

청각 추출물이 난소를 절제한 흰쥐의 collagen 함량 및 collagen 가교형성에 미치는 영향

박미화 · 강성림 · 김미향*

신라대학교 의생명과학대학 식품영양학과

Received May 18, 2007 / Accepted July 11, 2007

Effect of *Codium Fragile* Extract on Collagen Content and Collagen Cross-link Formation in Ovariectomized Rats. Park Mi Hwa, Kang Sung Rim and Kim Mihyang*. *Silla University, Busan, Korea, Dept. of Food and Nutrition, Silla University, Busan 617-736, Korea* – The aim of this study was to evaluate the effects of *Codium fragile*(CF) extract on the collagen content and collagen cross-link content of the connective tissues, alkaline phosphatase activity and calcium levels of serum in ovariectomized estrogen-deficient rats. Three groups were surgically ovariectomized. The fourth group was sham operated. Sprague-Dawley female rats were randomly assigned to the following groups : sham-operated rats(Sham), ovariectomized control rats (OVX-CON), ovariectomized rats supplemented with CF at 50 mg/kg body wt and 200 mg/kg body wt, respectively. The CF were orally administrated at 1mL a day. The ovariectomy caused a decreasing in collagen content in bone, cartilage, skin and lung tissues. However CF groups, supplementation with *Codium fragile* extract, increased in collagen content in bone and cartilage tissues than OVX-CON group. Pyridinoline content in cartilage collagen was decreased by ovariectomy but supplementation with the CF extracts was similarly increased to Sham. Alkaline phosphatase activity on serum of CF groups decreased than OVX-CON group. These results suggest that CF supplementation prevents post-menopausal bone loss, thus it may be used possibly to improve the quality of life in menopausal women.

Key words – Collagen, pyridinoline, alkaline phosphatase, ovariectomized rat

서 론

현대 의학의 발달과 생활수준의 향상으로 2005년 한국의 평균수명은 76.8세로 이는 세계 평균수명인 65.4세보다 10년이나 높으며, 2010년에는 78.2세에 이를 것으로 추정된다 [23]. 이와 같은 평균 수명의 연장으로 2002년 보건복지부 통계자료에 의하면 전체 여성 중의 45세 이상 65세 미만 중년 여성의 인구가 20.8%이며, 2020년에는 45.3%로 예상되어, 여성 전체의 건강을 좌우할 만큼 상당한 비중으로 중년 여성을 대상으로 한 영양 및 건강관리가 의학적, 사회적으로 중요한 관심사가 되고 있다[41].

갱년기는 가임기부터 생식능력을 상실하는 폐경기 이후로 이행되는 기간으로 폐경 전후 5-15년간을 말하며, 갱년기가 되면 생리 및 내분비계의 변화와 갱년기 에스트로겐 감소로 인한 호르몬계의 혼란으로 심리적인 불안이나 정신적인 스트레스에 의한 자율신경계 및 생식기계의 증상 등에 변화가 생긴다. 그리고 에스트로겐의 감소로 인해 심혈관계의 질환에 대한 위험성이 증가되며, 골의 노화가 시작되어 골조직의 질과 양이 감소되어 요통, 관절통이 있고 골다공증이 발생되는 등의 골격계의 변화가 오는 특징을 가지며, 이는 여성의 생명에 직접 영향을 주는 만성 후유증이 발생할 수 있다

[5,13,14,22]. 갱년기로 인한 에스트로겐 결핍은 일차적으로 골 대사를 증가시켜 파골세포의 활동력 증가, 골 재흡수의 증가로 인한 골 손실을 급속하게 유발하고, 이차적으로는 골 형성 능력이 감소하게 되어 서서히 골 손실이 일어나는 것으로 보고되고 있으며[13], 폐경 후 20년간 골 손실의 75% 이상은 에스트로겐 결핍에서 기인한다[29]. 자연 폐경 후 골 손실의 정도가 매년 1-2%인데 반해[10], 수술로 양측 난소 절제술을 받은 여성에서는 처음 6년간 매년 3.9% 정도의 골 손실이 일어나며[18], 50세 이상이지만 생리를 하는 여성은 같은 나이의 폐경 여성만큼 골 손실의 속도가 빠르지 않다[21]. 자연적인 혹은 외과 수술로 인한 에스트로겐 결핍은 interleukin (IL)-1, IL-6, tumor necrosis factor(TNF)- α 와 같은 파골세포 분화 조절인자를 증가시키는데[20,30], 이런 proinflammatory cytokines는 파골세포 형성을 증가시키고 성숙 파골세포를 활성화시켜, 그 결과 뼈의 재흡수가 증가된다[12,35].

Hydroxylysine은 collagen 내의 다른 아미노산에 비해 양적으로 적으나 collagen 특유의 아미노산으로 존재하고 있으며, collagen 합성의 최종단계인 섬유소의 숙성 즉, 가교의 형성에 중요한 역할을 하는 아미노산이며, hydroxylysine에서 파생된 pyridinoline은 collagen 성숙가교 물질으로써 골대사의 지표로 이용되고 있다[24]. Pyridinoline은 골과 연골에 주로 존재하기 때문에 파골세포에 의한 골질 파괴 시 소변으로 유리되는 성질을 가지고 있으며, 이는 골대사의 변질, bone cancer, 골다공증과 같은 각각의 병리형태에서 골분해의

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5620, Fax : +82-51-999-5457

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

평가를 위한 biomaker로서 임상에 이용되고 있다[17].

해조류는 비소화성 다당류가 다량 함유되어 있어 열량소로서의 큰 각광을 받지 못하여 왔으나, 예로부터 아시아 지역에서 널리 섭취해 왔으며, 영양학적으로 열량은 매우 낮으면서 비타민과 무기질, 식이섬유소가 풍부하고, 육지식물에 없는 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유하고 있으며, 채소류에 비하여 펠수아미노산과 불포화지방산이 많다는 것이 특징이다. 최근 해조에 풍부하게 함유되어 있는 식이섬유소로 고콜레스테롤혈증의 예방 및 치료제 개발을 위한 연구가 진행되고 있고, 중금속의 장내흡수저해와 항암효과[6], 알긴산의 노화억제효과, 동맥경화, 심근경색, 고혈압 등의 효과가 보고되고 있다[7,27]. 이와 같이 다양한 해조류의 검색과 더불어 해조류 내에 함유되어 있는 생리기능성 물질 탐색의 필요성에 따라 해조류의 이용가치는 더욱 높아지고 있다[17]. 본 실험에 사용한 청각(*Codium fragile*, CF)은 녹조식물문 청각과의 바닷말로 우리나라와 중국, 일본은 물론 필리핀과 하와이 등지에서 식용으로 널리 이용되고 있고[8,26,36], 정약전의 '자산어보'에서 김치 맛을 돋우는 해조로 소개되어 있으며, 본초강목, 동의보감, 식성본초, 식료본초 등의 고서에 기술되어 있는 것을 미루어 보아 오래전부터 청각을 식용으로 이용해 왔음을 알 수 있다. 또한 민간요법의 구충제로 이용되거나, 비뇨기 질환 및 수종 치료에 이용되어 왔으며[33], 청각 추출물에는 항생작용이 있는 acrylic acid, 항 응고 활성 물질 등이 함유되어 있을 뿐 아니라, 항암 및 항 돌연변이 효과와 면역 활성 등이 있는 것으로 밝혀져 여러 분야에서 응용할 수 있는 유용해조이다[6,31,32]. 본 실험에 사용된 실험 model인 흰쥐의 난소절제 시술은 혈 중 estrogen 농도를 감소시키는 갱년기 장애유발의 대표적인 방법으로서 여러 연구에서 광범위하게 이용되고 있다.

본 연구는 청각 추출물에 의한 estrogen결핍으로 발생하는 갱년기 증상을 개선하기 위한 일련의 연구로 청각추출물이 난소를 절제한 흰쥐의 collagen 함량 및 collagen 가교 형성에 미치는 영향을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 제조방법

본 실험에서 사용된 청각(*Codium fragile*, CF)은 2006년 농수산물 시장에서 전남 완도산생 청각을 구입하여 물로 6-7회 채로 씻어 내어 염분과 불순물을 제거하고 동결 건조, 분쇄하여 사용하였다. 건조 시료에 80% ethanol 2 l를 가해 2회 열 추출하여 감압 농축기로 농축한 후 분말로 만들고 증류수에 녹여 동물실험에 사용하였다.

실험동물

실험동물은 체중이 평균 160g되는 6주령의 Sparaque-

dawley 계 암컷 흰쥐를 (주)오리엔트로부터 구입하여 본 실험실에서 고품사료로 사육하였고, 실험 시작 1주일 동안 대조군 식이로 적응시킨 후 동물의 체중에 따라 4군으로 나누었다. 즉 실험동물은 난소절제 대조군(OVX-CON), 비 난소절제군(SHAM), 청각 추출물 50 mg/kg투여군(OVX-CF50) 및 200 mg/kg 투여군(OVX-CF200)으로 나누어 실험하였다(Table 1).

체중은 실험 사육 기간 중에 격일로 일정 시간에 측정하고, 식이 섭취량은 매일 식이 잔량을 측정하여 산출하였다. 동물 실험실의 사육조건은 온도 24±2℃, 습도 55~60%를 유지 시키며 물과 식이는 자유 공급하였고, 실험시료는 증류수로 용해하여 매일 1 ml씩 경구 투여 하였으며, 대조군은 동일 용량의 증류수를 투여하였다.

난소절제시술

1주일 동안 주위환경에 적응시켜 난과법에 의해 군을 나누어 난소 절제 수술을 실시하였다. 수술은 ether 마취 후 심마취기에 이르면 늑골하부를 절개하여 난소를 제거하고 절개 부는 봉합하였다. 시술 후 3일부터 매일 청각 시료를 경구 투여 하였다.

혈액 채취 및 장기 적출

혈액은 실험동물을 해부 전 24시간 절식 시킨 후 ether 마취 하에서 개복하여 대동맥에서 채취하였고, 혈청은 실온에서 한 시간 방치 후 3,000 rpm, 4℃에서 10분간 원심분리하여 분석에 사용하였다. 늑골과 연골은 경계면에서 분리하였으며 피부는 털과 표피 위의 지방을 제거하여 실험 시 까지 -70℃에서 보관하였다.

무기질 함량

동결건조하여 분쇄한 시료를 적당량 취하여 회화로로 회화시킨 후, 6 N HCl을 첨가한 후 시료를 분해하였다. 분해한 시료를 다시 2% HNO₃로 희석하여 No.4 여과지로 여과 후 100 ml로 정용하여 Inductively Coupled Plasma Spectrometer (Optima 5300DV, Perkin Elmer, USA)에 주입하여 분석하였다.

혈청 중의 alkaline phosphatase 분석

혈청의 중 ALP (alkaline phosphatase)의 활성측정을 위해

Table 1. Experimental design of animals

Group (No.)	Treatment
SHAM (6)	operated rats
OVX-CON (6)	ovariectomized rats
OVX-CF50 (6)	ovariectomized rats supplemented <i>Codium fragile</i> ethanol extracts at 50 mg/kg bw/day
OVX-CF200 (6)	ovariectomized rats supplemented <i>Codium fragile</i> ethanol extracts at 200 mg/kg bw/day

FUJI DRI-CHEM SLIDE 위에 분리한 혈청 10 µl를 점착하여 DRY CHEM (3600i, Fuji, Japan)를 사용하여 500 nm의 파장에서 분석하였다.

Collagen 함량

직출한 결합 조직 골 및 연골에 6 N HCl 10 ml를 첨가하여 110℃에서 20시간 가수분해한 후 여과 농축하여 증류수로 5배 희석하여 시료용액으로 하였다. 결합조직의 collagen 함량은 Woessner법[37]을 이용하여 분석하였다. Hydroxyproline의 정량분석을 위해 조제한 시료를 다시 증류수로 일정량 희석한 후 실험에 사용하였다. 반응액은 UV spectroscopy (Ultrospec 2100 pro, GE Healthcare Bioscience, Sweden)를 이용하여 흡광도 560 nm에서 측정하였다. 표준 곡선을 이용하여 hydroxyproline양을 구한 다음 collagen양으로 환산하였다. 골 및 연골 collagen의 아미노산 조성으로부터 collagen 중의 hydroxyproline 비율은 평균 110잔기/1000잔기이므로 collagen 양의 환산은 일반적으로 다음 식에 준한다.

$$\text{collagen (mg)} = 9.09 \times \text{hydroxyproline (mg)}$$

HPLC를 이용한 pyridinoline 함량

Collagen 중의 가교물질인 pyridinoline 함량 측정은 위의 방법에서 얻어진 collagen 분석시료를 0.45 µm disc filter를 이용하여 여과시킨 후, HPLC(Nanospace SI-2, Shiseido, Japan)를 이용하여 분석하였다.

HPLC 분석은 고정상으로 Inertsil ODS-2 column을 사용하였고, 이동상은 SDS와 Na₂EDTA를 함유하는 Acetonitrile와 0.1 M 인산완충액(pH 3.5, 25:75)을 이용하여 Ex 295 nm 및 Em 395 nm에서 수행하였다. 결과에 관한 분석은 standard의 peak를 이용하여 pyridinoline의 peak를 파악 한 후 standard area% 농도와 시료의 area%농도를 계산하여 pyridinoline/collagen으로 나타내었다.

통계처리

실험 결과는 평균±표준편차로 표시하였고, SPSS/PC 12.0 프로그램을 이용하여 p<0.05의 수준에서 Bonferroni, Scheffe 법으로 각 군의 유의성을 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

식이 섭취량, 체중 증가량 및 장기의 중량

Table 2는 실험기간 동안 실험동물의 체중 증가량 및 식이 효율을 나타낸 것이다. 남성과 달리 대부분의 여성은 노령화 되면서 폐경이라는 자연적인 성호르몬 변화 시기를 경험하게 되는데, 에스트로겐 분비감소가 체중 증가를 초래한다는 보고들도 있다[1,2,38]. 본 실험결과 난소절제하지 않은 SHAM에 비해 난소를 절제한 OVX-CON의 체중이 증가하였는데,

Table 2. The body weight gain, food intake and food efficiency ratio on supplementation of *Codium fragile* ethanol extracts diets for 7 weeks

Group ¹⁾	Final body weight (g)	Body Weight gain(g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio(FER) ³⁾
SHAM	252.87±26.12 ²⁾	5.23±4.19	20.05±3.08	0.26±0.13
OVX-CON	319.12±31.65	6.85±5.25	23.63±2.94	0.28±0.14
OVX-CF50	305.06±31.10	6.78±4.84	24.23±6.18	0.27±0.19
OVX-CF200	298.68±25.03	5.81±4.78	24.09±5.70	0.25±0.10

¹⁾ Refer to comment in Table 1.

²⁾ All values are means±SD.

³⁾ FER : weight gain (g/day)/food intake (g/day).

Values are not significantly different among treatment groups.

이는 체중을 증가시킴으로써 체중지탱능력(weight bearing activity)을 키우고 에스트로겐 생성이 가능한 체지방을 증가시키려는 기전으로도 해석된다[39]. 난소 절제 후 청각을 투여한 모든 군에서 SHAM과 비교해 높은 체중 증가량을 나타내어 청각 추출물이 체중감소에는 크게 영향을 미치지 않았다.

무기질 함량 분석

미네랄의 대표적인 공급원이라 할 수 있는 해조류는 육상 식물보다 다량다량의 무기질이 함유되어 있으며[11,25], 해수 중의 미네랄 중 특정원소를 선택해서 축적하는 성질이 있기 때문에 생명유지에 필요한 미네랄이 풍부하다[40].

청각의 미네랄 함량을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 신체의 구성성분 및 혈액응고 등의 신체조절기능을 하는 칼슘은 2001년 보건복지부의 자료에 의하면 여성의 경우 남성보다 영양소 섭취량이 80%정도 밖에 미치지 않았으며, 특히 칼슘의 경우는 모든 연령층에서 부족한 영양소로 특히 여자와 65세 이상의 연령층에서 섭취량이 가장 낮았다(2001, 국민건강영양조사). 청각의 칼슘 함량은 성인 1일 칼슘권장량인 700 mg/100 g과 비슷한 수치를 나타내었으며, 혈압강화에 작용하는 칼륨의 함량은 135.29±31.06 mg/100 g이었다. Hemoglobin 및 myoglobin의 구성성분이며, 철 단백질인 ferritin을 형성하는 철분의 함량은 권장량의 3배 정도였으

Table 3. Composition of various minerals of *Codium fragile* (unit : mg/100g, dry basis)

Minerals	Contents
Ca	616.60±59.34
P	142.84±15.31
Na	891.30±199.80
Fe	46.48±29.09
K	135.29±31.06
Mg	483.37±59.27
Zn	7.35±4.86
Pb	1.97±0.06

며, 이는 갈조류인 미역(8.84~12.98 mg/100 g), 툫(12.98 mg/100 g), 다시마(12.03 mg/100 g) 등의 해조류보다 더 많은 철분을 함유하고 있다[9]. 식품의 대사 및 합성에 관여하는 마그네슘의 함량은 우리나라의 경우 권장량이 정해져 있지 않지만, 건강기능식품 표시기준의 영양소기준치는 220 mg으로 청각의 함유량은 100g을 기준으로 하였을 때 2배 이상으로 함유되어 있음을 알 수 있었다.

혈 중 Alkaline phosphatase의 활성

Alkaline phosphatase(ALP)는 phosphomonoesterase, phosphodiesterase, phosphoric anhydrase 등으로 분류할 수 있는데, phosphomonoesterase의 경우 십이지장이나 장의 점막에 상당히 많은 양이 있으나 신장, 고등생물의 선(grand), 뼈, 정상적인 혈액에서는 적은 농도로 존재하고 있다[3,4].

Fig. 1은 청각 추출물이 혈청 ALP의 활성에 미치는 영향을 나타낸 것이다. ALP는 골 형성과 관련이 깊은 것으로 대사성 골 질환 등 골 대사 회전이 활발할 때, 즉 골격 형성 시 조골세포의 활동이 증가되어 골 교체율이 빠를 때 혈장 내에서의 농도가 증가한다[28]. 난소절제 시(OVX-CON) 에스트로겐 결핍으로 bone turnover가 증가되어 비난소절제군(SHAM)에 비해 혈장 중의 ALP의 활성이 증가되었으나, 청각 추출물을 투여한 모든 군에서 그 활성이 감소하는 경향을 나타내었다.

결합 조직 중의 collagen 함량

Collagen은 인체 각 결합조직에 분포하는 중요한 단백질로서 골의 nonlinear부분은 주로 type I collagen으로 이루어져 있고[19], 피부 섬유아세포 중의 collagen은 estrogen에 의하여 생성량이 증가한다고 알려져 있으며[16], 조직 내의 collagen의 손상은 연골 조직의 노화와 골 관절염, 골다공증 병인의 원인이 된다고 한다[34]. 따라서 본 연구에서는 난소절제로 인하여 호르몬 분비가 중지되었을 때 collagen 생성 변화에 있어 청각 추출물이 어떠한 영향을 주는지 검토하였다.

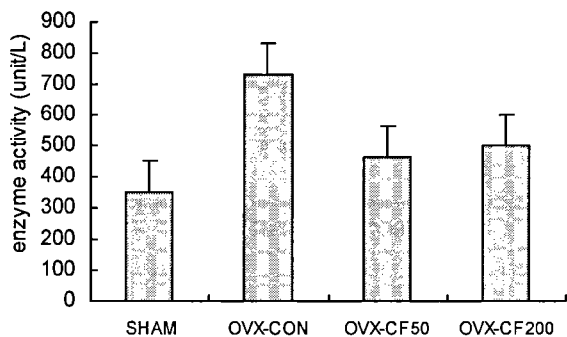


Fig. 1. Effect of *Codium fragile* ethanol extracts on serum Alkaline phosphatase activity in ovariectomized rats.

연골의 경우 난소를 절제하지 않은 SHAM군에 비해 난소를 절제한 OVX-CON군의 collagen 함량은 감소하였으나, 난소 절제 후 청각 추출물 투여로 인해 연골 중의 collagen 함량은 OVX-CF50군과 OVX-CF200군에서 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 2).

골 조직에서도 난소를 절제한 OVX-CON이 난소를 절제하지 않은 SHAM에 비해 감소하는 경향을 나타내었으나, 난소절제 후 청각 추출물을 투여한 군이 OVX-CON군에 비해 유의적으로 증가하였다(Fig. 3).

폐경기 여성의 골다공증의 치료 및 예방을 위해 호르몬 대체 요법을 권하지만, 그에 따른 합병증이 발생되어, 호르몬 대체 요법의 사용은 아직 논쟁 중이다. 따라서 쉽게 섭취할 수 있으며 섭취로 인한 부작용을 가지지 않는 해조류를 이용한 본 연구 결과에서 난소절제로 인한 결합 조직 중의 collagen 합성의 감소가 청각 추출물의 투여에 의해 회복되었으므로 이는 estrogen 부족으로 인한 골 손실의 예방 및 치료에 청각이 유익한 효과를 가질 것으로 추측된다.

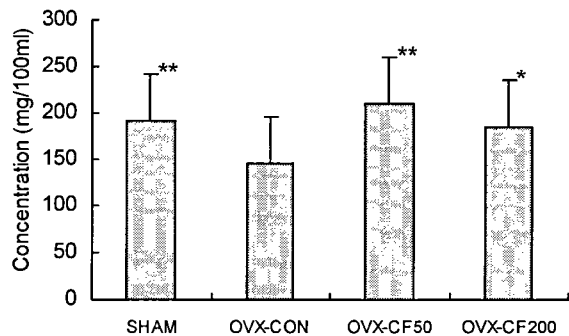


Fig. 2. Effect of *Codium Fragile* ethanol extract on collagen content in bone of ovariectomized rats. * Significantly different from ovariectomized group : p<0.05. ** Significantly different from ovariectomized group : p<0.005.

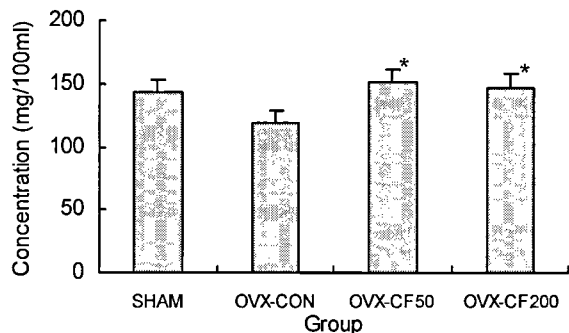


Fig. 3. Effect of *Codium Fragile* ethanol extract on collagen content in cartilage of ovariectomized rats. * Significantly different from ovariectomized group : p<0.05.

Table 4. Effect of *Codium fragile* ethanol extract on pyridinoline content in cartilage and bone of ovariectomized rats

Group ¹⁾	Pyridinoline	
	cartilage (mg/g)	bone (mg/g)
SHAM	3.98±0.43 ²⁾ *	0.76±0.09
OVX-CON	2.92±1.00	0.69±0.07
OVX-CSF50	3.99±0.15*	0.79±0.06
OVX-CSF200	3.73±0.28	0.73±0.16

¹⁾ Refer to comment in Table 1.

²⁾ Values are means±SD.

* Significantly different from ovariectomized group : p<0.05.

성숙가교 물질인 pyridinoline 함량변화에 미치는 영향

Collagen 합성의 여러 단계 중 마지막 단계에 이루어지는 교차결합은 결합조직의 강도를 유지하기 위하여 필요한 과정으로 알려져 있다. Lysine 및 hydroxylysine 잔유물로부터 형성된 pyridinoline은 deoxypyridinoline과 함께 collagen 가교를 형성하는 collagen의 성숙가교로 알려져 있다[24]. Table 4는 골과 연골의 pyridinoline의 함량을 나타낸 것이다. 연골의 pyridinoline 함량은 난소를 절제한 OVX-CON군은 난소를 절제하지 않은 SHAM군에 비해 낮은 경향을 나타내었으나, 난소 절제 후 청각 추출물을 투여한 군에서 증가하였고, 특히 OVX-CSF50군에서 유의적으로 증가하여(P<0.05), 난소 절제 시 감소되는 pyridinoline 생성량을 회복시켰다. 골의 pyridinoline 함량은 연골과 마찬가지로 난소절제 후 감소하였고 청각 추출물 투여에 의해 증가하는 경향이 보였으나 유의적인 수준을 나타내지는 않았다. 본 실험의 결과 난소를 절제한 후 청각을 투여하였을 때 pyridinoline 함량이 난소를 절제하지 않은 SHAM군과 비슷한 수치로 회복되어 청각이 난소 절제 시 collagen 가교 변화에 유익한 효과를 주는 것으로 사료되며, 본 실험에서는 조직 내 collagen 중의 pyridinoline 생성량을 측정하였으나 정확한 골 분해 평가를 위해서 앞으로 urine의 pyridinoline 함량 측정 또한 병행하고자 한다.

요 약

갱년기의 여성에는 여러 폐경 증후들이 나타나는데, 특히 에스트로겐의 감소로 인한 혈중의 지질 조성의 변화 등으로 인한 심혈관계 질환과 골 손실의 증가로 인한 골다공증의 위험성이 높아 이에 대한 예방 및 치료에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 따라서 본 연구에서는 쉽게 섭취 할 수 있으며, 부작용이 없는 해조류인 청각 추출물을 난소제거술을 통한 갱년기 유도 흰쥐에 투여하여 결합조직 중의 collagen과 pyridinoline 함량, 혈 중 ALP활성 변화를 통해 갱년기 장애 질환의 개선효과를 알아보았다.

청각 추출물이 골 노화에 미치는 영향을 실험 한 결과 난

소 절제에 의한 골 손실에 의해 결합조직의 collagen 함량이 감소하였으나, 청각 추출물의 투여로 인해 증가하는 경향을 보였다. 따라서 청각 추출물이 에스트로겐 감소로 인해 저하되는 collagen 합성능을 회복 시켜 유익한 효과를 가지는 것으로 추측된다. 또한 골 및 연골조직에서 collagen 성숙가교인 pyridinoline 함량을 HPLC에 의해 측정된 결과, 연골 중 pyridinoline 함량은 난소절제에 의해 감소되었으나 청각 추출물 투여로 인해 난소를 절제하지 않은 SHAM군과 비슷한 수준으로 증가하여 pyridinoline 생성에 유익한 효과를 나타내었다. 이상의 결과로부터 갱년기 장애 시 유발되는 골 노화에 청각 추출물이 유효한 효과를 나타낼 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Abe, T., J. W. Chow, J. M. Lean and T. J. Chambers. 1993. Estrogen does not restore bone mass after ovariectomy in the rat. *J. Bone Miner. Res.* **8**, 831-838.
2. Aitken, J. M., E. Armstrong and J. B. Anderson. 1972. Osteoporosis after ovariectomy in the mature female rat and the effect of estrogen and/or progesterone replacement therapy in its prevention. *J. Endocrinol.* **55**, 79-87.
3. Baker, H. J., J. R. Lindsey and S. H. Weisbroth. 1984. The laboratory rats. pp. 123-127. Academic Press Inc., New York. II.
4. Beeson, P. B. and J. B. McDermott Wyngaarden. 1994. Text Book of medicine. pp. 754-764. Saunders Co. Philadelphia
5. Campos, H., W. F. Wilson Peter, D. Jimenez, J. R. McNamara, J. Ordovas and E. J. Schaefer. 1990. Differences in apolipoproteins and low density lipoprotein subfractions in postmenopausal woman on and off estrogen therapy, Results from the Framingham offspring study. *Metabolism* **39**, 1033-1038.
6. Cho, K. J., Y. S. Lee and B. H. Ryu. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Kor. Fish. Soc.* **23**, 345-352.
7. Choi, J. H., I. S. Kim, J. I. Kim and T. H. Yoon. 1992. Studies on anti-aging action of brown algae (*undaria pinnatifida*). *Bull. Korean Fish. Soc.* **25**, 181-188.
8. Chapman, V. J. 1962. The algae. pp. 94-104. St Martin's press Inc., NY.
9. Im, Y. G., J. S. Choi and D. S. Kim. 2006. Mineral contents of edible seaweeds collected from gijang and wando in Korea. *J. Kor. Fish. Soc.* **39**, 16-22.
10. Gordon, G. S., C. Vaughan. 1980. Prevention of age related bone loss. *Clinical Chemistry* **3**, 1-6.
11. Indegard, M and J. Minsaa. 1991. Animal and human nutrition : Seaweed resources in europe : uses and potential. pp. 21-64. Guiry, M.D. and G Blunden, John Wiley & Sons Ltd, England.
12. Jilka, R. L., G. Hangoc, G. Girasole, G. Passeri, D. C. Williams, J. S. Abrams, B. Boyce, H. Broxmeyer and S. C. Manolagas. 1992. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* **257**,

- 88-91.
13. Johnston, C. C., S. I. Hui, R. M. Witt, R. Appledorn, R. S. Baker and C. Longcope. 1985. Early menopausal changes in bone mass and sex steroids. *J. Clin. Endocrinol Metab.* **61**, 905-911.
 14. Jun, Y. J. 1985. Literature review on the menopause syndrome. *The Korean nurse* **24**, 72-79.
 15. Kim, J. G. and C. H. Dong. 1995. Urinary Excretion of Pyridinoline Crosslink in Postmenopausal Women and Women with Premature Ovarian Failure. *Korean Journal of Obstetrics and Gynecology* **38**, 1356-1362.
 16. Kim, M. H., M. Otsuka and N. Arakawa. 1994. Age-related changes in the pyridinoline content of guinea pigs cartilage and achilles tendon collagen. *J. Nutr. Sic. Vitaminol.* **40**, 95-103.
 17. Kim, Y. H. and S. S. Lee. 1995. The effect of diet containing different fiber sources on the serum lipid level and bowel function in rats. *J. Nutr.* **28**, 825-833.
 18. Lindsay, R. D., M. Hart and J. M. Aiken. 1976. Long term prevention of postmenopausal osteoporosis by estrogen. *Lancet* **1**, 1038-1041.
 19. Lubec, G., O. L. abudova, D. Seebach, A. Beck, H. Hoeger, M. Hermon and M. Weninger. 1995. Alpha-methy-proline restored normal levels of bone collagen type I synthesis in ovariectomized rats. *Life sciences* **57**, 2245-2252.
 20. Manolagas, S. C., S. Kousteni and R. L. Jilka. 2002. Sex steroids and bone. *Recent Prog. Horm. Res.* **57**, 385-409.
 21. Meena, H. E., M. C. Bunker and S. Meena. 1976. Loss of compact bone due to menopause. *Obstet. Gynecol.* **26**, 333-337.
 22. Osmanagaoglu, M. A., S. Osmanagaoglu, T. Osmanagaoglu, B. Okumus and H. Ozkaya. 2005. Effect of different preparations of hormone therapy on lipid and glucose metabolism, coagulation factors, and bone mineral density in overweight and obese postmenopausal woman. *Fertility and Sterility* **84**, 384-393.
 23. National Statistical Office. 2005. population statistics.
 24. Ninomiya, Y., A. M. Showater and B. R. Olsen. 1984. The role of extracellular matrix in development. pp. 225. Alan R. Liss nc., New York.
 25. Nisizawa, K. H., R. Kikuchi and T. Watanabe. 1987. The amin seaweeds in Japan. *Hydrobiologia* **151**, 5-29.
 26. Oh, Y. S. I. K. Lee and S. M. Boo. 1990. An annotated account of Korean economic seaweeds for food, medical and industrial uses. *Kor. J. Phycol.*, **5**, 57-71.
 27. Park, H. Y., H. D. Yun and Y. K. Oh. 2001. Effect of meristotheca papulosa on lipid concentration of serum and liver in rats fed high fat diet. *J. Kor. Soc. of food and nutrition* **30**, 107-111.
 28. Raize, L. G. 1988. Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N. Engl. J. Med.* **318**, 818-828.
 29. Richelson, L. S., H. W. Wahner and L. J. Melton. 1984. Relative contributions of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. *New Engl. J. Med.* **37**, 1273-1278.
 30. Rogers, A. and R. Eastell. 2001. The effect of 17beta-estradiol on production of cytokines in cultures of peripheral blood. *Bone* **29**, 30-34.
 31. Rogers, D. J., K. M. Jurd, G. Blunden, S. Paoletti and F. Zanetti. 1990. Anticoagulant activity of a proteoglycan in extracts of *Codium Fragile* sp. atlanticum. *J. Appl. Phycol.* **2**, 357-561.
 32. Rogers, D. J. and R. W. Loveless. 1991. Electron microscopy of human erythrocytes agglutinated by lectin from *Codium Fragile* sp. tomentosoides and pseudohaemagglutinin from *Ascophyllum nodosum*. *J. Appl. Phycol.* **3**, 83-86.
 33. Tseng, C. K. and J. F. Zhang. 1984. Chinese seaweeds in herbal medicine. *Proc. Int'l. Seaced symp.* **11**, 152-154.
 34. Tiku, M. L., G. T. Allison, K. Naik and S. K. Karry. 2003. Malondialdehyde oxidation of cartilage collagen by chondrocytes. *OsteoArthritis Reaserch Soc. Int.* **11**, 159-166.
 35. Van Bezooijen, R. L., H. C. Farih-Sips, S. E. Papapoulos and C. W. Lowik. 1998. IL-1alpha, IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha steady-state mRNA levels analyzed by reverse transcription-competitive PCR in bone marrow of gonadectomized mice. *J. Bone Miner. Res.* **13**, 185-194.
 36. Velasquez, G. T. 1972. Studies and utilization of the philippine marine algae. *Proc. Int'l. Seaweed Symp.* **7**, 62-65.
 37. Woessner, J. F. 1961. The determination of hydroxyproline in tissue and protein sample containing small proportion of this imino acid. *Arch. Biochem. Biophys.* **93**, 440-447.
 38. Wronski, T. J., M. Cintron and L. M. Dann. 1988. Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue. Int.* **43**, 179-183.
 39. Wronski, L. 1995. Response of femoral neck to estrogen depletion and parathyroid hormone in age rats. *Bone* **16**, 551-557.
 40. Yamamoto, L., M. Takahashi, E. Tamura, H. Maruyama and H. Mori. 1984. Antitumor activity of edible marine algae : Effect of crude fucoidan fraction pre-pared from edible brown seaweeds L-1210 Leukemia. *J. Hydrobiologia* **1**, 145-148.
 41. Yu, H. K. 1998. Women's health after menopause. *The Journal of the Korean Society of Menopause* **2**, 119-137.