

난소 절제 흰쥐의 골대사에 미치는 鼈甲의 영향

박종혁, 윤철호¹⁾, 정지천¹⁾

혜당한방병원 내과, 동국대학교 한의과대학 내과학교실¹⁾

Effects of *Amydae Carapax* on Bone Metabolism in Ovariectomized Rats

Jong-Hyuck Park, Cheol-Ho Yoon¹⁾, Ji-Cheon Jeong¹⁾

Dept. of Internal Medicine, Haedang Oriental Medical Hospital
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University¹⁾

Objectives : This study was undertaken to investigate the effects of *Amydae Carapax* (AC) on parameter related to bone metabolism in ovariectomized rats.

Methods : We measured alkaline phosphatase activity and contents of estrogen, calcium, hydroxyproline, osteocalcin, calcitonin and parathyroid hormone after the ovariectomized rats were treated with AC for 30 days.

Results : Serum estrogen, calcium and calcitonin contents in ovariectomized rats significantly decreased, but increased after AC treatment. [Significant increase of serum alkaline phosphatase activity, parathyroid hormone activity and osteocalcin content in ovariectomized rats was remarkably decreased by AC treatment. Increase of urinary calcium and hydroxyproline content in ovariectomized rats was decreased by AC treatment.]

Conclusions : These results shows that AC has the ability to counteract abnormal calcium metabolic processes due to sex hormone inequality, promoting bone absorption and inhibiting bone formation. (*J Korean Oriental Med 2002;23(3):54-62*)

Key Words: *Amydae Carapax*, estrogen, calcium, ovariectomy, osteoporosis.

緒論

골다공증은 골 형성의 감소, 골 흡수의 증가로 인하여 골질량의 전반적인 감소를 일으키는 질환으로 背部疼痛, 身長의 감소, 척추의 변형 및 골절 등이 주된 증상이다. 크게 두 가지 양상으로 구분되는데, I형은 폐경기 이후 여성에서 발생되며 주로 해면골로

구성된 골격계에 영향을 미치는 형태인 폐경기후 골다공증이고, II형은 연령이 증가함에 따라 진행되어 70세 이후에 해면골 및 피질골로 구성된 골격계에 모두 영향을 미치는 형태인 노인성 골다공증이다¹⁾.

골량의 정도를 나타내는 골밀도에 영향을 미치는 요인으로는 연령, 체중, 폐경, 대사성 질환, 운동부족, 위장절제, steroid제 과용, 칼슘 섭취 부족 등이 있다²⁾. 치료법으로는 estrogen, 활성 vitamin D, calcitonin, 칼슘 제제 등의 투여와 규칙적인 운동, 금연, 금주 등이 권해지고 있으나, 약물치료의 경우 예방적 차원에 머물고 있으며 투여 방법과 용량 및 기간에 따라 여러

· 접수 : 2002년 4월 25일 · 채택 : 2002년 5월 30일
· 교신저자 : 박종혁, 서울시 마포구 합정동 363-14 혜당한방병원 8내과
(Tel. 02)335-1010 (내선 123), fax)02-332-9928 E-mail : parcohu@hanmail.net

가지 부작용을 초래한다^{2,3)}.

韓醫學에서 뼈는 腎에 배속되며, 內經 素問⁴⁾의 五臟生成論에 “腎之合骨也”, 宣明五氣篇에 “腎主骨”이라 하여 腎이 골대사에 있어 유기적인 생리작용이 있음을 설명하고 있다. 뼈는 髓之府이고 髓는 腎에서 생하니⁴⁾ 뼈의 성장과 기능은 腎氣의 盛衰에 따른다. 腎과 골대사와의 관계에 대하여 蔡⁵⁾ 등은 腎虛 환자의 뼈 광물 함량이 정상인에 비하여 유의하게 감소되었다고 보고하였으며, 丁⁶⁾ 등은 兎絲子, 骨碎補, 鹿角膠, 龜板, 鼈甲, 續斷 등의 補腎 약제로 구성된 처방이 骨粗鬆症의 치료에 유의한 효과가 있음을 보고하였다. 실험 연구로는 鹿茸이 운동을 제한한 흰쥐의 골다공증에 효과가 있으며⁷⁾, 補腎湯이 성장기 흰쥐의 골밀도를 증가시키고⁸⁾, 牛膝, 續斷, 杜冲, 狗脊, 木瓜 등^{9,13)}이 난소 절제 흰쥐의 뼈 재형성에 유효하다는 보고가 있다.

鼈甲 (*Amydae Carapax*)은 동물성 교질, 칼슘, 비타민 D 등을 함유하고 있으며, 滋陰潛陽 補肝腎陰 散結消痞하는 효능으로 勞瘦骨蒸, 腰痛, 筋骨痿軟, 脇下堅, 腹中痞積, 血癥 등에 응용되어 왔다^{4,15)}. 실험 연구에 의하면 鼈甲이 함유된 四物鼈甲靑皮湯이 항암 및 면역 증강 효과를 나타내었다는 보고¹⁶⁾가 있다.

이에 저자는 鼈甲이 골다공증의 치료에 활용될 수 있는지를 살펴보고자 난소를 절제한 흰쥐를 대상으로 골대사에 관련된 물질과 효소 활성을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고한다.

材料 및 方法

1. 材料

1) 약재

鼈甲 (*Amydae Carapax*)은 동국대학교 부속 한방병원에서 정선한 상등품을 구입하여 사용하였다.

2) 시약

Carboxy methyl cellulose (CMC), EDTA sodium, sodium chloride, calcitonin, estrogen, calcium chloride, calcium phosphate, hydroxyproline, periodic acid,

toluene 등은 Sigma사, Alkaline phosphatase reagent kit는 아산제약 (AM105S-K)의 제품을 사용하였다. Double antibody calcitonin kit는 Diagnostic Product Corporation, osteocalcin reagent kit는 Brahms사의 제품을 사용하였으며 기타 모든 시약은 특급품을 사용하였다.

3) 동물

동국대학교 한의과대학 동물사에서 일정한 조건으로 사육한 350 g 내외의 생후 12~14주령된 암컷 Sprague Dawley계 흰쥐를 사용하였다.

2. 方法

1) 검액의 조제

투명한 등근 플라스크에 잘게 파쇄한 鼈甲 400 g을 넣고 여기에 3배량의 95% methanol을 가하여 60℃에서 중탕으로 3회 반복 추출하여 추출액을 얻은 후 실온으로 식힌 다음 여지로 여과하였다. 얻어진 여액을 회전 감압농축기로 농축하여 鼈甲 추출물 16.6 g(수율 4.15%)을 얻었다.

2) 검액의 투여

Sham-operation 한 정상 대조군, 난소 절제군, 난소 절제후 鼈甲 추출물 투여군의 3군으로 나누었으며 각 군은 5마리씩 실험을 행하였다. 난소 절제술은 흡인 마취제인 ether를 소량씩 지속적으로 흡인시켜 마취를 유도한 후 복부를 절개하고 난소를 제거하였으며, 절개부를 봉합하고 난 후에는 2차적인 외부 병원균의 감염을 방지하기 위하여 항생제 (gentamycin, 신펜)를 3일간 주사하였다. Sham-operation은 난소를 절제하지 않고 개복수술만 행하였다. 鼈甲 추출물은 1% CMC 용액에 현탁하여 1일 1회 100 mg/kg의 용량을 30일간 경구투여하였으며, 정상대조군에는 1% CMC 용액만 투여하였다. 실험동물은 실험전 16시간 동안 물만 먹게 하고 절식시켰다.

3) 시료의 채취

소변은 실험종료 1일전 실험동물을 metabolic cage

에서 24시간씩 채취하여 원심분리시킨 후 상층액을 냉동보관하였으며, 혈액은 실험동물을 ether로 가볍게 마취시킨 상태에서 개복한 뒤 복부대동맥으로부터 채혈하여 실온에서 일정시간 방치시킨 후 3,000 rpm에서 원심분리하여 혈청을 분리한 뒤 냉동보관하였다.

4) Estrogen 함량 측정

혈중 estrogen 함량은 radioimmunoassay 방법¹⁷⁾에 준하여 Coat A-Count estrogen RIA kit (DPC)를 사용하여 함량을 측정하였다. 분리한 혈청에 dispense reagent를 가하여 37°C에서 일정시간 동안 반응시킨 다음 꺼내어 반응액을 이용하여 Gamma counter (Packard, Auto gamma 5550, USA)로 측정하였다.

5) 칼슘 함량 측정

혈청과 소변중의 총 칼슘 함량은 Sarkar와 Chauhan의 방법¹⁸⁾에 따라 O-cresolphthalein과 결합하여 생성되는 complex의 색을 spectrophotometer로 565 nm에서 측정하여 함량을 산정하였다. 혈청중의 칼슘 함량은 혈청 1 l 당 칼슘의 양을 mmole로 나타내었으며 소변중의 칼슘 함량은 24시간 동안 배설한 전체 소변량중의 칼슘 함량을 μ mole로 나타내었다.

6) Alkaline phosphatase 활성 측정

혈액중 alkaline phosphatase 활성 측정은 Bessey 등의 방법¹⁹⁾에 준해 kit 시약을 사용하여 측정하였다. 기질 용액 일정량에 혈청 50 μ l를 첨가시키고 37°C에서 15분 동안 반응시킨 다음 발색 시약을 첨가시켜 반응을 종료시키고 충분히 혼화한 후 실온에서 10분간 방치시켰다. 이 반응액을 파장 570 nm에서 흡광 광도계로 측정하여 효소활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 단위 반응시간 동안 생성된 phenol의 양을 측정하여 King-Amstrong unit로 환산하여 나타내었다.

7) Osteocalcin 함량 측정

혈청중의 osteocalcin 함량의 측정은 Brahms의 kit를

이용하여 혈청 50 μ l에 ¹²⁵I osteocalcin을 250 μ l씩 넣고 4~8°C에서 24시간 반응시키고 세척용액 2 ml로 2회 반복세척 한 후 gamma scintillation counter로 침전물의 radioactivity를 측정하여 함량을 계산하였다.

8) Hydroxyproline 함량 측정

소변중 hydroxyproline 측정은 Blumenkrantz 등의 방법²⁰⁾에 의하여 측정하였다. 소변 0.5 ml에 6N-HCl 3 ml를 넣고 drying oven에서 12시간 동안 가수분해시킨 후 65°C vacuum drying oven 속에 넣어 완전히 증발시켰다. 증발된 시료에 소량의 증류수를 가하고 0.1 M citrate-phosphate buffer, 과요오드산 및 extraction mixture를 첨가한 후 vortex로 잘 혼화한 뒤 원심분리하였다. 원심분리후 상층액을 취하여 ehrlich reagent를 첨가한 다음 565 nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 산정하였다.

9) Calcitonin 함량 측정

혈액중 calcitonin의 함량 측정은 Diagnostic Product사 (DPC)의 double antibody calcitonin kit로 정량하였다. 혈청 200 μ l에 antiserum 100 μ l씩 넣고 잘 혼화한 다음 실온에서 3시간 동안 반응시킨 후 ¹²⁵I calcitonin을 100 μ l씩 넣고 mixing한 뒤 4°C에서 16시간동안 반응시켰다. 그 후 PEG 1 ml를 넣고 충분히 혼화한 후 원심분리하여 상층액을 완전히 제거한 침전물의 radioactivity를 gamma scintillation counter로 측정하였다.

10) 부갑상선 호르몬 함량 측정

혈액중 parathyroid hormone (PTH)의 함량은 INC의 PTH-MMTMII kit로 측정하였다. 혈청 100 μ l에 ¹²⁵I PTH를 200 μ l 넣어 2~8°C에서 2시간 incubation시킨 후 이 반응액을 25°C에서 20분 동안 2,000 rpm에서 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 분리한 상층액을 완전히 제거시키고 gamma scintillation counter로 침전물의 radioactivity를 측정하여 산정하였다. PTH의 함량은 혈청 1 ml중에 함유되어 있는 PTH의 양을 pg으로 나타내었다.

11) 통계 처리

본 연구의 분석 결과는 각 실험군 간의 평균치와 표준오차로 표시하고 실험군 간의 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하여 통계 처리하였다.

實驗 成績

1. 혈중 estrogen 함량에 미치는 영향

정상 대조군의 혈중 estrogen 함량은 $4.36 \pm 0.37 \eta g/dl$ 이었으나, 난소 절제군은 $3.34 \pm 0.30 \eta g/dl$ 로서 현저하게 감소되었다. 반면에 鼈甲 추출물 투여군은 $4.18 \pm 0.31 \eta g/dl$ 로서 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(Fig. 1).

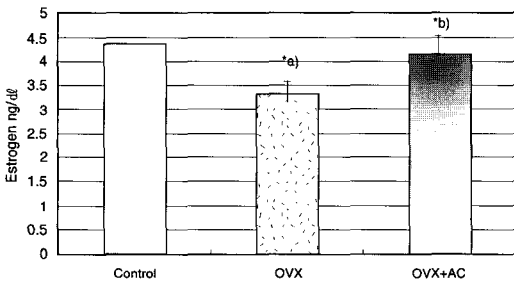


Fig. 1. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the serum estrogen level in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : P < 0.05). OVX : ovariectomized group

2. 혈중 칼슘 농도에 미치는 영향

정상 대조군의 혈중 calcium 함량은 $5.52 \pm 0.26 \text{ mmole/l}$ 이었으나 난소 절제군은 $4.40 \pm 0.22 \text{ mmole/l}$ 로서 유의성 있게 감소되었다. 그러나, 鼈甲 추출물 투여군은 $5.33 \pm 0.30 \text{ mmole/l}$ 로 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(Fig. 2).

출물 투여군은 $42.7 \pm 2.2 \mu\text{mole/day}$ 로 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Fig. 3).

4. 혈중 alkaline phosphatase 활성에 미치는 영향
정상 대조군의 혈중 alkaline phosphatase 활성은 $21.3 \pm 1.8 \text{ units/dl}$ 이었으며, 난소 절제군은 $30.7 \pm 2.3 \text{ units/dl}$ 로서 유의성 있게 증가되었다. 그러나, 鼈甲 추출물 투여군은 $24.6 \pm 1.8 \text{ units/dl}$ 로서 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 억제되었다(Fig. 4).

5. 혈중 osteocalcin 함량에 미치는 영향

정상 대조군의 혈중 osteocalcin 함량은 $41.3 \pm 3.0 \eta$

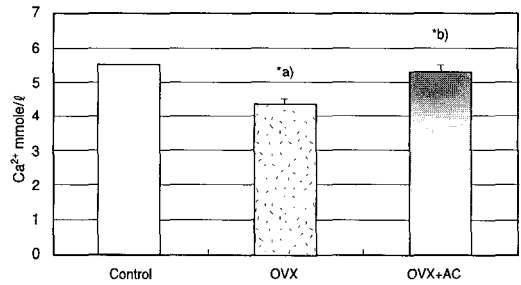


Fig. 2. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the serum calcium level in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : P < 0.05) OVX : ovariectomized group

3. 뇨중 칼슘 농도에 미치는 영향

정상 대조군의 뇨중 calcium 함량은 $37.3 \pm 2.0 \mu \text{ mole/day}$ 이었으나 난소 절제군은 $50.3 \pm 2.8 \mu \text{ mole/day}$ 로서 현저하게 증가되었다. 반면에 鼈甲 추

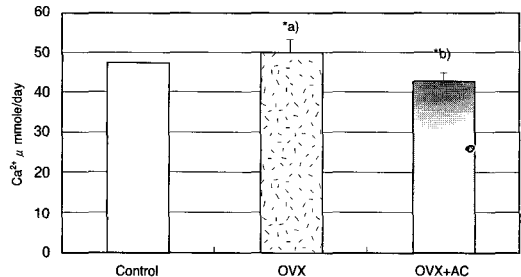


Fig. 3. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the urine calcium level in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : P < 0.05) OVX : ovariectomized group

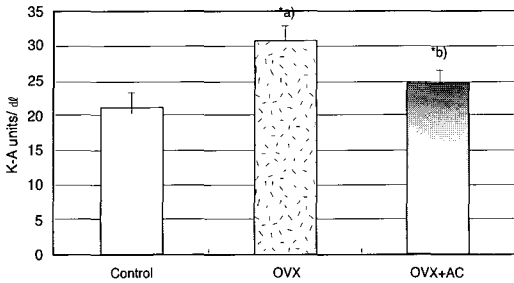


Fig. 4. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the serum alkaline phosphatase activity in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : P < 0.05) OVX : ovariectomized group

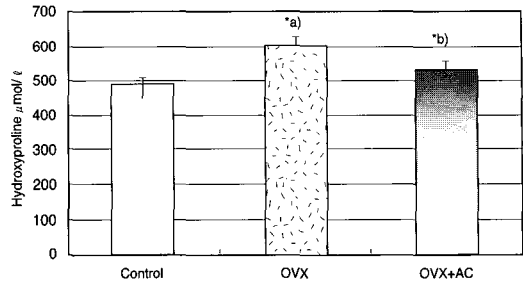


Fig. 6. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the urine hydroxyproline level in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : P < 0.05) OVX : ovariectomized group

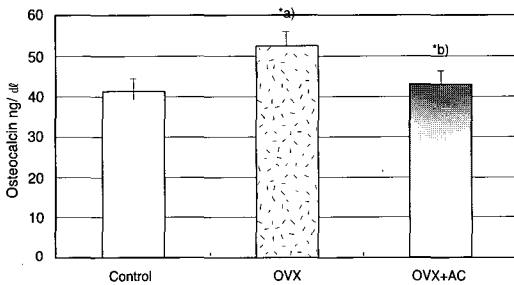


Fig. 5. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the serum osteocalcin level in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : P < 0.05) OVX : ovariectomized group

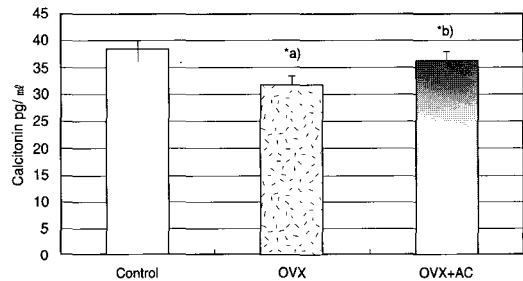


Fig. 7. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the serum calcitonin level in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : P < 0.05) OVX : ovariectomized group

g/dl이었으나 난소 절제군은 $52.6 \pm 3.4 \eta\text{g/dl}$ 로서 현저하게 증가되었다. 반면에 龜甲 추출물 투여군은 $43.1 \pm 3.2 \eta\text{g/dl}$ 로 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Fig. 5).

6. 뇨중 hydroxyproline 함량에 미치는 영향

정상 대조군의 뇨중 hydroxyproline 함량은 $490.3 \pm 20.4 \mu\text{mol/l}$ 이었으나 난소 절제군은 $602.9 \pm 28.7 \mu\text{mol/l}$ 로서 현저하게 증가되었다. 반면에 龜甲 추출물 투여군은 $533.1 \pm 26.2 \mu\text{mol/l}$ 로 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Fig. 6).

7. 혈중 calcitonin 함량에 미치는 영향

정상 대조군의 혈중 calcitonin 함량은 $38.3 \pm 1.6 \text{pg/ml}$ 이었으나 난소 절제군은 $31.7 \pm 1.6 \text{pg/ml}$ 로서 현저하게 감소되었다. 반면에 龜甲 추출물 투여군은 $36.2 \pm 1.5 \text{pg/ml}$ 로 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(Fig. 7).

8. 혈중 parathyroid hormone 함량에 미치는 영향

정상 대조군의 혈중 parathyroid hormone 함량은 $59.3 \pm 3.2 \text{pg/ml}$ 이었으나, 난소 절제군은 $72.4 \pm 3.4 \text{pg/ml}$ 로서 16% 정도 유의성 있게 증가하였다. 반면

에 龜甲 추출물 투여군은 $62.7 \pm 3.1 \text{ pg/ml}$ 로 난소 절제군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Fig. 8).

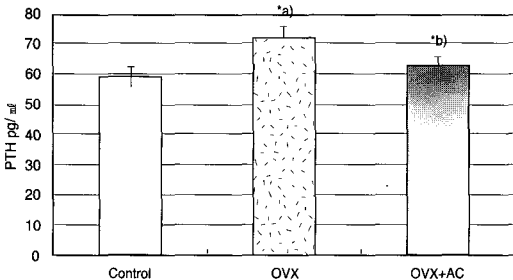


Fig. 8. Effect of the methanol extract of *Amydae Carapax* (AC) on the serum parathyroid hormone (PTH) level in ovariectomized rats. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from ovariectomized group (* : $P < 0.05$) OVX : ovariectomized group

考 察

뼈는 일생 동안 계속해서 파괴와 재형성을 반복하여 교체되는데, 1년 동안 골소주의 25%와 피질골의 3%가 교체된다²¹⁾. 골량의 정도를 나타내는 골밀도는 남녀 모두 30~35세에 최대로 높아지고 이후 5~10년부터 남자는 매년 0.3%씩, 여성은 폐경전까지 남자와 같은 비율이지만 폐경후에는 2.2~3%씩 손실된다¹⁾.

조직학적으로 골 바깥쪽을 피질골 또는 치밀골이라 하고 안쪽의 골조직은 소주골, 해면골 또는 망상골이라 한다. 이들 소주골은 조골세포와 파골세포의 조합에 의하여 그 용적이 유지되며 조골세포는 골형성시 골기질인 유골에 무기질을 유도하여 유골에 침착시키고 골이 두꺼워지면 골첨단부 바로 아래로 이동하여 자신이 만들어 내는 교원질 등의 기질에 둘러 쌓이게 되는데 결국은 calcium 침착과 함께 골세포로 변하게 된다²²⁾. 파골세포는 다핵세포로서 뼈의 아래쪽을 소화, 파괴하며, 조골세포의 활동에 영향을 받는다. 특징적으로 ruffled border라는 세포막을 가지

고 있어서 뼈의 표면에 붙고, 이곳으로 골흡수가 일어난다²³⁾.

연령 증가에 따른 체내 성호르몬 비의 불균형이나 기타 생리적 조건의 비정상화로 골의 흡수와 생성에 불균형이 초래될 경우, 뼈의 기능적·구조적 약화가 심해지게 되는데, 이로 인해서 사소한 충격에도 쉽게 골절이 된다. 골밀도의 감소를 줄이고 골형성을 촉진시키는 약제로는 여성 호르몬, calcitonin, bisphosphonate, anabolic steroid, 불소, 비타민 D, 부갑상선 호르몬 등이 있다²⁴⁾.

한의학에서 뼈는 “腎主骨而 生骨髓”, “腎之合骨也”라 하여, 腎臟이 뼈를 주관하고 骨髓를 생하며 腎臟이 精氣를 藏하고 骨髓는 精에서 生하므로 뼈이 腎臟에 合한다고 하였다⁴⁾. 素問 六節藏象論篇⁴⁾에 “腎者主蟄 封藏之本 精之處也 …… 其充在骨”이라 하여 腎臟의 기능이 충만해야 뼈이 충실해진다고 하였으며, 素問 脈要精微論篇⁴⁾에 “骨者髓之府 不能久立 行則振掉 骨將慙矣”라 하여 뼈의 병리상태에 관하여 기술하였다. 腎氣有熱하면 뼈이 乾枯하며 髓가 枯渴되므로 骨痿가 나타나고 腰背가 痠軟하여 直立하기 어렵고 下肢가 萎弱無力해져서 골절도 잘 일어난다. 腎臟의 陽氣가 부족하면 뼈이 寒冷하고 骨節이 攣痺하며 化生하지 못하고, 腎臟의 陰氣가 부족하면 뼈을 生養하지 못하니 髓가 充滿되지 못한다. 뼈은 髓之府이고, 髓는 腎에서 生하니 髓가 虛하면 뼈도 역시 虛해지므로 골격의 성장과 기능은 腎氣의 盛衰에 따라 결정된다고 할 수 있을 것이다. 김⁸⁾은 補腎法이 골형성을 증가시킨다고 보고하였다.

龜甲은 龜과에 속한 자라의 背甲을 건조한 것으로 味鹹 性平 無毒하며, 肝, 肺, 腎經으로 歸經한다. 성분은 동물성 교질, 銅, 칼슘, Vitamin D 등으로 구성되어 있으며, 滋陰潛陽 補肝腎陰 散結消痞하는 효능으로 勞瘦骨蒸, 腰痛, 筋骨痠軟, 脇下堅, 腹中痞積, 血癍 등에 응용되어 왔다^{4), 15)}.

저자는 龜甲의 補腎 효능과 동물성 교질, 칼슘, Vitamin D 등의 성분에 근거하여 골다공증의 치료에 효과가 있을 것이라 생각되어, 성적으로 성숙된 흰쥐

의 난소를 절제하여 estrogen 결핍으로 인한 골대사 장애를 유발시킨 다음 장기간 龜甲 추출물을 투여하였다.

골다공증 치료제인 estrogen은 골흡수를 억제하며 골량감을 방지한다. 사람에서는 estrone, 17 β -estradiol 및 estriol 등 3가지 estrogen이 만들어지며 폐경전 혈중 주요 estrogen인 estradiol은 대부분이 난포에서 생성되므로 폐경 전에 난소를 제거하면 혈중 estradiol은 급격히 감소된다²⁵⁻²⁸). Estrogen 함량을 관찰하였을 때 난소 절제군에서 감소되었으나 龜甲 추출물의 투여에 의해 유의성 있게 증가되었다. 이러한 실험 결과는 龜甲 추출물이 estrogen의 분비를 촉진시켜 골흡수를 억제시킴으로써 골량의 감소를 방지할 수 있을 것으로 사료된다.

뼈는 유기질 35%, 무기질 45%, 수분 20%로 이루어져 있으며, 유기질은 대부분 단백질이고, 무기질은 체내 칼슘의 99%, 체내 인의 90%가 함유되어 있다. 이들 중 혈청 칼슘과 phosphorus는 골대사의 지표가 될 수 있다^{29,30}). 칼슘 함량에 미치는 영향을 관찰하였을 때 난소 절제군에서 혈중 칼슘 함량은 현저하게 억제되고, 노중 칼슘 함량은 증가되었으나, 龜甲 추출물의 투여에 의해서 정상수준으로 회복되었다. 이러한 결과는 龜甲 추출물이 체내의 칼슘 함량을 증가시키므로 뼈의 칼슘 함량을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

Alkaline phosphatase (ALP)는 골아세포에서 무기인산염을 분비하여 골기질에 calcium phosphate 복합체가 침착되게 함으로써 골기질화에 관여하며, 골소실이 증가됨에 따라 증가되는 골교체를 반영하는 표지자이다. 또 다른 골교체 지표인 osteocalcin은 골기질의 비교원성 단백질 중 15~20%를 차지하며, 골조직에서만 발견된다. 골대사의 국소적 조절에 관여하는데, 골과 골아세포에서 주로 합성된 후 30%가 골기질과 결합하며 골교체에 따른 골량의 감소를 반영한다. 따라서, 혈중 ALP 활성 및 osteocalcin 함량은 골교체의 증가에 따른 골량 감소에 대한 표지자이다³¹). 혈중 ALP 활성 및 osteocalcin 함량에 미치는 영향을 관찰하였을 때 난소 절제군에서 증가하던 효소

활성과 osteocalcin 함량이 龜甲 추출물의 투여에 의해서 정상수준에 가깝게 감소되었다. 이러한 결과는 난소 절제 모델 동물에서 골교체율의 증가로 골량이 감소되지만 龜甲 추출물의 투여가 골량을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

Hydroxyproline은 골흡수의 표식자로서 collagen 대사의 산물이며 교원조직에만 존재하는 아미노산으로 collagen의 약 13%를 차지한다. 혈청 hydroxyproline 양은 미미하기 때문에 골대사의 민감한 지표가 될 수 없지만, Horseman 등³²)는 노중 hydroxyproline 배설량이 높은 사람들의 골손실 정도가 심하므로 골흡수의 지표가 될 수 있다고 하였다. 노중 hydroxyproline 함량을 관찰하였을 때 난소 절제군에서 유의성 있게 증가되었으나 龜甲 추출물의 투여에 의해서 감소되었다. 이러한 결과는 龜甲 추출물이 골손실을 억제하여 뼈의 구조적 강건을 유지시킬 수 있을 것으로 사료된다.

부갑상선 호르몬과 calcitonin은 체내 칼슘과 인의 항상성을 유지시킨다³³). 혈중 calcitonin과 부갑상선 호르몬 함량을 관찰하였을 때 난소 절제군에서 calcitonin은 감소되었으며, 부갑상선 호르몬은 증가되었으나 龜甲 추출물의 투여에 의해서 유의성 있게 정상수준으로 회복되었다. 이러한 실험 결과는 난소 절제로 유발된 부갑상선 호르몬 증가와 calcitonin 감소로 인한 칼슘대사 장애를 龜甲 추출물의 투여가 회복시킬 수 있을 것으로 사료된다.

이상의 모든 결과들을 종합하여 볼 때 龜甲 추출물은 골형성을 촉진시키고, 골흡수를 억제시킴으로써 골의 칼슘 함량을 정상화시켜 골량의 감소를 방지하는 효능이 있는 것으로 사료된다. 향후 계속적으로 관련된 실험을 행하여 그 작용양상과 기전을 구체적으로 확인할 계획이다.

結 論

龜甲이 골대사 장애에 활용될 수 있는지를 살펴보고자 성적으로 성숙된 흰쥐의 난소를 절제하여 estrogen 결핍으로 인한 골대사 장애를 유발시킨 모

델 동물에서 골대사와 관련된 인자와 효소 활성을 검토하였다. 난소 절제에 의해 감소되던 혈중 칼슘과 calcitonin, estrogen 함량이 龜甲 투여에 의해 유의성 있게 증가되었다. 혈중 alkaline phosphatase 활성, osteocalcin과 부갑상선 호르몬 함량 및 소변중 칼슘과 hydroxyproline 함량은 난소 절제에 의해 증가되었으나 龜甲 투여에 의해 감소되었다. 이러한 실험 결과는 龜甲이 골형성을 촉진시키고 골흡수를 억제시키는 작용을 통해 골다공증의 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Riggs BL, Melon LJ III. Evidence for two distinct syndromes of involuntional osteoporosis. *Am J Med.* 1983;75:899-901.
- 한인권, 박원근, 최태환, 신현대, 김선우. 한국인 갱년기 여성의 골밀도 및 호르몬 변화에 관한 연구. 대한내분비학회지. 1989;4(1):21-6.
- Takuo Fujita. Recent advances in osteoporosis. 대한내분비학회지. 1989;5(2):92-100.
- 홍원식 편. 精校黃帝內經素問. 서울: 동양의학연구원. 1981:19, 37, 88.
- 蔡新吉, 張燕, 黃世林. 腎虛證患者骨鐵物含量改變的初步探討. 中西醫結合雜誌. 1994;14(3):154-5.
- 丁桂芝, 周勇, 李榕. 補腎方劑對去勢大鼠骨代謝影響的實驗研究. 中國骨質疏松雜誌. 1996;2(2):25.
- 김미려, 양재하, 이인규, 권용준. 鹿茸 물 추출액이 난소절제 흰쥐의 골밀도에 미치는 영향. 한국노화학회지. 1998;8(1):1-7.
- 김한성, 홍무창. 성장기 백서의 골형성에 미치는 補腎湯, 平腎湯의 영향에 관한 연구. 동의생리학회지. 1997;12(1):19-27.
- 냉죽평. 牛膝이 흰쥐의 난소 적출로 유발한 골다공증에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문. 1994.
- 최연주. 續斷이 흰쥐의 난소 적출로 유발한 골다공증에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문. 1994.
- 오하식. 杜仲이 흰쥐의 난소 적출로 유발한 골다공증에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문. 1994.
- 심상도. 狗脊이 흰쥐의 난소 적출로 유발한 골다공증에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문. 1994.
- 김병철. 木瓜의 水煎劑가 estrogen 분비장애로 인한 골다공증에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문. 1994.
- 이상인. 本草學 1판. 서울: 의약사. 1975:137-8.
- 上海中醫學院. 中草藥學 2판. 香港: 商務印書館. 1983:586-7.
- 김동렬. 四物龜甲靑皮湯과 四物龜甲靑皮湯加味方의 항암작용과 면역반응에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1995;15(2):174-196.
- Vermuelen A, Verdonck L. Sex hormone concentration in postmenopausal women. *Clin Endocrinol.* 1978;9:59-66.
- Sarkar BC, Chauhan UPS. A multiple wavelength selector for a continuous spectrophotometric column monitoring system. *Anal biochem.* 1967;20:155.
- Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J Biol Chem.* 1946; 164:321.
- Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. A quick and specific assay hydroxyproline. *Anal biochem.* 1973;55:288.
- Kenneth L, Becker JB. Principles & Practice of Endocrinology & Metabolism. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott company. 1995:42.
- Ross MH, Romrell LJ, Kay GI Bone. Cell of bone tissue, Histology, A text and atlas. 3rd edition. Newyork: Williams & Wilkins. 1995:154-160.
- Kim IC. Current status of research and development in osteoporosis therapy. In: proceedings of international symposium on pharmaceutical sciences commemo-

- rating the 80th anniversary of modern pharmaceutical education in Korea. 1995:227-33.
24. 백윤기. 병리학. 서울:고문사. 1990:1177-86.
 25. Wronski TJ, Cintron M, Doherty AL, Dann LM. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinol.* 1988;123(2):681-6.
 26. Wronski TJ, Dann LM, Scott KS, Crooke LR. Endocrine and pharmacological suppressors of bone turnover protect against osteopenia in ovariectomized rats. *Endocrinol.* 1989;125(2):810-6.
 27. Yamamoto TT, Rodan GA. Direct effects of 17β -estradiol on trabecular bone in ovariectomized rats. USA. *Proc Natl Sci.* 1990;87:2172-6.
 28. Abe T, Chow JWM, Lean JM, Chambers TJ. Estrogen does not restore bone lost after ovariectomy in the rat. *J Bone Miner Res.* 1993;8(7):831-8.
 29. Reilly DT, Burstein AH. The mechanical properties of cortical bone. *J Bone Joint Surg.* 1974;56:1001.
 30. Adachi JD. The correlation of bone mineral density and biochemical markers to fracture risk. *Calcif Tissue Int.* 1996;59(1):S16.
 31. 장준섭. 골대사와 호르몬조절. 서울:최신의학. 1987:11, 30.
 32. Horman A, Gallagher JC, Simpsom M, Nordin BEC. Prospective trial of estrogen and calcium in postmenopausal women. *Br Med J.* 1977;2:789.
 33. Ausrin LA, Heath H, Go VLW. Regulation of calcitonin secretion in normal man by changes of serum calcium within the physiologic range. *J Clin invest.* 1979;64:1721.