

갱년기 유도 흰쥐에서 감태 추출물이 골 대사 지표물질의 변화에 미치는 영향

강성림 · 김미향*

신라대학교 식품영양학과

Received November 6, 2009 / Accepted December 18, 2009

The Effect of *Ecklonia cava* Extracts on Bone Turnover Markers in Ovariectomized Rats. Sung Rim Kang and Mihyang Kim*. *Department of Food and Nutrition, Silla University, Busan, 617-736 Korea* - Menopause is often associated with the incidence of several chronic diseases including osteoporosis, cardiovascular disease, and obesity. Hormone replacement therapy (HRT) is an effective regimen that has been found to prevent these diseases in postmenopausal women. However, HRT is accompanied by an increased risk of unfavorable outcomes. Therefore, this study was conducted to evaluate the effects of *Ecklonia cava*, a kind of seaweed, extract on bone turnover markers in symptomatic menopausal women. For this study, the following four groups of 9-week-old Sprague-Dawley rats were evaluated over 6 weeks: normal rats (SHAM), ovariectomized rats (OVX-CON) and ovariectomized rats that were treated with *Ecklonia cava* extracts. The optimum extraction temperature and solvent of *Ecklonia cava* were found to be 80°C and 80% ethanol. We measured the osteocalcin and CTx content, enzyme ALP activity in serum and collagen content in the cartilage, bone, skin and lungs. We found that the levels of indicators of bone metabolism such as ALP, osteocalcin and CTx were lower in rats in the *Ecklonia cava* extract group than the OVX-CON group. In addition, the collagen contents in the bone, cartilage, skin and lungs decreased in response to ovariectomy, but the levels of collagen were greater in the bone of rats that were treated with *Ecklonia cava* extract than in the bone of rats in the OVX-CON group. According to these results, we were able to know the effects of *Ecklonia cava* extract on bone aging in ovariectomized rats. Consequently, we expect *Ecklonia cava* extract to have an effect on bone aging in postmenopausal women.

Key words : *Ecklonia cava*, ALP, osteocalcin, CTx, collagen, ovariectomy

서 론

최근 우리나라 여성의 사회참여율과 지위가 급상승하고 있으며, 경제활동 여성이 1000만 명을 넘었고 소비재구성의 80%를 여성이 좌우할 정도이다. 이와 같이 여성의 평균수명연장과 지적수준의 향상 등으로 여성의 폐경기와 폐경 후의 삶의 질 향상과 건강 증진에 대한 관심 또한 점점 고조되고 있다 [27,28]. 일반적으로 폐경을 전후한 갱년기 증상은 그 자체로 특별한 질병이 아니며 단순히 신체적으로 허약할 때 나타나는 증상들과 유사하여 개인 스스로 그 증상의 정도를 깊이 인식하고 적극적으로 적응하려는 노력이 없으면 방치되기 쉬운 특성 [10]을 지니고 있어, 일상생활을 하는데 고통을 주기도 한다. 갱년기는 폐경의 문제로 여러 신체 조직에 영향을 주어 골다공증, 심혈관계 질환, 비뇨생식기에 다양한 문제를 초래할 뿐 아니라 암과 기타 만성질환에 이환되기 쉬워 갱년기는 건강상 위기의 시기로 고려되기도 한다 [37]. 이런 갱년기 증상 중 특히 심혈관계 질환과 골다공증 등은 여성의 생명에 직접 영향을 주는 위험한 만성 후유증이 발생할 수 있다 [25]. 폐경기

를 지나 장년기에서 노년기에 이르면 심폐기능 저하와 더불어 근 골격에서도 근 질량과 근력이 감소하고 인대와 건이 약화되며 관절의 유동성이 저하된다. 특히 여성은 40세를 넘어서면서 점차 월경 주기가 불규칙해지거나 출혈량에도 변화가 오기 시작하며, 여러 가지 부정적인 신체적 변화를 경험하게 되고 폐경기 이후부터는 에스트로젠 분비가 중단되면서 골소실로 인한 골다공증 현상이 두드러지게 된다 [14]. 골다공증은 골 무기질과 골량이 저하된 상태로 골조직의 미세구조가 변화되거나 그것으로 인하여 골이 유약해져 골절이 되기 쉬운 상태이며 [24] 폐경이후의 여성에서는 골밀도가 급속하게 저하되고, 폐경 후 10년 사이에 약 20%의 골 무기질이 감소한다고 알려져 있다 [9,35].

실험동물에서 난소절제는 혈중 estrogen 농도를 감소시키는 대표적인 방법으로서 골다공증의 연구에서 광범위하게 이용되고 있으며 골다공증에서 나타나는 골의 손실을 유발시키는 인자 규명 및 골 손실을 방지하는 요인에 관한 연구가 다양하게 이루어지고 있다. Kimble [18]은 흰쥐에서 난소를 절제하면 골의 교환(turnover)이 가속되고 골의 밀도가 현저하게 감소된다고 하며, 연골 또는 골 등의 결합조직을 구성하고 있는 collagen은 난소 절제 시 그 함량이 감소하는 것으로 알려져 있다 [23]. 이러한 골의 손실과정에는 interleukin-1과 interleukin-1의 매개물질이 밀접하게 관련된다고 주장하였으며

*Corresponding author

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

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

Kimble [17] 등은 난소절제 후 초기에 골 손실을 유발하는 인자로 interleukin-1과 tumor necrotizing factor (TNF)가 가장 중요하다고 하였다. 또한 Dempster [6]은 난소를 절제한 흰쥐에서 해면골(cancellous bone)의 소실이 유발되었으며 이는 estrogen의 감소가 파골세포의 활성을 촉진시키고 이는 다시 골 조직의 연결을 약화시키기 때문이라고 하였다.

해조류는 전 세계적으로 약 8,000여 종이 알려져 있으며, 그중에서 식용해조는 50여 종이 있다. 해조류에는 각종미네랄 K, Ca, Mg, Fe, P, I, Zn와 각종 비타민 A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, 나이아신, pantothenic acid, 비타민C, 비타민E, 식이섬유인 알긴산, 칼륨이온이 많이 들어있어, 우수한 알칼리성 식품이다[21]. 또한 많은 해조류가 전 세계 다양한 지역에서 전통 약재, 식재료, 건강 보조식품으로 사용되고 있다. 특히, 아시아에서는 식재료, 민간요법 재료 등으로 사용되어 왔으며, 서양에서는 주로 식품이나 의약품에 사용할 polysaccharides (agar, alginates, carageenans)의 원료로 사용되고 있다[4]. 최근 해조류의 다양한 생리·화학적 효과가 검증되면서 해조류로부터 분리한 생리활성물질에 관심이 고조되었고, 이에 관한 연구가 활발히 진행 중이다[19,20].

본 실험에 사용한 감태(*Ecklonia cava*)는 비식용 해조류로 갈조식물 다시마목(Laminariales) 미역과(Alariaceae)의 식물로 주로 우리나라 남해안과 제주연안, 일본에 서식하며 항산화, 항염증 효과 및 뇌기능 개선, 항바이러스 효과에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다[1,26,34]. 감태는 일본 및 우리나라에만 국한되어 분포 하는데 우리나라에서는 독도 및 동해남부와 제주도를 포함한 남해안 전 연안에서 분포하며 대개 수심 3 m에서 15 m 내외에서 서식하고, 전복과 소라 등의 먹이로 쓰이거나 alginic acid의 원료로 사용되는 정도로 상업적 이용가치가 잘 알려져 있지 않다[12]. 감태에 대한 선행 연구로는 이[22]의 연구에서 감태의 줄기 및 잎의 항산화 활성 비교 시 감태의 줄기와 잎의 모든 부분에서 항산화 활성이 우수하게 나타났다고 하였으며, 홍[11]의 연구에서는 감태추출물이 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 고혈압을 억제하는 효과가 나타났음을 보고하고 있다. 이와 같이 감태의 항산화 활성 및 고혈압 관련 연구는 선행되어 있으나 갯넉기 장애 시 나타날 수 있는 골 손실에 대한 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서는 감태추출물을 시료로 하여 *in vivo* 실험을 통하여 갯넉기 장애 시 나타날 수 있는 골 손실 개선효과를 검토하기 위하여 골 형성 지표인 ALP 활성 및 osteocalcin 농도, 골

용해 지표인 CTx 및 골 조직의 collagen 함량을 측정하였다.

재료 및 방법

추출물의 제조

본 실험에서 사용한 감태는 2007년 10월 제주전역 해안일대에서 채취된 것을 태림상사에서 구입하여 물로 4~5회 씻어 염분과 불순물을 제거하고, 자연 건조시켜 분쇄하여 분말화하여 실험에 사용하였다. 건조된 감태는 80% ethanol 2 l를 가해 3회 열 추출하여 감압농축기로 농축하고 동결 건조한 ethanol 추출물을 0.9% 생리식염수로 희석한 후 동물실험에 사용하였다.

실험동물, 사육조건 및 식이조성

180-190 g인 9주령의 암컷(Sprague-Dawley) 쥐를 오리엔트 바이오에서 분양받아 1주일간 적응시킨 후 난소 절제 수술을 하였고 비 난소절제 대조군에게는 sham-operation을 실시하였다. 수술 후 1주일간 고형 사료를 주어 상처가 회복되면, 난괴법(randomized complete block design)에 의해 4군으로 나누었다. 즉 실험동물은 난소절제는 하지 않고 같은 수술의 스트레스를 준 비 난소절제 대조군(SHAM), 난소를 절제한 대조군(OVX-CON), 난소절제 후 감태 추출물 50 mg/kg 투여군(OVX-EC50), 난소절제 후 감태 추출물 200 mg/kg 투여군(OVX-EC200)으로 각 7마리씩 4군으로 나누어 1 ml의 시료를 매일 경구 투여하며 6주간 사육하였다(Table 1).

실험기간 동안 식이 섭취량과 체중은 매일 일정한 시간에 측정하였다. 동물실험실의 사육조건은 온도 24±2°C, 습도 50-55%를 유지시켰고, 물과 식이는 제한 없이 제공하였으며, 실험 시료는 0.9% 생리식염수로 용해하여 사용하였고 대조군은 동일 용량의 생리식염수를 투여하였다.

혈액 및 장기 채취

혈액은 실험동물을 해부 전 24시간 절식시킨 후 에테르 마취 하에 개복한 후 복대동맥에서 채혈하고 실온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였고 실험 시까지 -70°C에 보관하였다. 혈청 분리 후 0.9% 생리식염수 용액으로 관류시킨 후 물기를 제거하였고, 늑골과 연골은 경계면에서 분리하였으며 피부는 털을 잘라내고 표피 위의 지방을 제거하여 무게를 잰 후 실험 시 까지

Table 1. Experimental design of animals

Group (No.)	Treatment
SHAM (7)	sham-operated rats
OVX-CON (7)	ovariectomized rats
OVX-EC50 (7)	ovariectomized rats supplemented with <i>Ecklonia cava</i> ethanol extracts at 50 mg/kg bw/day
OVX-EC200 (7)	ovariectomized rats supplemented with <i>Ecklonia cava</i> ethanol extracts at 200 mg/kg bw/day

-70°C에 보관하였다.

분석방법

골격 형성 지표인 serum alkaline phosphatase (ALP) 활성은 측정용 kit를 사용하여 자동생화학분석기 DRY CHEM 3600i (Fuji, Japan)를 사용하여 분석하였다. 혈청 osteocalcin은 rat 전용 osteocalcin ELASA kit (Biomedical Technologies Inc., USA)를 이용하여 ELASA reader로 분석하였다. 골 용해 지표인 혈청 중 콜라겐 가교 C-terminal telopeptide (CTX) 농도는 RatLaps ELASA kit (Nordicbioscience diagnostic)를 이용하여 측정하였으며 원리는 Type I collagen의 C-terminal telopeptide α1 사슬에 특장적인 polyclonal antibody의 항원 biotinylated EKSQDGGGR에 대한 경쟁적 결합을 기본으로 하였다. 조직 중의 collagen 함량 측정을 위하여 골, 연골, 피부 및 폐 조직은 각각 200 mg 씩 취하여 가수분해(6N HCl, 110°C, 20 hr)하고 여과, 농축하여 실험에 사용하였다. 시료 중의 collagen은 Woessner [39]의 방법으로 colorimetric method로 hydroxyproline (Hyp)량을 측정 한 후, collagen의 아미노산 조성으로부터 collagen량을 환산하였다. Collagen 중의 Hyp의 비율은 평균 110잔기/1000잔기 이므로 조직중의 collagen량은 다음의 식에 따라 산출하였다. 표준검체로는 4-hydroxy-L-proline을 0, 2, 4, 8 µg/ml로 하여 검량선을 작성하였다.

$$\text{collagen } (\mu\text{g/ml}) = 100/11 \times \text{Hyp } (\mu\text{g/ml})$$

통계처리

연구결과 얻어진 자료를 SPSS Version 14.0 통계 프로그램을 사용하여 하위그룹 각각의 기술통계치(mean, SD)를 산출하였다. 집단 간의 차이를 알아보기 위해 일원변량분석(one-way ANOVA)를 이용하여 분석하였고, 사후검정은 Tukey를 적용하였다. 유의수준은 α<0.05 수준으로 검증하였다.

결과 및 고찰

실험동물의 체중 증가량, 식이효율 및 장기중량

난소절제 및 감태추출물의 투여에 따른 체중변화와 식이

섭취량은 Table 2와 같다. 실험 종료 시 난소절제군의 체중은 난소를 절제하지 않은 군에 비하여 높은 경향을 보였으며 이는 난소를 제거 시 흰쥐의 체중을 증가시키므로서 체중 지탱 능력(weight bearing activity)을 키우고 에스트로겐 생성이 가능한 체지방을 증가시키려는 기전으로 보여 진다[36]. Turner 등[38]은 흰쥐에서 난소를 제거하면 성장속도가 증가하여 체중이 증가 된다고 하였고, Yamazaki [40]와 Kassem [15] 등의 연구에서도 일치된 결과를 볼 수 있었다. 본 실험에서도 난소 절제술을 시행한 군들에서 전체적으로 체중이 증가하는 경향을 볼 수 있었다. 한편 난소절제 후 감태 추출물을 투여한 군은 SHAM군과 비교하였을 때 높은 체중 증가량을 나타내어 감태 추출물이 체중 감소에는 크게 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

식이효율은 공식에서 의미하는 바와 같이 사료를 섭취하는 양이 많음에도 불구하고 체중의 증가가 적다는 것은 비만조절 효과가 있는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 식이효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 사용할 수 있고, 식이효율의 수치가 적을수록 비만조절효과가 있다고 할 수 있다. 본 연구에서 식이효율은 난소절제군인 OVX-CON군이 비난소절제군인 SHAM보다 높았으며, EC200군의 경우 OVX-CON군보다 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 없었다.

혈청 중 Alkaline phosphatase 활성

혈액 중 ALP는 조직 중 다양하게 분포하고 있으며, 세포 외에서 세포 내로의 기질 운반에 관여하고 있다. 조골세포는 ALP를 생성하여 조골 세포막의 소포에 저장하는데, 이 중 일부가 혈액 내로 유리되어 나온다[31]. 아동기와 청소년기 동안은 조골세포에 의한 활성이 우세한 반면, 성인기에서는 간으로부터의 활성이 우위에 있기도 하여 생애주기에 따른 활성의 차이를 보이기도 한다[33]. 그러나 ALP는 폐경 시 에스트로겐의 결핍으로 인하여 골 전환이 증가하기 때문에 폐경 후 여성의 골다공증에서 증가하는 양상을 보이며, 성인기 여성에서는 골절과의 관련성을 보여[16] 폐경 전후 여성에게 있어 골 형성 지표로써 널리 사용되고 있다. Table 3은 감태 추출물이 혈청 ALP의 활성에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 난소절제 시 에스트로겐 결핍으로 bone turnover이 증가되어 비난소절제군

Table 2. Body weight gain, food intake, growth rate and food efficiency ratio of rats supplemented extracts for 6 weeks

Group ¹⁾	SHAM	OVX		
		Control	EC 50	EC 200
Initial weight (g)	192.9±2.2 ²⁾	191.4±5.5	189.6±1.7	192.7±8.9
Final weight (g)	272.8±11.2	320.8±34.2	320.4±23.4	303.1±25.7
Weight gain for 6 weeks (g)	79.9±12.7	129.4±28.8	130.8±27.3	110.5±38.4
Growth rate (g/day)	1.90±1.45	3.08±2.89	3.12±2.70	2.62±2.45
Food intake (g/day)	18.53±1.28	22.16±2.75	20.47±1.56	20.36±1.73
Food efficiency ratio (FER) ³⁾	0.10±0.18	0.13±0.22	0.15±0.19	0.12±0.21

¹⁾Refer the legend to Table. 1. ²⁾Values are mean±S.D. (n=7). ³⁾FER: Body weight gain/food intake.

Table 3. Effect of *Ecklonia cava* ethanol extracts on serum alkaline phosphatase activities in ovariectomized rats

Group ¹⁾	ALP activities (U/l)
SHAM	272.85±54.06 ²⁾³⁾
OVX-CON	842.85±242.86
OVX-EC50	458.28±144.23*
OVX-EC200	431.00±110.08*

¹⁾Refer the legend to Table 1.

²⁾Values are mean±S.D. (n=7).

³⁾p<0.05, Significantly different from OVX-CON group.

에 비해 혈장 중의 ALP의 활성이 증가되었으나, 난소 절제 후 감태 추출물을 투여한 군에서 그 활성이 유의적으로 감소하는 경향이 나타났다. 이것은 난소 절제 후 에스트로겐의 분비가 감소되는데 반해 감태 추출물 투여가 에스트로겐 대체 작용을 함으로써 난소절제로 인한 골 손실 정도를 완화시킨 것으로 추측되어진다.

혈청 중의 Osteocalcin

골 형성 지표인 osteocalcin은 뼈와 상아질에만 특이적으로 분포하며 뼈의 비 콜라겐성 단백질 중 하나로 bone gla protein (BGP)이라고도 하며, 조골세포에서 생산되어 뼈의 세포외기질에 축적되는데, 새로 합성된 것 중 약 30%가 혈중으로 방출되므로 이를 측정하여 골 형성 정도를 예측한다[32]. 폐경이 되면 혈중 osteocalcin은 증가하고 에스트로겐 치료 후 감소가 되므로 골밀도의 변화와 골 조직 검사와도 유의한 상관관계가 있다[3]. 본 실험결과 혈청 osteocalcin은 SHAM군에 비해 난소를 절제한 OVX-CON군이 높은 경향을 나타내었고 감태 추출물의 투여에 의해 감소하는 경향을 나타내었다(Table 4). 한편, 박형무[29] 등은 폐경 후 여성에게 있어 혈중 osteocalcin 농도는 40%, deoxypyridinoline은 80%까지 증가하는데, 이는 골 대사에서 골 흡수가 골 형성에 비해 상대적으로 더욱 증가한 것을 의미하며, 따라서 전체적인 골 형성은 노화에 의해 그 비율이 줄어들어 골 중의 osteocalcin은 감소한 것으로 보고하였다. 혈중 osteocalcin은 골대사가 균형을 유지 할 때에는

Table 4. Biochemical values of serum indicators of the bone metabolism of rats

Group ¹⁾	Osteocalcin (ng/ml)	CTx ²⁾ (ng/ml)
SHAM	2.74±0.43 ³⁾⁴⁾	3.57±0.29*
OVX-CON	4.29±0.97	4.14±0.29
OVX-EC50	4.14±0.63	3.79±0.55
OVX-EC200	3.96±0.37	3.64±0.29*

¹⁾Refer the legend to Table 1.

²⁾C-telopeptide of collagen cross-links.

³⁾Values are mean±S.D. (n=7).

⁴⁾p<0.05, Significantly different from OVX-CON group.

골 대사 표지자로서 작용하여 폐경 후 증가하는 것으로 나타나고 골대사가 불균형 시에는 골 형성 표지자로서 작용하여 증가 또는 감소하는 것으로 나타나 폐경 후 혈중 osteocalcin의 증감에 대한 해석이 다르게 나타날 수 있으므로 보다 많은 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

C-telopeptide of collagen cross-links (CTx)

혈청 CTx는 골 용해 과정 시 Type I collagen의 분해효소인 cathepsin K에 의해 매개되는 파골세포의 대사산물이다[2]. Garnero [8] 등은 폐경 후 여성을 대상으로 한 전향적 코호트 연구에서 대퇴골 골밀도를 보정 후에도 혈청 CTx와 대퇴골의 골절 위험이 양의 관계를 보였으며, Pi [30] 등도 폐경 후 골다공증 여성에서 정상군보다 높은 혈청 CTx 수준을 보고하여, 혈청 CTx가 골절 위험에 대한 예측인자로도 유용한 지표라 하였다. 본 연구에서도 난소절제군이 비 절제군에 비해 높은 CTx 수준을 보여 난소절제군에 있어 골 용해가 증가되었음을 나타내었다. 한편 감태 추출물의 투여로 인해 CTx 함량이 감소하였으며, EC-200군의 경우 SHAM과 비슷한 수준으로 나타났다(Table 4). 이는 난소절제로 인해 bone turnover가 증가된 상태에서 감태 추출물의 투여로 bone turnover가 감소하여 골 흡수 저해 효과를 타나낸 것으로 추정된다.

결합조직 중의 collagen 함량

뼈는 여러 가지 물질로 구성된 복합체로서, 무게로 볼 때 약 70%는 무기질이며 5-8%가 수분이고 나머지는 세포 외 기질로 구성되어 있다. 뼈를 구성하고 있는 세포로는 조골세포 (osteoblast), 파골세포(osteoclast), lining cell 및 골세포 (osteocyte)가 있으며, 세포 외 기질은 98%가 제 1형 콜라겐이며 나머지 2%가 osteocalcin, osteopontin, osteonectin 및 bone sialoprotein 과 같은 비 콜라겐 단백질로 구성되어 있다[7]. 여성호르몬 에스트로겐은 피부 진피층의 섬유아세포를 자극하여 collagen합성을 증진시키며, 아울러 collagen의 대사에 관여하는 분해효소 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)의 발현을 조절하여 collagen의 분해를 억제하며, 에스트로겐이 결핍되면 골수 내 미세 환경에서 사이토카인에 의한 조절기전의 장애로 인하여 비정상적으로 골재형성과정이 촉진된다. 즉 IL-1, IL-6 및 TNF-α의 생산이 증가하고 이로 인해 조골세포 및 파골세포의 수가 증가하며 결국 골재형성의 활성화 빈도가 증가된다[13]. 본 연구에서는 난소절제로 인하여 에스트로겐이 결핍 되었을 때 collagen 생성 변화에 있어 감태 추출물이 어떠한 영향을 주는지 검토하였다(Table 5). 연골의 경우 난소를 절제하지 않은 SHAM군에 비해 난소를 절제한 OVX-CON 군은 collagen의 함량은 감소하였으나, 난소 절제 후 감태 추출물 투여함으로써 유의성 있게 증가하는 경향을 나타내었다. 골 조직에서도 난소를 절제한 OVX-CON군이 난소를 절제하지 않은 SHAM군에 비해 감소하는 경향을 나타내었지만, 난

Table 5. Effect of *Ecklonia cava* ethanol extract on collagen content in cartilage, bone, skin and lung of ovariectomized rats

Group ¹⁾	Cartilage (mg/g)	Bone (mg/g)	Skin (mg/g)	Lung (mg/g)
SHAM	231.6±28.8 ²⁾	154.3±10.4	402.8±72.0 ³⁾	22.46±1.91*
OVX-CON	217.7±20.6	143.7±14.3	292.9±42.2	18.98±0.55
OVX-EC50	228.8±13.7	151.6±11.3	332.3±40.8	20.06±2.01
OVX-EC200	243.3±26.7*	155.8±11.6	431.1±67.1*	22.32±3.62

¹⁾Refer to comment in Table 1.

²⁾Values are means±SD.

³⁾ $p < 0.05$, Significantly different from OVX-CON group.

소를 절제한 후 감태를 투여한 군에서 SHAM군 수준으로 증가하는 결과가 나타났다. 한편, 피부 조직의 경우 난소절제에 의하여 collagen 함량이 감소되었지만, 감태 추출물 투여로 인해 증가하였고, 특히 OVX-EC200군에서 유의적으로 증가하였다. Estrogen결핍에 의한 골다공증은 골질이 쉽게 일어날 수 있는 조건이 되며[5], 이 경우의 estrogen투여는 골의 무기질성분의 증가와 함께 교원섬유의 조성에도 영향을 미쳐서 골질의 예방에 효과를 지닌다고 보고되고 있다. 본 연구 결과에서 난소절제로 인한 결합 조직 중의 collagen 합성의 감소가 감태 추출물의 투여에 의해 점진적으로 회복되는 경향을 나타내어 estrogen 부족으로 인한 골 손실의 예방에 감태가 유의한 효과를 가지며, 이를 활용한 기능성식품 개발도 가능할 것으로 기대되어 진다.

요 약

갱년기의 여성에는 여러 폐경 증후들이 나타나는데, 특히 에스트로겐의 감소로 인한 골 손실의 증가 등으로 골다공증 질환의 발병율이 높아지게 된다. 이러한 갱년기 증후군을 치료하기 위해 호르몬 대체 요법으로 치료를 하고 있으나 유방암과 자궁암 등의 부작용에 대한 논쟁의 여지가 있어 갱년기 증후군을 치료하는데 양면성을 가진다. 그러므로 본 연구에서는 쉽게 섭취 할 수 있으며, 부작용이 없는 해조류인 감태 추출물을 이용하여 *in vivo* 실험을 통해 갱년기 장애 시 나타날 수 있는 골 손실에 미치는 영향을 검토하였다.

난소 절제술을 시행한 군들에서 전체적으로 체중이 증가하였으나, 난소절제 후 감태 추출물을 투여에 의한 체중 감소는 나타나지 않아 감태 추출물이 체중 감소에는 크게 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 난소절제 시(OVX-CON) 에스트로겐 결핍으로 bone turnover가 증가되어 비 난소절제 (SHAM)군에 비해 혈장 중의 ALP의 활성이 증가되었으나, 난소 절제 후 감태 추출물을 투여한 군에서 그 활성이 유의적으로 감소하는 경향이 나타났다. 이것은 난소 절제 후 에스트로겐의 분비가 감소되는데 반해 감태 추출물 투여가 에스트로겐 대체 작용을 함으로써 난소절제로 인한 골 손실 정도를 완화

시켜 준 것으로 추측되어진다. 골 용해 지표인 혈액 중의 CTx는 난소절제군이 비 절제군에 비해 높은 수준을 보여 난소절제군에 있어 골 용해가 증가되었음을 나타내었다. 반면 감태 추출물의 투여로 인해 CTx 함량이 감소하였으며, EC-200군의 경우 SHAM과 비슷한 수준으로 나타났다. 이는 난소절제로 인해 bone turnover가 증가된 상태에서 감태 추출물의 투여로 bone turnover가 감소하여 골 흡수 저해 효과를 나타낸 것으로 추정된다. 또한 결합조직 중의 collagen 함량은 난소절제로 인하여 감소하였으나, 감태 추출물의 투여에 의해 점진적으로 회복되는 경향을 나타내었다. 이상의 결과로부터 estrogen 부족으로 인한 골 손실의 예방에 감태가 유의한 효과를 가지며, 이를 활용한 기능성식품 개발도 가능할 것으로 기대되어 진다.

References

- Ahn, M. J., K. D. Yoon, S. Y. Min, J. S. Lee, J. H. Kim, T. G. Kim, S. H. Kim, N. G. Huh, and H. J. Kim. 2004. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and protease by phlorotannins from the brown alga *Ecklonia cava*. *Biol. Pharm. Bull.* **27**, 544-547.
- Bonde, M., P. Garnero, C. Fledelius, P. Qvist, P. D. Delmas, and C. Christiansen. 1997. Measurement of bone degradation products in serum using antibodies reactive with an isomerized form of an 8 amino acid sequence of the C-telopeptide of type I collagen. *J. Bone Miner. Res.* **12**, 1028-1034.
- Brown, J. P., P. D. Delmas, L. Malaval, C. Edouard, M. C. Chapuy, and P. J. Meunier. 1984. Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet.* **19**, 1091-1093.
- Cho, K. J., Y. S. Lee, and B. H. Ryu. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Kor. Fish Soc.* **23**, 345-352.
- Clark, A. P. and J. A. Schuttinga. 1992. Targeted estrogen/progesterone replacement therapy for osteoporosis: calculation of health care cost savings. *Osteoporos. Int.* **2**, 195-200.
- Dempster, D. W., R. Birchman, and R. Xu. 1995. Temporal changes in cancellous bone structure of rats immediately after ovariectomy. *Bone* **16**, 157-161.
- Einhorn, T. A. 1996. The bone organ system. Form and function. pp. 3-222, In Marcus, R., D. Feldman, J. Kelsey (eds.), *Osteoporosis*. London, Academic press Inc.
- Garnero, P., E. Hausherr, M. C. Chapuy, C. Marcelli, H. Garndjean, C. Muller, C. Cormier, G. Breart, P. J. Meunier, and P. D. Delmas. 1996. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly woman: the EPIDOS Prospective Study. *J. Bone Miner. Res.* **11**, 1531-1538.
- Groen, J. J., J. Menczel, and S. Shapiro. 1968. Chronic destructive periodontal disease in patients with presenile osteoporosis. *J. Periodontol.* **39**, 19-23.
- Han, I. K., K. O. Park, H. Kim, and N. H. Cho. 1998. Climacteric symptoms and perception in middle-aged Korean women. **4**, 3-15.

11. Hong, J. H., B. K. Kim, B. S. Son, H. Y. Chee, B. H. Lee, H. C. Shin, K. B. Lee, and K. S. Song. 2006. Antihypertensive effect of *Ecklonia cava* extract. *Kor. Soc. Pharm.* **37**, 200-205.
12. Sim, J. M. 2003. Studies on the nutritional evaluation of *Ecklonia cava kjellman* and *Ecklonia* Residues and their dietary effects on immunocompetence and productivity in chicken. Ph.D. Program in the Department of Animal Science, Graduate School of Konkuk University.
13. Jilka, R. L. 1998. Cytokines, bone remodeling, and estrogen deficiency: a 1998 update. *Bone* **23**, 75-81.
14. Kang, B. M., M. R. Kim, B. K. Yoon, B. S. Lee, H. W. Chung, H. Choi, H. M. Park, and J. G. Kim. 2007. Effect of hormone replacement therapy on bone mineral density in Korean postmenopausal women over the age of 60. **13**, 131-138.
15. Kassem, K., K. Brixen, and L. Mosekilde. 1998. Effect of growth hormone treatment on serum levels of insulin-like growth factors and IGF binding protein 1-4 in postmenopausal woman. *Clinical Endocrinology* **49**, 747-756.
16. Khandwala, H. M., S. Mumm, and M. P. Whyte. 2006. Low serum alkaline phosphatase activity and pathologic fracture: case report and brief review of hypophosphatasia diagnosed in adulthood. *Endocr. Pract.* **12**, 676-681.
17. Kimble, R. B., A. B. Matayoshi, and J. L. Vannice. 1995. Simultaneous block of interleukin-1 and tumor necrosis factor is required to completely prevent bone loss in the early postovariectomy period. *Endocrinology* **136**, 3054-3061.
18. Kimble, R. B., J. L. Vannice, and D. C. Bloedowl. 1994. Interleukin-1 receptor antagonist decreases bone loss and bone resorption in ovariectomized rats. *J. Clin. Invest.* **93**, 1959-1967.
19. Kim, S. A., J. Kim, M. K. Woo, C. S. Kwak, and M. S. Lee. 2005. Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 451-459.
20. Kwon, M. J. and T. J. Nam. 2006. Effects of Mesangi (*Capsosiphon fulvecens*) powder on lipid metabolism in high cholesterol fed rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 530-535.
21. 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.
22. Lee, S. H., K. N. Kim, S. H. Cha, G. N. Ahn, and Y. J. Jeon. 2006. Comparison of antioxidant activities of enzymatic and methanolic extracts from *Ecklonia cava* stem and leave. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 1139-1145.
23. Lee, Y. A. and M. Kim. 2008. Effects of sea tangle extract on formation of collagen and collagen cross-link in ovariectomized rats. *J. Life Sci.* **18**, 1578-1583.
24. Lindsay, R. 1992. Osteoporosis. pp. 8-33, A guide to diagnosis, prevention, and treatment. Paven press. New York.
25. Osmanagaoglu, M. A., S. Osmanagaoglu, T. Osmanagaoglu, B. Okumus, and H. Ozkaya. 2005. Effect of different preparations of hormone therapy on lipid and glucose metabolism, coagulation factors and bone mineral density in overweight and obese postmenopausal woman. *Fertility and Sterility* **84**, 384-393.
26. Myung, C. S., H. C. Shin, H. Y. Bao, S. J. Yeo, B. H. Lee, and J. S. Kang. 2005. Improvement of memory by dieckol and phlorofucofuroeckol in ethanol-treated mice: possible involvement of the inhibition of acetylcholinesterase. *Arch. Pharm. Res.* **28**, 691-698.
27. Newton, K. M., S. D. Reed, L. Grothaus, J. Guiltinan, E. Ludman, and A. Z. Lacroix. 2005. The Herbal Alternatives for Menopause Study (HALT): background and study design. *Maturitas.* **52**, 134-146.
28. Osmer, R., M. Friede, E. Liske, J. Schnitker, J. Feudenstein, and H. H. Henneicke-von Zepelin. 2005. Efficacy and safety of isopropanolic black cohosh extract for climacteric symptoms. *Obstet Gynecol.* **105**, 1074-1083.
29. Park, H. M., T. C. Kim, T. C. Kim, K. H. Kang, S. J. Yoon, and M. Hur. 2000. The predictive value of changes of bone markers for changes of bone mineral density in postmenopausal hormone replacement therapy with or without active vitamin D. *Kor. Soc. Obstetrics Gynecology* **43**, 268-274.
30. Pi Y. Z., X. P. Wu, S. P. Liu, X. H. Luo, X. Z. Cao, H. Xie, and E. Y. Liao. 2006. Age-related changes in bone biochemical markers and their relationship with bone mineral density in normal Chinese woman. *J. Bone Miner. Res.* **24**, 380-385.
31. Price, P. A., J. G. Parthermone, and L. J. Doftos. 1980. New biochemical marker for bone metabolism. *J. Clin. Invest.* **66**, 878-883.
32. Riis, B. J. 1993. Biochemical markers of bone turnover. II: Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am. J. Med.* **95**, 17S-21S.
33. Schiele, F., J. Henny, J. Hitz, C. Petittler, R. Gueguen and G. Siest. 1983. Total bone and liver alkaline phosphatases in plasma: biological variations and reference limits. *Clin. Chem.* **29**, 634-641.
34. Shin, H. C., H. J. Hwang, K. J. Kang, and B. H. Lee. 2006. An antioxidative and antiinflammatory agent for potential treatment of osteoarthritis from *Ecklonia cava*. *Arch. Pharm. Res.* **29**, 165-171.
35. Solt, D. B. 1991. The pathogenesis, oral manifestations, and implications for dentistry of metabolic bone disease. *Curr. Opin. Dent.* **1**, 783-791.
36. Stampfer, M. J. and G. A. Colditz. 1991. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev. Med.* **20**, 47-63.
37. The Committee of Menopause. 2008. Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women. **14**, 238-245.
38. Turner, R. T., G. K. Wakley, and K. S. Hannon. 1974. Tamoxifen prevents the skeletal effects of ovarian hormone deficiency in rats. *J. Bone Mineral Res.* **2**, 449-459.
39. Woessner, J. F. 1961. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch. Biochem. Biophys.* **93**, 440-447.
40. Yamazaki, I. and H. Yamaguchi. 1989. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. *J. Bone Min. Res.* **4**, 13-22.