

身痛逐瘀湯이 卵巢摘出 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響

원광대학교 한의과대학 부인과학교실

박재웅, 심호철, 김송백, 유심근

ABSTRACT

Effects of Sintongchukeatang on the Ovariectomized Rat Model of Postmenopausal Osteoporosis

Jae-Woong Park, Ho-Cherl Sim, Song-Baeg Kim, Sim-Keun Yoo

Department of Gynecology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Purpose : this study is to examine what are the effects of the Sintongchukeatang(SCT) on the ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis.

Methods : 12weeks Female Sprague-Dawley 30 rats of weighting 250-300g, were divided into three groups including the sham operation groups(10heads) and overiectomy groups(10heads). then we observed changes in the body weight, serum metabolic products and femoral trabecular bone.

Results :

1. The level of serum ALP activity in control group showed significant increase in comparison with sham, but that in SCT-treated was significantly decreased in comparison with control.
2. The level of serum GOT in control group showed no change in comparison with sham, but that in SCT-treated was significantly decreased in comparison with control. The level of serum GPT did not significant change among the three groups.
3. The level of serum estrogen in control group showed slightly decreased in comparison with sham, but that in SCT-treated showed no change in comparison with control.
4. Trabecular bone area as well as trabecular thickness in control group showed significant decrease in comparison with sham. Those in SCT-treated showed significant increase in comparison with control.
5. Trabecular separation only in SCT-treated showed significant decrease in comparison with control.
6. Osteoclast number and oseoblast surface in control group showed significant increase in comparison with sham. Those in SCT-treated showed significant decrease in comparison with control.

Conclusion : SCT has shown to be capable of preventing and curing osteoporosis caused by old-aged and postmenopause.

Key Words : Sintongchukeatang(SCT), postmenopause, Osteoporosis

I. 緒論

骨多孔症은 가장 흔한 代謝性 疾患의 하나로서 骨粗鬆症, 骨質疏松 등으로도 불리우며¹⁻⁵⁾, 동일 年齡과 性別의 正常人에 比하여 骨量이 顯著히 減少된 狀態를 말하고^{6,7)}, 臨牀的으로는 骨折의 存在, 組織形態學的으로는 單位 容積당 骨基質의 減少, 生化學的으로는 骨의 強度 減少, 力學的으로는 骨折의 危險度 增加狀態 등으로 定義할 수 있다⁸⁾.

骨多孔症은 크게 原發性과 續發性으로 나눌 수 있으며, 原發性 骨多孔症은 다시 type I의 閉經後 骨多孔症과 type II의 老年性 骨多孔症으로 分類할 수 있는데, 西洋醫學의 概念이므로 病名을 韓醫學 文獻에서는 찾아볼 수 없으나 病因과 臨牀樣相으로 보아 “骨痿”^{3,9)}, “骨痺”¹⁰⁾와 類似하다고 할 수 있다.

韓醫學에서는 腎의 精氣가 모이는 곳이 骨이라 하여 骨의 生長, 發育, 強弱, 衰弱 등은 腎機能의 盛衰와 密接한 관계가 있어 骨의 生理와 病理는 직접 腎의 主宰를 받는다고 인식하고 있다^{11,12)}.

이와 같은 腎과 骨의 關係에 對한 認識을 기본으로 骨多孔症의 治療에 있어서 補腎法을 根幹으로 “滋陰壯骨”, “助補肝腎”, “溫補脾腎”, “溫陽壯骨”, “補腎壯陽”, “滋陰補腎” 등의 治療法이 주로 使用되고 있으며¹³⁾, 그 외에도 “健脾益氣”, “氣血雙補”, “利氣活血”의 治療法도 사용된다¹²⁾.

최근 國內 韓의학계에서도 骨多孔症에 對한 實驗的 研究가 활발히 이루어지고 있다. 研究에 選擇된 藥材를 살펴보면 單味藥材로는 大補元煎¹⁴⁾, 毓麟珠¹⁵⁾, 當歸地黃飲¹⁶⁾ 등이 있다.

身痛逐瘀湯은 清代 王의 《醫林改錯》¹⁷⁾에 “凡肩痛, 臂痛, 腰疼, 或周身疼痛, 總名曰痺症……, 治痺症何難. 古方頗多, 如古方治之不效, 用身痛逐瘀湯.” 이라고 最初로 收錄된 이래 痺證으로 인한 肩臂痛, 腰痛, 全身痛 등의 治療에 사용되어 온 處方으로, 金 등¹⁸⁾은 endotoxin으로 誘發된 白鼠의 血栓症에 身痛逐瘀湯을 投與한 結果 유의한 抗血栓效果가 있다고 報告하였으며, 孫 등¹⁹⁾은 身痛逐瘀湯 및 身痛逐瘀湯加味方이 흰쥐의 carrageenin 誘發 關節炎에 對하여 關節溫度 減少, 浮腫 抑制, 鎮痛, 血中 白血球 減少效果가 있다고 報告하였고, 柳²⁰⁾는 身痛逐瘀湯이 抗炎, 鎮痛, 血管擴張, 抗血栓 등의 效果가 있다고 報告한 바 있다.

著者は 骨多孔症과 韓醫學의 痺證의 一種인 骨痺가 類似한 概念이며, 身痛逐瘀湯이 痺證의 治療에 사용된 處方으로 骨의 新生을 담당하고 있는 骨芽細胞의 酸化的 損傷에 保護效果를 나타냈다는 報告를 接하고 身痛逐瘀湯이 骨多孔症에 有意한 效果를 가지고 있을 것으로 생각되어 白鼠의 卵巢摘出로 誘發된 type I의 骨多孔症 模型에 身痛逐瘀湯을 投與하여 血清中の 代謝產物과 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 형태 계측학적 變化를 觀察하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

(1) 動物

骨多孔症을 誘發하는 動物模型은 여러 가지가 알려져 있으며 이 研究에서는 閉經期 以後의 type I 骨多孔症의 模型으로 白鼠의 卵巢摘出 模型을 利用하였다. 本 研究의 type I 骨多孔症 動物模型은

한국화학연구소에서 분양받은 生後 12주 된 體重 250-300 g 정도의 Sprague-Dawley계 암컷 白鼠를 使用하였다. Entobar(한림제약) 25 mg/kg을 腹腔內로 注射하여 全身麻酔시킨 다음, 하복부의 털을 제거하고, 포타딘액(삼일제약)으로 手術部位를 消毒한 후, 無菌操作下에서 兩側 卵巢摘出 手術을 施行하였고, 抗生劑로 펜브렉스(동아제약) 0.3 ml를 腹腔內 注入하여 感染을 防止하였다.

實驗群은 3群으로 나누었으며 各 群은 10마리씩 배정하여 모두 30마리를 使用하였다. 各 群은 開腹手術만을 施行한 sham群(sham operated group), 開腹手術을 하여 兩側 卵巢를 除去하고 saline을 투여한 對照群 및 兩側 卵巢를 除去하고 身痛逐瘀湯을 投與한 身痛逐瘀湯(SCT) 投與群으로 나누었다.

(2) 藥物

本 實驗에 使用된 藥材들은 圓光大學 校 韓醫科大學 益山韓方病院에서 購入하여 良質의 것을 精選해서 使用하였으며 그 處方의 構成은 王의 《醫林改錯》¹⁷⁾에 準하였고, 1貼의 構成과 內容은 다음과 같다.

Prescription of Sintongchukeatang(SCT)

韓藥名	生藥名	重量(g)
秦 芩	Radix Gentianae Macrophyllae	4
川 芎	Rhizoma Cnidii	8
桃 仁	Semen Persicae	12
紅 花	Flos Carthami	12
甘 草	Radix Glycyrrhizae	8
羌 活	Radix Osterici Koreani	4
沒 藥	Myrrha	8
當 歸	Radix Angelicae Gigantis	12
五靈脂	Faeces Trogopterorum	8
香附子	Rhizoma Cyperi	4
牛 膝	Radix Achyranthis	12
地 龍	Lumbricus	8
Total amount		100

(3) 檢液의 製造 및 投與

身痛逐瘀湯 10貼 分量 1000 g을 증류수 4,760 ml와 함께 환저플라스크에 넣고 冷却器를 附着하여 3時間동안 電熱器로 煎湯한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하고 진공 농축기로 감압, 농축한 후 凍結乾燥器에서 24시간 凍結乾燥하여 건조액기스 50 g을 製造하였다.

Sham群과 對照群에는 體重 100 g당 생리식염수 0.5 ml를, 身痛逐瘀湯投與群(10 mg/ml)은 白鼠의 體重 100 g당 0.5 ml를 1일 1회 7주간 經口投與하였다.

2. 方法

(1) 體重 測定

卵巢摘出 直前과 卵巢摘出 후 7주째 되는 날 전자저울을 使用하여 測定하였다.

(2) 採血 및 組織標本 製作

실험이 종료된 후 白鼠를 마취시켜 心臟에서 採血하였다. 血液은 4℃에서 1시간 방치한 후 냉동원심분리기를 利用하여 3,000 rpm에서 15분간 遠心分離시켜 血清을 分離하여 血清中 여러 代謝產物 測定에 利用하였다.

組織標本을 제작하기 위하여 희생시킨 白鼠의 大腿骨 주위의 軟部組織을 外科用 칼과 가위로 제거한 후 大腿骨을 10% formalin 용액에 12시간 동안 고정시켰다. 切取한 뼈를 脫灰하기 위하여 formic acid-formalin 方法으로 10일간 脫灰한 후 4시간 동안 수도물에 水洗하고 통상적인 組織標本 製作 方法에 의하여 파라핀으로 包埋하여 5 μm 두께로 切斷한 후 hematoxylin-eosin (H & E) 염색을 施行하여 觀察하였다.

(3) 血清中 代謝産物 測定

1) 血清中 albumin 測定

血清中 albumin의 測定을 위한 시약으로 embiel(주식회사 엠비엘, 한국)을 사용하였고, 器機는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

2) 血清中 alkaline phosphatase (ALP) 活性度 測定

血清中 alkaline phosphatase 活性度 測定을 위한 試藥으로는 자동분석기용 ALP 測定用 試藥(아산제약, 한국)을 사용하였고, 器機는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

3) 血清中 phosphorus 測定

血清中 phosphorus의 測定을 위한 試藥으로는 자동분석기용 phosphorus 測定用 試藥(아산제약, 한국)을 사용하였고, 器機는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

4) 血清中 calcium 測定

血清中 calcium의 測定을 위한 試藥으로 칼슘-HR II kit(Wako pure chemical industries, Ltd., Japan)를 사용하였고, 器機는 Hitachi 747(Automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

5) 血清中 GOT, GPT 測定

血清中 GOT와 GPT活性度 測定을 위한 試藥으로는 자동분석기용 트랜스 아미나제-HR II(아산제약, 한국)을 사용하였고 器機는 Hitachi 747(automatic chemistry analyzer, Tokyo Japan)을 사용하였다.

6) 血清中 estradiol(E2) 測定

血清中 estradiol(E2) 함량은 Immunochem coated tube estradiol-17 beta kit(ICN Biomedical, Inc., USA)를 이용하여

radioimmunoassay법에 따라 測定하였으며 Gamma counter(Packard, Auto Gamma 5550)를 이용하여 測定하였다.

(4) 大腿骨 組織의 映像分析

Image analyzer system(BMI plus)을 이용하여 기본적으로 H & E 염색된 組織의 slide를 직접 이용하여 骨多孔症에 의한 骨小柱의 소실정도를 映像分析을 통하여 형태계측학적으로 분석하였다. 형태계측학적 검사로 定量的 영상분석기의 digitalizer로 각 骨小柱의 외곽선을 따라 컴퓨터 화면에서 영상의 면적을 자동으로 계산하여 이를 骨小柱의 면적(trabecular bone area)으로 구하였다. 각각의 大腿骨의 近位部에서 成長板의 직하부의 부분중에서 가로변의 길이가 성장판의 길이의 약 2/3 정도되는 길이로 하는 기준면적 0.196304×10^6 ($n=7$) μm^2 인 직사각형 내부의 모든 骨小柱들을 개별적으로 면적을 구한 다음 骨小柱의 개수를 곱하여 骨小柱의 총면적을 구하였으며 trabecular thickness와 trabecular separation도 위와 같은 방법으로 구하였다. 또한 trabecular number, osteoclast number, 및 osteoblast surface를 測定하였다.

(5) 統計學的 分析

자료의 통계적 처리는 SPSS를 이용하여 두 군간의 비교는 student t-test, 세 군간의 비교는 ANOVA를 이용하였으며, 통계적 유의수준은 P value가 0.05 이하로 하였다.

III. 實驗成績

1. 體重의 變動

卵巢摘出 7週 후의 平均體重은 sham群이 255 g인 반면 對照群은 285 g으로 有意性있는 增加를 보였다($P < 0.05$). 身痛逐瘀湯 投與群은 對照群에 比하여 有意한 差異는 보이지 않았다(Table I).

Table I. Effect of SCT on the body weight (gram) of ovariectomized rats

Groups	No.of Animals	First day	After 7 weeks
Sham(n=10)	10	230	255
Control(n=10)	10	235	285*
SCT(n=10)	10	235	280

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

: Statistical significance as compared with sham group(: P<0.05).

2. 血清 成分의 變動

(1) 血清中 albumin 含量의 變動

血清中 albumin의 含量은 對照群이 3.72±0.39 (g/dl)로 sham群의 4.71±0.43 (g/dl)보다 有意하게 減少하였다(P

<0.01). 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 3.51±0.41 (g/dl)로 對照群에 比하여 약간 減少하였으나 유의성은 없었다(Table II).

Table II. Effect of SCT on the albumin level of ovariectomized rats

Groups	Albumin (g/dl)
Sham (n=10)	4.71 ± 0.43
Control (n=10)	3.72 ± 0.39**
SCT (n=10)	3.51 ± 0.41

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

: Statistical significance as compared with sham group(: P<0.01).

(2) 血清中 alkaline phosphatase 活性度의 變動

血清中 alkaline phosphatase의 活性度는 對照群이 351.48±36.84 (IU/L)로 sham群의 176.94±32.78 (IU/L)보다 有意

한 增加를 보였으며(P<0.001), 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 204.52±43.08 (IU/L)으로 對照群에 比하여 유의한 減少를 보였다(P<0.05)(Table III).

Table III. Effect of SCT on the alkaline phosphatase activity of ovariectomized rats

Groups	Alkaline phosphatase activity (IU/L)
Sham (n=10)	176.94 ± 32.78
Control (n=10)	351.48 ± 36.84***
SCT (n=10)	204.52 ± 43.78 [#]

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

: Statistical significance as compared with sham group(: P<0.001).

[#]: Statistical significance as compared with control group(*: P<0.05).

(3) 血清中 phosphorus 含量의 變動

血清中 phosphorus의 含量은 對照群이 6.93±1.08 (mg/dl)로 sham群의 6.52±0.94 (mg/dl)와 有意한 차이를 보이

지 않았으며, 身痛逐瘀湯 投與群에서는 6.81±1.07 (mg/dl)로 對照群과 有意한 差異를 보이지 않았다(Table IV).

Table IV. Effect of SCT on the phosphorus level of ovariectomized rats

Groups	Phosphorus (mg/dl)
Sham (n=10)	6.52 ± 0.94
Control (n=10)	6.93 ± 1.08
SCT (n=10)	6.81 ± 1.07

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

(4) 血清中 calcium 含量的 變動

血清中 calcium의 測定値는 對照群인 경우는 12.22±0.69 (mg/dl)로 sham群의 11.26±0.72 (mg/dl)과 有意한 差異를 보

이지 않았으며 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 12.94±0.63 (mg/dl)로 對照群에 比하여 有意한 차이를 보이지 않았다 (Table V).

Table V. Effect of SCT on the calcium level of ovariectomized rats

Groups	Calcium (mg/dl)
Sham (n=10)	11.26 ± 0.72
Control (n=10)	12.22 ± 0.69
SCT (n=10)	12.94 ± 0.63

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

(5) 血清中 GOT, GPT 含量的 變動

血清中 GOT 測定値는 對照群인 경우는 284.3±24.8 (IU/l)로 sham群의 271.4±21.4 (IU/l)와 有意한 差異를 보이지 않았으며 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 225.1±14.5 (IU/l)로 對照群에

比하여 有意한 減少를 보였다(p < 0.05)(Table VI). 血清中 GPT 測定値는 對照群의 54.1±5.9 (IU/l), sham群의 51.4±4.3 (IU/l), 身痛逐瘀湯 群의 55.9±5.3 (IU/l)으로 各 群間에 有意한 差異를 보이지 않았다(Table VII).

Table VI. Effect of SCT on the GOT level of ovariectomized rats

Groups	GOT(IU/l)
Sham (n=10)	271.4±21.4
Control (n=10)	284.3±24.8
SCT (n=10)	225.1±14.5 [#]

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

[#]: Statistical significance as compared with control group[#]: P<0.05).

Table VII. Effect of SCT on the GPT level of ovariectomized rats

Groups	GPT(IU/l)
Sham (n=10)	51.4 ± 4.3
Control (n=10)	54.1 ± 5.9
SCT (n=10)	55.9 ± 5.3

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

(6) 血清中 Estradiol(E₂) 含量的變動
 血清中 estradiol(E₂) 測定値는 對照群
 인 경우는 45.8±4.15 (ng/ml)로 sham群
 의 48.1±4.72 (ng/ml)에 比하여 약간 減

少하였으나 統計上의 有意性은 없었으
 며, 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서
 46.9±4.91 (ng/ml)로 對照群에 比하여
 별다른 變化가 없었다(Table VIII).

Table VIII. Effect of SCT on the Estradiol(E₂) level of ovariectomized rats

Groups	estradiol(E ₂)(ng/ml)
Sham (n=10)	48.1 ± 4.72
Control (n=10)	45.8 ± 4.15
SCT (n=10)	46.9 ± 4.91

Values are Mean ± Standard Deviation.
 Control: Ovariectomized, administration of saline.

3. 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 變化

있으며 對照群에서는 34.32±6.3%로 유의
 한 減少를 보였으며(P<0.001), 身痛逐瘀
 湯 投與群에서는 45.48±5.9%로 對照群에
 比하여 有意한 增加를 보였다(P
 <0.05)(Table IX).

(1) Trabecular bone area의 變化

大腿骨 近位 骨端部 1 mm 하방에서
 의 骨小柱의 면적(trabecular bone area)
 비율변화는 sham群에서는 59.14±9.1%이

Table IX. Effect of SCT on the trabecular bone area (%) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular bone area (%)
Sham (n=10)	59.14 ± 9.1
Control (n=10)	34.32 ± 6.3***
SCT (n=10)	45.48 ± 5.9 [#]

Values are Mean ± Standard Deviation.
 Control: Ovariectomized, administration of saline.
 * : Statistical significance as compared with sham group(*: P<0.001).
[#]: Statistical significance as compared with control group([#]: P<0.05).

(2) Trabecular thickness의 變化

大腿骨 近位 骨端部 1 mm 하방에서의
 骨小柱의 두께(trabecular thickness)의 변
 화는 sham群에서는 102.53±8.1 μm이었으
 며 對照群에서는 48.29±6.1 μm로 有意한

減少를 보였으며(P<0.001), 身痛逐瘀湯 投
 與群에서는 69.54±5.9 μm로 對照群에 比하
 여 有意한 增加를 보였다(P<0.001)(Table
 X).

Table X. Effect of SCT on the trabecular thickness (μm) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular thickness (μm)
Sham (n=10)	102.53 ± 8.1
Control (n=10)	48.29 ± 6.1***
SCT (n=10)	69.54 ± 5.9 ^{###}

Values are Mean ± Standard Deviation.
 Control: Ovariectomized, administration of saline.
 * : Statistical significance as compared with sham group(*: P<0.001).
[#]: Statistical significance as compared with control group(^{###}: P<0.001).

(3) Trabecular number의 變化

大腿骨 近位 骨端部 1 mm 하방에서의 骨小柱의 數(trabecular number)의 變化는 sham群에서는 6.28±0.8이었으며 對照群에

서는 5.87±1.6으로 有意한 差異는 보이지 않았으며, 身痛逐瘀湯 投與群에서도 5.78±0.8로 對照群과 유의한 差이는 보이지 않았다(Table XI).

Table XI. Effect of SCT on the trabecular number (No/mm) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular number (No/mm)
Sham (n=10)	6.28 ± 0.8
Control (n=10)	5.87 ± 1.6
SCT (n=10)	5.78 ± 0.8

Values are Mean ± Standard Deviation.
Control: Ovariectomized, administration of saline.

(4) Trabecular separation의 變化

大腿骨 近位 骨端部 1 mm 하방에서의 骨小柱의 間격(trabecular separation)의 變化는 sham群에서는 121.42±19.6 μm이었으며 對照群에서는 162.89±43.7 μm로 약간

增加하였으나 유의성은 없었다. 身痛逐瘀湯 投與群에서는 110.54±21.4 μm로 對照群에 比하여 유의한 減少를 보였다(P < 0.05)(Table XII).

Table XII. Effect of SCT on the trabecular separation (μm) of the ovariectomized rats

Groups	Trabecular separation (μm)
Sham (n=10)	121.42 ± 19.6
Control (n=10)	162.89 ± 43.7
SCT (n=10)	110.54 ± 21.4 [#]

Values are Mean ± Standard Deviation.
Control: Ovariectomized, administration of saline.
[#]: Statistical significance as compared with control group[#]: P<0.05).

(5) Osteoclast number의 變化

大腿骨 近位 骨端部 1 mm 하방에서의 骨小柱에서의 osteoclast의 수는 단위 mm당 sham群에서는 0.78±0.3이었으며 對照群에서는 2.21±0.5로 有意한 增加를

觀察하였다(P < 0.001). 身痛逐瘀湯 投與群에서는 1.02±0.4로 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다(P<0.01)(Table X III).

Table XIII Effect of SCT on the osteoclast number (No/mm) of the ovariectomized rats

Groups	Osteoclast number (No/mm)
Sham (n=10)	0.78 ± 0.3
Control (n=10)	2.21 ± 0.5 ^{***}
SCT(n=10)	1.02 ± 0.4 ^{##}

Values are Mean ± Standard Deviation.
Control: Ovariectomized, administration of saline.
^{*}: Statistical significance as compared with sham group(^{***}: P<0.001).
[#]: Statistical significance as compared with control group(^{##}: P<0.01).

(6) Osteoblast surface의 變化

大腿骨 近位 骨端部 1 mm 하방에서

의 骨小柱에서의 osteoblast surface는 sham群에서는 6.24±3.6%이었으며 對照

群에서는 16.91±5.5%로 유의한 증가를 관찰하였다(P<0.001). 身痛逐瘀湯 投與群에서는 11.48±4.5%로 對照群에 比하여 유의한 減少를 보였다(P<0.05)(Table X IV).

Table XIV. Effect of SCT on the osteoblast surface (%) of the ovariectomized rats

Groups	Osteoblast surface (%)
Sham (n=10)	6.24 ± 3.6
Control (n=10)	16.91 ± 5.5***
SCT (n=10)	11.48 ± 4.5 [#]

Values are Mean ± Standard Deviation.

Control: Ovariectomized, administration of saline.

Statistical significance as compared with sham group("": P<0.001).

Statistical significance as compared with control group([#]: P<0.05).

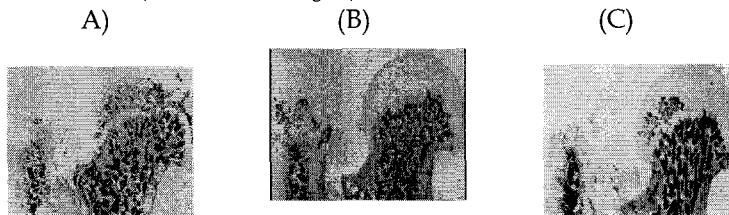


Fig. 1. Schematic representation of the proximal femur including the femoral head and neck.

(A) sham-operated group, (B) control group, and (C) SCT group (H & E staining, ×5).



Fig. 2. The sample area within the femoral neck for measurement of trabecular bone variables is depicted by the black lines. It begins 1 mm distal to the growth plate (GP) and extends nearly to the junction of the femoral neck and greater trochanter (GT).

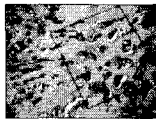


Fig. 3. Schematic representation of the trabecular bone area, thickness, number, and separation in sham-operated group (magnification, ×25). Trabeculae were well developed.

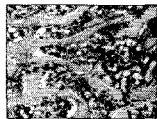


Fig. 4. Schematic representation of the trabecular bone area, thickness, number, and separation in control group (magnification, ×25). Trabeculae were disappeared and showed widening of marrow spaces.



Fig. 5. Schematic representation of the trabecular bone area, thickness, number, and separation in SCT group (magnification, ×25). Trabeculae were developed, but trabeculae were slightly decreased compared to that in the sham-group.

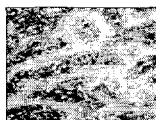


Fig. 6. Schematic representation of the osteoclast number (No/mm) in sham-operated group (magnification, ×200).



Fig. 7. Schematic representation of the osteoblast surface (%) in sham-operated group (magnification, $\times 25$).

IV. 考察

代謝性骨疾患 중 가장 많은 骨多孔症은 “뼈가 質的으로는 正常的이나 量的으로 缺乏된 狀態”로 記述됐으며 最近에는 “骨質量이 減少되어 骨折의 危險이 높은 것”으로 定意된다^{7,8)}.

骨多孔症으로 인하여 脊椎骨의 骨折이 發生하면 허리가 굽어지게 되고 키가 작아지며, 大腿骨 頸部 즉 股關節의 骨折이 發生하게 되면 20%는 死亡하고, 40%는 누워서 一生을 보내야 하며, 20%는 남의 도움이 있어야 일상생활을 할 수 있게 되므로 個人的, 家族的, 經濟的, 社會的인 문제를 가져오게 된다²¹⁾.

1993年 세계 골다공증학회에 報告된 바에 의하면 가장 危險한 因子는 閉經期 이후의 백인 및 아시아 女性이면서 마른 體格의 女性과 家族歷이 있는 사람으로 꼽았으며, 一般的으로 男性이 더 많은 骨量을 갖는 반면 骨消失은 女性에 비해 적기 때문에 女性이 骨多孔症에 걸릴 확률은 男性의 6배정도로 높다고 알려져 있다²¹⁾.

閉經 후 骨多孔症이 나타나는 機轉은 아직 확실치 않으나 卵巢에서 estrogen의 分泌가 減少할 때 破骨細胞에 의한 骨吸收의 增加가 하나의 原因으로 추측되고 있으며²²⁾, 閉經後 매년 총 骨量의 1-3% 정도가 損失되며 數年後에는 骨折의 危險도가 2배 이상 增加한다고 알려져 있다²³⁾.

腎이 주관하고 腎의 精氣가 모이는 곳이 바로 骨로서 서로 密接한 關係를 形成한다고 認識하고 있다. 腎은 精을 藏하고

精은 髓를 生하며 髓는 骨을 養하고, 髓가 骨中에 所藏되어 있기 때문에 骨髓라고 부른다. 그러므로 腎精이 充足하면 骨髓가 豊富해지고 骨格도 生長하고 堅實해진다고 할 수 있다²⁴⁾.

이러한 腎과 骨의 關係에 대하여 《素問·宣明五氣篇》, 《素問·陰陽應象大論》, 《素問·上古天真論》, 《素問·逆調論》, 《素問·脈要精微論》²⁵⁾ 《靈樞·經脈篇》²⁶⁾ 등의 문헌에서 확인 할 수 있다.

骨多孔症은 西洋醫學의 概念이므로 病名을 韓醫學 文獻에서는 찾아볼 수 없으나 病因과 臨床樣相으로 보아 “骨痺”¹⁰⁾와 類似하다고 할 수 있다.

“骨痺”는 《素問·痺論》²⁵⁾에 “五臟皆有合, 病久而不去者, 內舍於其合也. 故骨痺不已, 復感外邪 內會於腎.”, “腎痺者, 善脹尻以代踵, 脊以代頭.”, 《素問·長刺節論》²⁵⁾에 “病在骨, 骨重不可舉, 骨髓酸痛, 寒氣至, 名曰骨痺.”라고 하여 骨髓酸痛을 骨痺라고 하였으며, 또 그 원인에 대해서도, 《素問·痺論》²⁵⁾에서는 “風寒濕三氣雜之, 合而爲痺也”, “以冬遇此者爲骨痺, 以春遇此者爲筋痺, 以夏遇此者爲脈痺, 以至陰遇此者爲肌痺, 以秋遇此者爲皮痺”라고 하여 風寒濕邪가 痺를 發生시키며 또한 發生하는 部位와 病이 發病되는 時期에 따라 五痺(骨痺, 筋痺, 脈痺, 肌痺, 皮痺)로 分類하였고, 骨痺는 이의 하나로 겨울에 發病하는 特徵이 있다고 하였으나, 《聖濟總錄》에서는 骨痺가 天癸虧損으로 인한 腎氣不長에 기인하여 形成된다고 하여 現代醫學의 閉經期後 骨多孔症과 근사한 發生概念으로 설명하였다²⁷⁾.

韓醫學에서는 이와 같은 認識을 기본으로 骨多孔症의 治療에 있어서 補腎法을 根幹으로 “滋陰壯骨”, “助補肝腎”, “溫補脾腎”, “溫陽壯骨”, “補腎壯陽”, “滋陰補腎” 등의 治療法이 주로 使用되고 있으며¹³⁾ 그 외에도 “健脾益氣”, “氣血雙補”, “利氣活血”의 治療法도 사용된다¹²⁾.

身痛逐瘀湯은 清代 王의 《醫林改錯》¹⁷⁾에 “凡肩痛, 臂痛, 腰疼, 或周身疼痛, 總名曰痺症. 治痺症何難. 古方頗多, 如古方治之无效, 用身痛逐瘀湯.” 이라고 最初로 收錄된 이래 痺證으로 인한 肩臂痛, 腰痛, 全身痛 등의 治療에 사용되어 온 處方이다²⁸⁻³⁰⁾.

處方 構成藥物을 살펴보면 秦艽 一錢, 川芎 二錢, 桃仁 三錢, 紅花 三錢, 甘草 二錢, 羌活 一錢, 沒藥 二錢, 當歸 三錢, 五靈脂 二錢, 香附子 二錢, 牛膝 三錢, 地龍 二錢으로 이루어져 있다.

以上을 藥물은 活血化瘀, 通絡止痛, 祛風濕의 效능을 가지고 있어 瘀血이 동반된 痺症의 治療에 適合한 處方으로 思料된다.

著者는 骨多孔症은 韓醫學의 痺證의 一種인 骨痺가 類似한 概念으로서 그 治療法으로 補腎法이 주로 使用되고 있으나 利氣活血의 治法도 使用되고 있으며, 身痛逐瘀湯이 痺證의 治療에 使用된 處方으로 骨의 新生을 담당하고 있는 骨芽細胞의 酸化的 損傷에 保護效능을 나타냈다는 報告를 接하고 身痛逐瘀湯이 骨多孔症에 有意한 效능을 가지고 있을 것으로 思料되었다.

이에 著者는 活血化瘀, 通絡止痛의 效능이 있는 身痛逐瘀湯이 骨多孔症에 미치는 治療機轉을 實驗의 方法으로 究明하고자 煎湯液을 卵巢摘出로 誘發된 type I 閉經 후

骨多孔症 模型의 白鼠에 經口 投與하고 血清中의 代謝産物과 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 變化를 觀察하였다.

實驗 結果를 살펴보면, 먼저 體重의 變動은 對照群이 sham群에 比하여 顯著한 增加를 하였다. 卵巢切除術후 體重은 增加한다고 한다고 알려져 있다³¹⁻³⁵⁾.

本 實驗에서 身痛逐瘀湯 投與群과 對照群에 있어서는 有意性있는 體重의 變化가 없었다(Table I). 이는 흰쥐의 個體差異가 크기 때문이라고 思料되며 身痛逐瘀湯이 卵巢를 摘出した 흰쥐에 對하여 estrogen과 같은 體重增加 抑制效능이 있다고는 期待할 수 없었다.

血清 albumin은 分子量이 67,000인 蛋白質로서 주로 肝에서 合成되어 循環血流로 分泌되지만 組織間液이나 皮膚, 筋肉 등에도 分布하여 生體의 全身의 環境에 따라 서로 移行되고 있다. Albumin은 全身의 組織, 細胞의 營養蛋白質의 보급원으로서 有用하지만 Ca, P, S 등 電解質, 甲狀腺 호르몬, 脂肪酸, bilirubin, vitamin, 藥物 등 各種 成分을 結合·運搬하여 必要한 것을 細胞로 運搬하고 不必要한 것을 除去하는 役割을 擔當하고 있으며 특히 albumin의 減少는 合成材料(蛋白質이나 아미노산) 不足이나 合成機能 低下로 發生하며 이로 인하여 諸般機能이 떨어지게 된다⁵⁶⁾. 血清中 albumin의 含量은 對照群이 3.72±0.39 (g/dl)로 sham群의 4.71±0.43 (g/dl)보다 有意하게 減少하였으나 (p<0.01), 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 3.51±0.41 (g/dl)로 對照群에 比하여 若干 減少하였으나 有意性은 없었다(Table II).

血清中 alkaline phosphatase의 活性度는 對照群이 351.48±36.84 (IU/L)로

sham群의 176.94 ± 32.78 (IU/L)보다 有意性있는 增加를 보여주고 있으며 ($p < 0.001$) 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 204.52 ± 43.08 (IU/L)으로 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다($p < 0.05$)(Table III). 이러한 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서 ALP의 有意한 減少는 身痛逐瘀湯이 骨代謝에 關하여 뚜렷한 作用을 하고 있음을 시사하지만 이것이 骨吸收를 抑制하여 나타나는 效果인지는 명확하지 않으며 이에 關한 추가적인 研究가 필요할 것으로 思料된다.

血清中 phosphorus의 含量은 對照群이 6.93 ± 1.08 (mg/dl)로 sham群의 6.52 ± 0.94 (mg/dl)와 有意한 차이를 보이지 않았으며, 身痛逐瘀湯 投與群에서는 6.81 ± 1.07 (mg/dl)로 對照群과 有意한 差異를 보이지 않았다(Table IV).

本 實驗에서 血清中 calcium의 測定値는 對照群인 境遇는 12.22 ± 0.69 (mg/dl)로 sham群의 11.26 ± 0.72 (mg/dl)과 有意한 差異를 보이지 않고 있으며 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 12.94 ± 0.63 (mg/dl)로 對照群에 比하여 有意한 차이를 보이지 않았다(Table V).

卵巢摘出 白鼠의 血清 ALP의 增加가 骨에서 유래한 것인지 肝膽道系에서 유래한 것인지 알아보고, 身痛逐瘀湯은 어떠한 影響을 미치는 지 觀察하기 위하여 血清中 GOT와 GPT를 측정하였다. 血清中 GOT 測定値는 對照群인 경우 284.3 ± 24.8 (IU/l)로 sham群의 271.4 ± 21.4 (IU/l)와 有意한 차이를 보이지 않았으며 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서는 225.1 ± 14.5 (IU/l)로 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다($p < 0.05$)(Table VI). 血清中 GPT 測定値는

對照群의 54.1 ± 5.9 (IU/l), sham群이 51.4 ± 4.3 (IU/l), 身痛逐瘀湯 投與群이 55.9 ± 5.3 (IU/l)로 各 군간에 有意한 差異를 보이지 않았다(Table VII). 이 結果는 卵巢切除 白鼠의 血清 total ALP의 增加가 肝膽道系에서 유래한 것이 아님을 시사하며, 또한 身痛逐瘀湯은 肝에 對한 保護作用을 나타내는 것으로 思料된다.

血清中 estradiol(E₂) 測定値는 對照群인 경우는 45.8 ± 4.15 (ng/ml)로 sham群의 48.1 ± 4.72 (ng/ml)에 比하여 약간 減少하였으나 統計上의 有意性은 없었으며, 身痛逐瘀湯 投與群에 있어서 46.9 ± 4.91 (ng/ml)로 對照群에 比하여 별다른 變化가 없었다 (Table VIII). 이는 卵巢切除후 血清 estrogen이 顯著하게 減少하였다고 報告한 研究들³⁶⁻³⁸)과는 差異를 보이는 結果로 追加의인 研究가 必要할 것으로 思料된다.

骨多孔症 환자에 있어 骨皮質(cortical bone)이 얇아지고 骨小柱(trabecula)의 수량과 크기가 減少되어 骨의 弱화를 일으킨다³⁹). 이에 身痛逐瘀湯의 骨多孔症 豫防 및 治療效果의 檢證의 또 다른 方法으로 骨의 變形을 脫灰化, 즉, 骨의 hematoxyline과 eosin染色을 利用한 組織 檢査를 施行하여 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 變化를 觀察하였다(Fig.1, 2). 大腿骨 近位 骨端部 1 mm 下方에서의 骨小柱의 面積(trabecular bone area) 比率變化는 sham群에서는 $59.14 \pm 9.1\%$ 로 나타난 反面, 對照群에서는 $34.32 \pm 6.3\%$ 로 有意한 減少를 보였으며($p < 0.001$) 身痛逐瘀湯 投與群에서는 $45.48 \pm 5.9\%$ 로 對照群에 比하여 有意한 增加를 보였다($p < 0.05$)(Table IX). 骨小柱 두께(trabecular

thickness)의 변화 역시 sham群 (102.53±8.1μm)에 비해 對照群(48.29±6.1)은 有意한 減少를 보였으며(p<0.001) 身痛逐瘀湯 投與群(69.54±5.9)은 有意한 增加를 보임(p<0.001)으로 骨小柱 面積 比率變化와 同一한 結果를 얻었다(Table X, Fig. 3, 4, 5). 이는 白鼠에서 卵巢를 除去하면 骨質量(bone mass)과 骨強度(bone strength)가 顯著하게 減少한다는 여러 報告와 一致한 結果를 보인 것으로 Durbridge 등⁴⁰⁾은 흰쥐에서 卵巢 切除術을 施行하여 骨小柱 容積이 有意하게 減少되었음을 報告한 바 있다. 지금까지 骨多孔症으로 因한 骨折의 危險度를 豫測할 수 있는 가장 正確한 方法은 骨密度를 測定하는 것으로 Black⁴¹⁾ 등은 骨多孔症에 因한 骨折을 豫測하는데 骨密度 測定은 매우 큰 도움을 주는 檢査라고 報告하였다. 이 報告에서 骨小柱의 消失들을 分析할 수 있는 映像 分析機를 利用한 形態 計測學的 研究를 施行하여 老化 및 閉經으로 因한 骨多孔症에서 나타난 骨吸收 增加로 因한 骨密度 低下現象을 身痛逐瘀湯 投與로 增加된 骨密度를 確認함으로 身痛逐瘀湯의 骨多孔症 豫防 및 治療效果를 보여 주었다.

그러나, 骨小柱의 數(trabecular number)의 變化는 sham群(6.28±0.8)에 비해 對照群(5.87±1.6), 身痛逐瘀湯 投與群(5.78±0.8)은 對照群과 有意한 差異를 觀察하지 못하였으며(Table XI), 骨小柱의 間隔(trabecular separation)은 對照群(162.89±43.7μm)에서는 sham群(121.42±19.6μm)에 비해 若干의 增加를 보였으나 有意한 差異는 觀察되지 않았고 身痛逐瘀湯 投與群(110.54±21.4μm)에서는 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다

(p<0.05)(Table XII, Fig. 3, 4, 5).

骨小柱에서의 osteoclast의 數는 sham群(0.78±0.3)에 비해 對照群(2.21±0.5)은 有意한 增加를 나타내었고(p<0.001) 身痛逐瘀湯 投與群에서는 1.02±0.4로 觀察되어 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다(P<0.01)(Table XIII Fig. 6). 또한 osteoblast surface는 sham群(6.24±3.6%)에 비해 對照群(16.91±5.5%)은 有意한 增加를 보인 反面 身痛逐瘀湯 投與群(11.48±4.5%)은 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다(Table XIV Fig. 7).

以上の 研究結果를 볼 때 身痛逐瘀湯 抽出物의 生化學的 成分이나 主 效能因子들이 아직 밝혀지지 않았으나 血清中 alkaline phosphatase 活性度의 減少, 骨端部 骨小柱의 面積比率 및 骨小柱의 두께의 增加, 骨小柱의 分離 減少, 破骨細胞의 減少, 骨芽細胞 面積의 減少 등을 觀察하였으며, 身痛逐瘀湯 抽出液이 type I 骨多孔症에 有效한 作用을 가지고 있어 臨床에 活用할 수 있을 것으로 思料된다.

V. 結論

한의학에서 痺證에 응용하는 身痛逐瘀湯의 骨多孔症에 미치는 영향을 알아보기 위해 卵巢摘出로 誘發된 type I 骨多孔症에 身痛逐瘀湯을 투여하고 白鼠의 體重의 變動, 血清成分의 變動, 大腿骨頸部의 強度, 大腿骨 近位 骨端部 骨小柱의 變化를 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 血清中 ALP의 活性度は 對照群이 sham群에 비해 有意하게 增加한 反面 身痛逐瘀湯 投與群은 對照群에 比

해 有意한 減少를 보였다.

2. 血清中 GOT의 測定値는 對照群이 sham群에 비해 有意한 差異를 보이지 않았으며 身痛逐瘀湯 投與群은 對照群에 비해 有意한 減少를 보였다. 血清中 GPT의 測定値는 각 群간에 有意한 差異를 보이지 않았다.
3. 血清中 Estradiol(E₂)의 測定値는 對照群이 sham群에 비해 若干 減少하였으나 有意性은 없었으며, 身痛逐瘀湯 投與群은 對照群에 비해 별다른 變化가 없었다.
4. 大腿骨 近位 骨端部 1 mm 下方에서의 骨小柱 面積 比率과 두께의 變化는 對照群이 sham群에 비해 有意한 減少를 보였고 身痛逐瘀湯 投與群에서는 對照群에 비하여 有意한 增加를 보였다.
5. 大腿骨 近位 骨端部 1 mm 下方에서의 骨小柱 間隔變化는 對照群이 sham群에 비해 增加하였으나 有意性은 없었으며 身痛逐瘀湯 投與群은 對照群에 비해 有意한 減少를 보였다.
6. 大腿骨 近位 骨端部 1 mm 下方에서의 骨小柱의 破骨細胞의 數와 骨芽細胞 面積은 對照群이 sham群에 비해 有意하게 增加한 反面 身痛逐瘀湯 投與群은 對照群에 비해 有意한 減少를 보였다.

以上の 實驗結果는 卵巢摘出로 誘發된 type I 骨多孔症 白鼠에서 身痛逐瘀湯 投與 후 alkaline phosphatase 活性度の 減少, 骨小柱의 面積比率 및 骨小柱의 두께의 增加, 骨小柱의 分離 減少, 破骨細胞의 減少, 骨芽細胞面積의 減少를 나타내므로 老化 및 閉經期 후 女性의

estrogen 缺乏에 의한 骨多孔症의 豫防 및 治療에 임상적으로 應用될 수 있을 것으로 思料된다.

□ 투 고 일 : 2005년 07월 29일

□ 심 사 일 : 2005년 08월 01일

□ 심사완료일 : 2005년 08월 10일

參考文獻

1. 朱麟祥, 老年性骨質疏松從腎論治, 山東中醫雜誌, 1991; 10(2); 12-13.
2. 巫君玉, 白永波, 現代難治病中醫診斷學, 北京: 中醫古籍出版社 1993; 512-514.
3. 盧心宇, 辨證治療老年性骨質疏松症, 福建中醫學院報, 1994; 4(1); 25-26.
4. 黃艷紅, 葉雪清, 補腎中藥片對圍絕經期婦女骨粗鬆症代謝的影響, 中國中西醫結合雜誌, 1993; 13(9); 522-524.
5. 沈霖 등, 補腎法豫防閉經後婦女骨質丟失的臨床的研究, 中國中西醫結合雜誌, 1994; 14(9); 515-518.
6. 이종석 등, 폐경기 여성의 골다공증에 관한 조사, 가정의학회지, 1994; 15(2·3); 113-120.
7. 岡野一年 著, 서광 편집부 譯, 골다공증, 광주: 서광, 2000; 1, 12, 15, 16, 80, 81, 114-153.
8. 曹洙鉉, 폐경과 골다공증, 대한의학협회지, 1992; 35(5); 587-598.
9. 吳建華, 趙光, 中醫藥治療骨質粗鬆症研究發展, 中醫正骨, 1996; 8(1); 30-31.
10. 陸萬仁, 衆藥內服外敷治療骨粗鬆症228例療效觀察, 實用中醫藥雜誌, 1995; (3); 17, 20.

11. 金炯均, 柳志允, 李彥政, 腎主骨에 관한 東西醫學의 考察, 大韓韓方內科學會誌, 1991; 12(2); 26-29.
12. 李應世, 金惠景, 骨多孔症의 東醫學의 臨床文獻에 관한 考察, 韓方再活醫學會誌, 1997; 7(1); 437-456.
13. 李鎮赫, 柳同烈, 骨多孔症에 應用되는 數種의 強筋骨藥物에 對한 文獻的 考察, 大韓韓方婦人科學會誌, 1999; 12(1); 105-124.
14. 趙漢栢, 朴炳烈, 大補元煎이 卵巢摘出로 骨多孔症이 誘發된 白鼠에 미치는 影響, 大韓韓方婦人科學會誌, 1999; 12(1); 343-363.
15. 崔相淳, 毓麟珠가 卵巢摘出 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 2002.
16. 李汀宰, 當歸地黃飲이 卵巢摘出 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 2003.
17. 王勳臣, 醫林改錯, 台北: 台聯國風出版社, 1975; 65.
18. 安圭錫, 崔昇勳, 金東秀, Endotoxin으로 誘發된 白鼠의 血栓症에 身痛逐瘀湯이 미치는 影響, 동의병리학회지, 1989; 4(1); 47-56.
19. 孫宗坤, 崔昇勳, 安圭錫, 身痛逐瘀湯 및 身痛逐瘀湯加味方의 鎮痛·消炎·解熱 作用에 관한 研究, 東西醫學研究所 論文集, 1996; 1996(1); 219-227.
20. 柳志容, 身痛逐瘀湯의 抗炎, 鎮痛 및 抗血栓效果에 관한 研究, 圓光大學校大學院, 碩士學位論文, 1996.
21. 윤수진, 이균상, 문호성, 골다공증의 관련요인, 가정의학회지, 1996; 17(12); 1450-1461.
22. Garnero P, Delmas PD, New developments in biochemical markers for osteoporosis, Calcif Tissue Int, 1996; 54(Suppl 1); S2-9.
23. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD, Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis, J Bone Miner Res, 1996; 11(3); 337-349.
24. 金完熙, 崔達永, 臟腑辨證論治, 서울: 成輔社, 1985; 286.
25. 楊維傑 編, 黃帝內經譯解(素問), 서울: 成輔社, 1980; 52, 133, 210, 269, 329, 330, 338, 340, 399.
26. 楊維傑 編, 黃帝內經譯解(靈樞), 서울: 成輔社, 1980; 49, 104.
27. 김희진, 이태균, 閉經期骨多孔症 (postmenopausal osteoporosis)에 관한 文獻的 考察, 大韓韓方婦人科學會誌, 1998; 11(1); 131-148.
28. 尹用甲, 東醫方劑와 處方解說, 서울: 醫聖堂, 1998; 515.
29. 楊蘊祥, 古今名方, 河南: 河南科學出版社, 1998; 184-185.
30. 江克明, 校正方劑大辭典, 서울: 醫聖堂, 1991; 90, 547.
31. Turner RT. et al, Tamoxifen inhibits osteoclast-mediated resorption of trabecular bone in ovarian hormone-deficient rats, Endocrinology, 1988; 122(3); 1146-1150.
32. Wronski TJ, Lowry PL, Walsh CC, Skeletal alterations in ovariectomized rats, Calcif Tissue In., 1985; 37(3); 324-328.
33. Wronski TJ, Schenck PA, Cintron

- M, Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats, *Calcif Tissue Int*, 1987; 40, 155-159.
34. Yamzaki I, Yamaguchi H, Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model, *J Bone Miner Res*, 1989; 4, 13-22.
35. Kalu DN. et al, Effects of ovariectomy and estrogen on the serum level of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3, *Bone Miner*, 1994; 25(2); 135-148.
36. 김남수, 흰쥐에서 난소제거술로 유발시킨 골다공증시 osteocalcin, bone-specific alkaline phosphatase, estrogen, IGF-I, Ca²⁺, P와 bone density의 변화, *대한수의학학회지*, 2000; 40(4); 755-762.
37. Richelson LS. et al, Relative contributions of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss, *N Engl J Med*, 1984; 311(20); 1273-1275.
38. Chow J. et al, Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only by suppression of bone resorption but also by stimulation of bone formation, *J Clin Invest*, 1992; 89(1); 74-78.
39. 대한정형외과학회, 정형외과학, 서울: 대한정형외과학회, 1993; 15-23, 133-135.
40. Durbiridge TC. et al, Progressive cancellous bone loss in rats after adrenaectomy and oophorectomy, *Calcif Tissue Int*, 1990; 47(6); 383-387.
41. Black D. et al, Comparison of methods for defining prevalent vertebral deformities: the study of osteoporotic fractures, *J Bone Miner Res*, 1995; 10(6); 890-902.