

녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone 및 estrogen이 난소적출 rat의 체중, 골밀도, 장기중량 및 조직학적 변화에 관한 연구

유상식, 김상근, 이명현*, 송운재**, 문병천**, 김무강

충남대학교 수의과대학, 국립수의과학검역원*, 대전광역시보건환경연구원**

Effects of antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen on body weight, bone mineral density, organ weight and histological change in ovariectomized rats

Sang-Sik Yoo, Sang-Keun Kim, Myung-Heun Lee*, Woun-Jae Song**,
Byung-Cheon Moon**, Moo-Kang Kim

*College of Veterinary Medicine, Chungnam National University
National Veterinary Research and Quarantine Service*
Daejeon Metropolitan Health and Environment Research Institute***

Abstract

This study was performed to elucidate the effects of antler, red ginseng, safflower seed, ipriflavone and estrogen on ovariectomized rats. The rats were fed with Ca and P deficient diet for five weeks to induce osteoporosis. After this period, these animals were fed with normal feed and treated every other day with antler(600mg/kg, PO), red ginseng(200mg/kg, PO), safflower(200mg/kg, PO), ipriflavone(80mg/kg, PO) and estrogen(400 μ g/kg, IM) for 5 weeks. During the treatment, the rats were examined for body, organ, femur and femur ash weights. And electron-microscopical examinations were also performed on femora.

The results are summarized as follows :

1. The body weights of the antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen-treated groups after five weeks of treatment, were 303.0 ± 3.0 g, 273.3 ± 4.4 g, 288.3 ± 5.1 g, 300.5 ± 5.2 g, 320.5 ± 4.2 g, respectively. They, except the red ginseng-treated group, were significantly higher than 278.4 ± 2.7 g of normal control group($P < 0.05$). And the body weight of non-treatment group was 294.2 ± 5.5 g which was higher than that of control group, too.
2. The weights of left femur after five weeks of treatment were showed 0.83 ± 0.2 g by antler, 0.89 ± 0.2 g by red ginseng, 0.87 ± 0.2 g by safflower, 0.83 ± 0.1 g by ipriflavone and 0.78 ± 0.1 g by estrogen-treated group. They were a little lower than 0.97 ± 0.1 g of

normal control group. Non-treatment group showed $0.83 \pm 0.1g$ which was lower than that of control group but not significant.

3. The weights of ashed left femora after five weeks of treatment were showed $0.36 \pm 0.01g$ by antler, $0.40 \pm 0.01g$ by red ginseng, $0.41 \pm 0.01g$ by safflower, $0.36 \pm 0.01g$ by ipriflavone and $0.35 \pm 0.01g$ by estrogen-treated group. Those results were significantly lower than $0.43 \pm 0.01g$ of normal control group. And non-treatment group showed $0.29 \pm 0.01g$ of femoral ash which was significantly lower than that showed by control group ($p < 0.05$).
4. The femoral Ca contents of the antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen-treated rats were $19.6 \pm 0.7\%$, $17.8 \pm 1.1\%$, $18.8 \pm 0.9\%$, $18.0 \pm 1.1\%$, $18.3 \pm 1.1\%$, respectively, after five weeks of treatment. The femoral Ca contents of antler and safflower-treated groups were higher than that of control group which showed $18.2 \pm 0.9\%$ of Ca. The non-treatment group, showing $15.3 \pm 0.7\%$, had significantly lower content of Ca than normal group ($p < 0.05$).
5. The weights of liver, spleen, and kidney in the osteoporosis-induced rats during the treatment with antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen showed not significant changes.
6. The connections among the trabeculae of control group were maintained well, showing no bone loss. However, the connections among the trabeculae of non-treatment group were thinner than those of control group and were almost disconnected and the lacunae were found to be broadened. Antler and safflower-treated group showed only slight changes. The recovery rates were prominent in antler, safflower, estrogen-treated groups. but they were insignificant in red ginseng and ipriflavone-treated groups.

Key words : Antler, Safflower, Body weight, Bone ash quantity, Histological changes

서 론

골다공증은 고양이나 Dachshund에서 선천적으로 발생하는 경우가 있으나¹⁾, 식이성, 노령성, 운동부족 등 비특이적인 원인에 의해 발생할 수 있다. 가축에서는 영양부족상태가 장기간 지속되면 골의 동화작용 감퇴로 인해서 골다공증이 발생하는 것으로 알려져 있으며, 어린 면양에서는 구리결핍에 의한 골아세포의 활동성 장애와 만성 납중독으로 인한 유골형성 장애로 골다공증이 발생된다^{2~4)}.

녹용(antler, *cervi parvum cornu*) 추출액의 효능은 성장촉진과 cholestrerol의 저하, 조절작용, 항체생산 촉진 및 세망내피계의 탐식능과 면역능 증가, 항 노화현상과 운동부족으로 인

한 골다공증을 개선시킨다고 보고되었으^{5~10)}, Kim 등¹¹⁾은 guinea pig에 dioxin을 투여했을 때 홍삼은 항노화작용, 면역증진 기능을 가지고 있어서 정자형성과 정소중량의 회복증세를 나타냈다고 하였으며, 김 등¹²⁾은 홍화씨에는 Ca과 회분함량이 높아 골질의 치유과정에서 골조직의 회복속도를 빠르게 하여 치유시간을 단축시키는 효과가 있다고 하였다.

골흡수에 관여하는 호르몬으로는 부갑상선 호르몬(PTH), calcitonin, 비타민 D 등이 있는데 PTH는 cAMP의 세포질 농도를 증가시켜 콜라겐의 합성을 감소시키고 alkaline phosphatase(ALP)의 활성을 저하시킨다. 골 형성에 관여하는 호르몬으로서는 calcitonin, 비타민 D, growth hormone 등이 있는데 이들은 골로부

터 Ca흡수를 방해하고 골 형성을 조장한다. 그러므로 골 대사에 불균형이 발생하면 Ca 부족 현상이 일어나는데 이 때 사료를 통한 장에서의 Ca흡수 또는 뼈로부터의 Ca의 흡수 및 신장에서의 재흡수에 의하여 조절된다¹³⁾. 임상적 골다공증의 치료는 골흡수억제제와 골형성제로 나누어지는데 전자의 경우는 estrogen, calcitonin, Ca, 비타민 D유도체 등이고, 후자의 경우는 sodium fluoride, parathyroid hormone (PTH) 등이나 FDA에서 공인받은 제제는 estrogen과 calcitonin 뿐이다. Estrogen은 여러 가지 부작용과 투여시기를 적절하게 조절하기가 어렵고 유방암, 자궁암, 간질환, 고혈압, 편두통 등을 가진 환자들은 금기시 되어있어 적용에 여러가지 어려운 점이 따른다. 골다공증의 위험인자로는 연령, 성별, 인종이나 유전적 요소, 활동부족, 여성호르몬 감성선 및 부갑상선 질환, 영양섭취의 불균형, 항경련제나 steroid제제의 장기복용, 흡연 및 알콜중독증 등을 들 수 있다.

이에, 본 연구는 난소를 적출하고 Ca, P 결핍사료를 급여하여 골다공증을 유발한 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone 및 estrogen을 각각 격일로 5주간 투여하면서 체중, 대퇴골, 장기중량, 골회분량 및 조직학적, 전자현미경적 관찰 등을 실시하였다.

재료 및 방법

공시동물

임상적으로 건강한 8주령의 sprague-dawley계 암컷 rat(170~190g) 180수(대한실험동물 센터)를 공시한 후 1주간 예비 사육하였으며, 실험동물사료(제일사료)와 수돗물을 자유급식케 하고 12시간의 명암주기를 교대로 유지하였다.

시험군의 배치

시험군은 대조군(Control), 배측피부를 절개한 후 양측 난소를 절제한 난소적출군(OG), 양측 난소를 제거한 후 녹용, 홍삼, 홍화, ip-

riflavone, estrogen을 투여한 군으로 각각 구분하였으며 골다공증을 유발하기 위하여 난소적출후 5주간은 주문 생산한 Ca, P결핍 사료를 급여하였다.

녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone의 조제

녹용은 엘크종 상대 녹용 60g에 10배의 70% ethanol을 가하고 80℃에서 3시간 2회 추출후 30분간 침전시킨후 상층액을 여과(0.45 μ m) 농축시켜 100ml가 되게 하였다. 홍삼(인삼연초연구소)과 홍화(고려한방)는 각각 60g을 70% ethanol 용액 600ml에 넣어 75℃에서 3시간 2회 추출후 30분간 방치하여 침전시킨 상층액을 여과 농축시켜 최종용량이 100ml가 되게 하였고, ipriflavone은 데오본(국제약품주식회사) 1정(200mg)을 10ml의 증류수에 녹인것을 stock solution으로 하여 시험에 이용하였다.

난소의 적출

난소의 적출은 Avertin(Aldrich Co., USA)용액 0.25ml를 10ml의 생리식염수에 희석하여 체중 1g당 0.01ml를 복강내 주사하여 마취시킨 후 배측의 정중하 1/3부위의 피부를 절개 후 지방조직에 둘러싸인 좌, 우 난소를 들어올린 다음 난소를 절제하고 지혈한 다음 봉합하였다.

녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone, estrogen의 투여

난소적출 5주후 녹용 추출물의 투여는 625 mg/kg, 홍삼과 홍화 추출물은 각 200mg/kg, ipriflavone은 80mg/kg을 5주간 격일로 경구투여용 주사침을 이용하여 투여하였으며, estrogen(Sigma, USA)은 40 μ g/kg을 격일로 근육내에 주사하였다.

체중, 장기, 대퇴골 중량, 회화대퇴골 중량 및 대퇴골 Ca량의 측정

1) 체중측정

체중측정은 난소적출 5주후 검액을 각각 투여하면서 1주일 간격으로 5주간 전자저울(Shimadzu, Japan)을 이용하여 측정하였다

2) 장기중량 측정

난소적출후 6~10주에 ether 마취후 간, 비장, 양측 신장 등을 적출하여 여과지 위에서 혈액과 채액 및 다른 조직을 제거한 후 전자저울(Shimadzu, Japan)을 이용하여 측정하였다.

3) 대퇴골중량, 회화중량 및 Ca량 측정

좌우 대퇴골을 채취하여 지방 및 주위조직을 분리한 후, 중량을 측정(Shimadzu, Japan)한 다음 좌측 대퇴골을 도가니에 담고 600°C의 회화로에서 6시간 회화시켜 30분간 방치한 후 회화중량을 측정하였다. 이어서 6N HCl을 0.5ml가하여 30분 방치 후 600°C에서 12시간 회화시킨 다음 농염산을 3ml가하여 완전히 녹인 후 멸균증류수를 가하여 100ml가 되게 하였고, 이것을 50배 희석하여 ICP-OES(Integra XL, GBS Scientific Equipment Pty. Ltd., Australia)로 Ca농도를 측정하였다.

조직학적, 전자현미경적 관찰

난소적출후 5주 및 10주째 각 처리군의 동물을 희생시키고 대퇴부의 골편을 절취하여 5% 질산(HNO₃)용액에서 2~3일간 탈회시킨 후 ethanol로 탈수하고 통상적인 방법에 따라 paraffin으로 포매하였다. 포매된 조직은 microtome으로 4~5 μ m로 절편을 만들고 hematoxylin-eosin염색을 한 후 광학현미경(Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

전자현미경적 관찰은 적출한 대퇴골을 0.1M cacodylate buffer(pH 7.3)로 희석한 2.5% glutaraldehyde(Merk, Germany) 용액으로 2시간동안 실온에서 고정한 후 동일완충액으로 완충된 1% osmium tetroxide(Merk, Germany) 용액으로 2시간동안 고정시켰다. 고정된 대퇴골은 50%, 60%, 70%, 90%, 95%의 alcohol을 이용하여 10분씩 1회, 100%의 alcohol을 이용하여 15분씩 3회 탈수한 후 HMDS(hexamethyldisilazane, Sigma Co., USA)로 15분씩 2회 치환하여 대기중에서 건조하고 알루미늄 표본대에 붙여 ion coater(IB-5, Eiko)로 20nm 두께의 gold coating을 시행한 후 주사전자현미경(Hitachi 100, Japan)으로 20kV의 가속전

압하에서 관찰하였다.

통계처리

실험결과에 대한 각 군간의 통계학적 유의성 검정은 GLM Procedure(SAS ver. 6.12, SAS Institute, 1996)를 이용하여 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

체중의 변화

녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 난소적출 rat에 각각 투여했을 때 체중의 변화는 Fig 1과 같다.

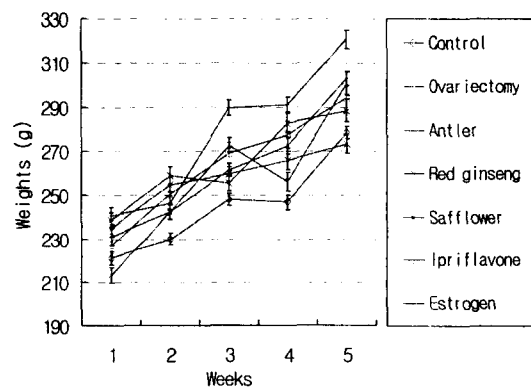


Fig 1. Effects of antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen on body weight in ovariectomized rats.

난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 5주 후의 체중은 각각 $303.0 \pm 3.0g$, $273.3 \pm 4.4g$, $288.3 \pm 5.1g$, $300.5 \pm 5.2g$, $320.5 \pm 4.2g$ 으로 홍삼 투여군을 제외하고는 정상대조군의 $278.4 \pm 2.7g$ 에 비하여 유의한 증가를 나타냈으며 홍삼 투여군도 1주부터 4주까지는 정상대조군에 비해 유의한 체중증가를 나타냈다($p < 0.05$). 한편, 난소적출 무처리군도 $294.2 \pm 5.5g$ 으로서 대조군에 비하여 높은치를 나타냈다.

본 실험의 결과는, 난소적출군은 초기에는

수술 stress에 의해 체중의 감소를 나타냈으나 2주후부터 유의한 체중의 증가를 나타냈다는 Tarttelin과 Gorski^{15,16)}, Bagi 등¹⁷⁾, Mueller와 Hsiao¹⁸⁾ 및 Li 등¹⁹⁾의 보고와 일치하였으며, Geiselman과 Almi²⁰⁾에 의하면 난소를 적출했을 때 체중과 음수량의 증가를 나타낸다고 하였다.

대퇴골중량의 변화

녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 난소적출 rat에 각각 투여했을 때 대퇴골중량의 변화는 Table 1과 같다.

난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 5주 후의 좌측 대퇴골중량은 각각 $0.83 \pm 0.2g$, $0.89 \pm 0.2g$, $0.87 \pm 0.2g$, $0.83 \pm 0.1g$, $0.78 \pm 0.1g$ 으로서 정상대조군의 $0.97 \pm 0.1g$ 에 비하여 약간 감소하였고, 난소적출 무처리군도 $0.83 \pm 0.1g$ 으로서 정상대조군에 비해 약간 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다.

Li 등¹⁹⁾과 Kinny 등²¹⁾은 비골의 골단, 골간단 및 골간은 시간이 경과함에 따라 골소실이 증가하며 난소적출후 5주부터 두드러지게 골소실이 일어난다고 하였으며, Wronski 등²²⁾은 난소절제후 14일부터 골량감소, 골생성 및 골흡수가 증가한다고 하였다.

골 회분량의 변화

난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과

ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 회화시킨 좌측 대퇴골의 중량 변화는 Fig. 2와 같다.

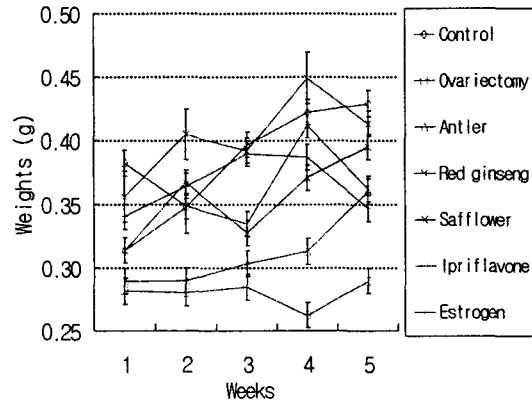


Fig 2. Effects of antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen on bone ash weights in ovariectomized rats.

녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 난소적출 rat에 각각 투여했을 때 5주 후의 좌측 대퇴골의 회화중량은 각각 $0.36 \pm 0.01g$, $0.40 \pm 0.01g$, $0.41 \pm 0.01g$, $0.36 \pm 0.01g$, $0.35 \pm 0.01g$ 으로서 정상대조군의 $0.43 \pm 0.01g$ 에 비하여 유의한 감소치를 나타냈으며 난소적출 무처리군은 $0.29 \pm 0.01g$ 으로 현저한 감소를 나타냈다($p < 0.05$).

이러한 회화 골중량의 유의한 감소는 난소적출후 estrogen의 감소와 밀접한 관련이 있으며, 적출 4주후 대퇴골의 7%의 골소실을 가져옴

Table 1. Effects of antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen on femur weight in ovariectomized rats

Experimental group	Femur weight(g, Mean \pm SD)									
	1		2		3		4		5	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
Control	0.67 \pm 0.1	0.69 \pm 0.1	0.80 \pm 0.2	0.80 \pm 0.1	0.86 \pm 0.1	0.88 \pm 0.1	0.94 \pm 0.3	0.94 \pm 0.1	0.97 \pm 0.3	0.97 \pm 0.1
Ovariectomy	0.69 \pm 0.1	0.67 \pm 0.1	0.72 \pm 0.2	0.73 \pm 0.1	0.73 \pm 0.1	0.75 \pm 0.2	0.79 \pm 0.1	0.78 \pm 0.1	0.83 \pm 0.2	0.83 \pm 0.1
Antler	0.72 \pm 0.2	0.71 \pm 0.2	0.70 \pm 0.1	0.70 \pm 0.1	0.67 \pm 0.1	0.68 \pm 0.1	0.69 \pm 0.1	0.70 \pm 0.2	0.81 \pm 0.2	0.83 \pm 0.2
Red ginseng	0.75 \pm 0.1	0.78 \pm 0.2	0.84 \pm 0.1	0.84 \pm 0.2	0.77 \pm 0.2	0.75 \pm 0.2	0.85 \pm 0.2	0.84 \pm 0.2	0.94 \pm 0.2	0.89 \pm 0.2
Safflower	0.79 \pm 0.1	0.77 \pm 0.2	0.82 \pm 0.1	0.83 \pm 0.1	0.82 \pm 0.1	0.82 \pm 0.2	0.90 \pm 0.2	0.92 \pm 0.2	0.85 \pm 0.2	0.87 \pm 0.2
Ipriflavone	0.80 \pm 0.2	0.79 \pm 0.2	0.81 \pm 0.1	0.81 \pm 0.1	0.77 \pm 0.1	0.77 \pm 0.1	0.94 \pm 0.1	0.95 \pm 0.2	0.84 \pm 0.2	0.83 \pm 0.1
Estrogen	0.83 \pm 0.1	0.84 \pm 0.1	0.84 \pm 0.2	0.84 \pm 0.2	0.85 \pm 0.1	0.85 \pm 0.1	0.86 \pm 0.2	0.86 \pm 0.2	0.80 \pm 0.2	0.78 \pm 0.1

로서 다른 부위에 비해 골소실이 뚜렷하다고 한 Ammann 등²³⁾ 및 Wronski 등²⁴⁾의 보고와 일치되는 결과였다. 또한, 시액 투여군은 난소적출 무처리군에 비해 유의성 있는 증가를 나타냈는데, 이러한 결과는 Yamazaki와 Yamaguchi²⁵⁾의 보고와도 일치하였다.

대퇴골중 Ca함량 변화

난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 대퇴골중 Ca함량의 변화는 Fig 3과 같다.

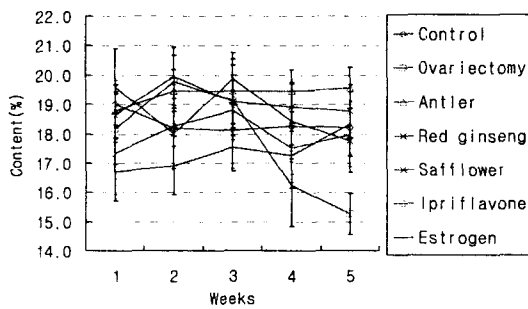


Fig 3. Effects of antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen on bone Ca contents in ovariectomized rats.

난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 5주 후의 대퇴골중 Ca함량은 각각 $19.6 \pm 0.7\%$, 17.8

$\pm 1.1\%$, $18.8 \pm 0.9\%$, $18.0 \pm 1.1\%$, $18.3 \pm 1.1\%$ 를 나타냈으며, 녹용과 홍화 투여군은 정상대조군의 $18.2 \pm 0.9\%$ 에 비해 높은 함량을 나타냈고 난소적출 무처리군은 $15.3 \pm 0.7\%$ 로 현저한 감소를 나타냈다($p < 0.05$).

장기중량의 변화

난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 장기중량의 변화는 Table 2, 3과 같다.

녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone, estrogen을 난소적출 rat에 각각 투여했을 때 5주 후의 간 및 비장의 중량은 각각 $13.6 \pm 0.6g$ 및 $0.97 \pm 0.2g$, $10.0 \pm 0.5g$ 및 $0.80 \pm 0.2g$, $10.3 \pm 0.4g$ 및 $0.60 \pm 0.1g$, $11.8 \pm 0.3g$ 및 $0.50 \pm 0.1g$, $12.1 \pm 0.3g$ 및 $0.54 \pm 0.1g$ 으로서 정상대조군의 $12.3 \pm 0.3g$ 및 $0.9 \pm 0.1g$ 에 비하여 증감된 결과를 나타냈으나 동일 시험군 내에서 각 주령에 따른 일관성은 관찰되지 않았다. 한편, 신장의 우측, 좌측의 중량은 $0.96 \pm 0.1g$ 및 $0.93 \pm 0.1g$, $1.11 \pm 0.1g$ 및 $1.02 \pm 0.1g$, $1.04 \pm 0.2g$ 및 $1.04 \pm 0.2g$, $1.03 \pm 0.2g$ 및 $1.02 \pm 0.2g$, $1.08 \pm 0.2g$ 및 $1.13 \pm 0.2g$ 으로서 정상대조군의 $1.21 \pm 0.3g$ 및 $1.25 \pm 0.3g$ 에 비해 감소된 결과를 나타냈으나 동일 시험군 내에서 주령에 따른 일관된 변화는 관찰되지 않았다.

Table 2. Effects of antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen on liver and spleen weight in ovariectomized rats

Experimental group	Liver and spleen weight(g, Mean \pm SD)									
	1		2		3		4		5	
	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S
Control	10.2 \pm 0.4	0.58 \pm 0.1	9.0 \pm 0.2	0.46 \pm 0.1	9.4 \pm 0.3	0.52 \pm 0.1	12.3 \pm 0.3	0.9 \pm 0.2	12.3 \pm 0.3	0.9 \pm 0.1
Ovariectomy	8.7 \pm 0.2	0.54 \pm 0.1	8.6 \pm 0.2	0.58 \pm 0.1	9.0 \pm 0.3	0.49 \pm 0.2	12.3 \pm 0.3	0.63 \pm 0.2	11.2 \pm 0.4	0.54 \pm 0.1
Antler	10.2 \pm 0.3	0.67 \pm 0.2	11.4 \pm 0.4	0.59 \pm 0.2	10.1 \pm 0.4	0.49 \pm 0.2	11.6 \pm 0.4	0.86 \pm 0.2	13.6 \pm 0.6	0.97 \pm 0.2
Red ginseng	10.5 \pm 0.2	0.53 \pm 0.1	10.6 \pm 0.5	0.40 \pm 0.2	11.5 \pm 0.4	0.51 \pm 0.1	12.1 \pm 0.3	0.59 \pm 0.1	10.0 \pm 0.5	0.80 \pm 0.2
Safflower	10.9 \pm 0.4	0.51 \pm 0.1	8.6 \pm 0.4	0.67 \pm 0.2	11.2 \pm 0.5	0.59 \pm 0.2	10.6 \pm 0.4	0.79 \pm 0.1	10.3 \pm 0.4	0.60 \pm 0.1
Ipriflavone	8.5 \pm 0.2	0.48 \pm 0.1	9.1 \pm 0.3	0.55 \pm 0.1	11.2 \pm 0.4	0.58 \pm 0.2	11.0 \pm 0.3	0.63 \pm 0.2	11.8 \pm 0.3	0.50 \pm 0.1
Estrogen	8.8 \pm 0.2	0.41 \pm 0.2	7.8 \pm 0.2	0.53 \pm 0.2	11.6 \pm 0.4	0.59 \pm 0.2	11.1 \pm 0.3	0.68 \pm 0.2	12.1 \pm 0.3	0.54 \pm 0.1

L : Liver, S : Spleen

Table 3. Effects of antler, red ginseng, safflower, ipriflavone and estrogen on kidney weight in ovariectomized rats

Experimental group	Kidney weight(g, Mean \pm SD)									
	1		2		3		4		5	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
Control	0.90 \pm 0.2	1.00 \pm 0.2	0.84 \pm 0.2	0.81 \pm 0.2	1.31 \pm 0.4	1.27 \pm 0.3	1.07 \pm 0.2	1.01 \pm 0.3	1.21 \pm 0.3	1.25 \pm 0.3
Ovariectomy	0.84 \pm 0.2	0.91 \pm 0.2	1.02 \pm 0.2	1.04 \pm 0.2	0.87 \pm 0.1	0.92 \pm 0.1	0.97 \pm 0.2	1.06 \pm 0.2	1.03 \pm 0.2	0.92 \pm 0.1
Antler	0.92 \pm 0.2	0.93 \pm 0.2	0.99 \pm 0.2	0.96 \pm 0.2	0.99 \pm 0.2	0.94 \pm 0.2	0.96 \pm 0.2	1.09 \pm 0.3	0.96 \pm 0.1	0.93 \pm 0.1
Red ginseng	0.90 \pm 0.2	1.00 \pm 0.2	1.13 \pm 0.2	1.04 \pm 0.2	0.95 \pm 0.2	0.99 \pm 0.2	1.13 \pm 0.2	1.04 \pm 0.3	1.11 \pm 0.1	1.02 \pm 0.1
Safflower	0.88 \pm 0.2	0.90 \pm 0.2	1.01 \pm 0.3	0.99 \pm 0.2	0.87 \pm 0.2	0.88 \pm 0.2	1.24 \pm 0.3	1.28 \pm 0.2	1.04 \pm 0.2	1.04 \pm 0.2
Ipriflavone	0.88 \pm 0.2	0.88 \pm 0.2	0.98 \pm 0.1	0.93 \pm 0.2	1.10 \pm 0.2	1.08 \pm 0.2	1.09 \pm 0.2	1.08 \pm 0.2	1.03 \pm 0.2	1.02 \pm 0.2
Estrogen	0.92 \pm 0.2	0.96 \pm 0.2	0.88 \pm 0.1	0.85 \pm 0.2	1.11 \pm 0.1	1.09 \pm 0.2	1.20 \pm 0.2	0.97 \pm 0.1	1.08 \pm 0.2	1.13 \pm 0.2

L : Left, R : Right

Table 4. Electron microscopical findings on femur bone administrated with antler-extract in ovariectomized rats

Treatment	Electron microscopical findings	
	No of lacunae	Changes of trabeculae
Control	16	Not detectable
OG	26	Mostly broken &, loss
Antler	18	Slight
Safflower	19	Slight

난소적출 rat에 한방제를 투여한 후 장기 무게의 변화를 측정 한 보고서를 접할 수 없어 실험결과를 비교할 수는 없었으나, 한의학에서는 신장은 골을 주관하고 생수(生髓)한다고 하며 골은 신기능과 밀접한 관계에 있어^{10,26)} 현대의학적으로 치료와 예방에 곤란을 겪고 있는 골다공증을 치료하기 위해 보간신(補肝腎)의 작용이 있는 생약제를 이용하고 있는 실정이다.

조직학적 변화

녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone 추출물과 estrogen이 난소적출 rat에 미치는 영향을 구명하기 위하여 조직검사를 한 결과 정상대조군에서는 소주골간의 연결이 비교적 잘 유지되어 있고 골소실을 발견할 수 없었으나 난소적출군은

정상대조군에 비하여 소주골이 가늘어졌거나 소주골간 연결부분의 대다수가 끊어져 골양이 많이 소실되었음이 관찰되었으나, 녹용, 홍화, ipriflavone 처리군에서는 소주골의 형태가 굵고 연결부분이 잘 유지되어 정상대조군과 유사한 소견이 관찰되었다(Fig 4). 전자현미경적 소견은 정상대조군에서는 골소강 수가 16개, 난소적출군에서는 골소강의 수가 26개로 대조군에 비해 현저하게 증가하였으며, 녹용추출물군의 경우 골소강의 수는 18개로 대조군에 비해 거의 유사하였고 난소적출군에 비해서는 현저하게 감소된 결과를 나타냈다 (Table 4).

골소실정도를 측정하기 위한 방법으로는 조직학적, 전자현미경적 검사법과 골밀도측정법이 있는데 이중 조직학적 검사법은 골조직을 현미경하에서 소주골의 형태, 소실정도외에 석

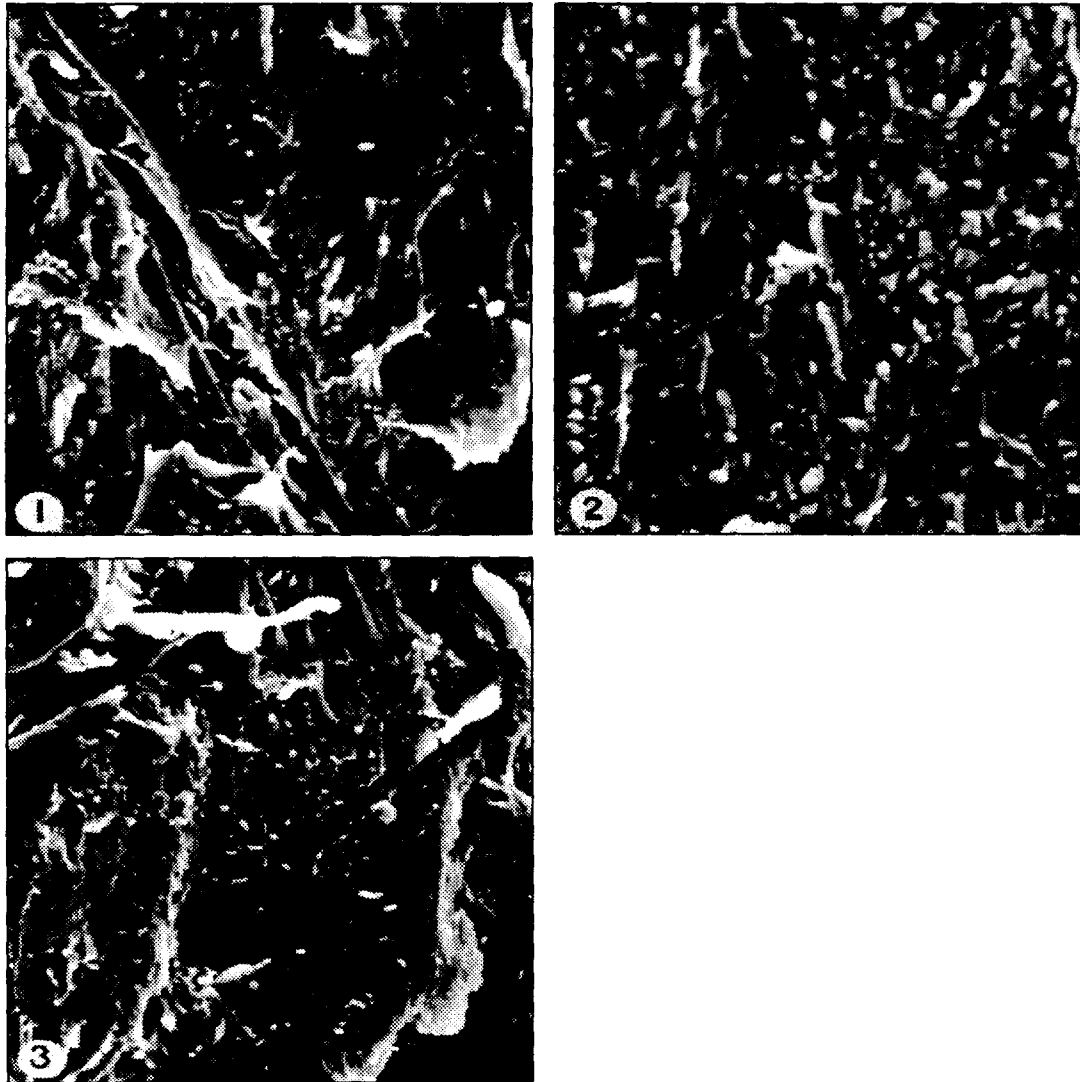


Fig 4. Electronic microscopical findings of the transverse section of femur(SEM, 60um, x 500). ① Normal group, ② osteoporosis-induced group, ③ antler-treated group.

회화 속도와 골형성을 등을 파악하여 골다공증을 판정하고, 골밀도측정은 골밀도계를 이용하여 골의 밀도를 측정하여 판정하는데 이용되고 있다²⁷⁾. 본 시험결과 난소적출군은 정상대조군에 비해 소주골의 굵기와 연결부분의 대다수가 끊어져 골소실이 많음을 확인할 수 있었고, 녹용 및 홍화 처리군은 소주골의 형태와 연결부분이 정상군과 유사하여 녹용추출물의 투여가 골다공증을 예방 또는 치료에 효과

가 있음을 확인할 수 있었다. 난소적출에 의한 estrogen의 결핍은 골개축의 증가를 일으키며 이때는 흡수되는 량보다 형성되는 골량이 뒤따르지 못하여 골소실이 일어나는 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 양측 난소를 적출하고 Ca, P 결핍

사료를 5주간 급여 후 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 각각 적일로 5주간 투여하면서 체중, 대퇴골의 중량, 골회분량, 장기중량의 측정 및 조직학적 검사 등을 수행하였다.

1. 난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 5주 후의 체중은 각각 $303.0 \pm 3.0g$, $273.3 \pm 4.4g$, $288.3 \pm 5.1g$, $300.5 \pm 5.2g$, $320.5 \pm 4.2g$ 으로 홍삼 투여군을 제외하고는 정상대조군의 $278.4 \pm 2.7g$ 에 비하여 유의한 증가를 나타냈으며 홍삼 투여군도 1주부터 4주까지는 정상대조군에 비해 유의한 체중증가를 나타냈다($p < 0.05$). 한편, 난소적출 무처리군도 $294.2 \pm 5.5g$ 으로서 대조군에 비하여 높은치를 나타냈다.
2. 난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 5주 후의 좌측 대퇴골중량은 각각 $0.83 \pm 0.2g$, $0.89 \pm 0.2g$, $0.87 \pm 0.2g$, $0.83 \pm 0.1g$, $0.78 \pm 0.1g$ 으로서 정상대조군의 $0.97 \pm 0.1g$ 에 비하여 약간 감소하였고, 난소적출 무처리군도 $0.83 \pm 0.1g$ 으로서 정상대조군에 비해 약간 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다.
3. 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 난소적출 rat에 각각 투여했을 때 5주 후의 좌측 대퇴골의 회화중량은 각각 $0.36 \pm 0.01g$, $0.40 \pm 0.01g$, $0.41 \pm 0.01g$, $0.36 \pm 0.01g$, $0.35 \pm 0.01g$ 으로서 정상대조군의 $0.43 \pm 0.01g$ 에 비하여 유의한 감소치를 나타냈으며 난소적출 무처리군은 $0.29 \pm 0.01g$ 으로 현저한 감소를 나타냈다($p < 0.05$).
4. 난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 5주 후의 대퇴골중 Ca함량은 각각 $19.6 \pm 0.7\%$, $17.8 \pm 1.1\%$, $18.8 \pm 0.9\%$, $18.0 \pm 1.1\%$, $18.3 \pm 1.1\%$ 를 나타냈으며, 녹용과 홍화 투여군은 정상대조군의 $18.2 \pm 0.9\%$ 에 비해 높은 함량을 나타냈고 난소적출 무처리군

은 $15.3 \pm 0.7\%$ 로 현저한 감소를 나타냈다($p < 0.05$).

5. 난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때 간, 비장 및 신장의 중량변화는 정상대조군에 비해 증감하는 경향을 보였으나 유의한 변화는 관찰되지 않았다.
6. 난소적출 rat에 녹용, 홍삼, 홍화 추출물과 ipriflavone, estrogen을 각각 투여했을 때, 전자현미경적 소견은 정상대조군에서는 소주골간의 연결이 잘 유지되어 있고 골소실을 발견할 수 없었으나 난소적출군은 정상군에 비하여 소주골이 가늘어졌거나 소주골간 연결부분의 대다수가 끊어져 많은 골소실이 관찰되었다. 녹용, 홍삼, 홍화, ipriflavone, estrogen은 모두 회복되는 결과를 나타냈으며, 회복정도는 녹용, 홍화, estrogen에서 현저하였고 홍삼, ipriflavone은 미미하였다.

참고문헌

1. Ettinger SJ, Feldman EC. 1995. *Congenital defects of the dog ; In Textbook of veterinary internal medicine*, 4th ed. W.B. Saunders. Philadelphia : 2115~2129.
2. Bemben DA. 1999. Exercise interventions for osteoporosis prevention in post menopausal women. *J Okla State Med Assoc* 92(2) : 66~70.
3. Hauselmann HJ, Kramer E, Michel BA. 1998. Physical therapy in prevention and treatment of osteoporosis. *Ther Umsch* 55(11) : 724~730.
4. Brunelli MP, Einhorn TA. 1998. Medical management of osteoporosis : fracture prevention. *Clin Orthop Rel Res* 348 : 15~21.
5. Suttie JM, Gluckman PD, Butler JH, et al. 1985. Insulin-like growth factor-I(IGF-I) antler-stimulating hormone. *Endo-*

- crinology* 116(2) : 846~848.
6. Hattori M, Yang XW, Kaneko S, et al. 1989. Constituents of the pilose antler of *Cervus Nippon var manchuricus*. *J Biopharm Japan* 43(2) : 173~176.
 7. Elliott JL, Oldharm JM, Ambler GR, et al. 1992. Presence of insulin-like growth factor-I receptors and absence of growth hormone receptors in the antler tip. *Endocrinology* 130(5) : 2513~2520.
 8. Zhang ZQ, Zhang Y, Wang BX, et al. 1992. Purification and partial characterization of anti-inflammatory peptide from pilose antler of *Cervus Nippon Temcomminck*. *J Pharm Japan* 27 : 321~324.
 9. 김영은, 이승기, 유희자. 1976. 녹용의 약효 성분에 관한 연구(II); 녹용의 acid mucopolysaccharide 성분에 관하여. *한국생화학회지* 9(3) : 153~164.
 10. 서부일. 1998. 녹각이 rat의 난소적출로 유발한 골다공증에 미치는 영향. *경희 대학교 대학원 박사학위논문* : 17~20.
 11. Kim WJ, Hwang SY, Lee HL, et al. 1999. Panax ginseng protects the testis against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced testicular damage in guinea pig. *BJU International* : 842~849.
 12. 김준환, 전선민, 안미영 등. 1998. 토종 홍화씨의 급여가 실험동물의 늑골골 회복중 골조직에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 4 : 698~702.
 13. Notelovitz M. 1983. Osteoporosis ; screening, prevention and amnagement. *Fert. and Steril* 59(4) : 707~722.
 14. 김상우, 권오석, 이장형 등. 1996. 사슴뿔 성장의 인공조작 기술 개발연구. *축산시험장 연구보고서* 1 : 39~43.
 15. Tarttelin MF, Gorski RA. 1971. Variations in food and water intake in the normal and acyclic female rat. *Physiol Behav* 7(6) : 847~852.
 16. Tarttelin MF, Gorski RA. 1973. The effects of ovarian steroids on food and water intake and body weight in the female rat. *Acta Endocrinologica* 72 : 551~568.
 17. Bagi CM, Ammann P, Rizzoli R, et al. 1997. Effect of estrogen deficiency on cancellous and cortical bone structure and strength of the femoral neck in rats. *Calcif Tissue Int* 61 : 336~344.
 18. Mueller K, Hsiao S. 1980. Estrus and ovariectomy-induced body weight changes : evidence for two estrogenic mechanisms. *J Comp Physiol Psychol* 94(6) : 1126~1134.
 19. Li M, Shen Y, Wronski TJ. 1997. Time course of femoral neck osteopenia in ovariectomized rats. *Bone* 20 : 55~61.
 20. Geiselman PJ, Alml CR. 1978. Effects of septal damage and ovariectomy on feeding, drinking and body weight. *Brain Res Bull* 3 : 457~466.
 21. Kinney JH, Lane NE, Haupt DL. 1995. In vivo, three-dimensional microscopy of trabecular bone. *J Bone Miner Res* 10(2) : 264~270.
 22. Wronski TJ, Cintron M, Doherty AL, et al. 1988. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinol* 132(2) : 681~686.
 23. Ammann P, Rizzoli R, Slosman D, et al. 1992. Sequential and precise *in vivo* measurement of bone mineral density in rats using-energy X-ray absorptionmetry. *J Bone Miner Res* 7(3) : 311~316.
 24. Wronski TJ, Dann LM, Scott KS, et al. 1989. Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. *Calcif Tissue Int* 45 : 360~366.
 25. Yamazaki I, Yamaguchi H. 1989.

- Chracteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. *J Bone Miner Res* 4(1) : 13~23.
26. 김미려. 1996. 녹용의 물추출액이 난소를 절제한 rat의 골밀도 및 혈청중 여성 hormone 함량변화에 미치는 영향. 효성여대대학원 박사학위논문 : 52~58.
27. Luis CJ, Jose C, John AL. 1986. *Basic Histology*. 5th ed. Prentice-Hall International Inc. Philadelphia : 305~311.