

원저

淫羊藿 藥鍼이 난소적출 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향

강민완 · 홍권의 · 김영일

대전대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

Effects of the Herbal-acupuncture with *Epimedium Herba* Extract on Osteoporosis in Ovariectomized ddY Mice

Kang Min-wan, Hong Kwon-eui and Kim Young-il

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Objectives & Methods : The purpose of this study is to observe the effects of herbal-acupuncture with *Epimedium Herba* extract (EH-HA) at KI₁₀ (*Eumgok*) on osteoporosis in ovariectomized (OVX) ddY mice. We carried out several experimental items to analyze the changes in body weight, uterine weight, uterus index, tibial length, the ash bone weight, tibial BMD, serum ALP, serum osteocalcin, serum Ca, and the levels of Ca, P, Ca/P ratio in tibia, and we performed histological and histomorphological analysis as well.

Results :

1. The tibial length and ash bone weight were insignificant, while BMD was significantly increased by in EH-HA in comparison with control group.
2. Serum ALP and serum osteocalcin were decreased and serum Ca was increased by in EH-HA in comparison with control group, But all were insignificant.
3. Ca and P level in tibia were significantly increased in EH-HA in comparison with control group, while Ca/P ratio was insignificant.
4. Osteoclast like cell in tibia was significantly decreased in EH-HA in comparison with control group.
5. In the histological study in tibia, TBV was significantly increased, TBT was insignificantly increased and GPL was significantly decreased in EH-HA in comparison with control group.

Conclusions : These results suggest that EH-HA at KI₁₀ has a therapeutic effect on osteoporosis in OVX mice.

· 접수 : 2009. 2. 19. · 수정 : 2009. 3. 18. · 채택 : 2009. 3. 18.
· 교신저자 : 김영일, 대전광역시 서구 둔산동 1136 대전대학교 부속둔산한방병원 침구과
Tel. 042-470-9137 E-mail : omdkim01@dju.ac.kr

Key words : Osteoporosis, Herbal-acupuncture, *Eumgok*(KI₁₀), *Epimedii Herba*

I. 서 론

대사성 골 질환 중 가장 흔한 골다공증은 골 형성의 감소 및 골 흡수의 증가로 골 양의 전반적인 감소를 일으키는 질환이다¹⁾. 인구의 고령화와 사회의 문명화에 따른 육체적 운동량의 감소, 공해, 일조량의 감소, 노령으로 인한 세포기능의 저하 등으로 골다공증 환자들을 임상에서 흔히 접하게 되었고 그에 따른 치료와 예방에 대한 사회보건학적인 관심이 증가되고 있다²⁾.

한의학에서 골다공증과 관련한 표현으로는 骨痿, 骨枯, 骨極, 骨痺, 骨痛, 骨寒熱이 있으며³⁾, 骨病은 대개 先天稟受가 부족하거나 腎氣가 허약한 자에게 많으며, 골질의 약화를 나타내는 질병으로 임상증상과 발병원인으로 보아 골다공증과 밀접한 관계가 있다⁴⁾.

淫羊藿(*Epimedii Herba*)은 다년생 초본인 삼지구엽초(*Epimedium koreanum* NAKAI)의的全草를 건조한 것으로, 補腎壯陽, 祛風除濕의 효능으로 陽痿不舉, 小便淋瀝, 筋骨攣急, 半身不隨, 腰膝無力, 風濕痺痛 및 四肢不仁 등의 증상에 한방임상에서 널리 사용되는 약물이다⁵⁾.

최근 골다공증에 대한 한의학의 실험적 연구로는 右歸飲 등⁶⁻⁷⁾의 복합약제와 何首烏 등^{8,9)}의 단미제에 관한 연구가 있었고, 藥鍼실험으로는 巴戟天 등^{10,11)}이 있었으나 흔히 補精, 強壯藥, 催淫 등에 사용되는 淫羊藿을 이용한 약침이 골다공증에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 淫羊藿 藥鍼이 골다공증의 신체증상에 미치는 영향을 알아보고자 흰쥐의 난소를 적출하여 골다공증을 유도한 후, 淫羊藿으로 약침액을 제조하고, 생쥐의 뒷다리의 陰谷穴에 상응하는 부위를 취해 시술하여, 체중 변화, 자궁 무게, 자궁 비중, 경골 길이, 경골 회분 무게, 골밀도를 측정하여 골다공증을 평가하고 혈청분석 및 경골 내 Ca 및 P 함량, osteoclast like cell, 경골의 조직학적 분석을 관찰, 연구하여 유의한 知見을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물

4주령에 난소를 적출한 7주령 암컷 ddY mice(체중 22±5g)와 개복만 실시한 7주령 암컷 ddy mice를(주) 중앙실험동물(경기도, 한국)로부터 공급받아, 실험당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고, 실온(22±2℃)을 유지하여 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약재

실험에 사용된 淫羊藿(*Epimedii Herba*; 이하 EH로 표기)은 원산지는 한국산이고 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

2. 방법

1) 약침액의 제조

분쇄기를 이용해서 淫羊藿 55g을 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 플라스크에 넣고 증류수 500ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축 하였다. 농축액에 95% ethyl alcohol 30ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20ml가 되게 하였다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4℃에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filter를 실

시하였다. 여과된 농축액에 PBS를 첨가하여 2.5%로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

2) 세포독성 측정

정상 ddY mice의 골세포 1×10^5 cell/well에 5%, 25%, 1%, 0.5%의 淫羊藿 약침액을 처리한 후 MTT assay를 이용하여, 세포 생존율을 측정하였다.

(1) Osteoblast cell 분리 및 배양

정상 ddY mice의 경골과 대퇴골을 적출하여 차가운 PBS에 담겨 근육을 제거하고, 깨끗한 PBS를 syringe에 넣어 골 내부로 침투시켜, 골세포들을 1200rpm에 5분간 원심 분리한다. 상층액은 버리고, 침전된 골세포들은 MSC osteogenic Single Quots를 첨가한 differentiation Basal medium(Cat No. PT-3924, Lonza, USA)을 이용하여 3번 세척한다. 준비된 세포는 7일간 세포 배양을 실시하여 osteoblast cell의 분화를 유도하였다.

(2) MTT assay

분화된 osteoblast cell의 viability를 trypan blue를 이용하여 확인한 뒤, 96well plate에 세포를 1×10^5 cells/well로 분주하고, MSC osteogenic Single Quots를 첨가한 differentiation Basal medium(Cat No. PT-3924, Lonza, USA)에 음양각 약침액을 농도별로 처리하고, 72시간 동안 세포 배양을 실시한다. 72시간 후에, MTT solution(5mg/ml, Cat No. 135038, Sigma, USA)을 각 well에 20 μ l씩 분주하고 5시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 incubation을 실시한다. 5시간 후, 각 well에 있는 medium을 100 μ l씩 버리고, solubilizing solution을 100 μ l씩 분주한 뒤 pipetting을 강하게 하여 well에 dark blue crystals가 침전하는 정도를 ELISA reader를 이용하여 570nm에서 optical densities를 확인하였다.

3) Osteoporotic mouse model

본 실험에서 사용된 골다공증 모델은 난소적출 ddY mouse 모델로, (주)중앙실험동물에서 4주령에 난소적출 수술(ovariectomy)을 시행하고 3주 동안 골다공증을 유도한 암컷 ddY 생쥐를 이용하였다.

난소적출 수술은, 동물을 에테르로 마취시킨 다음 클리퍼로 등의 털을 깎고, 에탄올 솜으로 절개부위를 잘 닦은 후 시행하였다. 동물의 dorso-lateral abdominal

wall을 미세가위로 직경 1cm 정도 절개한 후, abdominal muscle 층을 절개하여 핀셋으로 지방층에 둘러싸인 난소 및 자궁을 꺼낸다. 난소와 자궁을 연결하는 난관을 봉합사로 잘 묶은 다음, 양쪽 난소를 완전히 제거하고, 봉합사로 근육층과 피부를 잘 봉합한 후, 1주간 회복시켰다.

4) 취혈

骨度分寸法에 의거하여 생쥐의 뒷다리에서 인체의 음곡(*Eumgok*, KI₁₀)에 상응하는 부위를 취하였다.

5) 실험군 분류 및 처치

ddY생쥐 9마리씩을 한 군으로 하여 정상군(Normal), 위수술군(Sham-OVX), 대조군(Control), HG군(hand grasping), NP군(needle prick), saline군(saline injection), 淫羊藿약침군(EH-HA)의 7군으로 나누었다.

정상군은 아무런 처치도 하지 않았다. 대조군은 난소 적출 이외의 처치는 하지 않았다. 위수술군은 4주령에 복부를 절개한 후 난소를 적출하지 않고 다시 봉합한 뒤, 이후 아무런 처치도 하지 않았다. HG군은 난소적출 후, 藥鍼처치와 같이 생쥐를 잡았다 놓는 동작만 하고, 이외의 처치는 하지 않았다. Saline군은 난소적출 후 saline 0.2ml를 음곡(KI₁₀) 상응부위에 注入하였다. NP군은 난소적출 후, 음곡(KI₁₀) 상응부위에 26 gauge 주사기를 0.5cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. 淫羊藿약침군은 난소적출 후, 음곡(KI₁₀) 상응부위에 2.5%의 淫羊藿약침액(EH-HAS) 0.2ml를 주입하였다. HG, NP, saline 주입, 淫羊藿藥鍼 처치는 모두 난소적출 4주 이후부터 8주간 주 3회 시행하였고, NP, saline 주입, 淫羊藿藥鍼 시술은 실험동물의 後肢에서 음곡(KI₁₀) 상응부위를 매 시술시마다 좌우 교대로 취하여 시술하였다.

6) 골다공증 평가

(1) 체중 측정

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

(2) 자궁 무게 측정

실험 종료 후, 각 실험군의 실험동물의 자궁 무게를 측정하여 기록하였다.

(3) 자궁비중(uterus index) 측정

자궁비중은 실험동물의 몸무게에 대한 자궁 무게의 백분율로 계산하였다.

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

(4) 경골 길이 측정

실험 종료 후, 각 실험동물의 경골을 적출하여 주위 근육 및 연 조직을 제거한 다음 경골의 길이를 측정하였다.

(5) 경골 회분 무게 측정

경골 회분의 무게는 경골을 120℃에서 8시간 동안 건조시킨 후, furnace (Lab companion, Korea)에서 800℃에서 6시간 동안 가열한 뒤 측정하였다.

(6) 골밀도 측정

실험 종료 후, 각 실험군 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.

7) 혈청 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취하고, 심장 채혈법으로 혈액을 채취하였다. 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, (주)이원 임상검사센터(대전, 한국)에 의뢰하여 혈청 ALP, calcium, GOT, GPT의 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.

8) 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℃로 6시간 동안 가열하여 탄화시키고 HCl 500μl에 완전히 용해시켰다. 용해된 탄화 골 200μl에 증류수를 10ml 첨가하여 희석한 다음, 탄화 골의 단위 무게당 칼슘과 인의 양을 측정하여 mg/g 단위로 나타냈다.

칼슘과 인의 비율 Ca/P ratio(%)은 아래의 공식을 이용하여 나타내었다.

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

9) 경골 내 osteoclast like cell 분석

각 군에서 절취한 경골에서 골세포를 15ml tube에 모아, 차가운 PBS를 이용하여 세척한 후 trypan blue를 사용하여 세포를 계수하였다. 계수한 골세포를 2×10⁶cell/vial로 FACs전용 tube에 분주한다. 골세포 중 osteoclast like cell의 비율을 확인하기 위하여 표식항체 MHC II와 CD115를 반응시켜 flow cytometry로 분석하였다.

10) 경골의 조직학적 분석

(1) H&E 염색 분석

실험 종료 후, 각 군의 실험동물 경골을 절취하여, 주변의 근육조직을 제거한 다음, 10%의 formalin에 고정하고 paraffin에 얇게 절편하였다. 절편한 조직을 (주)바이오톡스텍(오창, 한국)에 의뢰하여 microtome을 이용하여 5μm으로 절편하고 Hematoxylin and eosin 염색을 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.

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

11) 통계처리

본 실험의 결과는 각 실험군에서 얻은 데이터의 평균과 표준편차로 나타내었으며, SPSS(14.0 한글판) 통계프로그램의 ANOVA test를 사용하여 유의성을 검증하였으며, 사후 비교분석은 scheffe 검정을 선택

하였다. 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 淫羊藿 약침액을 여러 가지 농도로 처리한 후 세포생존율을 확인하였다. 5%, 2.5%, 0.5%의 淫羊藿 약침액(EH-HAS)을 처리한 경우 조골세포의 생존율이 control에 비하여 약간 증가하였으며, 1%의 淫羊藿 약침액(EH-HAS)을 처리한 경우에는 세포생존율이 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1).

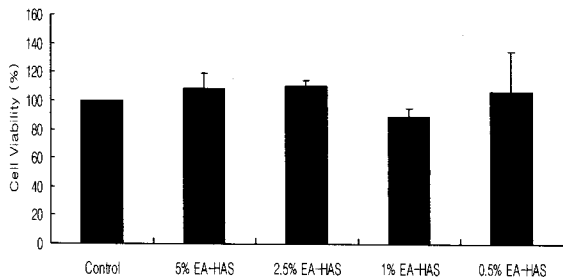


Fig. 1. Cell viability rate with various concentrations of EH-HAS

2. 골다공증 평가

1) 몸무게 변화

실험동물의 몸무게를 주 1회 측정하였다. 정상군과 위수술군에 비하여 대조군에서 몸무게 증가가 더 크게 나타났으며, 淫羊藿약침군에서 대조군에 비하여

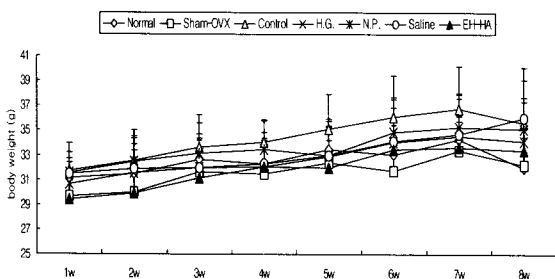


Fig. 2. Effect of EH-HA on body weight in ovariectomized mice

몸무게가 낮게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다 (Fig. 2).

2) 자궁 무게

실험 종료 후, 실험동물의 자궁을 적출하여 무게를 측정하였다. 정상군 및 위수술군에 비하여 모든 실험군에서 자궁 무게가 유의하게 감소하였다. 淫羊藿 약침군에서는 대조군, NP군, Saline군에 비하여 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 3).

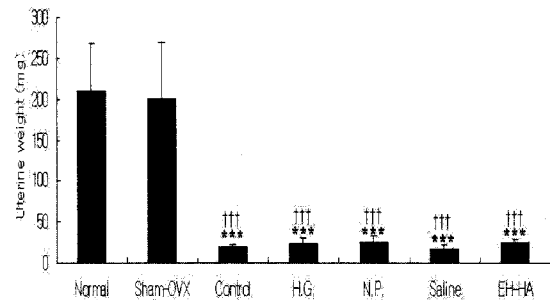


Fig. 3. Effect of EH-HA on the uterine weight in ovariectomized mice

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by ANOVA test.
 ††† : $p < 0.001$ compared to sham-OVX group by ANOVA test.

3) 자궁비중(Uterus index)

실험동물의 몸무게에 대한 자궁 무게의 백분율을 계산하였다. 정상군 및 위수술군에 비하여 모든 실험군에서 자궁 비중이 유의하게 감소하였다. 淫羊藿 약침군에서는 대조군, NP군, Saline군에 비하여 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 4).

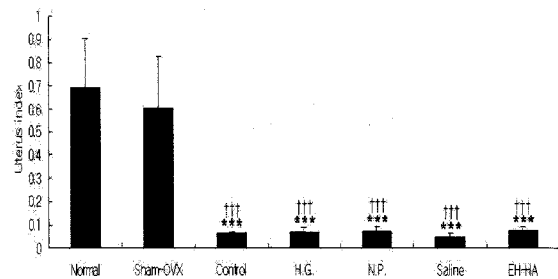


Fig. 4. Effect of EH-HA on the uterus index in ovariectomized mice

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by ANOVA test.
 ††† : $p < 0.001$ compared to sham-OVX group by ANOVA test.

4) 경골 길이

실험 종료 후, 실험동물의 경골을 적출하여 길이를 측정하였다. 위수술군에 비하여 대조군, HG군 및 saline군의 경골의 길이가 유의하게 증가하였다. 淫羊藿 약침군에서 대조군에 비하여 경골길이가 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 5).

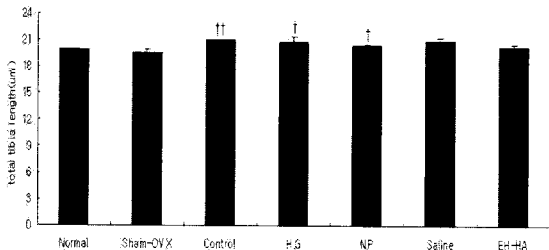


Fig. 5. Effect of EH-HA on the tibial length in ovariectomized mice

†† : p<0.01, † : p<0.05 compared to sham-OVX group by ANOVA test.

5) 경골 회분 함량

실험 종료 후, 실험동물의 경골을 태워 경골 내 회분 함량을 측정하였다. 대조군에서 정상군에 비하여 경골 회분함량이 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 경골의 회분 함량에 유의한 변화가 없었다(Fig. 6).

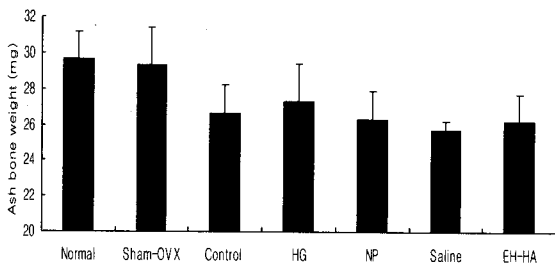


Fig. 6. Effect of EH-HA on the ash bone weight in ovariectomized mice

6) 골밀도 측정

실험 종료 후, 동물의 경골을 적출하여, 골밀도를 측정하였다. 대조군에서 정상군 및 위수술군에 비하여 골밀도가 유의하게 감소하였다. 淫羊藿약침군에서 대조군에 비해 골밀도가 유의하게 증가했다(Fig. 7).

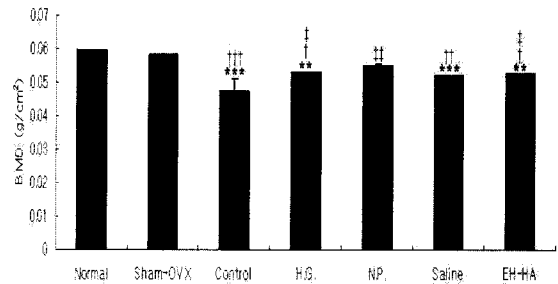


Fig. 7. Effect of EH-HA on tibial BMD in ovariectomized mice

** : p<0.01 compared to normal group by ANOVA test.
 *** : p<0.001
 †† : p<0.01, † : p<0.05 compared to sham-OVX group by ANOVA test.
 ††† : p<0.001
 ‡‡ : p<0.01, ‡ : p<0.05 compared to control group by ANOVA test.

3. 혈청 분석

각 실험동물의 혈청으로부터 ALP, osteocalcin, calcium, GOT 및 GPT의 농도를 측정하였다(Table 1).

1) Alkaline phosphatase(ALP)

각 실험동물에서 취한 혈청에서 alkaline phosphatase(ALP)의 농도를 측정하였다. 정상군에 비하여 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 혈청 ALP의 농도가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 혈청 ALP의 농도가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 8).

Table 1. Effect of EH-HA on Various Components InxSerum of Ovariectomized Mice

Parameter	Normal	Sham-OVX	Control	HG	NP	Saline	EH-HR
ALP(IU/L)	224±66.363	280.667±37.072	342±70.09	317.333±108.58	378.67±160.37	312.67±139.93	258.75±82.006
Osteocalcin(O.D.)	0.38±0.108	0.667±0.065	0.616±0.027	0.629±0.057	0.533±0.041	0.653±0.056	0.408±0.147
Calcium(mg/dl)	7.35±0.208	7.95±0.448	7.05±0.835	6.7±0.416	7.9±0.716	6.55±0.719	7.725±0.33
GOT(IU/ℓ)	346.33±89.81	514±152.59	441±62.39	660±144.82	275.33±124.07	413.67±69.0	415±37.643
GPT(IU/ℓ)	64±12.36	100.25±14.431	77±2.16	89.5±9.469	67.25±22.94	63.75±10.658	104.5±48.28

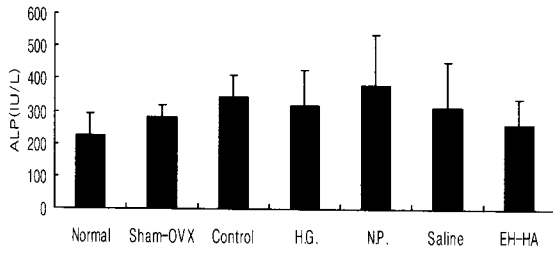


Fig. 8. Effect of EH-HA on serum ALP level in ovariectomized mice

2) Osteocalcin

각 실험동물에서 취한 혈청에서 osteocalcin level을 ELISA를 이용하여 측정하였다. 정상군에 비하여 위수술군, 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 osteocalcin의 농도가 증가하였으며, 淫羊藿 약침군에서 위수술군, 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 혈청 osteocalcin의 농도가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 9).

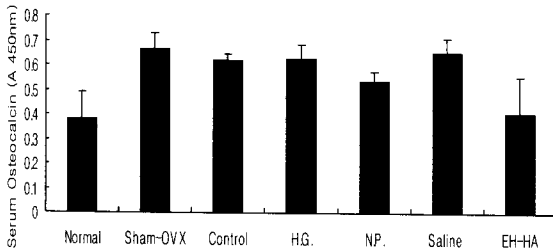


Fig. 9. Effect of EH-HA on serum osteocalcin level in ovariectomized mice

3) Calcium

각 실험동물에서 취한 혈청에서 calcium의 농도를 측정하였다. 정상군에 비하여 대조군, HG군 및 saline군에서 혈청 calcium 농도가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 淫羊藿 약침군에서 대조군, HG군 및 saline군에 비하여 혈청 calcium 농도가 증가하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 10).

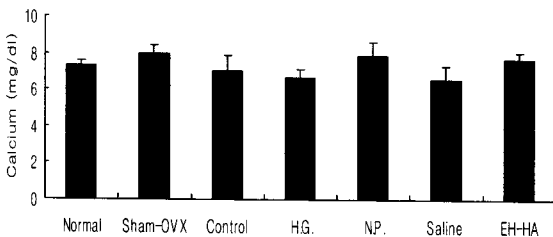


Fig. 10. Effect of EH-HA on serum Ca level in ovariectomized mice

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 EH-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	20.3±2.81	482.7±57.017
Sham-OVX	103.95±9.54	19.57±2.47	532.92±22.388
Control	74.56±10.61	17.76±2.31	419.57±14.875
H.G.	95.07±7.44	24.36±2.73	392.72±40.723
N.P.	89.65±5.64	20.09±1.19	446.14±12.636
Saline	122.12±3.13	26.96±1.71	465.38±32.86
EH-HA	103.01±13.71	25.445±2.92	404.795±26.849

1) Calcium

각 실험군에서 취한 경골을 회분한 뒤, 경골 내 calcium의 함량을 측정하였다. 대조군에서 정상군에 비하여 calcium 함량이 유의하게 감소하였다. Saline군에서는 정상군, 대조군, HG군, NP군에 비하여, 淫羊藿 약침군에서는 대조군에 비하여 경골 내 calcium 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 11).

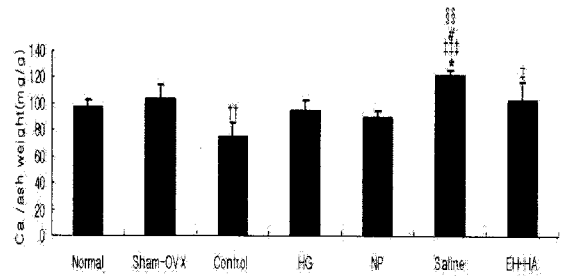


Fig. 11. Effect of EH-HA on tibial Ca level in ovariectomized mice

* : p<0.05 compared to normal group by ANOVA test.
 †† : p<0.01 compared to sham-OVX group by ANOVA test.
 ‡‡‡ : p<0.001, ‡ : p<0.05 compared to control group by ANOVA test.
 # : p<0.05 compared to H.G. group by ANOVA test.
 §§ : p<0.01, compared to N.P. group by ANOVA test.

2) Phosphorus

각 실험군에서 취한 경골을 회분한 뒤, 경골 내

phosphorus의 농도를 측정하였다. 대조군에서 정상군에 비하여 경골내 phosphorus의 함량이 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. Saline군에서는 정상군, 위수술군, 대조군, NP군에 비하여,淫羊藿 약침군에서는 대조군에 비하여 경골 내 calcium 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 12).

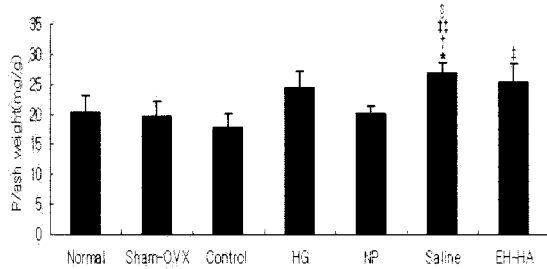


Fig. 12. Effect of EH-HA on tibial phosphorus level in ovariectomized mice

* : p<0.05 compared to normal group by ANOVA test.
 † : p<0.05 compared to sham-ovx group by ANOVA test.
 ‡‡ : p<0.01, ‡ : p<0.05 compared to control group by ANOVA test.
 § : p<0.05, compared to N.P. group by ANOVA test.

3) Ca/P ratio

각 실험군에서 취한 경골을 회분한 뒤, 경골 내 calcium과 phosphorus의 비율을 측정하였다. 대조군에서 위수술군에 비하여 Ca/P 비율이 유의하게 감소하였다.淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군, saline군에 비하여 Ca/P 비율에 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 13).

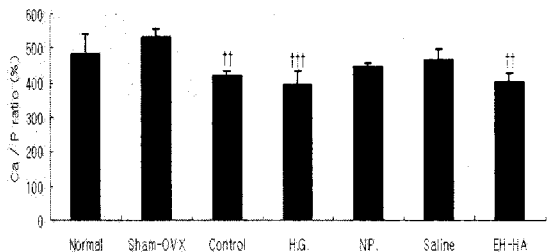


Fig. 13. Effect of EH-HA on tibial Ca/P ratio in ovariectomized mice

††† : p<0.001, †† : p<0.01 compared to sham-OVX group by ANOVA test.

5. 경골 내 osteoclast like cell 분석

경골 내 osteoclast like cell의 비율을 flow cytometry

assay를 이용하여 측정하였다. 대조군에서 MHCII⁺/CD115⁺세포의 비율은 5.47±0.4로 나타나 정상군의 2±0.079에 비하여 현저하게 증가하였으며,淫羊藿 약침군에서는 2.2±0.11로 나타나 대조군, NP군 및 saline군에 비하여 감소하였다(Fig. 14).

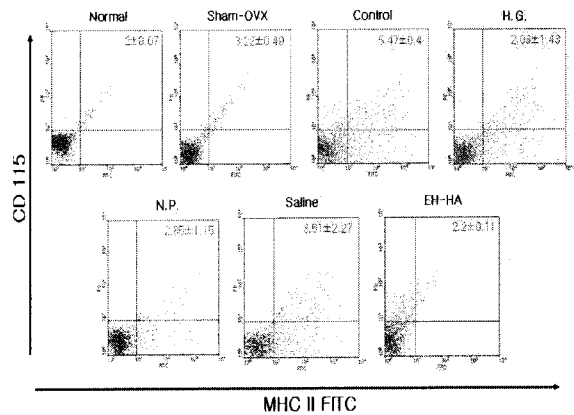


Fig. 14. Effect of EH-HA on osteoclast like cell in tibia of ovariectomized mice

경골 내 osteoclast like cell의 비율을 flow cytometry assay로 측정하여 군간 비교한 결과, 대조군에서 osteoclast like cell 비율은 정상군에 비하여 유의하게 증가하였으며,淫羊藿 약침군과 HG군에서는 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 15).

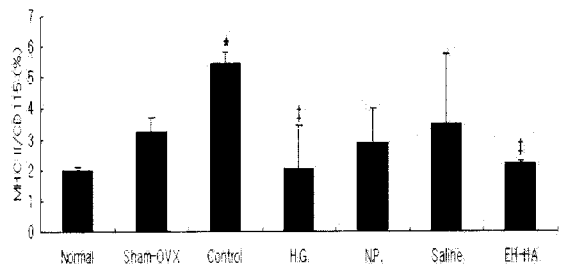


Fig. 15. Effect of EH-HA on osteoclast like cell in tibia of ovariectomized mice

* : p<0.05 compared to normal group by ANOVA test.
 ‡ : p<0.05 compared to control group by ANOVA test.

6. 경골의 조직학적 분석

1) H&E 염색 분석

실험동물의 경골조직을 절편하여 Hematoxylin and eosin(H&E) 염색을 실시하였다. 대조군에서 정상군에 비하여 골 내부에 pore가 많이 나타났고, 지주골이 적게 분포하였다.淫羊藿약침군(CH-HA)에서는 control

군에 비하여 pore의 생성이 감소되었으며, 지주골량이 증가하였다(Fig. 16).

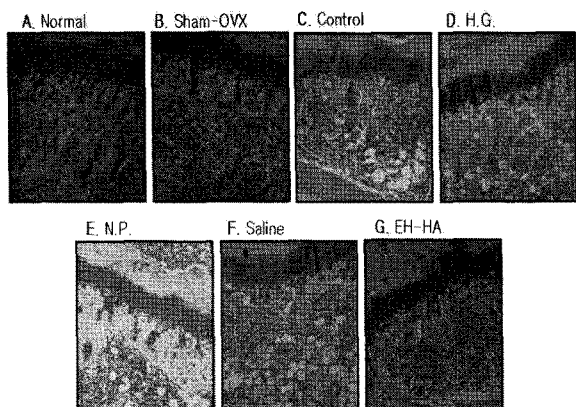


Fig. 16. Histological analysis(H&E stain) of transverse cross sections of tibia in ovariectomized mice

2) Histomorphometry

(1) TBV(Trabecular bone volume)

실험동물의 경골조직을 절편하여 H&E 염색을 한 후, 자동분석 프로그램을 이용하여 지주골량(TBV)을 측정하였다. 대조군에서 정상군에 비해 지주골량(TBV)이 유의하게 감소하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군 및 saline군에 비하여 지주골량(TBV)이 유의하게 증가하였다(Fig. 17).

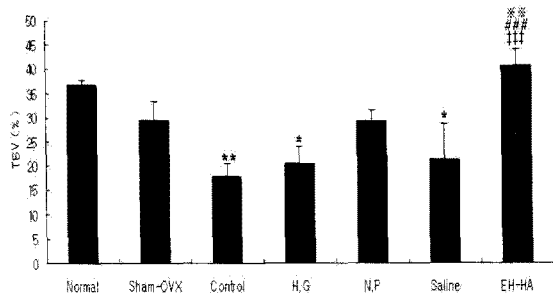


Fig. 17. Effect of EH-HA on the trabecular bone volume of tibia in ovariectomized mice

** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ compared to normal group by ANOVA test.

: $p < 0.001$ compared to control group by ANOVA test.

: $p < 0.001$ compared to H.G. group by ANOVA test.

*** : $p < 0.01$ compared to saline group by ANOVA test.

(2) TBT(Trabecular bone thickness)

실험동물의 경골조직을 절편하여 H&E 염색을 한

후, 자동분석 프로그램을 이용하여 지주골의 두께(TBT)를 측정하였다. 대조군, HG군, NP군, Saline군에서 정상군 및 위수술군에 비해 지주골 두께가 유의하게 감소하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 지주골 두께가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 18).

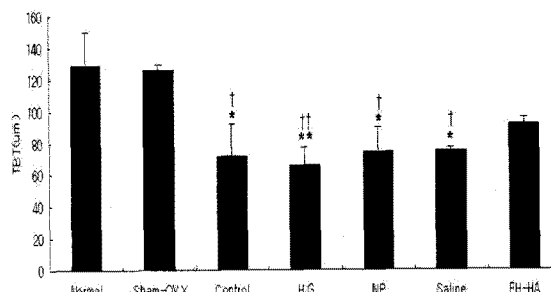


Fig. 18. Effect of EH-HA on the trabecular bone thickness of tibia in ovariectomized mice

** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ compared to normal group by ANOVA test.

†† : $p < 0.01$, † : $p < 0.05$ compared to control group by ANOVA test.

(3) GPL(Growth plate length)

실험동물의 경골조직을 절편하여 H&E 염색을 한 후, 자동분석 프로그램을 이용하여 성장판의 길이(GPL)를 측정하였다. 대조군에서 정상군 및 위수술군에 비해 성장판의 길이가 유의하게 증가하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 대조군에 비하여 성장판의 길이가 유의하게 감소하였다(Fig. 19).

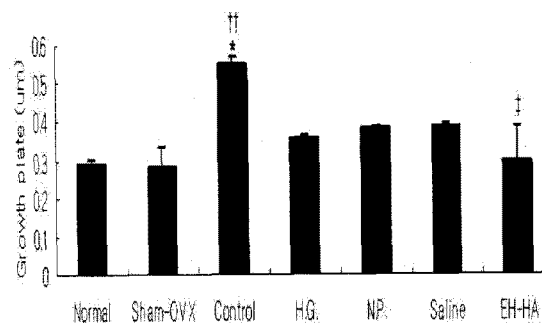


Fig. 19. Effect of EH-HA on growth plate length of tibia in ovariectomized mice

* : $p < 0.05$ compared to normal group by ANOVA test.

†† : $p < 0.01$ compared to control group by ANOVA test.

‡ : $p < 0.05$ compared to control group by ANOVA test.

IV. 고 찰

골다공증을 간단히 정의하면 뼈의 강도를 약화시켜 골절의 위험도를 증가시키는 질환이다. 뼈의 강도는 뼈 조직 성분의 양을 의미하는 골밀도와 뼈의 구조 및 성분 구성을 의미하는 골질로 나누어 생각해야 한다. 골밀도는 Dual energy X-ray Absorptiometry (DXA)나 다른 방법에 의해 손쉽게 측정이 가능하지만 골질은 그렇지 않다. 낮은 골밀도나 낮은 골질, 혹은 두 가지 모두 해당하는 뼈는 골절의 위험도가 높다고 할 수 있다¹²⁾. 1994년 WHO 기준에 따르면 DXA에서 최대 골량치를 나타내는 20-40세의 젊은 성인에서 측정된 평균 골밀도를 기준으로 2.5표준편차 이하의 골량(T-score, -2.5 이하)을 나타낼 때 골다공증으로, -1.0 이하에서 -2.5표준편차 이상은 골감소증(osteopenia)으로 정의하였다¹³⁾.

임상적 분류로는 크게 원발성과 속발성으로 나누며 원발성 골다공증에는 폐경기후 골다공증(제1형)과 노인성 골다공증(제2형)이 있고 속발성 골다공증에는 내분비성 골다공증, 영양성 골다공증, 유전성 골다공증, 국소성 골다공증 등이 있다. 정형외과에서 흔히 보는 것은 원발성 골다공증이며 제1형 폐경기후 골다공증은 51세에서 65세의 여자에게서 발병하며 주로 골소주를 침범하기 때문에 척추골절이나 원위 요골 골절과 관계가 깊고 에스트로겐이 주 역할을 하고 제2형 노인성 골다공증은 70세 이후의 남녀에게서 관찰되고 주로 피질골을 침범하므로 고관절부 골절 및 골반골, 상완골 근위부, 경골 근위부 골절과 관계가 깊고 연령이 주원인이다¹⁴⁾.

골다공증의 주된 임상적인 부작용은 척추와 손목, 골반, 상완골 및 경골의 골절이다. 척추 골절의 가장 흔한 증상은 허리 통증과 척추의 기형이다. 어떤 환자들은 관절염과 유사한 만성적인 등의 동통을 동반한다¹⁵⁾.

검사 소견상, 골다공증은 특이 소견이 보이지 않아 진단에 큰 도움이 되지 못한다. 즉 혈청 및 소변의 칼슘과 무기인(inorganic phosphorous) 그리고 혈청 알칼리성 및 산성 인산 분해 효소 등은 대부분의 검사에서 정상으로 나타나거나 경미한 변화를 보일 뿐이다. 생화학적 지표 검사는, 골 형성 및 골 흡수 지표로 나눌 수 있는데, 골 형성 지표에는 혈청 알칼리성 인산 분해 효소(serum alkaline phosphatase), 혈청 오스테오칼신(serum osteocalcin or bone Gla portein; BGP),

전구 콜라겐 I형 C-말단부 프로펩타이드(PICP, pro-collagen type I C-terminal propeptide) 등이 있다. 이중 오스테오칼신은 골에 존재하는 특이하고 유일한 단백질로서, 조골세포의 활동을 나타내는 데 가장 민감하고 특이하다고 알려져 있다¹⁾.

골다공증의 치료는 식생활의 개선, 운동요법과 약물요법 등의 총체적인 치료를 요하며 이미 진행된 상태에서 질병을 치료하기보다는 적극적인 예방이 보다 효율적일 수 있다. 현재 골다공증에서 사용되고 있는 약물은 크게 골흡수 억제제와 골형성 촉진제로 구분한다. 그러나 불행히도 불소제제와 부갑상선 호르몬을 제외하면 대부분 골흡수 억제제의 영역에 들어간다. 최근 사용되는 약제는 여성호르몬 에스트로젠, 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(SERM; selective estrogen-receptor modulators), 비스포스포네이트(bisphosphonate)제제, 칼시토닌(calcitonin), 비타민D, 칼슘 등이 있다¹⁶⁾. 그러나 이러한 약제들은 속쓰림, 구역, 구토, 궤양 등의 소화기 자극 증상이나, 안면홍조, 관상동맥 질환의 위험도 증가, 유방암, 뇌졸중, 혈전 색전증 등의 유발 가능성 등의 부작용뿐만 아니라 부갑상선 호르몬 제제의 경우는 치료기간이나 용량에 대한 연구가 아직까지 부족한 실정이다. 또한 골흡수 억제제만으로는 35-50% 내외의 골절 억제효과 밖에는 볼 수 없어 최근에는 양질의 골 형성을 촉진하는 새로운 개념의 약제를 찾기 위한 연구에 초점을 맞추고¹⁷⁾, 식물성 에스트로겐, 한약제제, DHEA, strontium ranelate 등에 대한 연구가 진행 중이다¹⁸⁾.

골다공증은 韓醫學으로 ‘骨痿’, ‘骨痺’, ‘痺證’, ‘虛勞’ 등의 범위에 속하고^{19,20)}, ‘骨의 위약한 상태를 나타내는 ‘骨枯’, ‘骨極’이라는 병명과 유사하며⁴⁾, 이들의 병리기전 및 임상증상은 다음과 같다.

‘骨의 생리기능에 대하여 <<黃帝內經·素問·宣明五氣論>>²¹⁾에서는 “五臟所主…腎主骨”이라 하고, <素問·六節臟象論>²¹⁾에서는 “腎者…其充在骨”이라 하였는데, 이는 ‘腎과 骨髓의 生長發育이 密接한 관계가 있음⁴⁾을 표현한 것으로 精髓는 骨 속에 있으면서 골격을 滋養함을 알 수 있다.

‘骨痿’에 대하여 <素問·痿論>²¹⁾에 “腎主身之骨髓…腎氣熱則腰脊不舉, 骨枯而髓減, 發爲骨痿…有所遠行勞倦, 逢大熱而渴, 渴則陽氣內伏, 內伏則熱邪于腎, 腎者, 水臟也, 今水不勝火則骨枯而髓減, 故足不任身發爲骨也”라고 최초로 기록된 병명으로 腎氣熱과 腎氣虛損이 발생원인이며 坐不能起, 腰脊不舉, 肌膚削而形羸瘦, 腰膝疼痛 등의 증상을 나타내는데 骨痿는 이 질

환의 생성기전을 나타내는 표현 중 骨枯而髓滅하여 발생된다고 하였으므로 골다공증과 매우 유사한 발병 기전을 가진다고 하겠다. '骨痺'에 대하여 <素問·長刺節論>²¹⁾에 “病在骨 骨髓不可舉 骨髓酸痛 寒氣至 名曰骨痺”라 하였고 <素問·逆調論>²¹⁾에서 “腎孤臟也 一水不能勝二火 故不能凍深 病名曰骨痺 是人當學節也”라 하여 뼈와骨髓, 腎과 연관된 有機的 生理作用의 失調로 뼈에 病變이 發生한다고 볼 수 있다. 骨痺는 <素問·痺論>²¹⁾에서 서술된 五痺 中の 일종으로 '骨痺'의 임상증상은 骨重不可舉, 骨髓酸痛, 舉節不用而痛으로 골다공증의 주요 임상표현인 腰背痛과 일치한다. <素問>²¹⁾에서는 痺症의 일반적 원인인 風寒濕邪의 침범이 직접적이 원인이 되며 겨울에 발병하는 특징을 지닌다고 하였으나 <聖濟總錄>²²⁾에서는 '骨痺'가 天癸虧損으로 인한 神志不長에 기인하여 형성된다고 하여 현대의학의 閉經期後 골다공증과 근사한 발생개념으로 설명하였다. '骨枯'는 骨의 痿弱상태를 설명한 용어로 足少陰腎經의 氣가 骨髓를 濡養하지 못하여 발생하며 骨痿의 발생기전에 해당한다고 볼 수 있으며 현대의학의 골다공증과 매우 유사한 병증 개념이라고 할 수 있다. '骨極'은 腎臟中風에 의해 발병하는데 腎臟이 風邪에 感한 후 骨痺를 형성하고 骨痺가 치유되지 않은 상태에서 다시 邪氣에 感하였을 때 발생한다고 하며 手足煩疼, 腰痛, 不能久立, 屈伸不利, 腰背相引而痛, 髮墮齒枯, 耳鳴, 膀胱不通, 牙齒腦體苦痛, 手足疼痛 등의 증상을 나타낸다. 따라서 骨極은 骨痺가 더욱 深化된 상태라고 할 수 있으며 골다공증과 有關한 질환이라고 볼 수 있다. '骨痛'은 여러 가지 원인으로 인하여 病邪가 骨에 이르러 통증을 일으키는 양상을 표현한 것으로 통증의 罹患부위가 深層部인 骨部임을 나타내는 표현이다. 骨의 寒熱상태를 묘사한 述語로 <廣濟秘笈>²³⁾에서는 腎臟의 寒熱이 骨의 寒熱을 유발한다고 하였다. 以上에서 볼 때 骨은 腎之府이고 髓는 腎에서 生하니 骨格의 生長과 機能은 腎氣의 盛衰에 따라서 결정되고 骨病은 대개 先天稟受가 不足하거나 腎氣가 虛弱한 者에게 많으며, 骨痿, 骨痺, 骨枯, 骨極이 골질의 약화를 나타내는 질병으로 임상증상과 발병원인으로 보아 골다공증과 밀접한 관계가 있다⁴⁾.

淫羊藿(*Epimedii Herba*)은 小藥科(매자나무과; Berberidaceae)에 속한 다년생 초본인 삼지구엽초(*Epimedium koreanum* NAKAI)의 全草를 건조한 것으로, 여름과 가을 사이에 지상부를 채취하여 晒乾한 것으로, 性은 溫 無毒하고, 味는 辛甘하다. 補腎壯陽,

祛風除濕의 효능이 있어, 內로는 능히 腎陽을 強壯케 하고 強筋健骨하며, 또한 外로는 風濕의 邪를 散하여 通痺止痛시키므로 腎陽不足으로 인한 남자의 陽痿와 여자의 자궁발육부전 및 風寒痺痛 등의 증에 많이 응용하며, 최근에 와서 부녀의 갱년기에 나타나는 고혈압과 소아마비의 급성기를 치료하는 데 좋은 효과가 있다⁵⁾고 알려져 있다. 약침 제제는 닭의 대퇴골 생장과 단백질 다당의 합성을 활성화 시킨다²⁴⁾는 보고가 있다. <神農本草經>²⁵⁾에서는 淫羊藿이 “一名剛前, 味辛, 寒, 無毒, 治陰痿, 絕傷, 莖中痛, 利小便, 益氣力, 強志”라고 최초로 문헌에 기록된 이래, 補腎壯陽, 祛風除濕의 효능으로 陽痿不舉, 小便淋瀝, 筋骨攣急, 半身不遂, 腰膝無力, 風濕痺痛 및 四肢不仁 등의 증상으로 한방임상에 널리 사용되어 온 약물이다⁵⁾.

골다공증에 대한 치료처방 중 淫羊藿을 쓴 것으로 보고 된 문헌은 중국에서 많이 보이는데, 張²⁶⁾ 등은 폐경기 후 골다공증 환자 44례를 대상으로 補腎填精方을, 陸²⁷⁾은 골다공증환자 228례에 사용하여 예방 및 치료 작용이 있음을 보고하였다.

일반적으로 난소를 적출한 후 estrogen이 결핍된 쥐에서 골형성의 감소, 골흡수의 증가, 해면골과 피질골의 골량 감소 등이 나타난다²⁸⁾고 하였는데, 본 실험에서는 정상군과 위수술군에 비하여 대조군에서 몸무게 증가가 더 크게 나타났으며, 淫羊藿 약침군에서 대조군에 비하여 몸무게가 낮게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 2).

자궁은 자궁내막과 자궁근이 모두 estrogen에 의존적이며, estrogen은 난소에서만 분비되므로 난소가 제거되면 자궁은 위축하게 되는데²⁹⁾, 실험 종료 후, 실험동물의 자궁을 적출하여 무게를 측정하고, 몸무게에 대한 자궁 무게의 백분율을 계산한 결과, 정상군 및 위수술군에 비하여 모든 실험군에서 유의하게 감소하였다. 淫羊藿 약침군에서는 대조군, NP군, Saline 군에 비하여 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 3, 4).

골소주의 변화를 측정하여 골다공증을 연구한 보고는 Aktinson³⁰⁾이 나이에 따른 골소주의 직경과 수의 변화를 비교한 이래로 골다공증과 관련된 골소주의 변화를 보고한 연구가 많다. 본 실험에서는 실험 종료 후, 실험동물의 경골을 적출하여 길이를 측정하였다. 위수술군에 비하여 대조군, HG군 및 saline 군의 경골의 길이가 유의하게 증가하였다. 淫羊藿 약침군에서 대조군에 비하여 경골길이가 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 5). 또한 실험 종료

후, 실험동물의 경골을 태워 경골 내 회분 함량을 측정하였는데, 대조군에서 정상군에 비하여 경골 회분 함량이 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 경골의 회분 함량에 유의한 변화가 없었다(Fig. 6). 실험 종료 후, 동물의 경골을 적출하여, 골밀도를 측정하였는데, 대조군에서 정상군 및 위수술군에 비하여 골밀도가 유의하게 감소하였고, 淫羊藿 약침군에서 대조군에 비하여 골밀도가 유의하게 증가하였다(Fig. 7).

혈청 ALP의 활성은 골생성의 지표로서 가장 흔하게 사용되며 조골세포의 활성을 반영한다. 성인에서 연령이 증가함에 따라 ALP 활성도 함께 증가하며 폐경시 estrogen의 결핍으로 인하여 골전환이 증가하기 때문에 특히 폐경기 이후의 여성에서 증가한다고 보고³¹⁾되었다. 본 실험의 실험동물에서 취한 혈청에서 ALP의 농도를 측정한 결과, 정상군에 비하여 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 혈청 ALP의 농도가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 혈청 ALP의 농도가 감소하여 ALP의 증가가 억제되는 하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 8).

Osteocalcin은 칼슘과 결합하는 Vit K 의존성 alphacarboxyglutamic acid 단백질로서³²⁾, 골의 재형성시 골아세포의 활성이 증가하며, 혈청 중 osteocalcin level이 높아지므로 골생성의 지표로 이용할 수 있다고 알려져 있다.^{32,33)} 한편 난소적출시 혈중 osteocalcin 함량의 증가는 골다공증을 평가하는 하나의 중요한 지표로 알려져 있으며^{33,34)}, 본 실험의 결과 정상군에 비하여 위수술군, 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 osteocalcin의 농도가 증가하였으나, 淫羊藿 약침군에서 위수술군, 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 혈청 osteocalcin의 농도가 감소하여 골생성에 대한 통계적 유의성은 없었다(Fig. 9).

혈중 Calcium 농도의 변화는 뼈에 존재하는 Calcium의 영향을 받게 되고 난소적출로 인한 골 교체율의 증가는 골질의 감소를 초래하여 혈중 Calcium의 상승을 가져오게 하므로³⁵⁾, 혈중 Calcium 농도 변화는 골 흡수와 연관이 있다. 본 실험의 실험동물에서 취한 혈청에서 calcium 농도를 측정하였는데, 정상군에 비하여 대조군, HG군 및 saline군에서 혈청 calcium 농도가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 淫羊藿 약침군에서 대조군, HG군 및 saline군에 비하여 혈청 calcium 농도가 증가하였으나, 통계적 유

의성은 없었다(Fig. 10).

혈중 P의 농도는 폐경 후 여성에서는 정상 성인에 비해 약간의 증가가 일어난다. 골이 흡수될 때 P는 Ca와 함께 세포외액으로 방출되고 유기기질이 흡수되어 골대사가 일어나고 있을 때 증가한다⁴⁵⁾. 난소를 절제한 쥐에서는 골의 calcium 함량과 phosphorus 함량이 감소하며, 이러한 결과를 통하여 골흡수가 증가된 것으로 볼 수 있는데³⁶⁾, 본 실험에서 골의 함량 변화를 보면, 대조군에서 정상군에 비하여 calcium 함량이 유의하게 감소하였고, 淫羊藿 약침군에서는 대조군에 비하여 경골 내 calcium 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 11). 골의 phosphorus 함량의 변화를 살펴보면, 대조군에서 정상군에 비하여 경골내 phosphorus의 함량이 약간 감소하였으나 통계적 유의성은 없었고, 淫羊藿 약침군에서는 대조군에 비하여 경골 내 phosphorus 함량이 유의하게 증가하였다(Fig. 12).

Bone의 Ca/P ratio는 bone condition과 관련되어 있으며 특히 hypomineralization bone loss, aging 등에서 감소하며 또한 Ca와 P의 상대적 비율은 섭취하는 음식물에 따라 변할 수 있는데 일반적으로 무계를 기준으로 볼 때, Ca/P의 비율이 1.3-2.0이다³⁷⁾. 각 실험군에서 측정된 경골 내 calcium과 phosphorus의 비율은 대조군에서 위수술군에 비하여 Ca/P 비율이 유의하게 감소하였고, 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군, saline군에 비하여 Ca/P 비율에 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 13).

모든 골격에서 성장 중인 골격을 제외하고는 골침착률과 골흡수율은 동등하여 골격의 총량을 일정하게 유지한다. 그러나 30-45세 이후 이러한 균형은 깨지고 흡수가 능가하게 된다. 이러한 과정은 폐경기 이후의 여성에서 시작하기도 하며, 과도한 골소실은 파골세포(osteoclast)의 기능 증가와 혹은 조골세포의 기능 감소 때문에 일어날 수도 있다³⁷⁾. 본 실험에서 경골 내 osteoclast like cell의 비율을 측정한 결과 대조군에서 5.47±0.4로 나타나 정상군의 2±0.079에 비하여 현저하게 증가하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 2.2±0.11로 나타나 대조군, NP군 및 saline군에 비하여 감소하였다(Fig. 14). 경골 내 osteoclast like cell의 비율은 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 15).

골다공증은 골소주(지주골, trabecula)의 수량과 크기가 감소되며 하버시안 계(Haversian system, osteon)와 골수 강(bone marrow cavity)이 넓어져 골의 약화

를 일으킨다¹⁾. 본 실험에서는 동물의 경골조직을 절편하여 Hematoxylin and eosin(H&E) 염색을 실시하였는데, 대조군에서 정상군에 비하여 골 내부에 pore가 많이 나타났고, 지주골이 적게 분포하였다. 淫羊藿 약침군(CH-HA)에서는 대조군에 비하여 pore의 생성이 감소되었으며, 지주골량이 증가하였다(Fig. 16). 그리고, 자동분석 프로그램을 이용하여 지주골량(TBV)을 측정하였는데, 대조군에서 정상군에 비해 지주골량(TBV)이 유의하게 감소하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군 및 saline군에 비하여 지주골량(TBV)이 유의하게 증가하였다(Fig. 17). 측정된 지주골의 두께(TBT)는 대조군에서 정상군 및 위수술군에 비해 지주골 두께가 유의하게 감소하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 지주골 두께가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 18). 에스트로겐 등의 성호르몬은 남녀 모두에서 사춘기 골단 폐쇄에 중요한 역할을 하므로³⁸⁾ 난소 적출로 인해 성호르몬이 억제된 쥐에서는 골성장기 증가한다. 역시 자동분석 프로그램을 이용하여 측정된 성장판의 길이(GPL)는 대조군에서 정상군 및 위수술군에 비해 성장판의 길이가 유의하게 증가하였으며, 淫羊藿 약침군에서는 대조군에 비하여 성장판의 길이가 유의하게 감소하였다(Fig. 19).

이상의 실험 결과를 종합하여 보면 淫羊藿 약침 처치는 난소적출에 의해 유발된 생쥐의 골다공증을 유의하게 회복시켰다. 따라서 淫羊藿 약침요법은 폐경기 골다공증에 유효한 치료법이 될 수 있을 것으로 추정되며, 향후 임상적 활용을 위한 보다 적극적이고 지속적 연구가 필요하다고 사료된다.

V. 결 론

난소를 적출하여 estrogen 결핍에 의한 골다공증을 유도한 ddY mice를 대상으로 음극에 시술한 淫羊藿 약침이 골다공증에 미치는 영향을 관찰한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 경골 길이, 경골 회분 함량은 유의성이 없었고, 골밀도는 淫羊藿 약침군이 대조군에 비해서 유의하게 증가하였다.
2. 혈청 중 ALP는 淫羊藿 약침군이 대조군에 비해서 감소, Osteocalcin은 감소, Calcium은 증가하

였으나 모두 유의성은 없었다.

3. 경골 내 Ca 및 P 함량은 淫羊藿 약침군이 대조군에 비해 유의하게 증가하였으나, Ca/P의 비율은 유의성은 없었다.
4. 경골 내 osteoclast like cell 분석은 淫羊藿 약침군이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다.
5. 경골의 조직학적 분석 중 H&E 염색 분석에서 淫羊藿 약침군이 대조군에 비해 지주골량이 증가하였고, 지주골량은 유의하게 증가하였으며, 지주골 두께는 증가하였으나 유의성이 없었고, 성장판 길이는 유의하게 감소하였다.

VI. 參考文獻

1. 대한정형외과학회. 정형외과학. 서울 : 최신의학사. 1999 : 152-6.
2. 대한골대사학회. 골다공증(골조송증). 서울 : 최신의학사. 1991 : 27-9.
3. 金鍾桓. 골다공증에 관한 문헌적 고찰(주로 최근의 한의학적 임상 및 실험논문을 중심으로). 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 437-54.
4. 강성길, 박영배, 안현석. 골다공증의 침구치료에 대한 문헌적 고찰. 대한침구학회지. 1995 ; 15(2) : 171-89.
5. 이상인 외. 본초학. 서울 : 영림사. 1991 : 553-4.
6. 최창민, 이수정, 박경환, 김송백, 조한백. 右歸飲이 난소적출 白鼠의 골다공증에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006 ; 19(4) : 77-92.
7. 이정재 외. 當歸地黃飲이 난소적출 白鼠의 골다공증에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2004 ; 7(1) : 111-28.
8. 서규태. 생하수오와 製何首烏가 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 예방효과에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2005 ; 20(2) : 137-48.
9. 김민정, 서부일, 신순식, 박지하. 하수오와 백수오가 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 예방효과에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2004 ; 19(1) : 23-34.
10. 석재욱. 巴戟天 약침이 난소적출로 유발된 백서의 골다공증에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2000 ; 17(3) : 140-50.
11. 육태한. 紅花子·鹿茸·紫河車약침이 골다공증에

- 미치는 영향. 대한침구학회지. 2000 ; 17(3) : 140-50.
12. 이두형, 원예연. 골다공증의 병인론. 대한고관절학회지. 2007 ; 19(3) : 255.
 13. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학. 서울 : 칼빈서적. 1991 : 330-1.
 14. 최일용, 김병훈. 골다공증에 의한 골절의 수술적 치료. 서울 : 한양의대학술지. 2002 ; 22(1) : 27-32.
 15. 해리슨 번역 편찬위원회. Harrison's 내과학. 서울 : 정담. 1997 : 2310-21, 2342-3.
 16. 최응환. 골다공증의 비호르몬제 치료법. 서울 : 한양의대학술지. 2002 ; 22(1) : 19-26.
 17. 임승길. 골다공증 연구의 최근 동향. 생화학분자생물학뉴스. 2002 ; 22(3) : 270-6.
 18. 강병문. 골다공증 치료의 의학약제와 대체 약물의 비교. 대한산부회지. 2006 ; 49(12) : 2459-73.
 19. 한방재활의학과학회. 한방재활의학과학. 서울 : 군자출판사. 2003 : 110-2, 165-8.
 20. 김갑성, 김명동, 김윤범, 김장현, 김중호, 이원철, 임양근, 정찬길. 실용 동서의학 임상총서. 서울 : 정담. 2001 : 553-62.
 21. 王琦 編著. 黃帝內經 素問今釋. 서울 : 醫聖堂. 1994 : 52, 126, 166, 206, 211, 247.
 22. 政和 奉勅撰. 吳錫璜 著. 聖濟總錄. 上海 : 上海文書書局. 1997 : 336-7.
 23. 李景華. 廣濟秘笈. 서울 : 癸丑文化社. 1973 : 36.
 24. 安德均. 原色韓國本草圖鑑. 서울 : 敎學社. 1998 : 687.
 25. 馬斷興. 神農本草經輯注. 北京 : 人民衛生出版社. 1995 : 214.
 26. 張福玲, 史清敏. 絕經期後婦女骨質粗鬆的中藥治療. 北京 ; 中國藥信息. 1993 ; 3 : 46.
 27. 陸萬人. 中國內服外敷治療骨質粗鬆症228例治療效觀察. 北京 : 實用中醫藥雜誌. 1995 : 3 : 17, 20.
 28. Gurkan L, Ekeland A, Gautvik KM, Langeland N, Ronningen H, Solheim LF. Bone changes after castration in rats. A model for osteoporosis. *Acts Orthop Scand.* 1986 ; 57(1) : 67-70.
 29. 이환모, 한수봉, 박병문. 백서의 난소제거술 후 발생한 골조송증에 대한 Calcitonin의 효과. 대한정형학회지. 1992 ; 27(2) : 577-82.
 30. Aktinson PJ. Variation in trabecular structure of vertebrae with age. *Calcif Tissue Res.* 1967 : 24-32.
 31. Gallagher SK. Biochemical markers of bone metabolism as they relate to osteoporosis. *Medical Lab Observer* 29. 1997 : 50-6.
 32. Abadjieva, DK and 강성길. 녹용약침 자극이 난소적출 흰쥐의 지질 및 골대사에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1996 ; 17 : 168-77.
 33. 한병권, 박원근, 최태환, 신현우, 김선우. 한국인 갱년기 여성의 골밀도 및 호르몬 변화에 대한 연구. 대한내분비학회지. 1986 ; 4 : 21-8.
 34. Blaque R, Cottreaux C and Gardner CR. Increases in osteocalcin after ovariectomy are amplified by LPS injection : strain differences in bone remodeling. *Gen Pharmacol.* 1998 ; 30 : 51-66.
 35. Yeh JK, Aloia JF, Barilla ML. Effect of 17 β -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bones of the ovariectomized rat. *Bone Miner.* 1994 ; 24(3) : 223-34.
 36. 이해남, 박용문, 장미경, 변용진. 한국 여성의 요골 골밀도치에 의한 골다공증의 빈도 및 폐경에 따른 변화. 대한산부인과학회지. 1992 ; 45(7) : 1186-90.
 37. Arthur C Guyton, John E Hall. 의학생리학. 서울 : 정담. 2002 : 1050-3.
 38. 백승훈, 김신윤. 골다공증의 병인론. 대한고관절학회지. 2006 ; 18(4) : 386-96.