

國產紅花子 및 國產紅花子와 estradiol 병용투여가 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향

김종헌, 김미려, 변부형, 박지하, 김종대, 이은숙, 서부일*

Abstract

Effect of Korean Carthami Semen and Estradiol-Carthami Semen On Osteoporosis In Ovariectomized Rats

Jong-Hun Kim, Bu-Il Seo, Mi-Ryo Kim, Bu-Hyung Byun, Ji-Ha Park, Jong-Dae Kim, Eun-Sook Lee
College of Oriental Medicine, Kyungsan University

Objective: The present study has been undertaken to investigate the effects of Korean Carthami Semen and Estradiol-Carthami Semen co-treatment on osteoporosis in ovariectomized rats.

Method: In this experiment, the rats were ovariectomized. Rats were administered 3 kinds of medicine, Korean Carthami Semen, Estradiol, and Estradiol-Carthami Semen, which were taken orally. The levels of bone mineral density, osteocalcin, estradiol, ALP, phosphorus, calcium in serum, deoxypyridinoline in urine, calcium, phosphorus, ash weight of bone, body weight and uterus weight were measured.

Results: These experimental results, it appears that the only Carthami Semen have more less efficacy on osteoporosis but E₂-Carthami Semen co-treated group showed more effective on osteoporosis.

Conclusions: Further west-east medicine combination study should be conducted to illustrate in depth the curing osteoporosis.

* 경산대학교 한의과대학

I. 緒 論

최근 평균수명의 연장으로 인구가 고령화 되고, 육체적 운동량의 감소로 인하여 골다공증 이환률이 높아지고 있는데¹⁾, 骨多孔症은 骨基質(bone matrix)의 감소로 인하여 骨質量(bone mass)의 전반적인 減少를 일으키는 疾患으로 骨代謝性 疾患中에서 가장 흔하게 볼 수 있다²⁾.

韓醫學의 歷代 文獻에서 骨多孔症에 대한 직접적인 言及은 없으나, 臨床樣相으로 보아 骨痿, 骨痺 등의 範疇에 속한다고 볼 수 있으며^{3,4)}, 현재 임상에서는 腎虛, 腎陰虛, 腎陽虛, 肝腎虧虛, 脾腎陽虛, 氣滯血瘀, 氣血兩虛 등으로 辨證分類하여 치료하고 있다^{5,6)}.

紅花子は 圖經本草에 처음으로 수재되어 있으며⁷⁾, 국화과에 속하는 잇꽃(*Carthamus tinctorius* L.)의 성숙한 과실을 건조한 것⁷⁾이다. 紅花子の 性味는 辛微苦溫하고 活血行瘀, 消腫散結, 解痘毒, 解毒하는 효능을 지니고 있어 현재 임상에서는 經痛, 經閉, 產後瘀阻腹痛, 癥瘕, 損傷瘀腫, 瘡癰癤腫, 瘡毒不出, 痘出不快, 婦女血氣瘀滯腹痛 등의 증상에 사용되고 있다^{7,8)}.

현재 紅花子は 민간요법에서도 골다공증에 효과가 있다고 알려지고 있어 과연 골다공증에 韓國産 紅花子が 어떠한 효능을 지니고 있는지를 살펴보기 위하여 본 연구에 들어가게 되었으며, 또한 洋方에서 骨多孔症治療劑로 활용되고 있는 estradiol과의 併用 投與效果和 estradiol 및 紅花子 單獨 投與의 효과와 비교함으로써 韓洋方 結合治療의 가능성을 제시하고, estradiol의 投與로 인한 副作用을 줄일 수 있는 방법을 찾고자 하였다.

그래서 論者는 骨多孔症에 미치는 홍화자, estradiol 및 紅花子와 estradiol의 併用投與의 효과를 관찰하기 위하여 Salville 등^{9,10)}에 따라 흰쥐의 卵巢摘出로 骨多孔症을 人爲的으

로 誘導하였으며, 卵巢를 切除하여 誘發된 骨多孔症 白鼠에 대하여 骨密度, 血清中 osteocalcin, estradiol, ALP, phosphorus, calcium의 含量, 尿中 deoxypyridinoline의 含量, 骨의 灰分 무게 및 無機成分의 含量, 體重 變化, 子宮 무게를 測定比較하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 藥 材

本 實驗에 使用한 紅花子は 慶北 義城 지역에서 생산된 紅花子를 精選하여 使用하였으며, Estrogen 주사액은 17 β -estradiol(이하 E2 :Sigma. U.S.A.)을 구입하여 이용하였다.

2) 動 物

건강한 Sprague-Dawley系 雌性 흰쥐를 固形飼料(삼양사)로 飼育하다가 240g 以上이 되었을 때 手術하였다.

2. 方 法

1) 檢液의 調製

홍화자는 7.5g에 10배량의 증류수를 가하고 냉각관을 장치하여 직화상에서 4시간 동안 가열, 추출, 여과한 후 60cc로 감압농축하여 홍화자 물추출액을 얻었다.

Estrogen 주사액은 17 β -estradiol(이하 E2 :Sigma Chemical Co. USA.)을 5% benzylalchol 과 95% corn oil(Duksan, Korea)에 녹여 조제하였다¹¹⁾.

2) 骨多孔症의 誘發

手術은 卵巢를 切除하지 않고 단지 등쪽의

皮膚만 切開하여 開腹한 群(sham-operation, 이하 sham群), 등쪽의 皮膚를 切開하여 양쪽의 卵巢를 切除한 群(ovariectomized group, 이하 OVX群)으로 나누어 penobarbital sodium(entobal, 한림製藥)으로 麻醉(50mg/kg/BW, IP.)한 다음 實施하였으며 모든 쥐는 手術한 直後부터 精製水를 食水로 供給하였다.

3) 檢液의 投與

Sham 手術과 卵巢切除術을 行하고 난 다음날부터 OVX群을 3群으로 나누어 紅花子投與群에는 紅花子 물추출액을 매일 體重 100g當 1cc(體重 100g當 紅花子 0.125g)씩 1日 1回 4週間 經口 投與하였고, E₂ 투여군(OVX/E₂)에는 조제한 주사액을 매일 體重 100g當 0.05cc씩(體重 100g當 E₂ 0.001mg) 1日 1回 4週間 皮下注射하였으며¹²⁾, E₂와 紅花子 併用投與群에는 紅花子물추출액은 매일 體重 100g當 1cc씩(體重 100g當 紅花子 0.125g) 1日 1回 4週間 經口 投與하였고 E₂ 주사액은 매일 體重 100g當 0.025cc씩(體重 100g當 E₂ 0.0005mg) 1日 1回 4週間 皮下注射하였다. Sham群과 對照群(이하 OVX群)에는 0.9% 生理食鹽水를 매일 同量씩 4週間 經口 投與하였으며 各 群은 7마리씩 配定하였다.

4) 觀察 및 檢査項目

(1) 骨密度 測定

手術 直前과 卵巢摘出 後 4週 되는 날 脊椎, 오른쪽 大腿骨 및 脛骨의 骨密度(bone mineral density, 이하 BMD)를 small animal total body option을 가지고 있는 dual energy x-ray absorptiometry(이하 DEXA: LunarR DPX-L, U.S.A.)를 利用하여 測定하였다.

(2) 血清成分의 變化

① 採血 및 血清分離

摘出した 後 4週 되는 날 전날부터 24時間 絶食시킨 흰쥐를 斷頭하여 血液을 採取하고 室溫에서 30分 放置한 후 3,000rpm에서 15분 간 遠心分離하여 血清을 分離하였다.

② 血清中 osteocalcin 測定

血清中 osteocalcin 含量은 osteocalcin RIA kit (Nichols Institute Diagnostics, U.S.A.)를 使用하여 Radioimmunoassay(RIA)法¹³⁾에 의하여 測定하였다.

③ 血清中 estradiol 測定

Cota-A-Count estradiol RIA kit (DPC, U.S.A.)를 使用하여 방사면역측정법(RIA)에 따라 측정하여 血清中 estradiol(이하 E₂) 含量을 測定하였다.

④ 血清中 alkaline phosphatase(ALP) 測定
血清中 alkaline phosphatase의 活性度 測定은 Kind-King법¹⁴⁾에 따라 ALP 測定用試液(아산제약, 韓國)을 使用하여 血清中 ALP 含量을 測定하였다.

⑤ 血清中 phosphorus 測定

Inorganic phosphorus의 含量은 比色法¹⁵⁾(spectrophotometric method)에 따라 phosphorus 測定用 試藥(아산제약, 韓國)을 使用하여 測定하였다. 分析에 쓰인 모든 硝子器具는 汚染을 막기 위해 數時間 3N HCl에 담근 후 使用하였다.

⑥ 血清中 calcium 測定

Calcium은 Unicam 929 Atomic Absorption Spectrometer(PYE UNICAM, England)를 使用하여 定量하였으며 測定條件은 다음과 같다.

Light source	HCl
Wave length	422.7nm
Flame type	N ₂ O/acetylene.
Fuel flow	4.2 l/min

(3) 尿中 deoxypyridinoline 測定¹⁶⁾

摘出後 4週 되는 前日 물은 자유롭게攝取하게 하면서 1마리씩 흰쥐 代謝 cage에 넣고 24時間 동안 採尿하고 遠心分離하여 尿량을 잰 다음, 尿中 deoxypyridinoline 測定을 하였다. 측정을 위한 試藥으로는 Gamma-BCT DPD RIA(Immuno diagnostic systems, U.S.A.)를 사용하였고 機器는 Gamma-counter(Packard, Auto gamma 5550, U.S.A.)을 利用하였다.

(4) 骨의 灰分(ash) 무게 및 無機成分 測定

摘出後 4週 되는 날 動物을 희생시키고 오른쪽 大腿骨을 절취하였다. 脂肪 및 周圍組織을 깨끗이 除去하고 항량으로 만든 도가니에 각각 담고 6N-HCl을 數滴 가하면서 60°C 灰化爐에서 24時間 동안 완전히 灰化시킨 다음 30분 정도 放冷한 후 ash 무게를 測定하였다¹⁷⁾. Ash에 3N-HCl을 加하고 잘 녹인 다음 蒸溜水로 稀釋하여 大腿骨의 calcium 含量과 inorganic phosphorus 含量을 血清과 同一한 方法¹⁵⁾으로 測定하였다.

(6) 體重 變化 測定

手術 前日과 4週 되는 날 絶食 前 體重을 달고 그 變化를 觀察하였다.

(7) 子宮 무게 測定

手術 後 4週 되는 날 動物을 희생시키고 子宮을 摘出하여 群間의 子宮 무게를 比較하였다.

3. 統計處理

各 群間의 實驗 結果 分析은 Student's

t-test를 하여 有意性(P<0.05)을 檢證하였다.

Ⅲ. 實驗成績

1. 骨密度에 미치는 影響

- 1) 脊椎骨密度에 미치는 影響 (Table I).
- 2) 大腿骨密度에 미치는 影響 (Table II).
- 3) 腓骨脛骨密度에 미치는 影響 (Table III).

2. 血清成分에 미치는 影響

- 1) 血清中 osteocalcin 含量에 미치는 影響 (Table IV).
- 2) 血清中 estradiol 含量에 미치는 影響 (Table V).
- 3) 血清中 alkaline phosphatase(ALP) 活性度에 미치는 影響 (Table VI).
- 4) 血清中 無機成分 含量에 미치는 影響 (Table VII).

3. 尿中の 成分變化에 미치는 影響

- 1) 尿中 deoxypyridinoline 含量에 미치는 影響 (Table VIII).

4. 骨의 無機成分變化에 미치는 영향

- 1) 骨의 calcium 含量에 미치는 影響 (Table IX).
- 2) 骨의 phosphorus 含量에 미치는 影響 (Table X).
- 3) 骨의 灰分(ash) 무게에 미치는 影響 (Table XI).

5. 體重 變化에 미치는 影響 (Table) .

6. 子宮 무게 變化에 미치는 影響 (Table X III).

Table I. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Spinal Bone Mineral Density(BMD) in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Spinal BMD(g/cm ²)		
	0 week	4 week	% of baseline ^{a)}
Sham	0.252 ± 0.005	0.266 ± 0.004	105.94 ± 2.29 ^{#)}
OVX	0.259 ± 0.005	0.257 ± 0.007	98.89 ± 1.14 ⁺
CS	0.258 ± 0.006	0.258 ± 0.001	99.26 ± 1.35
E ₂	0.264 ± 0.003	0.268 ± 0.004	101.34 ± 1.33
E ₂ +CS	0.265 ± 0.003	0.271 ± 0.006	102.38 ± 1.36

+P<0.05: Significantly different from sham group.

a : Percentage of 4 weeks to that of baseline(0 week).

Table II. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Femoral Bone Mineral Density(BMD) in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Femoral BMD(g/cm ²)		
	0 week	4 week	% of baseline ^{a)}
Sham	0.304 ± 0.006	0.325 ± 0.007	107.58 ± 2.48 ^{#)}
OVX	0.316 ± 0.011	0.310 ± 0.007	98.22 ± 2.48 ⁺
CS	0.309 ± 0.004	0.311 ± 0.002	100.12 ± 1.01
E ₂	0.314 ± 0.006	0.332 ± 0.007	105.76 ± 3.14
E ₂ +CS	0.323 ± 0.006	0.325 ± 0.008	100.58 ± 1.11

+P<0.05: Significantly different from sham group.

a : Percentage of 4 weeks to that of baseline(0 week).

Table III. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Peroneotibial Bone Mineral Density(BMD) in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Peroneotibial BMD(g/cm ²)		
	0 week	4 week	% of baseline ^{a)}
Sham	0.254 ± 0.005	0.275 ± 0.006	109.30 ± 2.46
OVX	0.263 ± 0.004	0.259 ± 0.007	98.16 ± 1.99 ⁺⁺⁾
CS	0.271 ± 0.004	0.260 ± 0.004	96.06 ± 1.40
E ₂	0.268 ± 0.006	0.276 ± 0.006	103.18 ± 3.20
E ₂ +CS	0.273 ± 0.007	0.282 ± 0.004	103.55 ± 1.19 [*]

++P<0.01: Significantly different from sham group.

#) Mean ± standard Error of 7 rats

CS : Water extract of Carthami Semen.

E₂ : Injecting solutin of E₂

E₂+CS: Water extract of Carthami Semen and Injecting solutin of E₂

*P<0.05: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

a : Percentage of 4 weeks to that of baseline(0 week).

Table IV. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Serum Osteocalcin Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Osteocalcin Concentration (ng/ml)
Sham	4.25 ± 0.16 ^{#)}
OVX	6.67 ± 0.61 ⁺⁺
CS	6.04 ± 0.61
E ₂	4.33 ± 0.41 ^{**}
E ₂ +CS	3.76 ± 0.27 ^{***}

++P<0.01: Significantly different from sham group.

**P<0.01: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

***P<0.001: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

Table V. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Serum Estradiol Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Estradiol Concentration (pg/ml)
Sham	41.58 ± 8.69 ^{#)}
OVX	4.16 ± 2.28 ⁺⁺⁺
CS	18.93 ± 3.57 ^{**}
E ₂	32.64 ± 7.39 ^{**}
E ₂ +CS	28.88 ± 8.50 [*]

+++P<0.001: Significantly different from sham group.

**P<0.01: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

*P<0.05: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

Table VI. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Serum Alkaline Phosphatase Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	ALP Activity(K-A unit) -4 week-
Sham	16.58 ± 0.79 ^{#)}
OVX	21.45 ± 3.38
CS	19.96 ± 1.15
E ₂	10.42 ± 1.09 ^{**}
E ₂ +CS	14.61 ± 2.34

**P<0.01: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

Table VII. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Serum Calcium and Serum Phosphorus Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Serum (mg / dl)	
	Calcium	Phosphorus
Sham	23.62 ± 1.53 ^{#j}	6.45 ± 0.51 ^{#j}
OVX	22.69 ± 0.57	6.91 ± 0.30
CS	49.69 ± 3.23 ^{***}	3.48 ± 1.34 [*]
E ₂	45.99 ± 4.96 ^{***}	4.26 ± 1.78
E ₂ +CS	55.93 ± 6.98 ^{**}	5.80 ± 0.41 [*]

*P<0.05: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

**P<0.01: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

***P<0.001: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

Table VIII. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Urine Deoxypyridinoline Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Deoxypyridinoline Concentration (nM DPD/mM creatinine) ^{a)}
Sham	67.31 ± 12.85 ^{#j}
OVX	115.77 ± 19.95
CS	109.71 ± 13.94
E ₂	44.48 ± 5.47 ^{**}
E ₂ +CS	50.88 ± 5.78 ^{**}

*P<0.05: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

**P<0.01: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

a : Results obtained for DPD be corrected for variations in urine concentration by dividing the DPD value (nM) by the creatinine value(mM).

Table IX. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Bone Calcium Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Bone Calcium (mg)	
	Femur	Tibia and Fibula
Sham	92.84 ± 7.90 ^{#j}	77.06 ± 8.73 ^{#j}
OVX	55.87 ± 9.78 ⁺	37.81 ± 9.37 ⁺⁺
CS	197.16 ± 7.62 ^{***}	148.76 ± 4.04 ^{***}
E ₂	184.06 ± 10.04 ^{***}	153.88 ± 7.02 ^{***}
E ₂ +CS	180.26 ± 4.12 ^{***}	166.06 ± 6.15 ^{***}

+P<0.05: Significantly different from sham group.

++P<0.01: Significantly different from sham group.

***P<0.001: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

Table X. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Bone Phosphorus Levels in Ovariectomized Rats.

Experimental Group	Bone Phosphorus (mg)	
	Femur	Tibia and Fibula
Sham	52.00 ± 1.86 ^{#j}	45.75 ± 1.51
OVX	46.31 ± 1.24 ⁺	41.06 ± 2.81
CS	47.00 ± 3.63	37.63 ± 2.49
E ₂	51.32 ± 2.48	42.75 ± 1.99
E ₂ +CS	50.38 ± 0.76 [*]	47.00 ± 1.88

+P<0.05: Significantly different from sham group.

*P<0.05: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

Table XI. Effect of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Ash Weight in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Ash Weight (g)	
	Femur	Tibia and Fibula
Sham	0.38 ± 0.03 ^{#j}	0.31 ± 0.02 ^{#j}
OVX	0.35 ± 0.02	0.25 ± 0.03
CS	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.02 ^{**}
E ₂	0.40 ± 0.03	0.3 ± 0.02
E ₂ +CS	0.42 ± 0.02 [*]	0.35 ± 0.02 [*]

*P<0.05: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

**P<0.01: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

Table XII. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Body Weight in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Body Weight(g)		
	0 week	4 weeks	% of baseline ^{a)}
Sham	265.4 ± 2.35	291.80 ± 2.02	110.01 ± 1.07
OVX	264.75 ± 4.41	342.63 ± 9.46	129.58 ± 3.64 ⁺⁺⁺
CS	268.86 ± 3.60	324.57 ± 5.69	121.44 ± 1.75
E ₂	266.71 ± 3.22	285.14 ± 3.81	107.01 ± 1.96 ⁺⁺⁺
E ₂ +CS	267.17 ± 5.31	287.5 ± 3.07	107.71 ± 1.08 ⁺⁺⁺

+++P<0.001: Significantly different from sham group.

***P<0.001: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

a : Percentage of 4 weeks to that of baseline(0 week).

Table X III. Effects of Carthami Semen, E₂, and E₂-Carthami Semen on Uterine Weight in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Uterine Weight(g)
Sham	0.54 ± 0.04 [#]
OVX	0.21 ± 0.06 ⁺⁺⁺
CS	0.20 ± 0.09
E ₂	0.49 ± 0.02 ^{***}
E ₂ +CS	0.44 ± 0.05 [*]

+++P<0.001: Significantly different from sham group.

*P<0.05: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

***P<0.001: Significantly different from ovariectomized(OVX) group.

IV. 考 察

骨多孔症은 閉經期後의 여성 뿐만아니라, 노령인구의 증가로 인해 노인성 골다공증도 날로 증가하고 있으며¹⁸⁾, 남성에서도 연령의 증가에 따라 골밀도의 감소가 나타나며¹⁹⁾, 남성의 골다공증도 노인인구의 증가에 따라 증대되고 있는 실정이다²⁰⁾. 최근 들어 우리나라도 노령인구가 증가함에 따라 骨多孔症이 중요한 노인질환의 하나로서 대두되고 있는데, 骨多孔症은 질환 자체보다는 그로 인한 骨의 弱化에 따라 容易하게 초래되는 各種 骨折, 특히 大腿骨 骨折, 또는 脊椎 骨折 등이 장기간 활동을 제한시키고 결과적으로 노인층 사망원인의 15%에 이르게 한다는 점에서 문제가 되고 있다²¹⁾. 또한 이 질환은 천천히 생기고 임상증상이 오랫동안 가볍게 경과하므로 진단이 늦어지기 쉬우며, 背部疼痛, 脊椎의 後彎 變形 그리고 병적 골절을 보이고 일부에서는 연령증가에 따르는 骨變化를 增惡시킨다. 이러한 骨多孔症은 최근 평균수명의 증가로 고령인구가 늘어남에 따라 임상적으로 접할 수 있는 骨多孔症 환자의 수도 증가하

고 있다.

骨多孔症의 궁극적 治療目標은 誘發因子를 除去하여 주는 한편 骨吸收를 抑制하고 骨形成을 促進하여 減少된 骨量을 回復시키는 것이라고 할 수 있다. 최근 骨多孔症에 사용되는 치료제로는 골재형성(bone turnover)이 항진된 제1형 골다공증의 치료와 예방에 사용되는 골흡수 억제제로서 Estrogen, Calcitonin, Bisphosphonates, Calcium, Vitamin D 등이 있으며, 골재형성이 감소된 제2형 골다공증 또는 이미 골다공증이 진행된 환자에게 유용한 골형성 촉진제로서 Fluoride, Parathyroid hormone 등이 시도 되고 있다. 그러나, 대부분의 약물치료가 骨消失을 더 이상 진행시키지 않는 효과는 기대할 만 하지만, 이미 감소된 骨質量을 충분히 증가시키기는 어렵다는 사실 등으로 실제 임상에서 치료 목표를 달성하기는 매우 어려운 실정이다. 또한, estrogens 등에서는 심각한 부작용이 발생되고 있어서 骨多孔症 치료와 예방이 매우 어려운 실정이며²²⁾, 특히 estrogen 投與는 乳房癌, 不規則한 子宮 出血 등의 危險을 增加시키고 子宮內膜癌, 膽囊疾患 등을 誘發할 수

있다는 研究結果들이 報告되고 있다^{23,24}. 따라서, 일부 약물을 제외하고는 아직까지 획기적인 치료방법으로 알려진 것은 없다.

近來 韓醫學에서는 骨多孔症의 주된 原因을 腎主骨에 근거하여 腎虛로 보고 있으며, 나타나는 症狀에 根據하여 腎虛, 腎陰虛, 腎陽虛, 肝腎虧虛, 脾腎陽虛, 氣滯血瘀, 氣血兩虛 등으로 辨證分類하고 있으며, 治療에 있어서는 辨證類型에 따라 補腎陰, 補腎陽, 補腎陰腎陽, 健脾益氣, 理氣活血, 氣血雙補의 治法을 活用하나 補腎法이 가장 주된 治法으로 活用되고 있다^{5,6}.

현재 紅花子は 임상이나 민간요법에서 골절 질환의 치료로 많이 이용되고 있으며, 민간에서도 紅花子が 골다공증에 효과가 있다고 알려지고 있어 과연 골다공증에 어떠한 효능을 지니고 있는지를 살펴보기 위하여 본 연구에 들어가게 되었으며, 또한 洋方에서 骨多孔症治療劑로 활용되고 있는 E₂와의 併用 投與의 效果와 E₂ 및 紅花子 單獨 投與의 效果와 비교함으로써 한양방 結合치료의 가능성과 E₂의 투여로 인한 부작용을 줄일 수 있는 방법을 찾고자 하였다.

白鼠에서 卵巢를 除去하면 骨質量과 骨強度가 顯著하게 減少한다. Durbridge 등²⁵은 白鼠에서 卵巢切除術을 施行하여 骨小柱 容積이 有意하게 減少되었음을 報告하였고, Gurkan 등²⁶은 卵巢를 除去한 쥐에서 骨密度가 減少하고 骨에서 calcium과 hydroxyproline의 含量이 減少하는 것을 觀察하여 骨多孔症의 有效한 標本이 될 수 있음을 제시하였다. 또한 고 등²⁷은 수술로 인한 폐경기 여성도 자연적 폐경기 여성에 비해 골밀도가 유의성 있게 저하됨을 밝혔다. 이에 著者는 成熟한 흰쥐의 卵巢를 摘出하여 閉經期로 인한 estrogen 缺乏性 骨多孔症을 誘發시킨 後 活血하는 效能이 있어 骨多孔症의 誘發 抑制 및 治療에 效果가 있을 것으로 기대되는 紅花子를 이용하여 연구를 하게 되었고, 동시에

E₂의 부작용을 해소할 수 있는 한약재를 찾고자 하여 紅花子 및 紅花子와 E₂를 동시에 사용한 것을 각각 4週間 投與한 後 骨多孔症과 關聯하여 지표가 될 수 있는 骨密度, 血清中 osteocalcin, estradiol, ALP, phosphorus, calcium 含量, 尿中 deoxypyridinoline의 含量, 骨의 灰分 무게 및 無機成分의 含量, 體重 變化, 子宮 무게를 測定하였다.

卵巢를 除去한 後 일어나는 骨消失은 estrogen의 減少와 密接한 關係가 있는데, estrogen이 결핍된 쥐에서 골형성의 감소, 골흡수의 증가, 해면골과 피질골의 골량의 감소 등이 나타난다^{26,28}. 本實驗에서 對照群 各部位의 骨密度를 4週 동안 觀察 檢索해 본 結果, 骨消失이 나타났는데, 本實驗에서 脊椎骨密度를 보면, 手術前과 4週에 卵巢를 除去한 OVX群에서는 各各 $0.259 \pm 0.005 \text{g/cm}^2$, $0.257 \pm 0.007 \text{g/cm}^2$ 로 Sham群에 비해 有意(P<0.05)하게 減少하였다. 紅花子 投與群에서는 各各 $0.258 \pm 0.006 \text{g/cm}^2$, $0.258 \pm 0.001 \text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 별다른 변화가 없었고, E₂ 投與群에서는 各各 $0.264 \pm 0.003 \text{g/cm}^2$, $0.268 \pm 0.004 \text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 增加하는 傾向을 나타내었으나 有意성은 없었다. 또한 E₂와 紅花子 併用 投與群에서는 各各 $0.265 \pm 0.003 \text{g/cm}^2$, $0.271 \pm 0.006 \text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 增加하였으나, 有意성은 없었다(Table I).

大腿骨密度를 보면, 手術前과 4週에 卵巢를 除去한 OVX群에서는 各各 $0.316 \pm 0.011 \text{g/cm}^2$, $0.310 \pm 0.007 \text{g/cm}^2$ 로 Sham群에 비해 有意(P<0.05)한 減少를 나타내었다. 반면에 紅花子 投與群에서는 各各 $0.309 \pm 0.004 \text{g/cm}^2$, $0.311 \pm 0.002 \text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 增加하는 傾向을 나타내었으나 有意성은 없었고, E₂ 投與群에서는 各各 $0.314 \pm 0.006 \text{g/cm}^2$, $0.332 \pm 0.007 \text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 增加하였으나, 有意성은 없었다. 또한, E₂와 紅花子 併用 投與群에서는 各各 $0.323 \pm 0.006 \text{g/cm}^2$, $0.325 \pm 0.008 \text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 增加하는 傾向

을 나타내었으나 有意性은 없었다(Table II).

腓骨脛骨密度를 보면, 手術前과 4週에 卵巢를 除去한 OVX群에서는 各各 $0.263 \pm 0.004\text{g/cm}^2$, $0.259 \pm 0.007\text{g/cm}^2$ 로 Sham群에 비해 有意($P < 0.01$)하게 減少하였다. 紅花子 投與群에서는 各各 $0.271 \pm 0.004\text{g/cm}^2$, $0.260 \pm 0.004\text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 減少하였으나 有意性은 없었고, E₂ 投與群에서는 各各 $0.268 \pm 0.006\text{g/cm}^2$, $0.276 \pm 0.006\text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 增加하는 傾向을 나타내었으나 有意性은 없었으며, E₂와 紅花子 併用 投與群에서는 各各 $0.273 \pm 0.007\text{g/cm}^2$, $0.282 \pm 0.004\text{g/cm}^2$ 로 OVX群에 비해 有意性($P < 0.05$)있는 增加를 나타내었다(Table III).

Osteocalcin은 골형성 표지자중에서 현재 임상적으로 유용하게 사용되는 것으로 Bone Gla protein(BGP)라고도 불린다. osteocalcin은 골아세포에서 생산되어 뼈의 세포외기질에서 축적되는데, 새로 합성된 osteocalcin의 일부가 혈중으로 방출되므로 혈중농도를 측정하면 골형성 정도를 알 수 있다³⁰. Morris³¹는 卵巢切除後 osteocalcin이 增加하는 傾向이 있다고 하였으며, 韓 등³²은 閉經後 osteocalcin의 增加는 6개월 이상 estrogen 投與로 正常에 가까워진다는 報告를 하였다. 本 實驗에서의 血清中 osteocalcin 含量을 보면, 난소를 제거한 OVX群은 $6.67 \pm 0.61\text{ng/ml}$ 로 Sham群에 비해 有意($P < 0.01$)하게 增加하였다. 반면에 紅花子 投與群은 $6.04 \pm 0.61\text{ng/ml}$ 로 나타나 OVX群에 비해 약간 減少하는 傾向性を 보였으나 有意性은 없었으며, E₂ 投與群에서는 $4.33 \pm 0.41\text{ng/ml}$ 로 나타나 OVX群에 비해 有意($P < 0.01$)하게 減少하였다. 또, E₂와 紅花子 併用 投與群에서는 $3.76 \pm 0.27\text{ng/ml}$ 로 나타나 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 減少하였다.(Table IV).

사람에서는 estrone, 17 β -estradiol 및 estriol 등 3가지 estrogen이 만들어지며 閉經前 血清中 주요 estrogen인 estradiol은 그 대

부분이 卵胞에서 生成되므로 閉經前에 卵巢를 除去하면 血清中 estradiol은 급격히 減少된다³³. 그러나 閉經後의 女性에서 2-3年間 少量의 estrogen이 存在하는데 이것은 直接 分泌가 아니라 副腎이나 卵巢의 間質 細胞에서 分泌되는 androstenedione이나 testosterone, estrone이 脂肪組織에서 전환된 結果로 알려져 있다³⁴. 本 實驗에서 血清中 estradiol 含量을 보면, OVX群은 $4.16 \pm 2.28\text{pg/ml}$ 로 Sham群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 減少하였다. 반면에, 紅花子 投與群은 $18.93 \pm 3.57\text{pg/ml}$, E₂ 投與群에서는 $32.64 \pm 7.39\text{pg/ml}$ 로 나타나 OVX群에 비해 有意($P < 0.01$)한 增加를 나타내었으며, E₂와 紅花子 併用 投與群에서는 $28.88 \pm 8.50\text{pg/ml}$ 로 나타나 OVX群에 비해 有意($P < 0.05$)한 增加를 나타내었다(Table V). 따라서, 이러한 결과는 세가지 실험군에서 모두 骨吸收를 抑制한다고 알려져 있는 estradiol의 濃度가 增加한 것으로 나타났다.

ALP(Alkaline Phosphatase)는 골아세포에서 분비되는 당단백질(glycoprotein)으로 임상에서 가장 흔히 이용되는 골형성 표지자이다. 이 ALP는 骨芽細胞에 存在하여 局所의 뼈 무기질의 沈着을 亢進시키고, 小兒期와 骨形成이 활발히 進行될 때 血清內에서 意味있게 增加하는데, 肝膽道系 疾患 및 骨의 生成이 阻반되는 骨疾患에서도 增加한다³⁵. Morris³¹는 卵巢切除後 ALP의 活動이 增加한다고 하였는데, 本 實驗에서 血清中 ALP 活性度를 보면, OVX群에서 21.45 ± 3.38 K-A unit로 Sham群에 비해 增加하였으나, 有意性은 없었다. 紅花子 投與群은 19.96 ± 1.15 K-A unit로 OVX群에 비해 감소하는 경향성을 보였으나 有意性은 인정되지 않았고, E₂ 投與群은 10.42 ± 1.09 K-A unit로 OVX群에 비해 有意性($P < 0.01$)있게 減少하였으며, E₂와 紅花子 併用 投與群은 14.61 ± 2.34 K-A unit로 OVX群에 비해 減少하는 傾向性を 보였으나 有意性은 認定되지 않았다(Table VI).

骨은 35%의 유기질(organic substance), 45%의 무기질(inorganic substance) 및 수분으로 구성된다²⁾. 또한 생체 내에 존재하는 칼슘의 99%는 뼈에 존재하며, 血清中 calcium 농도의 변화는 뼈에 존재하는 칼슘의 영향을 받게 되고, 卵巢摘出로 인한 骨交替率의 증가는 骨質의 減少를 招來하여 血清中 calcium의 上昇을 가져오게 하므로 血清中 calcium 농도의 변화는 骨吸收와 關聯이 있다. 本實驗에서 血清中 calcium 含量은 OVX群에서 卵巢를 除去한 OVX群은 $22.69 \pm 0.57 \text{ mg/dl}$ 로 Sham群에 비해 減少하였으나 有意성은 없었다. 紅花子 投與群은 $49.69 \pm 3.23 \text{ mg/dl}$ 로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였으며, E_2 投與群은 $45.99 \pm 4.96 \text{ mg/dl}$ 로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였고, E_2 와 紅花子 併用 投與群은 $55.93 \pm 6.98 \text{ mg/dl}$ 로 OVX群에 비해 有意($P < 0.01$)하게 增加하였다.(Table VII).

Phosphorus는 骨의 無機質 構成成分의 하나로 人體內 phosphorus의 90%정도가 骨에 존재하는데, 骨吸收時 血清中 phosphorus의 濃度は 上昇하므로 骨代謝와 관련이 있다. 本實驗에서 血清中 phosphorus 含量은 OVX群에서 $6.91 \pm 0.30 \text{ mg/dl}$ 로 Sham群에 비해 增加하였으나 有意성은 없었다. 紅花子 投與群은 $3.48 \pm 1.34 \text{ mg/dl}$ 로 OVX群에 비하여 有意($P < 0.05$)하게 減少하였고, E_2 投與群은 $4.26 \pm 1.78 \text{ mg/dl}$ 로 OVX群에 비하여 減少하는 傾向성을 보였으며, E_2 와 紅花子 併用 投與群은 $5.80 \pm 0.41 \text{ mg/dl}$ 로 OVX群에 비하여 減少하였으나 有意성은 없었다(Table VII). 따라서, 紅花子 投與群과 E_2 와 紅花子 併用 投與群에서 모두 骨吸收를 抑制하는 效果가 있는 것으로 思料된다.

Deoxypyridinoline은 주로 骨에 존재하며, 破골세포에 의해 콜라겐이 분해되면서 소변내로 유리된다. 따라서, 尿中의 Deoxypyridinoline의 排出은 骨吸收를 반영하는 유용한 생화학적 지

표가 되며, Deoxypyridinoline의 排出은 卵巢 切除로 增加한다³⁶⁾. 또한 尿中 Deoxypyridinoline은 閉經期 以後에 增加하고 호르몬 療法에 의해 閉經前 數値로 회복된다는 報告도 있다. 本實驗에서의 尿中 deoxypyridinoline 含量을 보면, OVX群은 $115.77 \pm 19.95 \text{ nM/mM}$ 로 Sham群에 비해 增加하였으나 有意성은 없었다. 반면에 紅花子 投與群은 $109.71 \pm 13.94 \text{ nM/mM}$ 으로 對照群에 비하여 減少하는 傾向은 있었으나 有意성은 認定되지 않았으며, E_2 投與群에서는 $44.48 \pm 5.47 \text{ nM/mM}$ 로 나타나 OVX群에 비해 有意($P < 0.01$)하게 減少하였으며, E_2 와 紅花子 併用 投與群에서는 $50.88 \pm 5.78 \text{ nM/mM}$ 로 OVX群에 비해 有意($P < 0.05$)하게 減少하였다(Table VIII).

난소절제한 쥐에서는 骨의 calcium 含量이 감소하며, 이것은 骨吸收가 增加된 것으로 볼 수 있는데¹⁷⁾, 本實驗에서의 骨의 calcium 含量의 變化를 보면, 大腿骨의 calcium 含量에서는 OVX群에서 $55.87 \pm 9.78 \text{ mg}$ 으로 Sham群에 비해 有意($P < 0.05$)하게 減少하였다. 반면에 紅花子 投與群은 $197.16 \pm 7.62 \text{ mg}$ 으로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였으며, E_2 投與群은 $184.06 \pm 10.04 \text{ mg}$ 으로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였으며, E_2 와 紅花子 併用 投與群은 $180.26 \pm 4.12 \text{ mg}$ 으로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였다. 脛骨과 腓骨의 calcium 含量은 OVX群에서는 $37.81 \pm 9.37 \text{ mg}$ 으로 Sham群에 비해 有意($P < 0.05$)하게 減少하였다. 반면에 紅花子 投與群은 $148.76 \pm 4.04 \text{ mg}$ 으로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였으며, E_2 投與群은 $153.88 \pm 7.02 \text{ mg}$ 으로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였으며, E_2 와 紅花子 併用 投與群은 $166.06 \pm 6.15 \text{ mg}$ 으로 OVX群에 비해 有意($P < 0.001$)하게 增加하였다(Table IX). 따라서, 세가지 실험군 모두에서 骨의 calcium 含量을 增加시켜 주어 骨吸收를 抑制하는 것으로 나타났다.

骨的 phosphorus 含量的 變化를 살펴보면, 大腿骨의 phosphorus는 OVX群에서 46.31 ± 1.24 mg인데 比하여, 紅花子 投與群과 E₂ 投與群에서는 各各 47.00 ± 3.63 mg, 51.32 ± 2.48 mg으로 OVX群에 比해 增加하는 傾向을 나타내었으나 有意性은 認定되지 않았다. 반면에 E₂와 紅花子 併用 投與群은 50.38 ± 0.76 mg으로 OVX群에 比해 有意(P<0.05)하게 增加하였다. 脛骨과 腓骨의 phosphorus는 OVX群에서는 41.06 ± 2.81 mg인데 比하여 紅花子 投與群, E₂ 投與群 및 E₂와 紅花子 併用 投與群에서는 各各 37.63 ± 2.49 mg, 42.75 ± 1.99 mg, 47.00 ± 1.88 mg으로 OVX群에 比해 增加하는 傾向을 나타내었으나 有意性은 認定되지 않았다 (Table X).

大腿骨의 ash weight는 OVX群에서 0.35 ± 0.02 g으로 Sham群에 比해 減少하는 傾向을 나타내었다. 紅花子 投與群은 0.37 ± 0.03 g으로 OVX群에 比해 增加하는 경향성을 보였으나 有意性은 없었고, E₂ 投與群에서는 0.40 ± 0.03 g으로 OVX群에 比해 增加하는 傾向을 나타내었으나 有意性은 認定되지 않았다. E₂와 紅花子 併用 投與群은 0.42 ± 0.02 g으로 OVX群에 比하여 有意(P<0.05)하게 增加하였다. 脛骨과 腓骨의 ash weight는 OVX群에서 0.25 ± 0.03 g으로 Sham群에 比해 減少하는 傾向을 나타내었다. 紅花子 投與群에서는 0.37 ± 0.02 g으로 OVX群에 比하여 有意(P<0.01)하게 增加하였다. E₂ 投與群에서는 0.3 ± 0.02 g으로 OVX群에 比해 增加하였으나 有意性이 認定되지 않았으며, E₂와 紅花子 併用 投與群에서 0.35 ± 0.02 g으로 OVX群에 比해 有意(P<0.05)한 增加를 나타내었다(Table XI).

Dike N Kalu 등³⁷⁾의 報告에 의하면 卵巢를 除去한 쥐의 體重은 增加하고 estrogen의 投與는 體重增加를 抑制한다고 하였다. 反面에 閉經後 女性의 體重과 estrogen의 濃度는 比例한다는 報告³⁸⁾도 있다. 以上과 같이 卵巢摘出에 따른 estrogen 缺乏과 體重의 變化 사이

의 相關 關係에 대한 研究結果는 서로 相反되게 報告되고 있다. 本 實驗에서 體重 變化를 보면, 手術前과 4週에 OVX群에서는 各各 264.75 ± 4.41 g, 342.63 ± 9.46 g로 Sham群에 比해 有意(P<0.001)하게 增加하였다. 紅花子 投與群에서는 各各 268.86 ± 3.60 g, 324.57 ± 5.69 g로 OVX群에 比해 減少하였으나 有意性은 없었다. 반면에 E₂ 投與群에서도 各各 266.71 ± 3.22 g, 285.14 ± 3.81 g로 OVX群에 比해 有意(P<0.001)하게 減少하였고, E₂와 紅花子 併用 投與群에서도 各各 267.17 ± 5.31 g, 287.5 ± 3.07 g로 OVX群에 比해 有意(P<0.001)하게 減少하였다(Table XII). 따라서, E₂ 및 E₂와 紅花子 併用 投與群에서 體重抑制의 效果가 있었다.

子宮은 子宮內膜 및 子宮筋은 모두 estrogen에 의존적이며, estrogen은 卵巢에서만 分泌되므로 卵巢가 除去되면 子宮 萎縮現象이 나타나게 된다²⁹⁾. 子宮 무게의 變化를 살펴보면, 本 實驗에서 OVX群은 0.21 ± 0.06 g으로 Sham群에 比해 有意(P<0.001)하게 減少하였다. 반면에 紅花子 投與群에서는 0.20 ± 0.09 g으로 OVX群에 比하여 별다른 變化가 없었으며, E₂ 投與群은 0.49 ± 0.02 g으로 OVX群에 比해 有意(P<0.001)하게 增加하였으며, E₂와 紅花子 併用 投與群은 0.44 ± 0.05 g으로 OVX群에 比해 有意(P<0.05)하게 增加하였다 (Table XIII). 本 實驗에서의 結果 E₂ 投與群과 E₂와 紅花子 併用 投與群에서 子宮 무게의 증가는 子宮의 위축현상을 개선시켜 주었다고 사료된다.

以上에서 卵巢를 摘出した 흰쥐에 대하여 國產紅花子 및 E₂와 國產紅花子를 併用 投與한 結果, 紅花子만의 單獨 投與는 骨多孔症의 개선에 效果가 微弱하였으며, E₂의 用量을 半으로 줄이고 紅花子와 併用投與한 結果 骨多孔症 改善 效果는 E₂ 單獨 사용시의 效果를 더 능가하고 있었다. 따라서, 骨多孔症치료에 있어서 紅花子를 E₂와 동시에 사용할 필요성이

있을 것으로 여겨지며, 향후 임상을 통하여 좀 더 깊이 연구되어야 할 것으로 사료된다.

V. 結 論

國産紅花子 및 E₂와 國産紅花子 併用 投與가 卵巢를 切除하여 誘發된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響을 比較研究하기 위하여 骨密度, 血清中 osteocalcin, estradiol, ALP, phosphorus, calcium의 含量, 尿中 deoxypyridinoline의 含量, 大腿骨 및 腓骨과 脛骨의 灰分 무게 및 無機成分의 含量, 體重變化, 子宮 무게를 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 骨密度를 觀察한 結果, 腓骨脛骨密度的 측정결과중 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 增加가 있었다.
2. 血清 成分의 變化를 觀察한 結果, osteocalcin 含量은 E₂와 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 減少가 있었으며, estradiol 含量은 紅花子, E₂ 및 E₂-紅花子 併用 投與群 모두에서 有意性 있는 增加가 있었다. 血清中 ALP 含量은 E₂ 投與群에서 有意性 있는 減少가 있었으며, calcium 含量은 紅花子, E₂ 및 E₂-紅花子 併用 投與群 모두에서 有意性 있는 增加가 있었으며, phosphorus 含量은 紅花子投與群과 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 減少가 있었다.
3. 尿의 變化를 觀察한 結果, deoxypyridinoline 含量은 E₂ 投與群과 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 減少가 있었다.
4. 骨의 變化를 觀察한 結果, 大腿骨과 腓骨脛骨의 calcium 含量에서는 紅花子, E₂ 및 E₂-紅花子 併用 投與群 모두에서 有意性 있는 增加가 있었으며, 大腿骨의 phosphorus 含量에서는 E₂-紅花子 併用

投與群에서 有意性 있는 增加가 있었다. 大腿骨의 ash weight에서는 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 增加가 있었으며, 脛骨과 腓骨의 ash weight에서는 紅花子投與群과 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 增加가 있었다.

5. 體重의 變化에서는 E₂ 및 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 減少가 있었다. 子宮의 무게에서는 E₂ 投與群과 E₂-紅花子 併用 投與群에서 有意性 있는 增加가 있었다.

以上の 結論를 綜合해 보면 活血祛瘀하는 國産紅花子만의 投與는 骨多孔症에 대하여 효과가 微弱하였으며, 國産紅花子가 E₂와 併用될 경우에는 E₂의 投與量을 줄이면서도 效果를 우수하게 볼 수 있는 것으로 나타나므로, 向後 骨多孔症治療에 있어서 韓洋方 結合治療의 필요성이 있을 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 조수현. 폐경과 골다공증. 대한의학협회지. 1989;35(5):587-597.
2. 大韓整形外科學會. 整形外科學. 서울:最新醫學社. 1992:13-14, 81-82.
3. 金根模. 鹿茸 및 六味地黃湯加鹿茸이 白鼠의 運動抑制性 骨多孔症에 미치는 影響. 慶山大學校 大學院. 1993.
4. 姜成吉, 朴英培, 安鉉石. 骨多孔症의 鍼灸治療에 관한 文獻的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 1995;15(2):171-189.
5. 何紹奇. 現代中醫內科學. 北京:中國醫藥科技出版社. 1992.
6. 蔣位庄, 王和鳴. 中醫骨病學. 北京:人民衛生出版社. 1994:255-258.
7. 張貴君. 常用中藥鑑定大全. 哈爾濱:黑龍江科學技術出版社. 1993:383-384.
8. 徐富一, 朴芝河, 卞晟僖, 金相贊. 韓藥臨床

- 要訣. 慶山:慶山大學校出版部. 2000:165.
9. Salville, P.D. Changes in skeletal mass and fragility with castration in the rat: A model of osteoporosis. *J. Am. Ger. Soc.* 1969;17(2):155-166.
 10. Wronski, T.J., Lowry, P.L., Walsh, C.C., Ignaszewski, L.A. Skelstal alterations on ovariectomized rats. *Calcif. Tissue. Int.* 1985;37:324-328.
 11. Wronski, T.J., Cintron, M., Doherty, A.L., Dann, L.M. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinol.* 1988;123(2):681-686.
 12. Wronski, T.J., Dann, L.M., Scott, K.S., Crooke, L.R. Endocrine and pharmacological suppressors of bone turnover protect against osteopenia in ovariectomized rats. *Endocrinol.* 1989;125(2):810-816.
 13. Power, M. J., et al.. Radioimmunoassay of osteocalcin with polyclonal and monoclonal antibodies. *Clinical Chemistry.* 1989;35:1408-1415.
 14. 고문사 편집부역. 혈청 ALP, ACP 및 Alkaline Phosphatase Isoenzyme 측정. 임상검사법제요. 서울:고문사. 1984:435-478.
 15. Goldberg, H., Fernandez, A.. Simplified method for estimation of inorganic phosphorus in body fluid. *Clin. Chem.* 1966;12:871-872.
 16. Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin S, Seibel MJ. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J. Bone. Miner. Res.* 1994;9(10):1643-1649.
 17. Yamazaki, I., Yamaguchi, H. Characteristics of an ovariectomized Osteopenic rat Model. *J. Bone. Min. Res.* 1989;4(1):13-23.
 18. Riggs BL, Melton LJ. Involutional osteoporosis. *N Engl J Med.* 1986;314:1676-1686.
 19. 오한진, 김의현, 김상우, 한인권. QCT를 이용하여 측정한 한국인 중년남자의 골밀도. *대한골대사학회지.* 1998;5(2):150-155.
 20. Melton LJ, O'Fallon WM, and Riggs BL. Clinical investigations: secular trends in the incidence of hip fractures. *Calcif Tissue Int.* 1987;41:57-64.
 21. 윤혜숙, 장일무. 전통약물로 부터 신약개발 연구법. 서울:서울대학교 천연물 과학 연구소. 1992:78-84.
 22. 조수현. 폐경과 골다공증. *대한의학협회지.* 1992;35(5):587-598.
 23. Regg, B.L., Melton, L.J. III. Medical progress Involutional osteoporosis. *New Eng. J. Med.* 1986;314(26):1676-1686.
 24. Joseph, M. L., Vincent, J. V.. Current concepts review osteoporosis. *J. Bone and Joint Surg.* 1983:223-224.
 25. Durbiridge, Parkinson, I. H., Moore, R. J., Porter, S., Need, A. G., Nordin, B. E. C., Vernon-Roberts, B.. Progressive cancellous bone loss in rats after adrenaectomy and oophorectomy. *Calcif. Tissue In.* 1990;47:383.
 26. Gurkan, L., Ekeland, A., Gautvik, K. M., Langeland, N., Ronningen, H., Solheim, L. F.. Bone changes after castration in rats. A model for osteoporosis. *Acta, Orthop. Scand.* 1986;57(1):67-70.
 27. 고석봉, 이광희, 광양수, 이두진, 박윤기, 이승호. 폐경기증상과 양측 난소제거술이 골밀도에 미치는 영향. *대한산부학회지.* 1994;37(10):2037-2046.

28. Urist MR, Budy AM, McLean FC. Species differences in the reaction of the mammalian skeleton to estrogen. *Proc Biol.* 1978;69:324-326.
29. 이환모, 한수봉, 박병문. 백서의 난소제거술 후 발생한 골조송증에 대한 Calcitonin의 효과. *대한정형외과학회지.* 1992;27(2):577-582.
30. Price PA, Parthermore JG, Doftos LJ. New biochemical marker for the bone metabolism. *J. Clin. Invest.* 1980;66:878-883.
31. Morris Notelovitz. Osteoporosis, screening, prevention, and management. *Fertility and Sterility.* 1993;59(4):707-725.
32. 韓寅權, 朴源根, 崔熊煥, 申鉉昊, 金鮮宇. 韓國人 更年期 女性の 骨密度 및 호르몬變化에 관한 研究. *대한내분비학회지.* 1989;4(1):21-28.
33. Vaughn, T.C., Hammond, C.B.. Estrogen replacement therapy. *Clin. Obstet. Gynecol.* 1981;24(10):253-283.
34. Judd, H.L., Lucas, W.E., Yen, S.S.C.. Serum 17- β estradiol and estrone levels in postmenopausal women with and without endometrial cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1976;43(2):272-278.
35. 이귀녕, 이종순. 임상병리파일. 서울:의학문화사. 1993:278-282, 300-303.
36. Tordjman C, Lhumeau A, Pastoureau P, Meunier F, Serkiz B, Volland JP, Bonnet J. Evaluation and comparison of urinary pyridinium crosslinks in two rat models of bone loss.....ovariectomy and adjuvant polyarthritis.....using a new automated HPLC method. *Bone Miner.* 1994;26(2):155-167.
37. Dike N. Kalu, Bahram H. Arjmandi, Chung Ching Liu, Mohammed A. Salih, Roger S. Birnbaum. Effects of ovariectomy and estrogen on the serum levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3. *Bone and Mineral.* 1994;25:135-147.
38. Anthony M. Frumar, David R. Meldrum, F. Geola, Issa M. Shamonki, Ivanna V. Tataryn, Leonard J. Deftos, et al. Relationship of fasting urinary calcium to circulating estrogen and body weight in postmenopausal women. *JCE&M.* 1980;50(1):70-75.