의 손상에 의한 상관성이 AST보다 높다³⁵⁾. 본 실험에서는 加味逍遙散을 장기간 투여하였을 경우 나타날 수 있는

간장에 대한 영향을 살피기 위해 혈청중의 AST, ALT도 측정하였으며, 그 결과 加味逍遙散군이 대조군에 비해 AST, ALT가 유의하게 증가하였다. 그러나 이는 8주 동안의 실험결과로 인한 것이므로 향후 加味逍遙散 투여의 용량 및 기간 등을 다르게 한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

갑상선 호르몬에는 T4와 triiodothyronine (T3)의 2종류가 있는데, 정상인의 T4는 100% 갑상선에서 생성되며 갑상선 호르몬이 골밀도를 감소시키는 기전은 갑상선 호르몬이 직접 골흡수에 작용하여 혈액내로 calcium의 분비를 증가시키는 것이며 갑상선 호르몬에 의한 osteoclast의 골흡수 작용은 골아세포가 매개하는 것으로 알려져 있으며 갑상선기능항진증에서는 골흡수가 골형성을 능가하기 때문에 골량이 감소하여 골다공증이 생긴다^{36,37)}. 加味逍遙散이 갑상선 호르몬 유리에 미치는 영향을 알아본 결과 혈청중 T4의 농도는 정상군에 비해 대조군이 유의하게 증가하였으나, 加味逍遙散군은 대조군에 비하여 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과로 볼 때 加味逍遙散이 갑상선 호르몬의 분비를 감소시켜 골흡수를 억제하는 기능과 관련이 있을 것으로 생각된다.

Estradiol은 폐경 이전의 여성에서 가장 흔한 estrogen으로 난소의 기능을 보다 정확하게 반영하며 폐경 전에 난소를 제거하면 혈중 estradiol은 급격히 감소한다³⁴⁾. 본 실험 결과 혈청중 estradiol의 농도는 대조군이 정상군에 비해 유의하게 감소하였으며, 加味逍遙散군의 estradiol은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 이는 加味逍遙散이 난소적출후의 estradiol

기능 보강과 관련이 있는 결과로 사료된다.

골회분량은 무기질의 함량을 반영하는데 estrogen감소시에 calcium과 P의 대사에 영향을 미쳐 골밀도가 저하되고 골회분량이 저하된다³⁸⁾. 난소를 적출한 쥐에서는 대퇴골의 ash weight가 감소하고³⁹⁾, 골질량과 골강도가 현저하게 감소하게 되며, 골소주 용적이 유의하게 감소된다⁴⁰⁾. 본 실험에서 골의 변화를 살펴본 결과 tibia ash는 加味逍遙散군이 대조군에 비해 증가하는 경향을 나타냈으며 대퇴골 무게는 대조군과 거의 차이가 없었다. 골소주 두께와 골소주 면적은 加味逍遙散군이 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, 加味逍遙散의 osteoclast의 수는 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며 이는 加味逍遙散이 골질량의 회복과 관련이 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때, 난소를 적출한 흰쥐에 대한 加味逍遙散의 투여는 혈청에서는 albumin, calcium, estradiol의 유의한 증가로 난포호르몬의 기능을 보강시켜준다는 것을 확인하였으며, 더 나아가 경골의 회분함량 증가, 골소주 두께와 골소주 면적의 유의한 증가와 osteoclast 수의 유의한 감소결과로 加味逍遙散의 투여가 골질량을 회복시켜준다는 것으로 나타나 향후 加味逍遙散이 폐경 후 골다공증의 치료 및 예방에 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 加味逍遙散 투여시 AST와 ALT가 증가하는 경향이 있어 향후 이에 관한 연구가 더 필요할 것으로 사료되며 본 연구에서는 골다공증 유발 흰쥐에 加味逍遙散을 8주간 구강 투여하여 실험하였으나 장기간의 치료에 의한 골밀도 변화에

대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

加味逍遙散의 투여가 난소를 적출하여 골다공증이 유발된 흰쥐에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 혈청중 albumin, calcium, P, ALP, total cholesterol, triglyceride, AST, ALT, T4, estradiol의 농도, 대퇴골의 무게, 경골의 회분함량, 골소주의 면적, 두께, osteoclast의 개수를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중은 대조군과 加味逍遙散군이 정상군에 비하여 통계적으로 유의한 체중증가를 보였으며, 대조군과 加味逍遙散군간의 차이는 없었다.
2. 혈청내 성분중 albumin, calcium, AST, ALT, estradiol의 함량은 加味逍遙散군이 대조군에 비하여 유의하게 증가하였고, triglyceride는 유의하게 감소하였다. ALP와 total cholesterol, P, calcium은 加味逍遙散이 대조군에 비해 증가하는 경향성을, T4는 감소하는 경향성을 나타냈으나 유의성은 없었다.
3. 골의 변화를 살펴본 결과, 대퇴골의 무게는 加味逍遙散군이 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였고, 경골의 회분함량은 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다.
4. 골의 조직학적 변화는 골소주 면적과 두께는 加味逍遙散군이 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며 osteoclast의 개수는 加味逍遙散군이 대조군에

비해 유의하게 감소하였다.

이상의 결과 加味逍遙散이 골형성을 촉진하고, 골흡수를 방지함으로써 폐경기 후 골다공증의 예방 및 개선에 효과적일 것으로 생각된다.

□ 투 고 일 : 2008년 1월 23일

□ 심 사 일 : 2008년 1월 28일

□ 심사완료일 : 2008년 2월 01일

참고문헌

1. 대한병리학회. 병리학. 서울: 고문사. 1990:1177-1185.
2. 대한정형외과학회. 정형외과학. 서울: 최신의학사. 1992:13-14. 81-82.
3. 지제근. 의학용어큰사전. 아카데미아. 2004:1281-1282.
4. 한방재활의학과학회. 한방재활의학과학. 군자출판사. 2005:168.
5. 이동선, 변상요. 두충조성물이 골다공증에 미치는 효과. 한국생물공학회. 2001:16(6):614-619.
6. 구병삼. 임상 부인과 내분비학. 고려의학. 2001:232-247.
7. 김희진, 이태균. 폐경기골다공증에 관한 문헌적 고찰. 대한부인과학회지. 1998;11(1):131-148.
8. 강성길, 박영배, 안현식. 骨多孔症의 鍼灸治療에 관한 文獻的 考察. 대한침구학회지. 1995;15(2):171-189.
9. 김덕님 등. 滋陰八味煎이 난소적출 백서의 골다공증에 미치는 영향. 대한부인과학회지. 2005;18(2):12-25.
10. 이정재 등. 當歸地黃飲이 난소적출 백서의 골다공증에 미치는 영향. 대한부인과학회지. 2004;17(1):111-128.
11. 최진경, 유동열. 加味左歸飲이 난소적출로 유도된 백서의 골다공증에 미치는 영향. 대한부인과학회지. 2006;19(2):107-126.
12. 李尙仁. 天真處方解說. 서울: 成輔社. 1987:239-243.
13. 신재용. 방약합편해설. 서울: 成輔社. 1988:236-237, 287.
14. 신경숙 등. 단치소요산이 갱년기 장애에 미치는 효능에 관한 임상보고. 대한부인과학회지. 2003;16(4):77-82.
15. Halici Z et al. Protective effects of amlodipine and lacidipine on ovariectomy-induced bone loss in rats. Eur J Pharmacol. 2007:Oct 3.
16. Om AS, Shim JY. Effect of daidzein, a soy isoflavone, on bone metabolism in Cd-treated ovariectomized rats. Acta biochimica Polonica. 2007;54(3):641-646.
17. 汪昂 原著. 蔡仁植, 孟華燮 共譯. 醫方集解. 서울: 大成文化社. 1984:219-222.
18. 대한골대사학회. 골다공증(골조송증). 서울: 최신의학사. 1991:3-79.
19. 아주대학교 갱년기연구회. 최신갱년기 관리. 서울: 연구사. 1996:109-146.
20. 교과서편찬위원회. 부인과학(제3판). 서울: 칼빈서적. 1991:330-331.
21. 이동선, 변상요. 두충조성물이 골다공증에 미치는 효과. 한국생물공학회. 2001:16(6):614-619.
22. Shin C, Joung Bj. The effect of regular exercise on bone mineral density(BMD). In. 2001 seoul international sport science congress:

- 2001:23-25.
23. 강세훈. *오늘의 진단 및 치료*. 서울: 도서출판 한우리. 1999:1295-1296.
 24. 조수현. 폐경과 골다공증. *대한의학 협회지*. 1992:35(5):587-598.
 25. Lane JM, Vigorita VJ. Current concepts review osteoporosis. *Bone and Joint Surg*. 1983;Feb:65(2):274-8.
 26. Li R et al. Hormone replacement therapy and breast carcinoma risk in hispanic and non-hispanic women. *Cancer*. 2002;95(5):960-968.
 27. 薛己. *内科摘要*. 中醫古籍出版社. 2006:135.
 28. Aitken JM, Armstrong E, Anderson JB. Osteoporosis after oophorectomy in the mature female rat and the effect of oestrogen and-or progestogen replacement therapy in its prevention. *The Journal of endocrinology*. 1972:55(1):79-87.
 29. Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral*. 1991:15(3):175-191.
 30. 이귀녕, 이종순. *임상병리과일*. 서울: 의학문화사. 1993:278-282.
 31. 해리슨번역편찬위원회. *HARRISON'S 내과학*. 서울: 정담출판사. 1997:2310-2348.
 32. Yeh JK, Aloia JF, Barilla ML. Effects of 17 beta-estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bones of the ovariectomized rat. *Bone Miner*. 1994:24(3):223-224.
 33. Morris HA et al. Effect of oophorectomy on biochemical and bone variables in the rat. *Bone Miner*. 1992:18(2):133-142.
 34. *대한진단검사의학회 편. 진단검사의학, 고려의학*. 2001:61-141.
 35. 전국한의과대학 간계내과학교수. *간계내과학*. 동양의학연구원. 1991:210-219.
 36. Britto JM et al. Osteoblasts mediate thyroid hormone stimulation of osteoclastic bone resorption. *Endocrinology*. 1994:134(1):169-176.
 37. Mundy GR et al. Direct stimulation of bone resorption by thyroid hormones. *The Journal of Clinical Investigation*. 1976:58(3):529-534.
 38. 蔡新吉. 腎虛證患者骨礦物質含量改變的初步的探討. *中國中西醫結合雜誌*. 1994:154.
 39. 정국영 등. 삼수가 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향. *대한본초학회지*. 2003:18(4):12-23.
 40. Durbridge TC et al. Progressive cancellous bone loss in rats after adrenaectomy and oophorectomy. *Calcif Tissue Int*. 1990:47(6):383-387.