

## 애엽 추출물이 골 대사에 미치는 영향

이승민 · 김명규 · 이승연 · 강태훈<sup>†</sup>

(주)KMSI 부설 한국의과학연구소

### Effects of *Artemisia princeps* Extract on Bone Metabolism

Seung Min Lee, Myung Gyou Kim, Seung Youn Lee, and Tae Hoon Kang<sup>†</sup>

Korea Medical Science Institute, Incheon 406-840, Korea

#### Abstract

*Artemisia princeps* has been utilized as a traditional medicine for a variety of diseases in Korea. In this study, we investigated the effects of *Artemisia princeps* extract (APE) on bone metabolism both *in vitro* using primary mouse bone marrow-derived macrophage and *in vivo* using ovariectomized rats. APE decreased the number of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)-positive multinucleated cells and TRAP activity. Also, APE inhibited bone resorptive activity of differentiated osteoclasts. In ovariectomized rats, APE alleviated the decrease in the trabecular bone mineral density. These results showed that APE might be useful for the prevention of postmenopausal bone loss.

**Key words:** *Artemisia princeps*, osteoclast, tartrate-resistant acid phosphatase activity, bone resorptive activity, bone mineral density

#### 서 론

뼈의 항상성은 파골세포(osteoclast)와 조골세포(osteoblast)가 관여하는 뼈재형성(bone remodeling) 과정에 의해 유지된다. 파골세포는 노화된 뼈의 표면에 부착하여 뼈 기질을 흡수하는 반면, 조골세포는 칼슘과 인을 분비함으로써 새로운 뼈를 형성하며, 이러한 세포들의 활성은 전신 호르몬과 여러 국소인자들에 의해 조절된다고 알려져 있다(1-3). 하지만 파골세포와 조골세포간의 불균형은 골대사 질환을 유발하는데, 그 대표적인 예가 골다공증(osteoporosis)이다. 특히 폐경기 여성들의 경우 에스트로겐 부족이 주요원인으로 작용하여 골다공증이 유발되는데, 이는 에스트로겐 결핍이 파골세포의 증식 및 활성을 증가시켜 골흡수를 촉진하기 때문으로 보고되고 있다(4,5).

파골세포는 다핵형 세포로서 조혈모세포에서 유래된 전구세포인 단핵/대식세포로부터 분화되며, 이러한 분화에는 조골세포로부터 분비되는 싸이토카인인 macrophage colony-stimulating factor(M-CSF)와 receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand(RANKL)가 관여하는 것으로 알려져 있다(6-8). RANKL이 전구세포의 RANK에 결합하면 NF- $\kappa$ B, Mitranscription factor(Mitf), PU.1, c-Fos, nuclear factor of activated T cells(NFAT) c1과 같은 전사인자들의

발현 및 활성이 증가되어 파골세포로의 분화가 촉진된다(9,10). 특히 NFATc1은 파골세포의 분화에 매우 중요한 전사인자로 파골세포 지표인 tartrate-resistant acid phosphatase(TRAP), osteoclast-associated receptor(OSCAR), calcitonin receptor(CTR) 등의 발현을 촉진한다(11).

애엽(*Artemisia princeps* Pamp.)은 동아시아 전체에 걸쳐 분포하는 국화과 식물로서, 예로부터 지혈, 진통, 월경과다, 월경불순, 자궁출혈, 치질, 염증, 설사, 폐경기 질환에 효능이 있다고 하여 널리 사용되어 왔다(12). 최근에는 애엽에 함유된 eupatilin, jaceosidin 및 yomogin이 NF- $\kappa$ B 신호경로 억제를 통하여 항염증 효과를 가진다고 보고되어 있으며(13-15), 특히 eupatilin은 혈당을 떨어뜨리고 인슐린 분비를 촉진하여 당뇨병에도 효과가 있음이 확인되었다(16). 이외에도 애엽 추출물은 여러 암세포의 성장을 억제시키고(17,18), 항동맥경화에도 효능이 있음이 보고되어 있다(19). 하지만 현재까지 애엽이 골 대사에 미치는 영향에 대해서는 보고된 바가 없다.

본 연구에서 우리는 애엽 추출물이 골대사에 중요한 파골세포의 분화 및 활성에 어떠한 영향을 미치는지 확인하였다. 또한 폐경에 의해 유발되는 골다공증 모델로 잘 알려진 난소 절제 흰쥐를 이용하여 애엽 추출물이 골대사에 미치는 영향을 확인하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: thkang@kmsi.co.kr  
Phone: 82-32-851-2507, Fax: 82-32-851-2508

## 재료 및 방법

### 시료

본 연구에 사용된 애엽은 중국산으로써 경기도 부천시 소재한 대영제약에서 구입하였다. 증류수로 2번 세척된 애엽 100 g에 30% 에탄올 500 mL를 첨가하여 상온에서 2시간 동안 2회 추출한 후 농축, 동결 건조시켜 11.6 g의 분말을 얻은 다음, 이를 실험에 사용하였다.

### 파골세포의 분화

5주령 ICR 생쥐의 대퇴골과 경골을 무균적으로 분리하여 양 끝을 절단하고 뼈속질 공간을 주사기로 수세하여 골수세포를 수집하였다. 수집된 골수세포는 10% FBS와 M-CSF (30 ng/mL, Peprotech, NJ, USA)가 첨가된  $\alpha$ -minimum essential medium( $\alpha$ -MEM, Gibco BRL, NY, USA) 배지에서 24시간 동안 배양한 후, 미부착세포를 수집하여 2일간 추가 배양하였다. 추가 배양 후, 부착세포를 회수하여  $1 \times 10^5$  cells/well이 되도록 분주하고 M-CSF(30 ng/mL), RANKL (50 ng/mL; Peprotech)과 함께 애엽 추출물을 농도별(0, 5, 10, 20, 30  $\mu$ g/mL)로 처리하여 3일간 배양하였다.

### Tartrate-resistant acid phosphatase(TRAP) 염색

배양이 종결된 세포는 10% 포르말린으로 10분간 고정한 후 시판되는 TRAP staining kit(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 세포는 hematoxylin 용액으로 대조 염색하였으며, 한 세포당 핵이 3개 이상인 다핵의 TRAP 양성세포를 파골세포로 간주하였다. 각 well당 형성된 다핵 파골세포의 개수를 측정하여 비교하였다.

### TRAP 활성도 측정

파골세포의 특이한 표지자로 알려진 TRAP 활성도를 측정하였다. 이를 위해 96 well plate에서 배양이 완료된 세포를 PBS로 세척하고, 10% 포르말린으로 고정한 다음, substrate solution(1.36 mg/mL 4-nitrophenyl phosphate disodium salt, 10 mM tartrate, 50 mM citrate buffer)을 100  $\mu$ L씩 가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 0.1 N NaOH로 반응을 중지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 골흡수 분석(Resorption pit assay)

파골세포의 활성을 알아보기 위하여 파골세포를 인산칼슘으로 피막된 OAAS™ plate(Oscotec Inc., Cheonan, Korea)에서 애엽 추출물이 농도별(0, 5, 10, 20, 30  $\mu$ g/mL)로 포함된 배양액으로 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 배양액을 제거하고 5% sodium hypochlorite(Sigma) 용액을 5분간 처리하여 세포를 떼어낸 다음, 흡수된 면적을 image-analyzing software, Image Pro Plus™(version 3.0, Media Cybernetics Inc., MD, USA) 프로그램을 이용하여 측정하였다.

### 난소 절제 및 시료 투여

골다공증 동물모델 제작을 위해 Sprague-Dawley계(12주령) 암컷 흰쥐를 총 24마리 구입하여 양쪽 난소를 절제하였다. 실험군은 총 4개 군으로써, 난소 절제를 하지 않은 군(normal; n=6), 난소 절제 후 생리식염수를 투여한 군(OVX-control; n=6), 난소 절제 후 애엽 추출물을 400 mg/kg을 투여한 군(APE400 mg/kg; n=6), 난소 절제 후 애엽 추출물을 800 mg/kg을 투여한 군(APE800 mg/kg; n=6)으로 나누었다. 모든 실험군에는 일반 식이와 멸균수를 무제한으로 제공하였으며, 투여는 금속제 경구용 존대를 이용하여 매일 1회씩 8주간 실시하였다.

### Bone mineral density(BMD) 측정

BMD는 성장판으로부터 2 mm 떨어져 있는 PTM(proximal tibial metaphysis)에서 측정하였고, 하나의 화소 크기를 0.1 mm로 선택하여 수행하였다. BMD 값은 XCT Research SA(Stratec, Pforzeim, Germany)를 이용하여 8주 동안 총 4회 측정하였다.

### 통계분석

본 연구의 정량적인 결과는 평균값과 표준편차로 표시하였다. 세포실험의 통계처리는 Student's t-test 방법을 사용하였고, 동물실험의 통계처리는 일원분산분석(one-way ANOVA) 후 Tukey's multiple comparison test로 검정하였다.

## 결 과

### 애엽 추출물이 파골세포의 분화에 미치는 영향

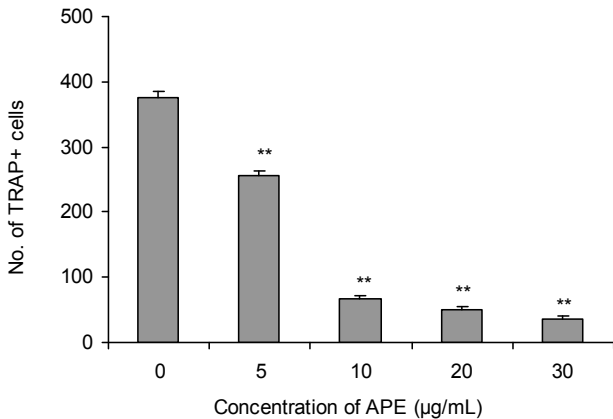
파골세포의 증가는 골대사 질환에 매우 중요하게 작용하므로, 애엽 추출물이 파골세포의 분화에 미치는 영향을 알아보았다. 이를 위해 애엽 추출물을 5, 10, 20, 30  $\mu$ g/mL로 처리하여 3일간 배양한 후, TRAP 양성 다핵세포의 형성을 관찰하였다. 그 결과 대조군에서는 375개의 TRAP 양성 다핵세포가 관찰된 반면, 애엽 추출물 5, 10, 20, 30  $\mu$ g/mL 처리군에서는 각각 256, 66, 51, 36개의 TRAP 양성 다핵세포가 관찰되었다(Fig. 1). 따라서 파골세포의 분화는 애엽 추출물 농도에 의존적으로 억제된다고 할 수 있다.

### 애엽 추출물이 TRAP 활성에 미치는 영향

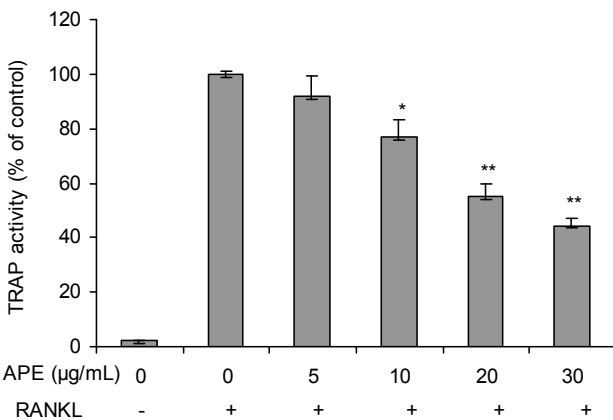
다음으로 애엽 추출물이 파골세포의 TRAP 활성도에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과 애엽 추출물 5, 10, 20, 30  $\mu$ g/mL 처리군에서의 TRAP 활성도는 대조군과 비교하여 각각 91.60, 76.69, 55.07, 44.40%로 나타났으며, 이 또한 애엽 추출물 농도에 의존적임을 알 수 있었다(Fig. 2).

### 애엽 추출물이 파골세포의 골흡수 기능 억제에 미치는 영향

애엽 추출물이 파골세포에 의한 골흡수에 미치는 영향을 알아보기 위하여 파골세포를 인산칼슘이 피막된 OAAS™

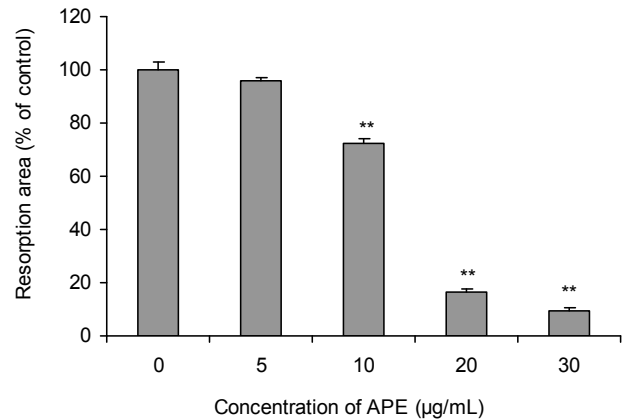


**Fig. 1.** Effect of *Artemisia princeps* extracts (APE) on RANKL-induced osteoclast differentiation. Bone marrow macrophages were cultured for 3 days with M-CSF (30 ng/mL) and RANKL (50 ng/mL) in the presence or absence of *Artemisia princeps* extracts (APE). TRAP-positive cells were counted as osteoclasts. All values were presented as mean±SD (n=4). Values with asterisk are significantly different at \*\*p<0.01 by Student's t-test.



**Fig. 2.** Effect of *Artemisia princeps* extracts (APE) on TRAP activity of RANKL-induced osteoclasts. Bone marrow macrophages were cultured for 3 days with M-CSF (30 ng/mL) and RANKL (50 ng/mL) in the presence or absence of *Artemisia princeps* extracts (APE). Data are expressed as the percentage of control. All values were presented as mean±SD (n=4). Values with asterisks are significantly different at \*p<0.05 and \*\*p<0.01 by Student's t-test.

plate에서 애엽 추출물을 처리한 후, 24시간 배양하였다. 그 결과, 애엽 추출물이 5, 10, 20, 30 µg/mL 처리된 군은 대조군



**Fig. 3.** Effect of *Artemisia princeps* extracts (APE) on bone resorption. Mature osteoclasts were seeded on OAAS™ plate and incubated for 24 hr. Resorption pit areas were quantified using the image Pro-plus program, version 3.0. Data are expressed as the percentage of control. All values were presented as mean±SD. Values with asterisk are significantly different at \*\*p<0.01 by Student's t-test.

에 비하여 각각 96.06, 72.49, 16.34, 9.49%의 골흡수율을 나타내었다(Fig. 3). 따라서 애엽 추출물은 파골세포의 분화 및 활성 억제제를 통하여 골 흡수를 저해하는 것으로 사료된다.

**애엽 추출물이 골밀도(bone mineral density: BMD)에 미치는 영향**

마지막으로 애엽 추출물이 골대사, 나아가 골다공증에 미치는 영향을 알아보았다. 이를 위해 난소를 절제한 흰쥐에 애엽 추출물을 8주간 매일 투여하면서 총 4회(초기, 2, 4, 8주)에 걸쳐 proximal tibial metaphysic(PTM)의 골밀도(BMD)를 측정하였다.

초기의 BMD 측정값은 정상군, 대조군, 애엽 추출물 400 mg/kg 투여군, 애엽 추출물 800 mg/kg 투여군이 각각 327.24±11.09, 333.43±18.46, 320.31±9.43, 315.73±8.23 mg/cm<sup>2</sup>으로, 4개군 모두에서 큰 차이가 없었다. 하지만 2, 4, 8주 경과 시 대조군의 BMD 값은 각각 -12.3±2.4%(291.31±13.22 mg/cm<sup>2</sup>), -22.7±3.1%(256.6±13.28 mg/cm<sup>2</sup>), -39.7±1.2%(201.4±12.54 mg/cm<sup>2</sup>)로 시간이 경과됨에 따라 정상군에 비해 골밀도가 크게 감소는 것을 확인할 수 있었다. 반면에 애엽 추출물 400 및 800 mg/kg 투여군의 8주 경과 뒤의 BMD 값은 각각 222.75±14.18, 235.07±8.46

**Table 1.** Effect of *Artemisia princeps* extracts (APE) on the bone mineral density level (mg/cm<sup>2</sup>)

	Pre-ovx	2 weeks	4 weeks	8 weeks
Normal	327.24±11.09	326.51±19.21	321.57±11.20	310.21±23.98
OVX-control	333.43±18.46	291.31±13.22	256.60±13.28	201.40±12.54
APE 400 mg/kg	320.31±9.43	291.37±5.52	269.31±8.51	222.75±14.18
APE 800 mg/kg	315.73±8.23	294.63±11.17	272.74±13.97	235.07±8.46*

The BMD was measured in the proximal tibial metaphysic (PTM) at 2 mm distal to the growth plate at the baseline in the anaesthetized rats using pQCT. A voxel size of 0.1 mm was chosen. The data represent a mean±SE of five experiments and are expressed as a ratio to the OVX-control. \*p<0.05 means significant differences from the OVX-control by one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test.

mg/cm<sup>2</sup>로, 대조군에 비해 적게 감소되는 것을 알 수 있었다 (Table 1).

## 고 찰

최근 연구 및 조사 결과에 따르면, 사람이 정기적으로 소비하는 천연식품들 중 일부가 폐경에 따른 골다공증 예방에 도움을 줄 수 있음을 시사하고 있다. Muhlbauer 등(20)과 Palacios 등(21)은 몇몇 채소가 흰쥐에서 뼈의 재흡수를 크게 억제하였으며, 그 중에서도 양파 추출물이 가장 강한 효과를 가진다고 보고하였다. 또한 Kim 등(22)은 식용버섯인 새송이 버섯(*Pleurotus eryngii*) 추출물이 조골세포와 파골세포의 활성뿐만 아니라 난소가 절제된 쥐의 활성화에도 영향을 미쳐 골대사 강화에 효과적임을 보고하였다. 이외에도 골다공증 예방 및 치료에 효과적인 천연물질을 찾기 위해 많은 연구들이 시도되고 있다(23).

본 연구에 사용된 애엽은 국화과에 속하는 다년생 초본으로 약썩이라고도 불리며, 특유의 향기와 약효로 인하여 오래 전부터 민간에서 식품 및 뜸으로 애용되어 왔다. 애엽 섭취에 따른 안전성과 관련하여 Kim 등(24)은 애엽 에탄올 추출물인 DA-9601을 흰쥐에 4주간 반복 경구투여한 결과 무독성용량이 2,000 mg/kg/day 이상임을 보고한 바 있다. 또한 식품의약품안전청 식품원재료 데이터베이스 및 미국 식품의약품안전청 식품첨가물 데이터베이스에도 등재되어 있을 만큼 애엽은 안전한 물질로 인식되고 있다.

파골세포는 다핵세포로서 뼈의 내막에 위치하여 광물화된 뼈를 재흡수할 수 있는 유일한 세포이다. 또한 파골세포는 tartrate-resistant acid phosphatase(TRAP) 활성을 가지며, 산(acid)을 활발히 생성하는 특성을 가진다. 파골세포의 증식 및 활성은 다양한 인자들에 의해 조절되는데, 파골세포의 증식 및 활성이 과도하게 증가되면 골다공증과 같은 골대사 질환이 발생한다고 알려져 있다.

본 연구에서 우리는 30% 에탄올을 이용하여 애엽으로부터 추출물을 얻은 다음, 먼저 파골세포 분화 및 활성 억제 효과를 알아보았다. 이를 위해 생쥐의 골수세포를 M-CSF와 RANKL이 함유된 배지에서 파골전구세포로 배양하였고, TRAP 양성인면서 3개 이상의 핵을 갖는 다핵세포만을 파골세포로 간주하여 연구를 진행하였다. 그 결과, 애엽 추출물이 TRAP 양성 다핵세포수를 감소시킴으로써 파골세포의 분화를 억제하는 것을 확인하였으며(Fig. 1), 파골세포의 TRAP 활성 또한 애엽 추출물에 의해 억제되는 것을 확인하였다(Fig. 2).

파골세포의 두드러진 특징 중 하나는 기능적으로 극성을 띄는 다핵성 파골세포는 광물화된 뼈의 표면을 다시 흡수한다는 것이다. 따라서 인산칼슘으로 피막된 OAAS™ plate를 사용하여 파골세포의 뼈 재흡수 억제효과를 확인하였다. 그 결과, 파골세포에 의한 뼈 재흡수 영역이 애엽 추출물에 의

해 강하게 억제되는 것을 확인하였다(Fig. 3).

골다공증은 주로 노화와 깊은 관련이 있는 질환인 까닭에 노인, 특히 폐경기 여성에게서 빈번하게 발생된다. 따라서 우리는 폐경에 따른 골다공증 동물모델로 널리 알려진 난소 절제 흰쥐 모델을 이용하여 애엽 추출물이 골다공증 예방에 미치는 영향을 알아보았다. 이에 앞서 우리는 애엽 추출물의 유효 투여량과 투여기간을 결정하기 위해 난소절제 흰쥐 모델을 이용한 골다공증 관련 선행연구들을 살펴보았다. 그 결과 투여량과 투여기간은 연구자에 따라 각기 다르지만, 천연물의 경우 투여량은 500 mg/kg 내외, 투여기간은 12주가 일반적이었다(25-28). 하지만 Shirke 등(29,30)은 강남콩(*Phaseolus vulgaris*) 메탄올 추출물과 커민(*Cuminum cyminum*) 메탄올 추출물을 1,000 mg/kg 용량으로 10주간 매일 경구투여했을 시, 난소절제 흰쥐 모델에서 어떠한 부작용 없이 골밀도가 증가되는 것을 확인함으로써 골다공증 예방효과가 있음을 보고하였다. 따라서 우리는 애엽 추출물의 투여량을 일반적인 용량인 400 mg/kg과 고용량인 800 mg/kg로 정하였으며, 투여기간은 대부분의 연구에서 6주가 지난 시점부터는 효과에 차이가 있는 것을 감안하여 8주로 결정하였다. 본 연구를 위해 우리는 흰쥐의 난소를 절제한 후, 8주 동안 총 4회에 걸쳐 흰쥐 PTM의 BMD를 측정하였다. PTM의 BMD 측정은 항골다공증 약물의 효능을 검증하는데 매우 효과적인 방법 중 하나로 알려져 있으며(31), 본 연구에서 사용된 pQCT(peripheral quantitative computed tomography) 시스템은 동물 골밀도의 용적을 측정하는데 적합한 방법으로 사용되고 있다(32,33). 난소절제 혹은 애엽 추출물 투여에 따른 골밀도 변화를 알아보기 위하여 BMD를 측정할 결과, 난소절제에 따른 골밀도는 2주부터 조금씩 차이를 보이다가 4주 무렵에서는 확연한 차이를 있음을 알 수 있었다. 또한 애엽 추출물 투여에 따른 골밀도 변화는 난소절제 직후엔 큰 차이를 보이지 않다가 8주가 경과한 시점에서는 많은 차이가 있음을 확인하였다. 이는 애엽 추출물이 난소절제에 따른 골소실을 막아줌으로써 폐경기 여성들에게서 빈번하게 발생하는 골다공증 예방에 효과적인 물질임을 시사한다고 할 수 있다(Table. 1).

이상의 결과에서 애엽 추출물은 파골세포의 분화 및 활성 억제를 통하여 골 흡수를 저해하는 것으로 나타났다. 또한 애엽 추출물이 난소를 절제한 흰쥐에서 골밀도 손실을 막아주는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 비록 애엽 추출물의 활성성분은 아직 밝혀지지 않았지만, 이는 애엽이 에스트로겐 분비감소로 인하여 급격할 골 손실이 나타나는 폐경기 여성의 골다공증 예방에 효과가 있는 기능성식품 후보로 사용되어도 손색이 없을 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 마우스 골수유래 파골세포와 난소절제 동

물모델을 이용하여 애엽 추출물이 골대사에 미치는 영향을 살펴보았다. 애엽 추출물이 파골세포의 분화 및 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 마우스 골수유래 전구세포에 M-CSF와 RANKL을 처리하여 파골세포로의 분화를 유도한 후, TRAP 염색법을 실시하고 TRAP 활성도를 측정하였다. 그 결과 애엽 추출물은 TRAP 양성 다핵세포의 형성과 TRAP 활성을 농도 의존적으로 감소시켰으며, 파골세포의 골흡수 또한 애엽 추출물의 최고농도(30 µg/mL) 처리 시 약 90%까지 억제되는 것을 확인하였다. 난소절제 동물모델을 이용한 실험에서도 애엽 추출물이 난소절제에 따른 급격한 골밀도 감소를 막아준다는 사실을 확인할 수 있었다. 이상의 결과로 미루어 볼 때, 애엽 추출물이 에스트로겐 분비 감소로 인하여 급격한 골 손실이 나타나는 폐경기 여성의 골다공증 예방에 효과가 있을 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 보건복지부의 2008년도 보건의료기술진흥사업 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

### 문헌

1. Väänänen HK, Zhao H, Mulari M, Halleen JM. 2000. The cell biology of osteoclast function. *J Cell Sci* 113: 377-381.
2. Suda T, Nakamura I, Jimi B, Takahashi N. 1997. Regulation of osteoclast function. *J Bone Mineral Res* 12: 869-879.
3. Canalis E, McCarthy T, Centrella M. 1988. Growth factors and the regulation of bone remodeling. *J Clin Invest* 81: 277-281.
4. Jilka RL. 1998. Cytokines, bone remodeling and estrogen deficiency. *Bone* 23: 75-81.
5. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. 2003. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 423: 337-342.
6. Teitelbaum SL. 2000. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 289: 1504-1508.
7. Takayanagi H. 2005. Mechanistic insight into osteoclast differentiation in osteoimmunology. *J Mol Med* 83: 170-179.
8. Lacey DL, Timms R, Tan HL, Kelly MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliot R, Colonboro A, Elliot G, Scully S. 1998. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 93: 165-176.
9. Takayanagi H, Kim S, Koga T, Nishina H, Isshiki M, Yoshida H, Saiura A, Isobe M, Yokochi T, Inoue J, Wagner EF, Mak TW, Kodama T, Taniguchi T. 2002. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 3: 889-901.
10. Lee J, Lee SH, Choi Y, Kim N. 2007. The negative role of IdS in osteoclastogenesis. *Adv Exp Med Biol* 602: 23-31.
11. Takayanagi H. 2007. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol* 7: 292-304.
12. Bae KH. 2007. *The medicinal plants of Korea*. Kyo-hak publishing Co, Seoul, Korea. p 490.
13. Min SW, Kim NJ, Baek NI, Kim DH. 2009. Inhibitory effects

of eupatilin and jaceosidin isolated from *Artemisia princeps* on carrageenan-induced inflammation in mice. *J Ethnopharmacol* 125: 487-500.

14. Kim MJ, Han JM, Jin YY, Baek MH, Chung HG, Choi MS, Lee KT, Sok DE, Jeong TS. 2008. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of Jaceosidin from *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal. *Arch Pharm Res* 31: 429-437.
15. Ryu JH, Lee HJ, Jeong YS, Ryu SY, Han YN. 1998. Yomogin, an inhibitor of nitric oxide production in LPS-activated macrophages. *Arch Pharm Res* 21: 481-484.
16. Kang YJ, Jung UJ, Lee MK, Kim HJ, Jeon SM, Park YB, Chung HG, Baek NI, Lee KT, Jeong TS, Choi MS. 2008. Eupatilin, isolated from *Artemisia princeps* Pampanini, enhances hepatic glucose metabolism and pancreatic beta-cell function in type 2 diabetic mice. *Diabetes Res Clin Pract* 82: 25-32.
17. Sarath VJ, So CS, Won YD, Gollapudi S. 2007. *Artemisia princeps* var *orientalis* induces apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells. *Anticancer Res* 27: 3891-3898.
18. Park EY, Lee KW, Lee HW, Cho YW, Baek NI, Chung HG, Jeong TS, Choi MS, Lee KT. 2008. The ethanol extract from *Artemisia princeps* Pampanini induces p53-mediated G1 phase arrest in A172 human neuroblastoma cells. *J Med Food* 11: 237-245.
19. Han JM, Kim MJ, Baek SH, An S, Jin YY, Chung HG, Baek NI, Choi MS, Lee KT, Jeong TS. 2009. Antiatherosclerotic effects of *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal in LDL receptor deficient mice. *J Agric Food Chem* 57: 1267-1274.
20. Muhlbauer RC, Lozano A, Reinli A. 2002. Onion and a mixture of vegetables, salads, and herbs affect bone resorption in the rat by a mechanism independent of their base excess. *J Bone Mineral Res* 17: 1230-1236.
21. Palacios VG, Robinson L, Borysenko CW, Lehmann T, Kalla SE, Blair HC. 2005. Negative regulation of RANKL-induced osteoclastic differentiation in raw264.7 cells by estrogen and phytoestrogens. *J Biol Chem* 280: 13720-13727.
22. Kim SW, Kim HG, Lee BE, Hwand HH, Baek DH, Ko SY. 2006. Effects of mushroom, *Pleurotus eryngii*, extracts on bone metabolism. *Clin Nutr* 25: 166-170.
23. Seo BI, Ku SK, Cha EM, Park JH, Kim JD, Choi HY, Lee HS. 2005. Effect of Mornidae radix extracts on experimental osteoporosis in sciatic neuroectomized mice. *Phytother Res* 19: 231-238.
24. Kim OJ, Kang KK, Kim DH, Baik NG, Ahn BO, Kim WB, Yang JI. 1996. Four-week oral toxicity study of DA-9601, an antiulcer agent of *Artemisia* spp. extract in rats. *J Appl Pharmacol* 4: 354-363.
25. Liu ZG, Zhang R, Li C, Ma X, Liu L, Wang JP, Mei QB. 2009. The osteoprotective effect of *Radix dipsaci* extract in ovariectomized rats. *J Ethnopharmacol* 123: 74-81.
26. Zhang R, Liu ZG, Li C, Hu SJ, Liu L, Wang JP, Mei QB. 2009. Du-Zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) cortex extract prevent OVX-induced osteoporosis in rats. *Bone* 45: 553-559.
27. Xie F, Wu CF, Zhang Y, Yao XS, Cheung PY, Chan AS, Wong MS. 2005. Increase in bone strength by *Sambucus williamsii* HANCE in ovariectomized rats. *Biol Pharm Bull* 28: 1879-1885.
28. Zhang Y, Li XL, Lai WP, Chen B, Chow HK, Wu CF, Wang NL, Yao XS, Wong MS. 2007. Anti-osteoporotic effect of *Erythrina variegata* L. in ovariectomized rats. *J Ethnopharmacol* 109: 165-169.
29. Shirke SS, Jadhav SR, Jagtap AG. 2009. Osteoprotective effect of *Phaseolus vulgaris* L. in ovariectomy-induced os-

- teopenia in rats. *Menopause* 16: 589-596.
30. Shirke SS, Jadhav SR, Jagtap AG. 2008. Methanolic extract of *Cuminum cyminum* inhibits ovariectomy-induced bone loss in rats. *Exp Biol Med* 233: 1403-1410.
31. Syed Z, Khan A. 2002. Bone densitometry: applications and limitations. *J Obstet Gynaecol Can* 24: 476-484.
32. Boutroy S, Bouxsein ML, Munoz F, Dalmás PD. 2008. *In vivo* assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 6508-6515.
33. Zhang Y, Lai WP, Leung PC, Wu CF, Wong MS. 2007. Short to mid-term effects of ovariectomy on bone turnover, bone mass and bone strength in rats. *Biol Pharm Bull* 30: 898-903.

(2009년 11월 30일 접수; 2010년 1월 25일 채택)