

# 肥兒丸이 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 모델에 미치는 영향

조창영 · 김은영 · 김동희 · 김민범 · 김상배 · 양규진 · 손영주 · 정혁상  
경희대학교 한의과대학 해부학교실

## Effects of *Bia*-hwan (Féiér-wán) on the Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis

Chang-Young Cho, M.S., Eun-Young Kim, M.S., Dong Hee Kim, MinBeom Kim, Sang-bae Kim, KyuJin Yang, Youngjoo Sohn, K.M.D., Hyuk-Sang Jung, K.M.D.

Department of Anatomy, College of Korean Medicine, Kyung Hee University

**Objectives** Osteoporosis is a common disease in adults with prevalence rate of more than 40%, and occurs more to female than to male. The purpose of this study is to identify the effect of *Bia*-hwan (Féiér-wán) on the osteoporosis of ovariectomized rats.

**Methods** 24 female rats were randomly assigned to a SHAM group, a control group, and a BAH group. Ovaries of the control group and the BAH group were extracted. After than, general animal feed were given to the SHAM group and the control group, animal feed contained BAH were given to the BAH group through mouths of them. After 8 weeks, rats were sacrificed and their weight, calcium, phosphorus, estradiol, total-cholesterol, triglyceride, ALP, albumin, AST, ALT, the weight of femur and tibia ash per body ratio, both area and thickness of trabecular bone, the area of osteoblast and the number of osteoclast were measured.

**Results** The level of calcium, phosphorus, AST in the serum of the BAH group increased significantly compared to the control group. There was no significant difference between the control group and the BAH group in the level of estradiol, total-cholesterol, triglyceride, ALP, albumin, and ALT in the serum. There was no significant difference between the control group and the BAH group in the weight of femur and tibia ash per body ratio. The thickness of trabecular of the BAH group increased significantly compared to the control group, but there was no significant difference in the trabecular area. The area of osteoblast and the number of osteoclast of the BAH group decreased significantly compared to the control group.

**Conclusions** From the results of the above study, oral intake of BAH can inhibit the decrease of calcium, phosphorus in blood and prevent the thinning process of the trabecular by suppressing activation of osteoclast. Thus, BAH may have effects on the treatment and prevention of osteoporosis. (**J Korean Med Rehabil 2017;27(2):19-27**)

RECEIVED March 23, 2017  
REVISED April 5, 2017  
ACCEPTED April 10, 2017

CORRESPONDING TO  
Hyuk-Sang Jung, Department of  
Anatomy, College of Korean  
Medicine, Kyung Hee University, 26  
Kyungheedaero, Dongdaemun-gu,  
Seoul 02447, Korea

TEL (02) 961-9449  
FAX (02) 961-0327  
E-mail jhs@khu.ac.kr

Copyright © 2017 The Society of  
Korean Medicine Rehabilitation

**Key words** *Bia*-hwan (Féiér-wán), Ovariectomy, Osteoporosis, Osteoclast, Trabecular thickness

## 서론»»»

골다공증은 골의 화학적 조성에는 변화가 없이 단위 용적내 골량이 감소하며<sup>1)</sup>, 골 기질(bone matrix)의 감소로 인해 골질량(bone mass)의 전반적인 감소를 일으키는 질환으로 무기질 조직의 감소로 피질골은 얇아지며 골소주의 수량과 크기가 감소하게 된다<sup>2)</sup>. 골은 노쇠하면 제거되고 새로운 골로 대체되는 대사적으로 활동하는 역동적인 조직이다. 정상적으로는 이러한 교체가 항상 균형적으로 이루어지므로 골의 무기질 함유량이 비교적 일정하게 유지되는데, 이러한 균형이 깨진 경우 다양한 임상적 증상을 나타낼 수 있다<sup>3)</sup>.

골밀도가 감소한 경우 임상적으로는 골절의 위험성이 증가하게 되며, 골절이나 이차적인 구조적인 변화가 없는 한 증상이 없는 경우가 대부분이다. 척추의 압박골절 등이 동반될 수 있으나 압박골절이 있더라도 신경계 합병증은 잘 동반하지 않으며 그 외 대퇴경부 골절, 상완골 골절 및 늑골 골절이 잘 나타난다<sup>4)</sup>. 방사선상 변화는 골격에서 약 30~50%의 무기질 소실이 있어야 나타나는 경향이 있다. 방사선학적으로는 정상 뼈보다 투과성이 증가되어 보이지만 이러한 소견은 뼈 기질의 손실이 상당히 진행된 후에 나타난다<sup>3)</sup>. 골질량을 정량적으로 측정하는 데에는 일반적으로 골밀도측정기를 이용하는데, 이를 통해 임상 증상이 나타나거나 방사선학적으로 확인한 소견이 나타나기 이전에 골감소를 조기에 발견할 수 있다<sup>3)</sup>.

골밀도의 감소를 가져오는 요인은 다양한데, 국민건강 영양조사 자료를 활용한 연구에 따르면 남녀 모두에서 연령이 많을수록 골밀도는 감소하는 것으로 나타났으며 19세 이상 성인에서 유병률은 전체 40.3%, 남자 32.7%, 여자 46.3%로 여성에서 남성보다 골밀도의 감소가 많이 나타나는 것으로 조사되었다<sup>5)</sup>. 또한, 의학의 발달로 평균수명이 높아짐에 따라 폐경 이후 여성인구가 증가하여 골다공증의 예방과 치료의 중요성 역시 대두되고 있다.

한의학에서는 黃帝內經 《素問·痿論》에 “腎主身之骨髓, … 腎氣熱, 則要脊不舉, 骨枯而髓減, 發爲骨痿. 有所遠行勞倦, 逢大熱而渴, 渴則陽氣內伐, 內伐則熱舍於腎, 腎者水臟也, 今水不勝火, 則骨枯而髓虛, 故足不任身, 發爲, 骨痿, 故下經曰, 骨痿者, 生於大熱也<sup>6)</sup>”라 하여 그 임상양상으로 보아 골다공증 역시 骨痿의 범주에 해당하며, 병인병리를 腎陰虛證, 腎陽虛證, 氣血兩虛證 등으로 해석하여 滋陰補

腎, 補腎壯陽, 補益氣血의 처방을 응용하고 있다<sup>2)</sup>.

골다공증에 대한 한의학적 처방의 유효성에 대한 최근의 연구들을 살펴보면 대부분 補腎의 治法과 處方에 대한 것인데, 이는 “腎主骨. 又曰, 腎之合骨也.<sup>6)</sup>”라 하여 腎과 骨의 연관성에 주목하여 임상적으로 腎陰虛證 혹은 腎陽虛證으로 인한 골다공증의 치료에 초점을 맞춘 것이다. 그러나 골다공증의 한의학적 치료에 있어 補腎의 治法을 사용하는 것은 腎陰虛證, 腎陽虛證으로 해석되는 골다공증의 치료에는 적합하나, 氣血兩虛證의 경우에는 補腎의 治法과 處方만으로는 부족함이 있다. 영양섭취가 부족하거나 흡수에 장애가 있으면 氣血化源이 영향을 받아서 筋骨이 失養하므로 골다공증이 발병할 수 있으며 이 경우 少氣懶言, 四肢萎軟, 乏力自汗, 面色蒼白 등의 증상을 동반하는데<sup>2)</sup> 氣血兩虛로 인한 골다공증의 치료에는 補腎의 治法을 우선하기보다는 後天之本인 脾의 運化作用을 회복하는 것에 주안점을 두어야 한다.

한편, 肥兒丸은 宋代 陳師文 등의 太平惠民和劑局方에 처음 수록되었으며, 消疳과 補虛의 의미로 소아 疳病의 통치방으로서 소아의 疳病으로 허해진 데나 積이 있어 몸과 얼굴이 붓고 배가 창만한데 사용하는 처방이다<sup>7)</sup>. 《東醫寶鑑·雜病篇》에서는 肥兒丸이 열을 맑게 하고 肝氣를 누르며 脾를 보하며 음식맛을 돋운다고 하여<sup>8)</sup> 소화, 흡수 장애 또는 발육부진을 나타내는 소아에게 사용하여 왔다. 肥兒丸은 胡黃連, 使君子肉, 人參, 黃連薑汁炒, 神麴炒, 麥芽炒, 山楂肉, 白朮, 白茯苓, 甘草灸, 蘆薈의 약물로 구성되어 補脾하는 효능을 갖추고 있어 임상적으로 체격은 肥厚하면서 오히려 골밀도는 감소한 氣血兩虛證 골다공증 환자에게 응용 가능하다. 肥兒丸에 대한 기존연구로는 고등<sup>9)</sup>의 肥兒丸의 항알러지 효과에 대한 실험논문이 있으나 골밀도 혹은 골다공증과 관련된 연구는 진행된 바가 없는 실정이다. 肥兒丸의 처방구성약물의 골다공증에 대한 연구를 살펴보면 이 등<sup>10)</sup>의 연구에서는 人參 물추출액 투여가 RANKL로 유도한 파골세포의 분화와 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향에 대한 연구결과 인삼이 RANKL로 유도한 파골세포의 분화를 억제하고, 골다공증 모델에서 인삼의 투여가 경골의 골밀도, 골소주 두께 및 개수가 유의하게 증가함을 확인하였다. 박 등<sup>11)</sup>은 白朮의 파골세포 분화에 미치는 영향에 관한 연구에서 백출 물 추출물이 파골세포 분화의 주요 경로를 억제함으로써 파골세포 분화를 억제하는 작용이 있으며, 이러한 물

질이 파골세포 분화뿐만 아니라 골 흡수 기능을 억제하므로 백출 및 그 추출물이 골다공증 치료에 응용될 수 있는 가능성을 확인하였다. 천 등<sup>12)</sup>은 복령 추출물의 파골세포 분화에 미치는 영향에 관한 연구에서 복령 추출물이 골 흡수 역할을 담당하는 파골세포의 분화를 세포의 독성 없이 억제시킴을 확인하여 부작용 없이 뼈를 강화시킬 수 있는 한약제로서의 가능성을 제시하였다.

이 외에 골다공증에 대한 한의학적 치료법에 관한 연구는 최근 많이 이루어진 편이나, 補腎과 관련된 약물이거나 처방의 골다공증에 대한 효과가 주를 이루었으며 肥兒丸의 골다공증에 대한 치료효과에 대한 연구는 보고된 바가 없어, 소아 疳積에 효과가 있는 肥兒丸이 골다공증 동물 모델에 미치는 효과를 증명하고자 하였다. 이에 저자는 난소절제술로 유도한 estrogen 결핍으로 인한 골다공증 모델<sup>13)</sup>의 흰쥐에게 肥兒丸을 8주간 구강 투여한 후 체중, 혈중 calcium, phosphorus, estradiol, total cholesterol, triglyceride, alkaline phosphatase (ALP), albumin, aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT)의 변화와 체중대비 대퇴골의 무게와 경골의 회분 함량, 대퇴골 조직에서의 골소주 두께, 골소주 면적, osteoblast와 osteoclast의 변화를 관찰하였으며, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

동물실험은 동물실험 윤리위원회의 심의를 통과한 후 진행하였으며(심의번호: KHUSP(SE)-13-051) 실험동물과 관련된 모든 실험과정과 관리는 Korean Academy of Medical Sciences에서 발행된 “동물실험지침”에 의거하여 수행되었다. 실험동물은 오리엔트바이오(Seongnam-si, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입한 S.D. 계 암컷 흰쥐를 사용하였다. 실험동물의 체중 및 주령은 200 g, 7주령이었다. 모든 실험동물은 낮과 밤의 주기를 각각 12시간으로, 온도 21~23°C 습도 40~60%인 실험실 환경에서 1주일 동안 적응시킨 후 사용하였다.

### 2) 약재

본 실험에 사용한 약재는 《東醫寶鑑·雜病篇》<sup>8)</sup>에 수록된 肥兒丸의 처방구성을 따랐으며, (주)옵니허브(대구)에서 구입한 약재를 사용하였다. 실험에 사용한 약재의 내용 및 10첩 분량은 Table I과 같다.

## 2. 방법

### 1) 약물의 제조

예비실험을 통하여 흰쥐 한 마리가 체중 100 g 당 1일 7 g의 사료를 섭취함을 확인하고, 300 g의 쥐 8마리가 60일 가량 섭취할 사료 9,600 g을 산출하여 총 10 kg의 사료를 제조하였다. 肥兒丸은 Table I의 처방구성(10첩 분량)에 따라 한약재를 분말하였으며 분말한 흰쥐용 사료를 혼합하여 다시 건조 사료를 제조하였다. 肥兒丸의 성인(60 kg)의 1일 복용량은 하루 2첩(30 g)으로 하였고, 실험동물 무게로 환산한 뒤 쥐의 대수량(10배)으로 계산하여 1일 100 g 당 0.5 g이 투여되었다.

### 2) 실험군의 분류

흰쥐의 골다공증 유발 실험을 위한 분류는 다음과 같다. 마취 후 등쪽 피부를 절개하고 난소를 적출하지 않고 봉합한 군(SHAM, SHAM 수술군)과, 마취 후 등쪽 피부를 절개하여 난소를 적출한 대조군(OVX, 난소적출군), 역시 같은 방법으로 난소 적출 후 肥兒丸을 투여한 肥兒丸군

Table I. Composition of Bia-hwan (Féiér-wán)

Herbal name	Scientific name	Weight (g)
胡黃連	Picrorrhizae Rhizoma	20
使君子肉	Quisqualis Fructus	18
人參	Ginseng Radix	14
黃連薑汁炒	Coptidis Rhizoma	14
神麴炒	Massa Medicata Fermentata	14
麥芽炒	Hordei Fructus Germinatus	14
山楂肉	Crataegi Fructus	14
白朮	Atractylodis Rhizoma White	12
白茯苓	Poria	12
甘草灸	Glycyrrhizae Radix	12
蘆薈	Aloe	10
Total amount		154

(BAH, 肥兒丸군)으로 분류하였다. 각 군에 배정된 실험동물의 수는 모두 동일하게 8마리로 설정하여 수행하였다.

### 3) 골다공증 수술 및 약물 투여

흰쥐 한 마리당 3.5%의 chloral hydrate (1 ml/100 g)를 복강주사하여 마취시킨 후 절개할 부위인 등쪽 털을 제거하였다. 알코올로 피부를 소독한 후 절개하여 양측 난소를 적출한 후 봉합하였다. 난소 적출 2일 후부터 8주가 되는 날까지 肥兒丸이 포함된 건조 사료를 투여하였으며, SHAM 수술군과 난소적출군에는 동량의 건조 사료를 투여하였다.

### 4) 체중 측정

전자저울(Electronic balance, OHAUS Corporation, USA, Adventure-pro AVG812)을 사용하여 흰쥐의 체중을 난소 적출 직전과, 난소적출 후 2회/주로 8주 동안 측정하였다.

### 5) 채혈 및 혈액분석

난소적출 후 8주째 되는 날 흰쥐를 마취시켜 우심실에서 채혈을 한 후, 채혈한 혈액을 2,000 rpm, 4°C, 10분 동안 원심 분리하였다. Calcium, phosphorus, estradiol, total cholesterol, triglyceride, ALP, albumin, AST, ALT의 정량은 서울 의과학연구소(Yongsan-gu, Seoul, Korea)에 의뢰하였다.

### 6) 대퇴골 무게와 경골의 회분 함량 측정

난소적출 수술 후 8주가 되는 날 흰쥐를 경추탈골하여 희생시킨 후 양쪽 대퇴골과 경골을 적출하여 결합조직을 깨끗하게 정리하여 각각의 중량을 측정하였다. 우측 경골은 별도로 회분함량을 측정하기 위하여 900°C 회화로(Electric Muffle Furnace, JISICO, Korea, J-FM3)에서 24시간 동안 완전히 회화시킨 후 ash의 무게를 측정하였다.

### 7) 조직염색 및 관찰

왼쪽 대퇴골을 neutral buffered formalin (NBF)에 1일간 고정된 후 over night 동안 수세하였다. 에탄올로 탈지하고 2주간 formic acid로 탈회한 후, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 조직은 4 μm로 절편하여 Hematoxylin-eosin으로 염색 후 광학현미경

(Olympus BX51, Japan)으로 40배와 100배의 배율로 관찰하였다. hematoxylin-eosin 염색을 한 조직을 광학현미경을 사용하여 40배로 capture한 후 각각의 근위부에서 성장판의 직하 부분 중 가로변의 길이가 성장판 길이의 2/3정도 되는 길이로 하는 기준면적 0.43×10<sup>7</sup> μm<sup>2</sup>인 부분을 NIH image 1.62를 이용하여 골소주의 두께와 골소주의 면적을 측정하였다. Osteoblast가 차지하는 면적을 조직을 100배로 capture한 후 기준면적 0.15×10<sup>7</sup> μm<sup>2</sup>의 면적에서 osteoblast가 차지하는 면적을 측정하였다. Osteoclast의 수는 각각의 근위부에서 성장판의 직하 부분 중 가로변의 길이가 성장판 길이의 2/3 정도 되는 부근까지 200배 시야에서 개수를 측정하였다.

### 8) 통계처리

측정값은 평균±표준오차(mean±S.E.M.)로 표기하였다. 실험결과의 통계분석은 Graph Pad PRISM Software (Graphpad Software Inc, CA, USA) 프로그램을 이용하였다. One-way ANOVA를 이용하였으며 Dunnett's Multiple Comparison Test를 post hoc test로 분석하여, 유의수준 p-value<0.05 인 경우 유의성이 있는 것으로 평가하였다.

## 결과»»»»

### 1. 체중 변화

난소 적출 8주 후 흰쥐의 평균 체중변화에 있어 난소적출군 및 肥兒丸군은 SHAM 수술군에 비해 유의한 증가를 나타내었다(p<0.05). 그러나 난소적출군과 肥兒丸군

**Table II.** Effect of Bia-hwan (Féiér-wán) on Body Weight (g) in Ovariectomized Rats

Groups	First day	After 8 weeks	Ratio change (%)
SHAM	209.00±3.21	275.67±9.39 <sup>b</sup>	+31.90
OVX	204.33±1.26	341.50±6.26 <sup>a</sup>	+67.13
BAH	201.00±3.07	346.00±7.79 <sup>a</sup>	+72.14

Each data value represents the mean±S.E.M. of 8 animal. Different letters above bars indicate significant difference at p<0.05 tested by one-way ANOVA.

SHAM: Sham surgery group, OVX: ovariectomized rats, BAH: Bia-hwan (Féiér-wán) (1 g/100 g).

**Table III.** Effects of Bia-hwan (Féiér-wán) on Serum Parameters in Ovariectomized Rats

		SHAM	OVX	BAH
Osteoporotic parameters	Calcium (mg/dL)	10.64±0.14 <sup>a</sup>	10.08±0.13 <sup>b</sup>	10.49±0.11 <sup>a</sup>
	Phosphorus (mg/dL)	6.26±0.12 <sup>a</sup>	5.35±0.30 <sup>b</sup>	6.30±0.27 <sup>a</sup>
	Estradiol (pg/dL)	14.73±0.30 <sup>a</sup>	9.30±0.23 <sup>b</sup>	11.49±0.78 <sup>b</sup>

Each data value represents the mean±S.E.M. of 8 animal.

Different letters above bars indicate significant difference at p<0.05 tested by one-way ANOVA.

SHAM: Sham surgery group, OVX: ovariectomized rats, BAH: Bia-hwan (Féiér-wán) (1 g/100 g).

**Table IV.** Effect of Bia-hwan (Féiér-wán) on Femur and Tibia Ash Weight Per Body Ratio in Ovariectomized Rats

	SHAM	OVX	BAH
Femur/body ratio (%)	0.565±0.024 <sup>a</sup>	0.482±0.016 <sup>b</sup>	0.473±0.018 <sup>b</sup>
Tibia ash/body ratio (%)	0.090±0.003 <sup>a</sup>	0.075±0.003 <sup>b</sup>	0.073±0.002 <sup>b</sup>

Each data value represents the mean±S.E.M. of 8 animal.

Different letters above bars indicate significant difference at p<0.05 tested by one-way ANOVA.

SHAM: Sham surgery group, OVX: ovariectomized rats, BAH: Bia-hwan (Féiér-wán) (1 g/100 g).

간에는 체중변화에 유의한 차이는 없었다(Table II).

## 2. 혈액성분의 변화

Calcium은 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였으며, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 유의하게(p<0.05) 증가하였다(Table III). Phosphorous는 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게 감소하였으며(p<0.05), 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 유의하게(p<0.05) 증가하였다(Table III). Estradiol은 난소적출군 및 肥兒丸군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였으며, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 다소 증가하였으나 유의성은 없었다(Table III). AST는 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 다소 증가하였으나 유의성은 없었고, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였다(data not shown).

## 3. 대퇴골의 무게와 경골의 회분함량

체중대비 대퇴골의 무게는 난소적출군 및 肥兒丸군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였다. 그러나 난소적출군과 肥兒丸군 간에는 체중대비 대퇴골 무게에 있어 유의한 차이는 없었다(Table IV).

경골의 회분 함량에 있어 난소적출군 및 肥兒丸군은

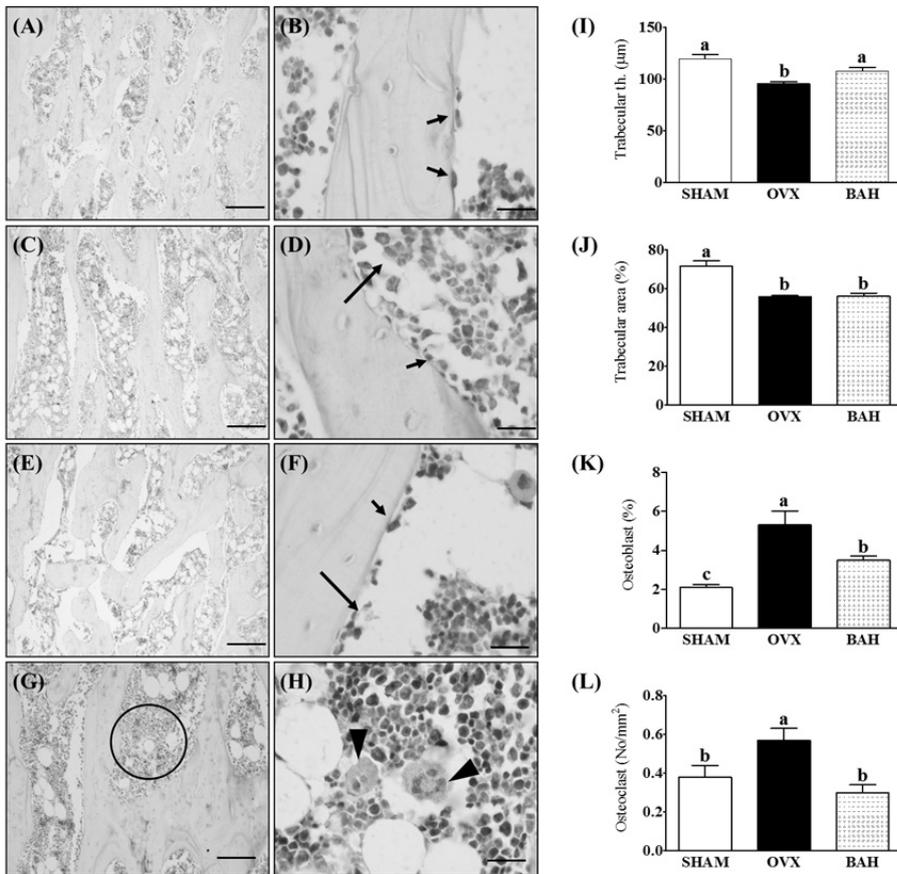
SHAM 수술군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였으나 肥兒丸군과 난소적출군 간에는 유의한 차이가 없었다(Table IV).

## 4. 골소주의 두께 및 면적 그리고 osteoclast와 osteoblast에 미치는 영향

희생한 흰 쥐의 대퇴골을 절편하여 hematoxylin & Eosin 염색을 진행하여 조직학적 검사를 시행하였다(Fig. 1A~H). 골소주 두께는 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였으며, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 유의하게(p<0.05) 증가하였다(Fig. 1I).

골소주 면적은 난소적출군 및 肥兒丸군이 SHAM 수술군에 비해 유의한(p<0.05) 감소를 나타내었으며, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 다소 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 1J).

Osteoblast가 차지하는 면적은 난소적출군 및 肥兒丸군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게(p<0.05) 증가하였으며, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였다(Fig. 1K). Osteoclast의 개수는 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게(p<0.05) 증가하였으며, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 유의하게(p<0.05) 감소하였다(Fig. 1L).



**Fig. 1.** Representative H&E stained sections of femoral neck in ovariectomized rats. Sections (A) and (B), SHAM group; sections (C) and (D), OVX group; sections (E) and (F), BAH group; sections (G) and (H), BAH group. Arrows indicate the osteoblast and arrowheads indicate the osteoclast. Magnification (A), (C), (E); 100x, (G); 200x, (B), (D), (F), (H); 1,000x. Effect of Bia-hwan (Féier-wán) extract on trabecular thickness (I), trabecular area (J), osteoblast (K) and osteoclast (L) in ovariectomized rats. Each data value represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 8 animal. Different letters above bars indicate significant difference at  $p < 0.05$  tested by one-way ANOVA. SHAM: Sham surgery group, OVX: ovariectomized rats, BAH: Bia-hwan (Féier-wán) (1 g/100 g).

## 고찰

본 연구는 肥兒丸이 골다공증에 미치는 영향을 알아보기 위한 연구이다. 골다공증에 대한 한의학적 처방의 유효성에 대한 기존의 연구를 살펴보면 최 등<sup>14)</sup>은 骨痿에 초점을 맞추고 腎氣가 熱하여 腎水가 不足하여 骨髓가 骨腔내에 충전하지 못한 것에 주목하여 加味左歸飲의 골다공증에 대한 영향을 연구하였다. 이 외에도 최 등<sup>15)</sup>의 碎補와 杜仲이 골다공증에 미치는 영향, 임 등<sup>16)</sup>의 補骨脂가 골다공증에 미치는 영향, 최<sup>17)</sup>의 鎖陽과 杜仲이 골다공증에 미치는 영향, 이 등<sup>18)</sup>의 熟地黃이 골다공증에 미치는 영향에 대한 연구 등 補腎의 治法과 處方을 위주로 하여 腎陰虛證, 腎陽虛證으로 인한 골다공증에 대한 연구가 주로 진행되었음을 알 수 있다.

그러나 氣血兩虛로 인한 골다공증의 경우에는 補腎의 治法과 處方만으로는 부족함이 있다. 한의학에서는 “脾胃爲後天之本 氣血生化之源.”라 하여 氣血의 生化에 있어 脾胃의 중요성을 설명하고 있으며<sup>19)</sup>, 黃帝內經 《素問·太

陰陽明論》에서 “四肢皆稟氣於胃而不得至經 必因於脾乃得稟也. 今脾病 不能爲胃行其精液 四肢不得稟水穀氣 氣日以衰 脈道不利 筋骨肌肉皆無氣以生 故不用焉.”라 하여 脾의 運化作用에 의해 四肢가 水穀精氣의 자양을 받고 骨과 肌肉이 생성되는 원리를 설명하였다<sup>6)</sup>. 이는 음식물이 위에서 소화된 후 그 중 精微로운 물질이 脾臟에 의해 흡수되어 전신으로 輸布되어 骨을 포함한 각 조직과 기관의 형성과 유지에 작용함을 의미하는데<sup>19)</sup>, 이로써 骨의 형성 및 골밀도의 유지에는 脾胃의 작용이 중요하다고 해석할 수 있다.

비아환은 小兒 疳病의 통치방으로서 小兒의 疳病으로 虛해진 데나 積이 있어 몸과 얼굴이 붓고 배가 脹滿한데 사용하는 처방이다. 감병은 “疳病, 因多食肥甘所致, 故命名曰疳”이라 하여, 기름지고 단 음식을 조절하지 않아 장위에 적체되어 생긴 병으로<sup>7)</sup> 靑梁厚味를 많이 먹어 積滯가 생기고 脾胃의 기능이 저하된 현대인의 식습관 및 건강상태와 유사하여 임상적으로 체격은 肥厚하면서 오히려 골밀도는 감소한 환자에게 응용 가능하다. 이에 저자는

氣血兩虛證으로 변증되는 골다공증 환자에 대한 肥兒丸의 효과를 실험적으로 고찰하기 위해 본 연구를 진행하였다.

肥兒丸이 골다공증에 미치는 영향을 알아보기 위해 흰쥐의 난소를 제거하여 estrogen 결핍으로 인한 골다공증을 유발시키고, 肥兒丸을 8주간 구강 투여한 후 체중, 혈중 calcium, phosphorus, estradiol, total cholesterol, triglyceride, ALP, albumin, AST, ALT의 변화와 체중대비 대퇴골의 무게와 경골의 회분함량, 대퇴골 조직에서의 골소주 두께, 골소주 면적, osteoblast와 osteoclast의 변화를 관찰하였다.

肥兒丸의 투여가 체중에 미치는 영향을 확인하여 본 결과 난소적출군 및 肥兒丸군은 SHAM 군에 비해 유의하게 체중이 증가하였으나 肥兒丸군은 난소적출군과 유의한 차이를 보이지 않아, 肥兒丸의 투여가 체중증가에 미치는 영향이 없음을 확인할 수 있었다.

골의 2/3는 무기질로 수산화인회석 결정체와 칼슘인산염으로 구성되어 있다. 골은 인체 내 Calcium의 99%, phosphorus의 85%를 저장하고 있으며 이들의 혈장 농도는 뼈 무기질의 침착화 흡수, 소장에서의 흡수, 신장에서 배설 사이의 최종 효과에 달려 있다<sup>20)</sup>. 연령이 증가함에 따라 calcium의 흡수율이 감소하게 되는데, calcium 섭취가 일정수준 이하로 떨어지게 되면 골 소실이 발생하게 된다<sup>21)</sup>. 여성의 폐경 후에 장에서 calcium 흡수가 저하되고, 신장에서는 calcium의 배설이 증가하여 혈청 calcium의 농도가 감소하면, 골흡수가 활성화 되면서 골에 저장되어 있는 phosphorus와 calcium을 혈중으로 방출하여 혈액 중의 농도를 조절한다. 또한 혈청중의 calcium과 phosphorus의 농도는 동물의 골다공증 모델에서 골형성의 지표로 간주된다<sup>22,23)</sup>. 본 실험에서 肥兒丸을 투여한 경우 혈청 calcium과 phosphorus의 농도는 난소적출군에 비해 유의하게 증가하여, 肥兒丸이 골을 형성하는데 유효한 것으로 생각할 수 있다.

Estradiol은 30종 이상의 estrogen 중 estrone, estriol과 함께 주요한 작용을 하는 steroid hormone이며, 폐경 이전의 여성에서는 estradiol이 가장 흔한 estrogen이며<sup>20)</sup>, 폐경 전 난소제거시 급격한 감소를 나타낸다<sup>24)</sup>. Estradiol은 대부분이 난포에서 생성되며<sup>20)</sup>, 폐경 후 여성에서 나타나는 estrogen의 결핍은 골 흡수를 증가시켜 골다공증을 유발시킬 뿐만 아니라 지질대사에도 영향을 미쳐 동맥경화성 혈관질환을 유발할 가능성이 커진다. 총 콜레스테

롤은 관상동맥질환의 위험인자로서 유효하며<sup>20)</sup>, triglyceride가 높은 것은 콜레스테롤보다는 고지혈증에 영향을 덜 미치지만 여성의 경우 남성보다 더 큰 영향을 준다<sup>25)</sup>. 그러므로 폐경 후 여성에게 투여될 약물은 혈청 내 지질을 증가시키지 않는 것이 좋다. 본 실험의 결과 estradiol은 SHAM 수술군에 비해 난소적출군 및 肥兒丸군에서 유의하게 감소하였으며, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었다. 肥兒丸의 투여가 estradiol의 감소를 억제하지 않는 것은 肥兒丸이 호르몬 대사에 작용하는 estrogen 유사 효과는 없으며, 호르몬 대사에 작용하지 않으면서 골소주 두께의 감소를 억제하는 것은 무기질 대사와 밀접한 영향을 가졌기 때문으로 보인다. 혈청 지질의 경우 total cholesterol과 triglyceride 모두 肥兒丸군이 난소적출군에 비해 증가하였으나 유의한 차이는 보이지 않았다. 이는 肥兒丸이 폐경 후 estrogen 결핍으로 인한 혈중 지질농도 변화에는 별다른 영향이 없음을 시사한다.

肥兒丸의 투여가 간기능에 미치는 영향을 살펴보기 위해 혈중 ALP, albumin, AST, ALT의 변화를 관찰하였다. ALP는 간세포 내의 담관에 존재하는 효소로, 혈청 ALP의 상승은 담관폐색, 간 내부의 담즙분비 중지 등 담즙 배설 장애에서 나타난다<sup>20)</sup>. ALP는 골대사율이 높을 때, 즉 골 파괴 및 골재형성 과정이 활발할 때 농도가 증가하며<sup>26)</sup>. 난소 적출 후 활성이 증가하기도 한다<sup>27)</sup>. 본 실험에서는 ALP의 활성도가 肥兒丸 투여군이 난소적출군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. Albumin은 정상 혈장에 가장 많은 단백질이며 다양한 유기물 또는 tyroxine, bilirubin, calcium, phosphorus 등의 무기물과 결합하여 운반하는 역할을 하며 간기능이 손상되면 혈청 albumin이 감소한다<sup>20)</sup>. AST와 ALT는 주로 세포질에 존재하는 효소들로, 간세포 손상 시 세포막이 파괴되면 방출되어 혈청 AST와 ALT의 농도가 상승하게 된다<sup>28)</sup>. AST와 ALT는 매우 유용하며 가장 기본적인 간기능검사 항목이며 특히 AST는 간독성 약물의 치료 감시에 효과적이다<sup>20)</sup>. 본 실험에서 albumin은 肥兒丸군이 난소적출군에 비해 다소 증가하였으나 유의성은 없었다. AST는 난소적출군은 SHAM 수술군에 비해 증가하였으나, 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 유의하게 감소하였다. ALT는 肥兒丸군이 난소적출군에 비해 다소 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. Albumin이 증가하고 AST, ALP가 감소하는

것은 肥兒丸 투여군이 간에 대해 심각한 독성작용이 없음을 나타내는 것으로 볼 수 있다.

본 실험에서 肥兒丸이 뼈 속의 무기질 함량에 미치는 영향을 확인하기 위해 흰쥐의 체중대비 대퇴골의 무게와 경골의 회분함량을 측정하고, 대퇴골 골소주의 두께와 면적 및 osteoblast의 면적과 osteoclast의 개수를 정량하였다. 체중대비 대퇴골의 무게는 SHAM 수술군에 비해 난소적출군이 감소하는 경향을 나타내었으나 난소적출군과 肥兒丸군의 차이는 크지 않았다. 경골의 회분함량 역시 SHAM 수술군에 비해 난소적출군이 유의하게 감소하였으나 肥兒丸군은 난소적출군과 별다른 차이는 없었다. 골소주의 두께는 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게 감소하였으며, 肥兒丸군이 난소적출군에 비해 유의하게 증가하였다. 골소주의 면적은 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게 감소하였고 肥兒丸군은 난소적출군에 비해 증가하였으나 유의한 차이는 없었다. 肥兒丸의 투여는 골소주의 면적의 감소를 억제하는 유의한 효과는 없으나 개별 골소주 두께의 감소를 억제하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

Osteoblast가 차지하는 면적과 osteoclast의 개수는 난소적출군이 SHAM 수술군에 비해 유의하게 증가하였으며, 肥兒丸군이 난소적출군에 비해 유의하게 감소하였다. 이는 肥兒丸의 투여로 인해 osteoclast의 개수가 감소하여 골흡수 작용이 억제되어 개별 골소주 두께의 감소 억제를 유발한 것으로 해석할 수 있다. 난소적출군에서 SHAM 수술군과 肥兒丸군에 비해 osteoblast가 차지하는 면적이 높은 수치를 나타내는 것은 osteoclast의 개수 증가에 따른 골흡수의 영향으로 골량의 항상성을 유지하기 위해 osteoblast가 증가한 것으로 생각된다.

이상의 결과들을 볼 때, 난소를 적출한 흰쥐에 대한 肥兒丸의 투여는 혈청 calcium, phosphorous의 농도를 증가시키며 골소주 두께를 증가시켜주고 osteoblast가 차지하는 면적과 osteoclast 수를 유의하게 감소시키는 효과가 있었으며, 간 손상을 유발하지 않으며 체중 증가나 혈중 지질농도의 상승을 유발하지 않았다.

## 결론»»»»

흰쥐의 난소를 적출하여 골다공증을 유발시킨 뒤 肥兒

丸을 투여하였을 때의 영향을 알아보기 위해 체중 및 체중 대비 대퇴골의 무게와 경골의 회분함량, 대퇴골 조직의 골소주 두께와 골소주 면적, 혈중 calcium, phosphorus, estradiol, total cholesterol, triglyceride, ALP, albumin, AST, ALT의 변화, osteoclast와 osteoblast의 변화를 관찰한 결과를 통해 다음과 같은 결론을 얻었다. 체중의 변화에 있어 肥兒丸군은 난소적출군과 큰 차이를 보이지 않아, 肥兒丸의 투여가 체중 증가를 유발하지는 않았다. 혈액내 성분중 calcium, phosphorus의 변화를 살펴본 결과 肥兒丸의 투여가 calcium, phosphorus의 감소를 억제하는 효과가 있었다. 혈액내 성분 중 ALP, albumin, AST, ALT의 변화를 살펴본 결과 肥兒丸의 투여가 간기능의 손상을 유발하지는 않았다. 골의 조직학적 변화를 관찰한 결과 osteoblast가 차지하는 면적은 감소시키고 osteoclast의 개수를 감소시키며 골소주 두께의 감소를 억제하는 효과가 있었다.

이상의 결과를 통해 肥兒丸은 혈중 calcium, phosphorous의 감소를 억제하고 osteoclast의 활성을 억제하여 골소주의 두께의 감소를 억제하는 효과가 있으며, 비이환이 간기능의 손상이나 체중 증가를 유발하지 않음을 확인하였다. 肥兒丸은 골다공증 예방과 치료에 유용하게 사용될 수 있는 처방으로, 향후 환자를 대상으로 임상효과연구를 수행하여 더 확고한 근거 마련이 필요하리라 생각된다.

## References»»»»

1. Essentials of nutrition, Kyomunsa:Paju, 2011:280.
2. The Society of Korean Medicine Rehabilitation, Korea Rehabilitation Medicine. Seoul:Koonja, 2012:9-10, 165-9, 350-63.
3. Beatrice C. Lupsa, Karl Insogna, Bone Health and Osteoporosis, Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 2016;44(3):517-30.
4. Kim JG, Moon YW. Diagnosis of Osteoporosis. Hip and Pelvis, 2011;23(2):108-15.
5. Yoon HS. Factors Associated with Decreased Bone Mineral Density in Korean Adults, Chosun University, 2011.
6. 今釋黃帝內經 素問. 裴秉哲. Seoul:Sungbosa, 1994:292-5, 383-7.
7. Oriental medical Prescription, Seoul:Younglim publishing company, 2012:576.

8. 東醫寶鑑編修刊行委員會. 東醫寶鑑. Seoul:民衆書閣. 1993: 649-53.
9. Ko SC, Won JH, Jung KM. Studies on the Anti-allergic Effect of Biahwan and Sutodan in Rats and Mice. The Journal of Korean Oriental Pediatrics. 1991;5(1):1-14.
10. Lee HY, Park SH, Chae SW, Soung NK, Oh MJ, Kim JS, Kim YO, Chae HJ. Aqueous ginseng extract has a preventive role in RANKL-induced osteoclast differentiation and estrogen deficiency-induced osteoporosis. Journal of functional foods. 2015;13:192-203.
11. Park ST, Lee MS, Jeon BH, Park KI, Oh JM. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba on Osteoclast Formation. The Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology. 2011.2;25(1):109-14.
12. Cheon YH, Kwack SC, Oh JM, Choi MK, Kim JJ, Kwak HB, Lee MS, Jeon BH, Moon SY. Effect of Hoelen in RANKL-induced Osteoclast Differentiation. The Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology. 2012.6; 26(3):320-4.
13. Mathavan N1, Turunen MJ, Tägil M, Isaksson H. Characterising bone material composition and structure in the ovariectomized (OVX) rat model of osteoporosis. Calcif Tissue Int. 2015 Aug;97(2):134-44.
14. Choi JK, Yoo DY. The Effect of Kamijoaguem on Osteoporosis Induced by Ovariectomy in Rats. The Journal of Oriental Obstetrics and Gynecology. 2006; 19(2):107-26.
15. Hong-sik Choi. The Efficacy of Cynomorii Herba and Eucommiae Cortex on Treatment of Osteoporosis in Ovariectomized Rats. Kor. J. Herbology 2008;23(2):19-24.
16. Sun-Hye Lim, Tae-Youl Ha, Sung-Ran Kim, Jiyun Ahn, Hyun Jin Park and Suna Kim, Ethanol extract of Psoralea corylifolia L. and its main constituent, bakuchiol, reduce bone loss in ovariectomised Sprague-Dawley rats. British Journal of Nutrition 2009;101:1031-9.
17. Choi HS. The Efficacy of Cynomorii Herba and Eucommiae Cortex on Treatment of Osteoporosis in Ovariectomized Rats. The Korean Journal of Herbology. 2008;23(2):19-24.
18. Tianxiu Wu, Lin Zou, Honghua He, Kefeng Wu. Prevention of Radix Rehmanniae Preparata on Glucocorticoid-Induced Osteoporosis in Rats. Chemical engineering transactions. 2015;46:67-72.
19. 脾系內科學. 柳基遠. Seoul:Dongwoo publishing company. 2000:3-11.
20. Korean Society for Laboratory Medicine. Laboratory Medicine. Seoul:E-public. 2009:291-8, 307-14, 337-44, 374, 385-91.
21. Silver DS. Calcium and vitamin D controversies. Rheum Dis Clin North Am. 2011 Aug;37(3):351-63.
22. Park Y, Moon HJ, Paik DJ, Kim DY. Effect of dietary legumes on bone-specific gene expression in ovariectomized rats. Nutr Res Pract. 2013 Jun;7(3):185-91.
23. Wei J, Wang J, Gong Y, Zeng R. Effectiveness of combined salmon calcitonin and aspirin therapy for osteoporosis in ovariectomized rats. Mol Med Rep. 2015 Aug; 12(2):1717-26.
24. Pickar JH, Bon C, Amadio JM, Mirkin S, Bernick B. Pharmacokinetics of the first combination 17β-estradiol/progesterone capsule in clinical development for menopausal hormone therapy. Menopause. 2015 Dec;22(12): 1308-16.
25. Carroll M, Kit B, Lacher D. Trends in elevated triglyceride in adults: United States, 2001-2012. NCHS Data Brief. 2015 May;(198):198.
26. Hlaing TT, Compston JE. Biochemical markers of bone turnover - uses and limitations. Ann Clin Biochem. 2014 Mar;51(Pt 2):189-202.
27. Chiang SS, Chang SP, Pan TM. Osteoprotective effect of Monascus-fermented dioscorea in ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis. J Agric Food Chem. 2011 Sep 14;59(17):9150-7.
28. Goorden SM, Buffart TE, Bakker A, Buijs MM. [Liver disorders in adults: ALT and AST]. Ned Tijdschr Geneesk. 2013;157(43):A6443.