

發芽 鼠目太의 추출방법별 인중합체 함량과 골형성 관련 유전자(HOS-TE85)의 활성화 연구

이석원 · 차윤엽*

삼지대학교 한의과대학 한방재활의학과

Study on the Benefits of Germinated Seed of Rhynchosia Volubilis on Osteosarcoma HOS-TE85 Related to Bone Morphogenesis and Effective Abstraction Research

Seok Won Lee, Yun Yeop Cha*

Department of Oriental Rehabilitation Medicine, Collage of Oriental Medicine, Sangji University

The aim of this study was to find out the effectiveness on germinated seed of Rhynchosia Volubilis for Female Bone Morphogenesis. For this purpose, We compared two methods. water extract and alcohol extract using germinated Rhynchosia Volubilis(GRV) according to germinating days were conducted to measure the polyphosphate contents and investigate HOS-TE85 propagation rate. Both water and alcohol extract two methods were not toxicant. And if not excessively treated, alcohol extract rate were more about 5~15 times than water extract rate. So usually water extract were better than alcohol extract. but in case of osteoporosis, alcohol extract were effective.

Key words : Rhynchosia Volubilis, Bone Morphogenesis, HOS-TE85

서 론

통계청 자료에 의하면 우리나라는 2000년에 접어들어 전체 인구의 약 7.2%가 65세 이상의 노년층이 차지하게 되는 고령화 사회로 진입하였고, 2020년에는 15.1%에 달할 것으로 추계되고 있다¹⁾. 노령인구가 증가함에 힘으로써 노인관련 질환도 증가하게 되었으며, 그 중 골다공증이 주요한 질병으로 대두하게 되었다. 골다공증이란 골량의 감소와 골의 미세구조 이상으로 골질에 대한 감수성이 증가하는 전신성골격질환으로서 대사성골질환 중 가장 흔한 질환이다²⁾. 현재 골다공증의 치료에 있어서 제일 먼저 고려해야 할 점은 지속적인 운동이고, 노인층의 식사에 있어서 충분한 양의 칼슘을 보충하는 것이 골량감소를 막는데 유리하다고 알려져 있다. 치료제로는 여성호르몬제, 비타민D 투여, 칼시토닌 등이 사용되나 여성호르몬제중 에스트로겐의 사용에서는 유방암, 자궁내막암등의 발생 빈도를 증가시킨다고 알려져 있다

³⁾. 따라서 안전하게 장시간 사용할 수 있는 새로운 치료수단의 개발이 요구되며, 유효성과 안정성의 면에서 한약재를 통한 치료제의 검색 및 유효물질의 개발이 필요하다고 사료된다.

골다공증과 관련하여 Fleisch는 인중합체가 골과 칼슘대사에 관련한다고 하였고⁴⁾, H.C.Schröder는 인중합체가 골 조직의 무기질화 과정에 관련있다고 하여⁵⁾, 인중합체가 골형성에 유효한 물질임을 알 수 있게 되었다. 인중합체(polyphosphate)는 수십 또는 수백 개의 orthophosphate가 phosphoanhydride결합으로 연결된 연쇄상의 인산중합체로서 식품의 수분 및 신선도유지, 육류의 색깔보존 및 치즈 등의 유가공식품에서는 유화제 등의 기능을 가지고 있어서 식품첨가제로 널리 사용되고 있다⁶⁾.

골다공증에 대한 연구는 한의학계에서도 꾸준히 진행되어 왔는데 李⁷⁾는 골다공증에 응용되는 接骨木, 麻子仁, 熟地黃 등의 수종의 약제가 골형성 관련 유전자인 BMP2의 발현에 미치는 영향에 대하여 보고하였고, 金⁸⁾의 연구에 의하면, 鹿茸, 鹿角, 大豆黃卷, 野菊花, 鼠目太, 발아한 鼠目太의 인중합체 함량을 분석한 결과 인중합체가 많은 鼠目太, 발아한 鼠目太, 野菊花, 大豆黃卷이 골형성 관련 유전자의 전사활성에도 활성증가를 보여 인중합체가 골형성에 유효하며, 이중 鼠目太는 BMP-4 gene(Bone

* 교신저자 : 차윤엽, 강원도 원주시 우산동 660 삼지대학교 부속한방병원

· E-mail : omdcha@sangji.ac.kr, · Tel : 033-741-9260

· 접수 : 2005/06/30 · 수정 : 2005/08/12 · 채택 : 2005/09/08

Morphogenetic Protein, BMP)의 전사활성의 증가를 보였으며, 특히 female세포인 HOS-TE85세포에서 鼠目太와 大豆黃卷 등 콩류가 전사활성 증가를 보였다고 보고한 바 있다. 또 金⁹⁾에서는 발아일수에 따른 서목태의 인중합체의 양과 골형성 관련유전자의 유전자활성에 대하여 보고하였다.

대두식품에는 이소플라본이 함유되어 있으며 특히 제네스테인과 다이드제인이 항암 효과와 항산화 효과가 있어 각종 만성 질환의 예방과 치료에 이용되어 왔다¹⁰⁾. 이에 본 연구에서는 콩류 중 높은 이소플라본을 함유한 것으로 알려진 鼠目太(쥐눈이콩)와 發芽된 鼠目太를 열수추출과 알코올추출 두 방법을 이용하여 골형성에 유효한 물질로 여겨지는 인중합체를 정량분석하여 비교하고 골세포인 HOS-TE85 세포증식율을 비교하여 골형성에 미치는 영향을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재료

1) Cell line

본 실험에는 HOS-TE85(human, female, osteosarcoma, Cat. #21543)세포주를 한국세포주은행에서 분양 받아서 사용했다.

2) 약제

(1) 열수 및 알코올 추출법

정선산 서목태를 발아시키지 않은 것과 1일, 2일, 3일 발아시켜 분쇄한 후, 1차 증류수 1ℓ를 집어넣어 2시간 동안 추출한 것과 80% 알코올 2ℓ를 집어넣어 초음파분쇄기를 사용하여 30분 동안 분쇄한 후 여과하여 여액을 감압농축 후 72시간 동안 동결 건조한 것을 시료로 사용하였다.

발아일수에 따른 서목태 회수율은 Table 1과 같다.

Table 1. Comparative results abstraction rate between water and alcohol in GSRV(germinated Seed of Rhynchosia Volubilis)

germinating day	water abstraction	alcohol abstraction
0 day	32.26%	9.12%
1 day	20.59%	4.78%
2 day	13.44%	2.72%
3 day	29.55%	2.55%

3) Primer

GAPDH(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), OTN(Osteonectin), MGP(Matrix Gla protein), COL1(Collagen type 1), BMP1A(bone morphogenic protein 1A), BMP2B(bone morphogenic protein 2B)를 사용하였다.

2. 방법

1) Cell culture

100mm 배양 접시 또는 T-75 배양 flask에 사람의 osteosarcoma 세포주인 HOS-TE85 세포주를 분주하고 배양 접시에 부착된 HOS-TE85 (human female)는 2g/ℓ sodium bicarbonate가 첨가된 RPMI 1640 배양배지를 사용하였다. 배양배지에는 페니실린 및 streptomycin이 함유된 1% antibacterial antifungal solution

(Gibco BRL, Co.)과 10% FBS(Gibco BRL, Co.), HEPES 6g/ℓ를 첨가하였다. 배양시 습도는 95%, 온도는 37℃를 유지하면서 5% CO₂를 계속 공급하였다. 배지는 7~10mℓ씩 주 2회 교체해 주었고, 주 1~2회 계대 배양(subculture)을 하였다.

2) Cell proliferation assay

배양한 HOS-TE85 세포를 96well plate 각 well에 1×10⁴ cells/well/100μℓ 로 배양을 하고 24시간 후 약물을 각 농도 (0, 0.1, 1, 10, 100, 1000, 10000μg/ml)의 한약제 추출물들을 처리하여 48시간동안 습도는 95% 온도는 37℃를 유지하면서 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양 종료 1시간 전에 빛을 차광하고 cell proliferation assay solution(CellTiter 96® AQueous Cell Proliferation Assay, Promega Co.)을 20μℓ/well을 처리한다. 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA reader 흡광도 490nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포증식율을 백분율로 환산하였다.

3) 발아 서목태 추출물내 인중합체(polyphosphate)함유량 측정

Test tube의 이물질들을 제거하기 위해서 6N HCl에서 24시간 동안 tube를 세척하였다. 그리고 증류수로 다시 세척을 한 후 건조시켰다. Tube에 각 한약제의 sample을 100μℓ넣고 60μℓ의 10% Mg(NO₃)₂·6H₂O를 첨가하였다. Tube를 알코올램프로 가열하고 Tube의 색이 갈색에서 투명색으로 변하고 sample의 색깔은 불투명액체에서 흰색의 분말로 변할 때까지 가열을 한다. polyP와 인의 가수분해를 위해 0.6mℓ의 0.5N HCl을 넣어주고 15분동안 water bath에 끓이고 바로 냉각한다. 1.4mℓ의 molybdenum-ascorbate reagent(0.42% ammonium molybdate in 1N H₂SO₄:10% ascorbic acid in dH₂O, 6:1, v/v)의 혼합액을 넣어주고 45℃에서 20분간 incubation을 한다. 그리고 흡광도 530/630의 spectrophotometer (Hewlett Packard, Co.)로 정량측정을 한다.

4) 통계분석

모든 결과는 평균값(mean ± standard error of mean,SEM)으로 나타내었다. 대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검정은 one-way ANOVA 검정을 적용하였으며 P값이 0.05 이하인 경우 유의한 것으로 하였다.

결 과

1. 발아 서목태 추출물내 인중합체 정량분석(OD530/630)

1) 발아서목태 추출물내 인중합체 OD530/630값 측정

서목태를 발아시키기에 따라 인중합체양을 OD530/630값으로 측정하여 전체 건조증량에 따른 인중합체의 전체 총량을 분석한 결과, 열수추출에서는 발아 1일에서 가장 많은 양을 나타냈고, 0일, 2일, 3일 순으로 인중합체가 검출되었다. 특히, 발아하지 않은 것과 2일, 3일 발아시켰을 때는 크게 차이가 없지만, 1일 발아시켰을 때에는 발아시키지 않은 서목태와 비교하였을 때 인중합체양이 약 300%이상 증가하는 것을 볼 수 있었다. 알코올추출에서는 1일 발아시켰을 경우 발아시키지 않은 서목태보다 50%가량 줄었으나 2일과 3일때에는 30%이상 증가한 것을 볼 수 있다. 전반적인 인중합체의 양은 알코올추출할때가 열수추출할때보다 평균 3배 이상 증가한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1, Table 2).

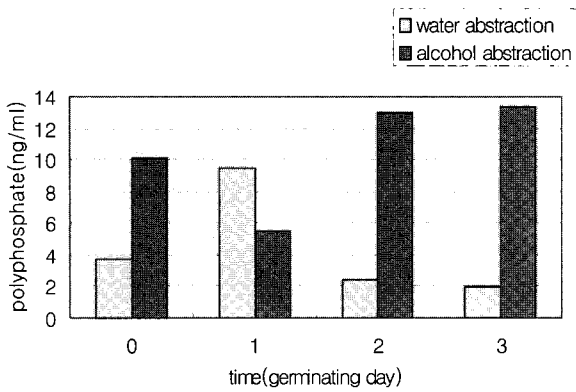


Fig. 1. Quantitative analysis of the polyphosphate in GSRV (germinated seed of Rhynchosia Volubilis) by the spectrophotometer

Table 2. Quantity of the polyphosphate in herbal medicine extracts by the spectrophotometer

herbal medicine	quantity(ng/ml)		herbal medicine	quantity(ng/ml)	
	water abstraction	alcohol abstraction		water abstraction	alcohol abstraction
0 day GSRV	3.711	10.061	2 day GSRV	2.403	12.979
1 day GSRV	9.467	5.447	3 day GSRV	1.949	13.311

2. 발아 일수에 따른 HOS-TE85세포의 세포증식능 측정

1) 발아시키지 않은 서목태를 열수 및 알코올 처리후 HOS-TE85세포의 세포증식능 측정

발아하지 않은 서목태를 처리한 HOS-TE85세포의 세포증식능은 열수 추출물에서 약 10%내의 세포증식능이 감소하여, 세포증식능에 거의 영향을 주지 않았으며, 항산화 효과를 볼 수 있는 과산화수소를 처리하여 세포증식능을 본 결과 대부분 유사한 수치를 나타내었지만, 1mg/ml를 처리하였을 경우 약 4%정도 증가하는 것을 볼 수 있었다. 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났다(Fig. 2). 알코올 추출물에서는 0ug/ml에서 100ug/ml로 처리하였을 경우에는 약 10%내로 세포증식능이 증가하여, 세포증식능에 거의 영향을 주지 않았으며, 1mg/ml로 처리하였을 경우에는 약 26%의 세포증식능이 감소하였다. 과산화수소를 1mg/ml을 처리 하였을 경우 약 30%정도 감소하는 것을 볼 수 있었다. 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났다(Fig. 2).

2) 1일 발아시킨 서목태를 열수 및 알코올 처리후 HOS-TE85세포의 세포증식능 측정

1일 발아시킨 서목태를 처리한 HOS-TE85세포의 세포증식능은 농도가 증가함에 따라 점차 세포증식능이 감소하였고, 1mg/ml에서 약 20%정도 세포증식능이 감소되었다. 과산화수소 1mg/ml을 처리 하였을 경우 약 5%정도 증가하는 것을 볼 수 있었다. 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났다(Fig. 3). 알코올을 처리물은 0.1ug/ml에서 10ug/ml까지는 세포증식능이 약 4%에서 7%까지 감소하였지만, 100ug/ml과 1mg/ml에서는 각각 2%, 3%가 증가하였다. 과산화수소 처리는 약 1%에서 4%까지 세포증

식능이 증가하였다. 1mg/ml에서는 약 7%정도 감소하였으며, 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났다(Fig. 3).

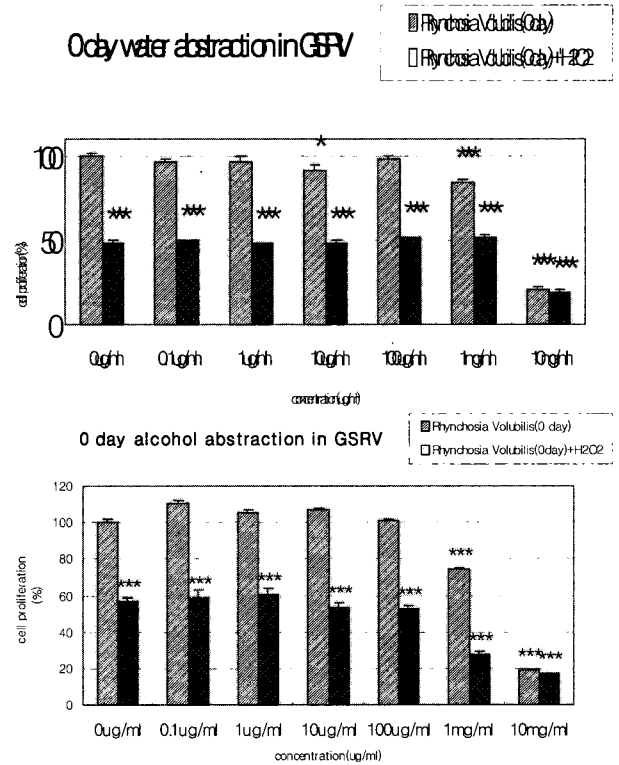


Fig. 2. Effect of water, alcohol extract of 0day germinating Glycine max in cell proliferation of HOS-TE85 The data was presented as mean ± S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 as compared to not treated control.

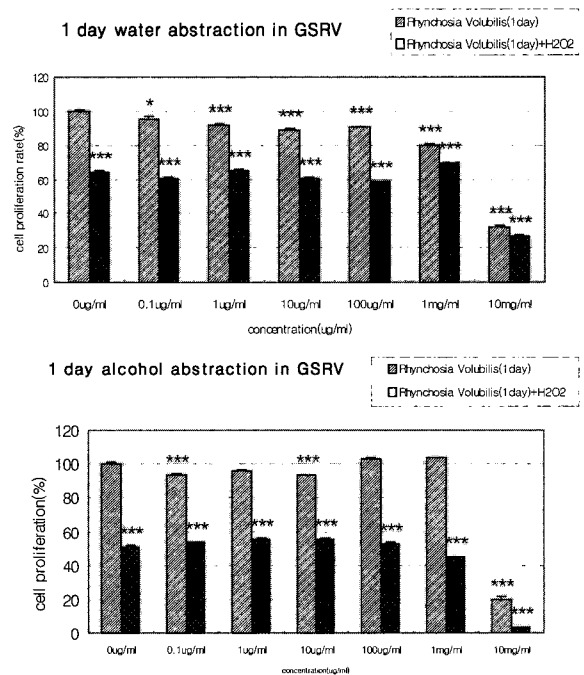


Fig. 3. Effect of water, alcohol extract of 1day germinating Glycine max in cell proliferation of HOS-TE85 The data was presented as mean ± S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 as compared to not treated control.

3) 2일 발아시킨 서목태를 열수 및 알코올 처리후 HOS-TE85세포의 세포증식능 측정

2일 발아시킨 서목태를 처리한 HOS-TE85세포의 세포증식능은 변화가 없거나 약 10%내의 세포증식능이 감소하여, 거의 세포증식능에 영향을 주지 않았으며, 항산화 효과를 볼 수 있는 과산화수소를 1mg/ml을 처리한 경우에는 control에 비하여 약 16%정도 항산화 효과가 증가함을 볼 수 있었다. 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났(Fig. 4). 알코올 처리물에서는 2일 발아시킨 서목태를 처리한 HOS-TE85세포의 세포증식능은 변화가 없거나 약 10%내의 세포증식능이 감소하여, 세포증식능에 거의 영향을 주지 않았으며, 항산화 효과를 볼 수 있는 과산화수소를 처리하여 세포증식능을 본 결과 0.1ug/ml에서 100ug/ml까지는 약 6%에서 9%까지 증가하였다. 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났(Fig. 4).

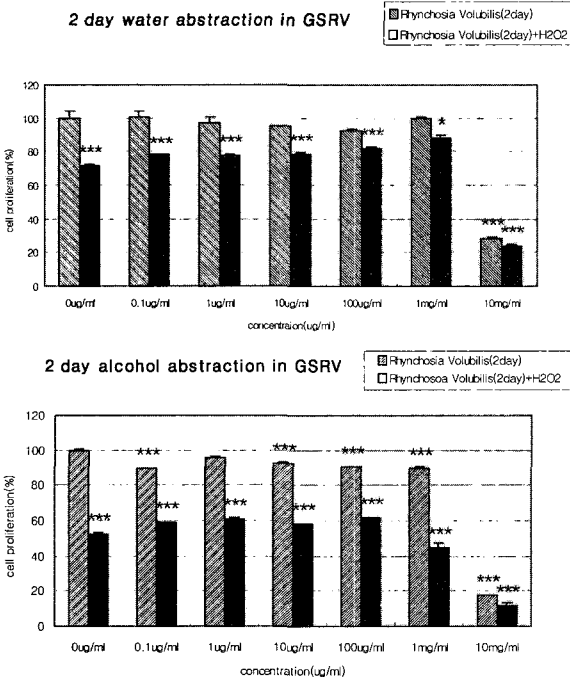


Fig. 4. Effect of water, alcohol extract of 2day germinating Glycine max in cell proliferation of HOS-TE85 The data was presented as mean ±S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 as compared to not treated control

4) 3일 발아시킨 서목태를 열수 및 알코올 처리후 HOS-TE85세포의 세포증식능측정

(1) 열수 추출물 처리

3일 발아시킨 서목태를 처리한 HOS-TE85세포의 세포증식능은 거의 변화가 없거나 약 10%내의 세포증식능이 감소하였으며 과산화수소를 100ug/ml을 처리한 경우에는 control에 비하여 약 11%정도 항산화 효과가 증가함을 볼 수 있었다. 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났(Fig. 5). 알코올 처리에서는 100ug/ml에서는 약 10%정도 세포증식능이 증가하였다. 과

산화수소 처리는 0.1ug/ml에서 약 3%, 10ug/ml에서 약 6%증가하였다. 서목태만 처리하였을 경우와 서목태와 과산화수소를 동시에 처리하였을 때, 1mg/ml에서는 30%세포증식율이 감소하였고, 10mg/ml에서는 세포 독성이 나타났(Fig. 5).

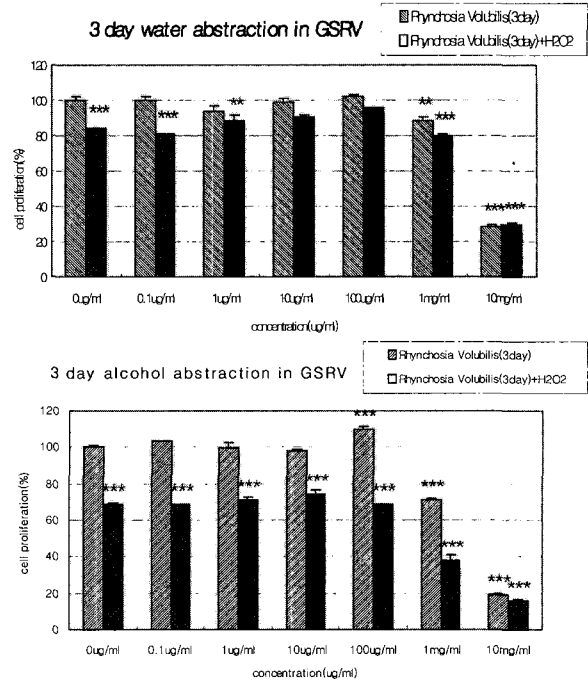


Fig. 5. Effect of water extract and alcohol extract of 3day germinating Glycine max in cell proliferation of HOS-TE85 The data was presented as mean ±S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 as compared to not treated control.

고찰

우리 몸은 약 200여개의 골로 구성되어 있으며, 내부의 중요臟器를 보호하고 근육 인대 등이 부착되어 원활한 운동이 가능하게 한다. 또한 造血機能 및 칼슘, 인산염 등 무기질을 많이 함유하고 있어서 무기질의 항상성에 중요한 역할을 하는 기관이며¹¹⁾, 골의 성장은 이미 형성된 골조직이 부분적으로 흡수되는 동시에 새로운 조직이 형성되어 일어난다. 이러한 과정을 거쳐 일정한 형태를 유지하는 데에는 부갑상선호르몬 칼시토닌 성장호르몬 성호르몬 등과 같은 호르몬의 영향과 비타민 운동 연령등 여러 가지 요인에 의해 영향을 받는다고 할 수 있다.

골다공증은 골량이 감소하고 골조직의 미세구조 결함으로 골의 취약성이 증가되며 골질의 위험성이 증가되는 질환¹²⁾으로 정의된다. 골다공증은 노령화에 따른 골격대사의 이상 또는 골격무기질 대사의 불균형에 의해 골질량(Bone mass)이 감소되고 골절빈도가 높아지는 것을 특징으로 하는 퇴행성 골격질환의 하나이다.

골세포의 대사는 골아세포(osteoblast), 골세포(osteocytes), 파골세포(osteoclast)의 상호작용으로 골형성과 골흡수의 평형으로 생리적 강도를 유지하는데 만일 골 흡수를 담당하는 파골세포의 작용이 강하거나 골 형성을 담당하는 골아세포의 작용이 저하된다면 골다공증이 발생하게 된다¹³⁾. 세포 수준에서 볼때는 골아세포(Osteoblast)의 활성 저하와 파골세포(Osteoclast)의 활

성 증진에 따른 골격대사의 불균형에 기인한다¹⁴⁾.

골다공증 치료제는 파골세포에 의한 골흡수를 억제하는 역할을 하므로 골흡수 억제제라고 불리우며, 대표적인 약제로는 estrogen, bisphosphonate, calcitonin 등이 있다¹⁵⁾.

Estrogen은 파골세포에 의한 골흡수를 감소시키고, 파골세포와 조골세포의 작용에 관여되는 cytokine 혹은 growth factor에 영향을 주며 칼슘의 대상에도 영향을 미치는 것으로 제시되고 있다. 이러한 기능을 갖고 있어 노인성 폐경에 따른 골다공증 치료에 가장 중요한 방법으로 자리 잡았으나, 자궁내막 증식증과 내막암의 발생을 막기 위해서 또 다른 호르몬인 프로게스테론의 투여가 필요하다. 또한 에스트로겐과 프로게스테론을 동시에 투여한 경우 유방암, 뇌졸중, 폐색전 등의 위험성이 위약군보다 높게 나타났다¹⁶⁾. Bisphosphonate는 Etidronate가 인간의 질환에 가장 처음 사용한 이래 칼슘 크리스탈의 형성과 용해를 억제하기 때문에 파골세포의 기능을 억제하기 위한 파제트병과 악성종양에 의한 고칼슘혈증을 치료하는데 사용되었다. 현재 골다공증 치료제로 Bisphosphonate 계열 중 가장 많이 사용되고 있는 alendronate의 임상연구를 보면 10mg용량에서 척추 골밀도가 첫째 6% 증가, 3년 치료 후 총 10%가 증가되었으며 대퇴골, 상완골, 총 골밀도 등의 결과 역시 긍정적으로 나타났으며 부작용으로 골연화증 오십 구토 설사 등의 위장관 장애 등을 일으킬 수 있으며 다량을 빨리 투여할 경우 신장기능 저하가 나타나기도 한다¹⁷⁾.

이와 같이 현재 주로 시판 중인 약제들은 거의 대부분들이 골흡수를 억제하는 약제들이다. 그러나 골다공증의 궁극적인 치료를 위해서는 골흡수 억제는 물론 골형성을 자극하는 약제들이 시급히 요구되는 실정이다.

골다공증은 만성질환으로 오랜 투약 기간 및 치료가 필요함에 따른 한약재 추출물에 의한 치료 및 예방이 더욱 유효성 및 안정성을 확보할 수 있으리라 보여지며, 한약재에 의한 골관절 질환 치료제의 검색 및 한약재내 유효물질의 개발이 매우 중요하리라 본다.

인중합체(polyphosphate)는 미생물뿐만 아니라 사람세포에도 상당량 존재하고 있으며 그 기능은 잘 알려져 있지 않지만 에너지 저장분자로 작용하고 항세균 및 항바이러스효과를 가지는데, 이것이 세포용해에 의해서가 아니라 세균의 형태 및 생리화학적 성질을 변화시킴으로써 나타나는 효과임이 밝혀졌다¹⁸⁾. Schröder에 따르면 인중합체는 proliferation phase, matrix maturation phase, mineralization phase, apoptosis phase에 관련된 다양한 물질들에 영향을 미친다고 나와 있다⁵⁾. 인중합체와 골형성과 관련된 연구를 종합해 보면, 인중합체는 조골세포양세포(osteoblast-like cells)에서 다량 발견되고 골조직의 무기질 과정의 조절과 관련이 있으며 골과 칼슘대사에 관여하며 골절시 골형성이 촉진되는 것으로 골유도 효과가 있으며 osteocalcin 발현량을 증가시킴으로 골화세포의 생성을 촉진시킬 수 있다는 것이다¹⁹⁾. 하지만 현재까지는 인중합체의 기전이 명확하게 알려진 바는 없으며 단지 골대사에 중요한 역할을 하고 있다는 것만이 추측되어지고 있다. 따라서 한약재내에서 인중합체의 정량을 분석하고 골형성과 관련된 실험을 통하여 인중합체 함량과의 상관

성을 비교하는 것이 필요하다고 사료된다.

서목태는 쌍떡잎 식물 장미목 콩과의 *Rhynchosia Volubilis Lour*의 성숙한 종자이며, 약성이 탁월하여 약콩, 쥐눈이콩, 여두 녹팥이라고 불리며 어느 식품보다 해독성이 탁월하고 섬유질이 많아 장의 활성화에 기여하며 中焦를 고르게 하고 氣를 내리며, 脈이 막힌 것을 통하게 한다고 하였고²⁰⁾, 박²¹⁾은 서목태 전탕액이 XO/HX에 의하여 유발된 산소 자유기에 대하여 LDH량, ALP량을 조사한 결과 항산화 효과가 있다는 것을 보여주었으며, 서²²⁾는 쥐눈이콩의 부위별 이화학적 특성 및 항산화·효과에 대해서 발표하였다. 서목태에는 isoflavone이 매우 풍부하게 함유되어 있어서 식이를 통하여 체내에 흡수되면 천연 여성호르몬과 같은 작용을 함으로써 여성들의 폐경기 이후의 호르몬 결핍으로 인한 골다공증에 널리 이용되고 있다²³⁾.

본 실험에서는 발아시기에 따른 인중합체 함량과 열수추출과 알코올추출간의 HOS-TE85 세포증식능을 비교해 보았다. HOS-TE85 세포주는 골모세포의 특징을 유지하고 있는 여성의 골종양 세포주이며, 남성의 골모세포로는 MG-63세포주가 많이 쓰이고 이에 대한 연구가 진행되었다²⁴⁾.

발아서목태를 발아시기에 따라 인중합체양을 OD530/630 값으로 측정하여 전체 건조중량에 따른 인중합체의 전체 총량을 분석한 결과 열수추출인 경우 발아 1일에서 가장 많은 양(9.467ng/ml)을 나타냈고, 0일(3.711ng/ml), 2일(2.403ng/ml), 3일(1.949ng/ml)순으로 인중합체가 검출되었다. 특히 발아하지 않은 것과 2일 3일 발아시켰을 때는 크게 차이가 없지만 1일 발아시켰을 때에는 발아시키지 않은 서목태와 비교하였을 때 인중합체양이 약 300%이상 증가하는 것을 볼 수 있다. 알코올추출에서는 0일 1일에 비하여 2일 3일때 인중합체의 양이 더 많았다. 0일(10.061ng/ml)이었고 1일(5.447ng/ml)에서 줄었으나, 2일(12.979ng/ml)과 3일(13.311ng/ml)에서는 30%가량 증가하는 것을 볼 수 있다. 전반적인 인중합체양은 알코올추출 때가 열수추출 할 때 보다 평균 3배가량 더 많이 검출되었다.

HOS-TE85 세포주의 세포증식능을 평가한 결과 열수추출에서는 0일 2일 3일에서는 거의 변화가 없거나 약 10%내의 세포증식능이 감소하였으며 발아 1일에서만 농도가 증가함에 따라 점차 세포증식능이 감소하며 1mg/ml에서 약 20%정도 세포증식능이 감소되었다. 항산화 효과를 볼 수 있는 과산화수소를 처리하여 세포 증식능을 본 결과 대부분 유사한 수치를 나타내었지만 1mg/ml을 처리하였을 경우 발아 0일 1일에서 약 4~5%정도 증가하였고, 발아 2일에서는 16% 증가 발아 3일에서는 100ug/ml을 처리하였을 때 11% 항산화 효과가 증가하였다. 알코올 추출시에는 0일 1일 3일에서는 대부분 소폭증가하거나 비슷한 수준을 보였지만 발아 2일에서는 농도가 증가함에 따라 전부 감소를 보였다. 또 발아 0일과 3일에서는 1mg/ml처리시에 30%가량의 세포증식능이 감소되었다. 항산화효과를 보기 위한 과산화수소 처리시에는 1일 2일 3일 모두 10%정도의 증가를 보였다. 이로 보아서 서목태가 항산화 효과가 있는 것으로 나타남에 따라 다양한 실험을 통해서 발아 서목태의 다른 기능을 알아보는 것도 좋을 것으로 사료된다.

향후 인중합체가 많이 함유된 1일 발아된 열수추출 서목태와 2일 3일 발아된 서목태를 이용하여 생체실험이나 골형성 유전자, 골흡수 유전자와의 비교실험이 필요하다고 사료된다.

결 론

열수추출과 알코올추출법 두 방법을 이용하여 발아하지 않은 서목태와 발아 서목태를 발아 일수에 따라 인중합체 함량을 정량 분석하여 비교하고, 골모세포인 HOS-TE85 세포의 증식량을 통하여 골형성에 미치는 영향을 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

인중합체를 spectrophotometer(OD530/630)로 측정하여 평균한 결과, 열수추출에서는 1일 발아시켰을 경우 발아시키지 않은 서목태와 비교하여 인중합체량이 약 300% 이상 증가하는 것을 볼 수 있었다. 알코올추출시에는 2일, 3일 발아한 서목태가 발아시키지 않은 서목태보다 30%가량 증가하였다. 전반적인 인중합체의 양은 알코올 추출때가 열수추출때보다 약 3배가량 증가한 것을 볼 수 있었다. HOS-TE85세포의 세포증식능을 평가한 결과, 열수추출인 경우와 알코올추출인 경우 모두 농도증가에 따른 큰 변화가 없었으나, 과산화수소 처리시에는 농도의 증가에 따라 세포증식능이 증가하였다. 모두 10mg/ml이내에서는 독성을 보이지 않았다.

향후 서목태의 다양한 추출법과 발아일수에 따른 인중합체 함량 및 골형성 유전자에 대한 추가적인 실험이 필요하다고 생각된다.

참고문헌

- 통계청. 장래인구추계결과. 2001.
- 김영일. 지역사회에서 주폐경기 여성의 골다공증 위험인자와 치료에 관한 연구. 인제대학교 대학원. 박사학위논문. 1, 2001.
- 민현기. 골다공증치료의 기본개념. 대한내분비학회지 4(1):1-3, 1989.
- Fleisch, H. From polyphosphates to bisphosphates and their role in bone and calcium metabolism. Prog Mol Subcell Bio 23, 197-216, 1999.
- Schröder, H.C. Polyphosphate in Bone. Moscow. Biochemistry 5(3):301, 2000.
- 지희윤, 김순영. Polyphosphate의 진균성장억제작용에 관한 연구. 대한미생물학회지 29(2):104, 2001.
- 이진혁. 골다공증에 응용되는 수종의 약물에 의한 Bone Morphogenesis Protein-2 발현에 관한 연구. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 30-1, 2000.
- 김영신. 수종 한약재의 인중합체 함량과 골형성 관련 유전자의 활성에 대한 연구. 상지대학교 대학원 박사학위논문. 34, 2003.
- 김진연. 발아 서목태가 골육종세포 중 HOS-TE85의 골형성에 미치는 영향. 상지대학교 대학원 석사학위논문. 7, 2004.
- 모수비 외. 식사요법. 교문사. p 477, 2002.
- 대한병리학회. 대구·경북지부학회. 간추린 병리학. 서울, 정문각. p 452, 1998.
- 대한내분비학회. 내분비학. 서울, 고려의학. p 1269, 1999.
- 김희진 외. 폐경기골다공증에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회 11(2):131-148, 1998.
- Anserson, J.J.B., Garner, S.C. Phytoestrogens and Bone. Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism 12, 543-557, 1998.
- 강무일. 골다공증의 최근 동향. 대한내분비학회 연수강좌. pp 123-135, 1998.
- 정호연. 골다공증의 치료. 대한내분비학회 연수강좌. pp 25-36, 2000.
- 한기욱. 골다공증증 치료의 다제 병합요법. 대한내분비학회 연수강좌. pp 47-53, 2000.
- Choi, I.S., Park, B.L., Kim, H.Y., Shin, J.W., Choi, E.G. Antibacterial effect of polyphosphates on porphyromonas gingivalis. J Korea Soc Microbiol 34, 285, 1999.
- Leyhausen, G., Lorenz, B., Zhu, H., Geurtsen, W., Bohnensack, R., Muller, W.E., Schröder, H.C. Inorganic polyphosphate in human osteoblast-like cells. J Bone Miner Res 13(5):803-812, 1998.
- 신미경, 한성희. 서목태추출물이 고지방 및 고콜레스테롤 식이급여 흰쥐의 지질농도에 미치는 영향. 한국식품과학회지 17(1):64-69, 2002.
- 박철. 서목태 전탕액이 XO/HX에 의해 손상된 골아세포에 미치는 효과. 원광대학교 대학원. 석사학위논문. 30, 2001.
- 서재훈 외. 정선산 쥐눈이콩의 부위별 이화학적 특성 및 항산화효과. 한국식품과학회지. 35, 2, 309-15, 2003.
- 최윤 외. 이소플라본 섭취 수준이 폐경기와 폐경후 여성의 혈청내 지질 패턴과 Total Antioxidant Status에 미치는 영향. 한국영양학회지 34(3):322-329, 2001.
- Clover, J., Gowen, M. Are MG-63 and HOS TE85 human osteosarcoma cell lines representative models of the osteoblastic phenotype. Bone 15(6):585-591, 1994.