

## 한약이 난소제거 흰쥐와 SAM P6 생쥐의 골소주에 미치는 영향

김정숙\* · 김진숙 · 김연태 · 송계용\*

한국한의학연구원, 중앙대학교 의과대학 병리학교실\*

(Received December 19, 1997)

### Effects of Herbal Medicine on Tibia Bone Changes in Ovariectomized Rats and SAM P6 Mice

Chung Sook Kim<sup>#</sup>, Jin Sook Kim, Yun Tai Kim and Kye Yong Song<sup>\*</sup>

*Korea Institute of Oriental Medicine, 129-11 Chungdam-dong, Kangnam-ku, Seoul, 135-100, Korea, and*

*\*Department of Pathology, Medical School, Chungang University, 221 Hukseok-dong, Dongjak-ku, Seoul, Korea.*

**Abstract**—The effects of herbal medicine on trabecular bone area were studied using ovariectomized rat as an animal model of Type I osteoporosis and SAM P6 as that of Type II. We counted red blood cells(RBC), hemoglobin(Hb), and hematocrit(Hct) using Coulter's<sup>®</sup> method. Each traditional boiling water extract of *Achyrrathis Radix*, *Psoraleae Fructus*, *Rehmanniae Radix Preparat*, and *Corni Fructus* and a systemic water extract of *Astragali Ractiex* was given 5 g/kg/day, p.o., for 30 days in a group of 4-5 ovariectomized rats. One ml of blood was taken by tail vein at day 0, 7, 14, 21, and 30 days after administration of the extract. The traditional hot water extract of *Cervi parvum Cornu (Cervi)* was given the same dose as described above for 14 days in a group of 10 SAM P6 mice and systemic water extract of *Astragali Radix* was administered as the same dose as above for 30 days in 10 SAM P6 mice. Trabecular bone area was measured 5  $\mu$ m decalcified and stained thin bone slice by image analysis using a digitalizer. In Type I, ovariectomized rats, administration of *Astragali Radix*, *Rhemanniae Radix Preparat*, and *Corni Fructus* decreased in RBC, Hb and Hct. In Type II, administration of *Cervi* increased in RBC and Hct and that of *Astragali Radix* was also elevated RBC. In Type I, any administration of herbal medicine used in this study did not elevate trabecular bone area significantly except *Corni Fructus* showed a trend of increase in trabecular bone area. However, Type II, *Cervi* and *Astragali Radix* increased in both mean and total trabecular bone area. Thus, there are significant difference in response of herbal medicine in different types of osteoporosis.

**Keywords** □

골다공증은 정상에 비해 골량이 감소된 상태를 말하며 골의 구조적인 약화를 가져와 작은 충격에도 쉽게 골절을 일으키고 형태학적인 변형을 초래한다. 골다공증의 일차적인 원인은 골원이 차지하는 공간과 피질 두께의 감소에 기인한다.<sup>1)</sup> 골다공증은 여러가지 형태로 혹은 여러가지 원인으로 나눌수가 있다.<sup>2)</sup> 크게는 폐경기

이후의 골다공증(Type I)과 노화로 인한 골다공증(Type II)으로 나눌 수 있다. 그러나 골다공증의 발생 원인에 대한 연구는 거의 되어 있지 않으며, 골다공증의 초기 발견기술 중 하나가 골밀도를 측정하는 방법인데, 이 방법에는 single, dual-photon absorptiometry, quantitative computed tomography, X-ray based dual energy densitometry, 중 칼슘의 neutron activation analysis등이 있다.<sup>3)</sup> 그러나 골밀도의 1회 측정으로 골의 변형을 알 수가 없으며 연속적으로 수년

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-3442-1994 (팩스) 02-3442-0220

에 걸쳐 시간적인 간격을 두고 측정해야만 골량의 감소를 알아낼 수 있는 단점이 있다. 또 다른 방법은 정확하고 예민하지만 많은 숙련을 필요로 하는 방법으로 골의 변형을 탈회화 즉 골의 Hematoxylin 과 Eosin 염색을 이용한 조직검사를 들 수 있다.<sup>4,5)</sup> 마지막으로 이들과 함께 혈청이나 뇨의 실험실 검사들을 통해 간접적으로도 알 수 있는데, 혈액내 세포들의 분포상태를 검토하고 여러가지 생화학적 임상검사 및 호르몬들을 정량분석하여 생리적인 변화상태를 검토할 수도 있다.

특히 골다공증 환자의 혈장 IGF-1 농도는 감소되는데, 이는 척추 무기질 밀도(Bone Mineral Density : BMD)와 상관관계가 있으며,<sup>6)</sup> 다른 근골대사에 중요한 호르몬들인 갑상선호르몬, 부갑상선호르몬, 비타민 D<sub>3</sub>, cortisol 및 estrogen과 밀접한 관계가 있다.<sup>7)</sup> 이 호르몬들의 변화와 골밀도와의 관계는 현재 많은 연구가 진행중이다.

Type I 및 Type II 골다공증은 수십년에 걸쳐 일어나는 질병이므로 단기간의 몇가지 단순한 약의 복용으로 치료가 되지 않는다. 특히 estrogen 이나 testosterone 등은 치료제로 오랫동안 사용되어 왔으며,<sup>8,9)</sup> 이외에도 칼슘제제나 인산염,<sup>10,11)</sup> 불소제제,<sup>12)</sup> Ipriflavone,<sup>13)</sup> 비타민 D,<sup>14,15)</sup> calcitonin<sup>16)</sup>이 있다. 그러나 이들을 장기복용 할 때는 더 큰 부작용을 초래하므로 본 연구팀은 전통적으로 사용되어온 한약들 중에서 골다공증의 예방 또는 치료가 가능한 물질을 찾아낼 목적으로 연구를 시작하였다. 특히 Type I과 Type II 골다공증의 구별이 명확치 않으므로 본 연구팀은 이들의 생화학적 임상검사 및 호르몬들의 차이들을 비교하여 보고한 적이 있고,<sup>17)</sup> 본 논문에서는 대표적인 보약으로 인정되는 녹용(Cervi parvum Cornu), 황기(Astragali Radix), 및 숙지황(Rehmanniae Radix Preparat)과 근골질환에 주로 사용되는 한약재인 산수유(Corni Fructus), 우슬(Achyranthis Radix) 및 보골지(Psoraleae Fructus) 등을 문헌고찰을 통해 선택하였고 이들을 각각 투여한 Type I과 Type II 동물의 골소주의 변화를 관찰하였다.

## 실험방법

### 실험재료

골다공증을 유발하는 동물모형은 여러가지가 알려져 있으며, 본 연구에는 폐경기 이후의 Type I 골다공증의

모형으로 흰쥐의 난소적출 모형과 유전자 변이를 통해 노화촉진 및 골다공증을 유발하는 Type II 동물모형으로 개발된 SAM P6 생쥐를 선택하였다. 본 연구의 Type I 골다공증 동물모형은 한국화학연구소(대전)에서 분양받은 생후 12주된 체중 250~300 g 정도의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley rat)를 사용하였다. 동물을 ketamin(유한양행) 0.5 mg/kg과 Xylazine(한국바이엘) 0.1 mg/kg을 좌,우측 후지 대퇴근에 근육주사하여 전신 마취시킨 다음, 하복부의 털을 제거하고, 포타딘액(삼일제약)으로 수술부위를 소독한 후, 무균조작하에서 양측 난소적출 수술을 시행하였고, 항생제로 셸파포르테-4(유니화학) 0.3 ml를 복강내 주입하여 감염을 방지하였다. Sham군은 난소적출을 제외한 나머지 수술과정을 거쳤으며, 난소적출 후 7주부터 한약제(황기 물추출물, 숙지황, 산수유, 우슬, 지골피) 투여실험을 행하였다. Type II 골다공증 동물모형으로 Takeda 등<sup>19)</sup>이 개발한 SAM 생쥐모델 중에서 노화촉진 및 골다공증을 유발하는 SAM P6 생쥐는 10주령부터 골밀도의 감소가 진행되는 것으로 알려졌으며,<sup>20)</sup> 이에 대한 대조군은 SAM R1인 것으로 알려져 이를 사용하였다. SAM P6 생쥐는 한국화학연구소(대전)에서 육종한 3주령의 숫컷을 분양받아 생후 12주까지 사육한 후에 투약을 시작하였다.

### 약물투여

황기는 강원도 정선에서 재배된(재배자 : 조광호) 것을 (한국한의학연구원 이제현에 의해 감정, 견본은 본 연구원 보관: 표본번호 96-3-0001) 믹서로 미세분쇄한 후 80% 에탄올로 추출한 후, 여과농축한 후에 건조하였다. 이에 n-Hexane, Ethylacetate, n-Butanol로 계통분리하여 분획층을 제거한 잔사를 증류수로 2일간 상온에서 추출하여 물층을 얻었다.<sup>32)</sup> 나머지 5종의 한약제는 경동시장에서 구입하였으며, 한의사 이제현이 감정하였고 표본은 건조하여 한국한의학연구원에 보관중이다(숙지황: 표본번호 96-3-0002, 산수유: 표본번호 96-3-0003, 우슬: 표본번호 96-3-0004, 지골피: 표본번호 96-3-0005, 녹용: 표본번호 96-3-0006). 이들 한약제는 기존 한약 추출방법인 탕제법으로 추출하였다.

한약의 투약을 위해 Type I 골다공증 및 Type II 골다공증 유발 동물들을 대조군과 투여군으로 각각 나누었다. Type I 실험에서는 대조군(n=9) 및 sham군

(n=7)은 물을, 투여군은 황기(80% ethanol로 계통 분리한 물층)(n=5), 숙지황(n=5), 산수유(n=4), 우슬(n=5), 지골피(n=5)를 각각 30일간 매일 1회 5g/kg/day 경구투여하여 day 0, 7, 14, 21, 30일에 미정맥에서 1ml씩 각각 채혈하여(heparin: 75 IU) 총혈구검사 중에서 RBC, Hb, Hct치를 측정하였고, 골량의 측정을 위해 30일에 경골을 분리하여 10% 중성 포르말린 용액에 보관하였다. Type II 골다공증인 SAM P6 생쥐가 12주령일 때 대조군(n=10)과 투여군(n=10)으로 나누어 대조군(n=10)은 물을, 투여군(n=10)은 각각 녹용, 황기(80% ethanol로 계통분리한 물층)를 매일 1회 5g/kg/day로 녹용은 14일, 황기는 30일간 경구투여 하였다. 그 후 Type I과 같은 검사들을 행하였다.

#### 총혈구검사(complete blood cells counts)

총혈구검사는 Coulter JT(Coulter Co., Miami, FL, U.S.A)를 사용하여 RBC, Hb, Hct를 측정하였다.

#### 골밀도의 측정

본 연구에서는 골소주의 소실을 분석할 수 있는 영상 분석기(VIDAS image analysis system, Zeiss Co., Germany)를 이용한 형태계측학적 연구를 하였다.<sup>21-23)</sup>

**조직의 처리** - 병리조직학적 관찰을 위하여는 채취한 골조직을 10% 포르말린 용액에 고정한 후, formic acid내에서 탈회용액(De-cal rapid solution, National diagnostics, U.S.A.)에 1~2일간 두고 탈회를 시행한 후에 골조직의 관찰할 부위를 수술칼로 절단한 후 70%알코올에서 100%알코올과 아세톤에 이르는 단계별 탈수과정을 거쳐 자일렌으로 청명하고 파라핀 포매를 시행하였다. 파라핀 포매된 골조직을 마이크로톰으로 5  $\mu\text{m}$ 으로 절단하고 hematoxyline eosin(HE)

염색을 실시한다.

**조직영상분석** - Image analysis를 이용하여 기본적으로 HE 염색된 조직의 슬라이드를 직접 이용하여 골다공증에 의한 골소주의 소실정도를 영상분석을 통하여 형태계측학적으로 분석하였다. 형태계측학적 검사로 정량적 영상 분석기의 digitalizer로 각 골소주의 외곽선을 따라 컴퓨터 화면에서 영상의 면적을 자동으로 계산하여 이를 골소주의 면적으로 구하였다. 각각의 경골의 근위부에서 성장판의 직하부의 부분중 가로변의 길이가 성장판의 길이의 약 2/3정도되는 길이로 하는 기준면적  $0.196304 \times 10^4 (n=7) \mu\text{m}^2$ 인 직사각형 내부의 모든 골소주들을 개별적으로 면적을 구한 다음 골소주의 개수를 곱하여 골소주의 총면적을 구하였다.

#### 통계처리

Systat program(SYSTAT Inc, Evanston, Ill, USA)을 이용하여 각 군에 대해 투여전(day 0) 군과 비교하여 Bonferroni multiple comparison analysis법을 이용하여  $p < 0.05$  이하인 것<sup>24)</sup>을 다르다는 의미가 있는 것으로 정의하였다. 각 한약의 투여군과 대조군과의 비교는 ANOVA 를 이용하여  $p < 0.05$ 일 때 의미가 있는 것으로 정의하였다.

#### 실험결과

##### 동물실험

Type I 대조군의 투여전 군(day 0)의 평균체중은  $318.10 \pm 7.58 \text{ g}$  이었으며 30일 투여기간이 끝났을 때의 대조군의 체중은  $323.57 \pm 4.28 \text{ g}$ 이었고, 실험이 계속되는 동안 각군의 체중 변화는 산수유 30일 투여군을 제외하고는 30일 투여기간 중에 없었다(Table I).

**Table I**—Changes in body weight(g) of ovariectomized rat after oral administration of the extracts (5 g/kg/day) for 30 days

Duration (day)	Control	Sham	Achyranthis R.	Psoraleae F.	Astragali R.	Rehmanniae R.P.	Corni F.
0	$318.10 \pm 7.58$	$307.64 \pm 10.19$	$333.29 \pm 15.42$	$329.42 \pm 5.88$	$342.3 \pm 15.8$	$298.2 \pm 15.2$	$288.1 \pm 7.4$
7	$317.91 \pm 7.07$	$311.67 \pm 10.01$	$339.56 \pm 15.00$	$325.81 \pm 5.59$	$351.3 \pm 16.6$	$314.8 \pm 15.9$	$291.8 \pm 8.3$
14	$308.54 \pm 8.32$	$318.99 \pm 12.50$	$335.56 \pm 15.23$	$322.74 \pm 5.09$	-	-	-
21	$313.77 \pm 6.11$	$328.61 \pm 15.67$	$332.53 \pm 15.95$	$325.03 \pm 4.25$	$360.1 \pm 16.4$	$326.0 \pm 5.3$	$291.8 \pm 7.2$
30	$323.57 \pm 4.28$	$334.83 \pm 11.02$	$339.08 \pm 13.89$	$337.85 \pm 3.94$	$375.1 \pm 15.9$	$344.5 \pm 17.7$	$293.5 \pm 2.8^b$

Comparison between control and treatment group by ANOVA, <sup>a</sup> $p < 0.05$ . R. means Radix, F. represents Fructus, and R.P. does Radix Preparat.

**Table II**— Changes in body weight(g) of SAM P6 mice after oral administration of the herbal extract (5 g/kg/day)

Herbal medicine	Group	SAM P6		
		0 day	14 days	30 days
Cervi	control	30.08±0.28	31.29±0.46	-
	treatment	-	31.42±0.89	-
Astragali	control	30.08±0.28	30.21±0.44	31.12±0.69
	treatment	-	30.75±0.44	31.30±0.83

Cervi means Cervi paravum Cornu and Astragali represents Astragali Radix.

**Table III**— Changes in complete blood cells counts results from ovariectomized rats during 30 days oral administration of the herbal extract (5 g/kg/day)

Items	Duration (day)	control	Sham	Achyranthis R.	Psoraleae F.	Astragali R.	Rehmanniae R.P.	Corni F.
RBC	0	7.47±0.22	7.84±0.12	7.82±0.13	7.68±0.20	8.19±0.12	8.07±0.6	7.82±0.14
	16	7.29±0.16	7.53±0.16	7.85±0.22	7.42±0.20	-	-	-
	7	6.65±0.33	7.34±0.17	7.42±0.14	7.45±0.16	-	-	-
	14	6.72±0.34	7.05±0.11*	6.96±0.39	7.10±0.10	7.26±0.23	7.36±0.27	7.04±0.25
	21	6.37±0.14*	6.45±0.12**	6.63±0.22*	6.80±0.17	6.82±0.20**	6.88±0.23*	6.58±0.23
Hb	0	15.10±0.31	15.47±0.15	15.94±0.26	15.68±0.62	16.70±0.24	16.82±0.32	16.10±0.29
	7	14.40±0.31	14.90±0.33	14.64±0.58	14.60±0.42	-	-	-
	14	13.25±0.41**	14.62±0.16 <sup>§</sup>	14.42±0.13 <sup>§</sup>	14.60±0.38 <sup>§</sup>	-	-	-
	21	13.73±0.57	14.20±0.16*	14.02±0.55*	14.20±0.34	15.18±0.49	14.88±0.42*	14.35±0.46
	30	13.18±0.20**	13.24±0.29**	13.18±0.13**	13.52±0.42*	13.62±0.47**	13.90±0.22**	13.45±0.12**
Hct	0	42.54±1.04	45.11±0.64 <sup>§</sup>	44.54±1.05	43.70±1.72	49.52±0.70	47.10±0.86	45.05±0.85 <sup>§</sup>
	7	42.04±0.69	42.64±0.67	45.32±0.91	43.22±1.37	-	-	-
	14	39.20±1.78	42.60±0.54	42.98±0.34	43.18±1.11	-	-	-
	21	39.93±1.66	41.71±0.26*	40.40±1.40	41.12±0.77	43.14±1.31	43.28±0.97	42.50±1.07
	30	37.68±0.63*	38.01±0.87**	38.28±0.32**	38.88±1.20	41.16±1.41**	41.06±0.68*	40.93±0.68

Comparison with day 0 by Bonferroni multiple comparison method, \*p<0.05 \*\*p<0.01.  
 Comparison between control and treatment group by ANOVA, <sup>§</sup>p<0.05, <sup>§§</sup>p<0.01.  
 R. means Radix, F. represents Fructus, and R.P. does Radix Preparat.

**Table IV**— Changes in complete blood cells counts from SAM P6 mice after oral administration of the extract (5g/kg/day)

Items	Duration (day)	Group	RBC	Hb	Hct
	0	control	8.19±0.08	13.43±0.09	40.72±0.49
Cervi	14	control	8.85±0.10	14.16±0.23	43.24±0.57
		treatment	9.29±0.12 <sup>§</sup>	14.48±0.19	45.47±0.52 <sup>§</sup>
Astragali	30	control	8.88±0.21	14.65±0.31	43.07±0.90
		treatment	9.27±0.22*	15.02±0.44	44.04±1.08

Comparison with day 0 by Bonferroni multiple comparison method, \*p<0.05.  
 Comparison between control and treatment group by ANOVA, <sup>§</sup>p<0.05.  
 Cervi means Cervi paravum Cornu and Astragali represents Astragali Radix.

Type II인 SAM P6 생쥐의 투여전 대조군의 평균체중은 30.08±0.28 g 이었으며 30일 후에는 31.12±0.69 g 이었고, 30일 투여기간 중에 유의성 있는 체중의 변화는 없었다(Table II).

**총혈구검사**

Type I인 난소적출쥐에 각 산수유, 우슬, 지골피, 숙지황, 및 황기 추출물을 투여한 후에 변화하는 RBC, Hb, 및 Hct치의 결과는 Table III에 요약되어 있는데, 30일 대조군, sham군, 및 대부분의 투여군의 RBC, Hb, 및 Hct치가 각군의 투여전 군(day 0)의 수치보다 감소되었다(p<0.05). 14일 대조군의 Hb치는 투여전 군

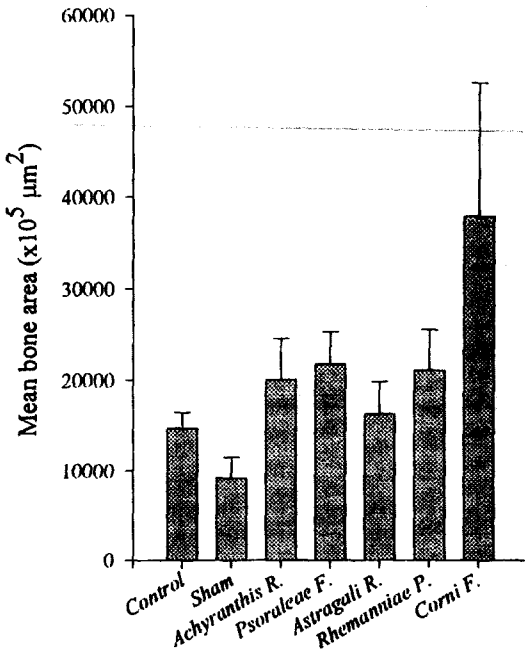


Fig. 1—Mean trabecular bone area ( $\times 10^5 \mu\text{m}^2$ ) of ovariectomized rats after 30 days administration of extract (5 g/kg/day, p.o.). X-axis is herbal extract given. Y-axis is mean trabecular bone area. The bar represents standard error of mean value in each group.

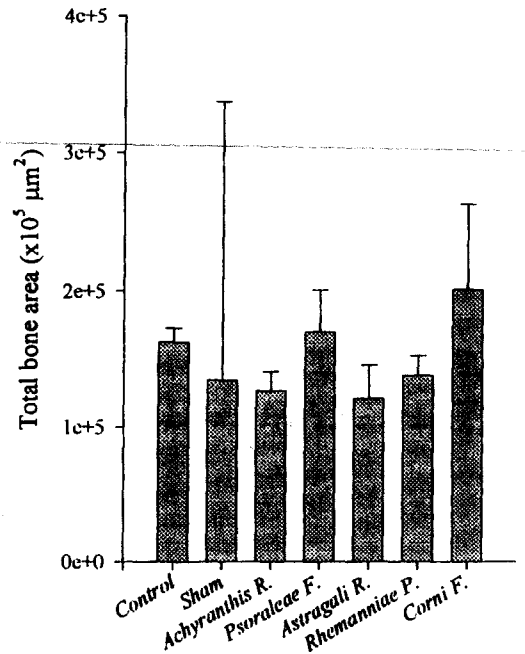


Fig. 2—Total trabecular bone area ( $\times 10^5 \mu\text{m}^2$ ) of ovariectomized rats after 30 days administration of extract (5 g/kg/day, p.o.). X-axis is herbal extract given. Y-axis is total trabecular bone area. The bar represents standard error of mean value in each group.

(day 0)보다 감소되었으나( $p < 0.01$ ), 14일 sham, 우슬, 보골지의 Hb치는 14일 대조군보다 증가되었고( $p < 0.05$ ), 이들은 각군의 투여전 군의 수치와는 차이가 없었다. Type II인 SAM P6 생쥐의 14일 녹용투여군의 RBC와 Hct치는 각각의 14일 대조군에 비해 증가되었고( $p < 0.05$ ), 황기 30일 투여군의 RBC치는 30일 대조군과는 차이가 없었으나, 투여전 군(day 0)의 수치에 비해 증가되었다( $p < 0.05$ ) (Table IV).

**골밀도의 정량**

난소적출쥐의 골소주 면적은 Fig. 1과 Fig. 2와 같이 한약의 투여로 인해 큰 변화는 없었다. SAM P6 생쥐의 경우는 14일간 녹용투여로 인해 투여전 군(day 0)에 비해 평균 골소주 면적( $p < 0.01$ ) 및 총 골소주 면적이 증가 되었으며( $p < 0.05$ ), 황기는 30일간 투여로 30일 대조군이나 투여전 군(day 0)에 비해 평균 골소주 면적의 증가(각,  $p < 0.01$ )가 되었으며 총 골소주 면적도 30일 대조군에 비해 상승하였다( $p < 0.05$ ) (Fig. 3, 4).

**고 찰**

골다공증은 폐경기 이후의 골다공증(Type I)과 노화로 인한 골다공증(Type II)으로 나눌 수가 있다. Type I과 Type II 골다공증의 많은 경우에 내분비 장애가 그 원인이고, 질병에 기인하거나, 영양실조로, 혹은 칼슘이온 흡수의 감소로 인한 칼슘농도, 인산염, 및 비타민 D 등의 결핍으로 온다고 알려져 있다.<sup>14, 25, 26)</sup> 그러나 이런 내분비 장애나 무기질 농도의 흡수장애가 생기는 원인에 대한 연구는 거의 되어 있지 않다. 골다공증은 또한 만성질환이므로 예방차원에서 많은 손쉬운 검사들이 개발되어야 하는데, 골연구의 제한성은 골조직이 석화된 단단한 조직으로 분석적인 연구가 쉽지 않다는 데 있다. 골연구는 생화학적, 형태학적, 생리학적 등 다양한 연구가 있을 수 있으나 쉽게 접근할 수 있는 것이 형태학적인 방법이다. 형태학적인 연구방법으로는 광학현미경에 의한 병리조직학적분석, 형태계측학적 분석, 그리고 면역조직화학분석 등을 들 수 있다. 본 논문에서는 Type I 동물모형과 Type II 동물모형을

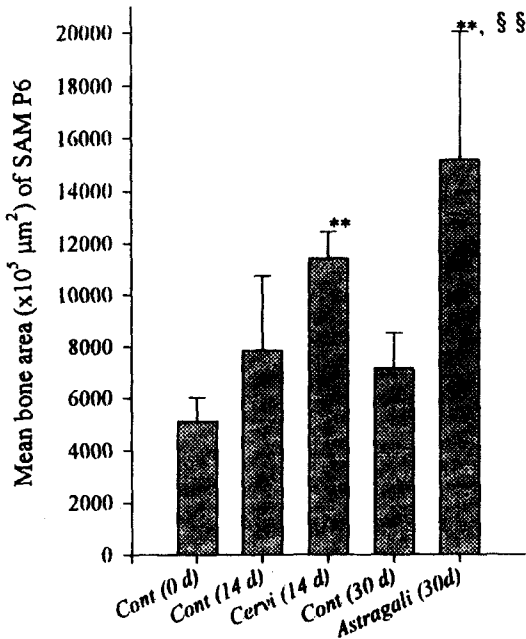


Fig. 3—Mean trabecular bone area ( $\times 10^5 \mu\text{m}^2$ ) of SAM P6 mice after oral administration of the herbal extract (5 g/kg/day). X-axis is herbal extract given. Y-axis represents mean trabecular bone area ( $\times 10^5 \mu\text{m}^2$ ). The bar represents standard error of mean value in each group. \*\* $p < 0.01$  by comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method and §§ $p < 0.01$  by comparison between control and treatment group by ANOVA. Cervi extract was administered for 14 days and Astragali extract was given for 30 days. Cont means Control.

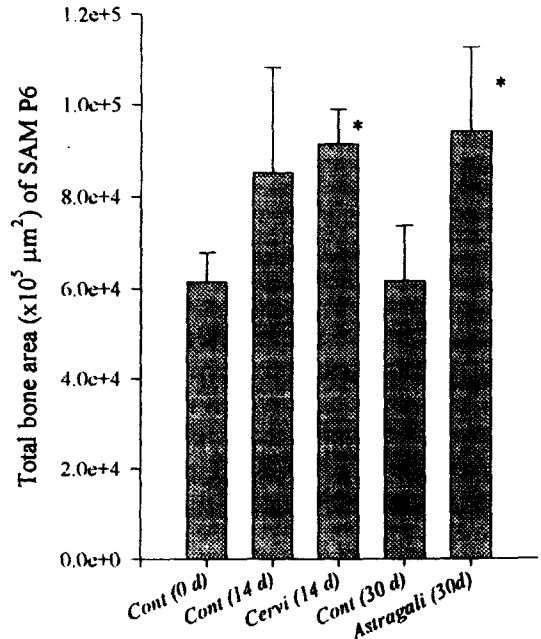


Fig. 4—Total trabecular bone area ( $\times 10^5 \mu\text{m}^2$ ) of SAM P6 mice after oral administration of the herbal extract (5 g/kg/day). X-axis is herbal extract administered. Y-axis represents total trabecular bone area ( $\times 10^5 \mu\text{m}^2$ ). The bar represents standard error of mean value in each group. \* $p < 0.05$  by comparison to day 0 by Bonferroni multiple comparison method. Cervi extract was administered for 14 days and Astragali extract was given for 30 days. Cont means Control.

각각 선택하여 각 동물의 총혈구검사와 형태계측학적 검사를 이용하여 여러 가지 가능성이 있는 한약제의 일차적인 효능검색법으로 한약을 투여한 전후에 나타나는 골소주 면적의 변화를 비교하므로써 한약중에서 골다공증의 예방 및 치료제로 가능성이 있는 한약제를 발견하였기에 보고하고자 한다. 또한 녹용, 황기, 및 숙지황은 대표적인 보약이고 산수유, 우슬, 및 보골지는 근골질환에 사용되는 한약제이다. 투여량으로 건조 한약재 5 g/kg의 용량은 OECD의 독성시험법에서 단일 성분의 독성검사에 사용하는 용량이나 본 연구에서 사용한 양은 건조한약재로 통상적으로 일일처방으로 2~5 g/kg을 사용하고 있고, 특히 황기의 경우는 75~100 g/kg을 경구투여하여도 독성이 없었으며, 숙지황은 매일 60 g/kg을 경구 투여하여도 독성을 나타내지 않았기에 선택하였다.<sup>31)</sup>

난소제거 쥐인 Type I의 실험동물은 30일간의 투약 기간 중에 체중의 변화가 없었고, Type II 골다공증의 실험동물들도 체중의 변화가 없었다. 이는 다른 연구보고에서 SAM P6 생쥐에 14일 동안 녹용을 투여한 군의 체중은 증가되었으나, 황기 또는 숙지황의 투여는 체중의 변화가 없었다고 하였다.<sup>18, 27)</sup> 본 연구에서 녹용 투여군은 체중의 변화가 없었는데, 이는 사육조건에 따라 SAM P6 생쥐가 개체차이가 크기 때문으로 사료되며, SAM P6 생쥐는 노화에 기인하는 골다공증을 유발시키지만 여러 가지 요인들에 의해 비록 같은 시기에, 같은 여건에서 사육하였으나 항상성에 문제가 있다는 보고도 있다.<sup>18)</sup>

통상적으로 대표적인 보약인 황기, 숙지황, 녹용 등은 한의학에서 보혈작용을 나타낸다고 알려졌다. Type I 실험에서 30일 대조군이나 sham군의 RBC, Hb,

Hct치가 투여전 군(day 0)보다 감소하였고(Table III, 각 $p$ (0.05), 마찬가지로 우술, 황기, 숙지황은 투여전 군(day 0)에 비해 30일 투여군에서 각각 RBC, Hb, Hct치의 감소를 나타냈으며( $p$ (0.01), 30일간의 보골지 및 산수유 투여군의 Hb치는 각군의 투여전 군(day 0)에 비해 감소되었으나, RBC 및 Hct치는 투여전 군(day 0)에 비해 통계적인 차이점을 나타내지는 않았지만 다른 한약재와 마찬가지로 감소되는 경향을 나타내었다(Table III). 이는 대조군과 sham군에서와 같이 1주일 간격으로 동일한 동물에서 계속적인 1 ml의 채혈은 1회에 안전하게 채혈가능한 용량인 5 ml/kg에 미치지 못하지만,<sup>33)</sup> 본 연구의 난소제거 흰쥐에서는 반감기가 약 50~60일인 RBC치 등이 제대로 회복되지 않았음을 반영한 것이라 생각된다.<sup>28)</sup> Table IV의 Type II 골다공증은 14일 녹용투여군의 RBC치는 14일 대조군보다 상승되었고, 14일 녹용투여군의 Hct치는 14일 대조군보다 상승되었다( $p$ (0.05). 이 결과는 다른 논문에서 SAM P6 생쥐에 14일 동안 녹용을 투여하였을 때, RBC, Hct, 및 Hb치의 증가가 있다고 하였으나, 본 연구에서는 Hb치의 변화는 발견되지 않았다.<sup>18)</sup> 이는 녹용이 SAM P6 생쥐에서 RBC 및 erythropoietin의 상승을 유도하였다고 발표한 김<sup>27)</sup> 등의 결과와 동일하고, 또한 황기의 총혈구검사도 김<sup>18)</sup> 등의 결과와 약간 차이는 있으나, 이는 본 연구의 황기의 추출물이 전탕액이 아닌 80% 에탄올의 계통분리한 물추출물이기 때문에 황기 물추출물의 구성성분의 차이가 있음을 나타내는 것으로 사료된다.

골소주 면적은 Type I의 경우는 통계적인 의미는 없지만 산수유의 경우는 상당히 증가되는 경향을 나타냈다(Fig. 1). 산수유는 한의학에서 골수를 보충하고 인체내에서 생성되는 물질들의 농도를 증가시키며(添精補髓) 자양강장약으로 사용되고<sup>29)</sup> 있으므로 골면적의 상승을 나타냈을 가능성이 크다. 그러나 Type II의 녹용이나 황기투여군은 골소주 면적이 약 2~3배 증가되는 것을 나타냈다(Fig. 3,  $p$ (0.01). 이로써 Type I보다 Type II의 경우에 녹용 및 황기 물추출물이 골소주 면적의 증가를 훨씬 높은 비율로 유발하였다. 또한 녹용투여는 Type I의 골다공증 유발쥐에서 estrogen농도를 상승시킨다는 것이 발표되었으며,<sup>30)</sup> 본 연구에서 녹용(5 g/kg)의 14일간 투여는 Type II의 골면적들도 증가시켰다(Fig. 3, 4).

Type I에 30일간 투여한 황기 물추출물은 RBC,

Hb, 및 Hct치의 감소를 나타냈고, Type II에서도 녹용과 유사하게 30일간 황기의 물추출물을 투여한 군의 RBC치는 투여전(day 0) 보다 의미있게 증가하였으나(Table IV), Hct치나 Hb치는 변화가 없었다. 그러므로 황기는 Type I과는 달리 Type II에만 보혈작용을 나타냈는데,<sup>18)</sup> 녹용의 경우와는 총혈구검사 결과가 다르므로 보혈작용의 기전이 다르다고 보인다. 현재까지 황기는 補氣 작용이 강한 약재로 분류되어 왔지만, 본 연구결과는 조금 의외로 받아 들여지며 어느 성분이 이런 조혈 작용을 나타내는지는 좀 더 연구를 해야 할 부분으로 여겨진다. 특히 Type II에서 황기 물추출물이 골소주의 면적을 증가시켰으나 Type I에는 골소주 면적에 영향이 없었다. 이와같이 Type I과 Type II 골다공증은 그 발생원인이 다르므로 치료에 대한 효능도 다르게 나타난다는 것이 밝혀졌다. 황기의 물추출물의 구성 성분이나 주효능 성분이 아직 밝혀지지 않았으나 골소주 면적을 증가시키는 성분을 분리, 분석하고 그 구조를 규명하여 Type II 골다공증의 치료에 일익을 할 수 있을 것으로 추정되며, 또한 Type I에 대한 산수유의 효능과 Type II에 대한 녹용의 효능기전도 앞으로 더 연구해야 될 것으로 사료된다. 또한 현재 통용되고 있는 한약재의 용량에 대한 효능연구가 좀 더 과학적으로 이루어져야 하리라고 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 보건복지부의 보건의료기술연구개발사업의 일환으로 1995년도 용역사업과 96-M-5-0047 연구과제의 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

## 문 헌

- 1) Reilly, D. T. and Burstein, A. H. : The mechanical properties of cortical bone, *J. Bone Joint Surg.* **56**, 1001 (1974).
- 2) Dempster, D. W. and Lindsay, R. : Pathogenesis of osteoporosis. *Lancet* **341**, 797 (1993).
- 3) Joffe, I. and Epstein, S. : Osteoporosis associated with rheumatoid arthritis: pathogenesis and management. *Seminars Arthr. Rheum* **20**(4), 256 (1991).
- 4) Cameron, J. R. and Sorenson, J. : Measurement of bone mineral *in vivo*. : An improved method.

- Science* **142**, 230 (1963).
- 5) Lillie, R. D. and Fuller, H. M. : *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*, 4th ed., McGraw-Hill Co., N.Y., p. 787 (1976).
  - 6) Johansson, A. G., Burman, P., Westermark, K. and Ljunghall, S. : The bone mineral density in acquired growth hormone deficiency correlates with circulating levels of insulin-like growth factor I. *J. Int. Med.* **232**, 447 (1992).
  - 7) Abbasi, A. A., Drinka, P. J., Mattson, D. E. and Rudman, D. : Low circulating level of Insulin-like growth factors and testosterone in chronically institutionalized elderly men. *J. Am. Geriatrics Soc.* **41**, 975 (1993).
  - 8) Buchanan, J.R., Hospodar, P., Myers, C., Leuenberger, P. and Demers, L. M. : Effect of excess endogenous androgens on bone density in young women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **67**, 937 (1988).
  - 9) Whitehead, M. I. and Fraser, D. : Controversies concerning the safety of estrogen replacement therapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **156**, 1313 (1987).
  - 10) Raisz, L. G. : Bone metabolism and calcium regulation. In Avioli, L. V. and Krane, S. M. (eds.): *Metabolic bone disease*, Academic Press, N. Y. (1978).
  - 11) Reid, I. R., Ames, R. W., Evans, M. C., Gamble, G. D. and Sharpe, S. J. : Effect of calcium supplementation of bone loss in postmenopausal women. *N. Engl. J. Med.* **328**, 460 (1993).
  - 12) Boivin, G., Chapuy, M. C., Baud, C. A. and Meunier, P. J. : Fluoride content in human iliac bone: Results in controls, patients with fluorosis, and osteoporotic patients treated with fluoride. *J. Bone Miner. Res.* **3**, 497 (1988).
  - 13) Yamazaki, I., Shino, A., Shimizu, Y., Tsukuda, R., Shirakawa, Y. and Kinoshita, M. : Effect of Ipriflavone on Glucocorticoid-induced osteoporosis in rats. *Life Sci.* **38**, 951 (1986).
  - 14) Sambrook, P., Birmingham, J., Kelly, P., Kempler, S., Nguyen, T., Pocock, N. and Eisman, J. : Prevention of corticosteroid osteoporosis: A comparison of calcium, calcitriol, and calcitonin. *N. Engl. J. Med.* **328**, 1747 (1993).
  - 15) Tilyard, M. W., Spears, G. F., Thomson, J. and Dovey, S. : Treatment of postmenopausal osteoporosis with calcitriol or calcium. *N. Engl. J. Med.* **326**, 357 (1992).
  - 16) Civitelli, R., Gonnelli, S., Zacchei, F., Bigazzi, S., Vattimo, A., Avioli, L. V. and Gennari, C. : Bone turnover in postmenopausal osteoporosis: Effect of calcitonin treatment. *J. Clin. Invest.* **82**, 1268 (1988).
  - 17) 김연태, 김진숙, 이한구, 김정숙, 송계용 : Studies on osteoporosis using traditional herbal medicine. 제 46회 대한약학회 학술대회 초록집 (1997).
  - 18) 김정숙, 김연태, 이제현, 하혜경, 전원경, 한상섭 : 한약에 의한 SAM P6와 SAM R1의 생리적인 변화. *응용약물학회* **5**, 23 (1997).
  - 19) Takeda, T., Hosokawa, M. and Higuichi, K., in *The SAM model of senescence*, Elsevier Science B. V., Amsterdam, Netherlands, p. 15 (1994).
  - 20) Suda, T., Miyama, K., Uchiyama, Y., Katagiri, T., Yamaguchi, A. and Sato, T. : Osteoporotic bone changes in SAM P6 are due to a decrease in osteoblast progenitor cells, in *The SAM model of senescence*, Takeda, T.(ed.), Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands, p. 47 (1994).
  - 21) Cressent, M., Bouizar, A., Moukhtar, M. S. and Milhaud, G. : Effect of ovariectomy on circulating calcitonin levels in the rat. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **166**, 92 (1981).
  - 22) Durbridge, T. C., Morris, H. A., Parsons, A. M., Parkinson, I. H., Moore, R. J., Porter, S., Need, A. G., Nordin, B. E. and Vernon-Roberts, B. : Progressive cancellous bone loss in rats after adrenalectomy and oophorectomy. *Calcified tissue internat.* **47**, 383 (1990).
  - 23) Mann, D. R., Gould, K. G. and Collins, D. C. : A potential primate model for bone loss resulting from medical oophorectomy of menopause. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **71**, 105 (1990).
  - 24) Rosner, B. : *Fundamentals of Biostatistics*, PWS-Kent Co., Boston, MA, U.S.A. (1990).
  - 25) Marie, P. J., Sabbagh, A., de Vernejoul, M. C. and Lomri, A. : Osteocalcin and deoxyribonucleic acid synthesis *in vitro* and histomorphometric indices of bone formation in postmenopausal osteoporosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **69**, 272(1989).
  - 26) Krane, S. M. and Holick, M. F. : Metabolic



- Bone Disease: in *Harrison's Principles of Internal Medicine*, vol 2, p. 2172 (1994).
- 27) 김연태, 김정숙 : 노화촉진생쥐에서 녹용의 조혈작용에 관한 연구. *생약학회지* **27(4)**, 371 (1996).
- 28) 田嶋嘉雄前 : 實驗動物學, 朝倉書店, 東京, p. 336 (1991).
- 29) 강병수, 고운채, 김선희, 노승현, 서영배, 송호준, 신민교, 안덕균, 이상인, 이영중, 이강희, 주영승 : 본초학, 영림사, 서울, 한국, p. 427 (1995).
- 30) 김미려, 양제하, 권용준 : 녹용의 물추출액 투여가 난소를 절제한 흰쥐의 여성호르몬 변화에 미치는 영향. *한국한의학연구소논문집* **1(1)**, 509 (1995).
- 31) 왕유생 : 중약약리여용용, 인민위생출판사, 북경, 중국, p. 983 (1983).
- 32) 김진숙, 김연태, 김정숙 : 황기뿌리의 성분연구(1). *생약학회지* **27(4)**, 336 (1996).
- 33) Baker, H. J., Lindsey, J. R. and Weisbroth, S. H. : *The laboratory rat*. Vol. II, Academic Press, Inc., N. Y., p. 411 (1980).