

파골세포 분화에 미치는 蘆會 추출물의 효과

이정휴 · 이명수¹ · 채수옥² · 김하영³ · 문서영⁴ · 전병훈⁵ · 조해중^{6*}

원광대학교 의과대학 해부학교실, 1: 류마티스내과학교실 및 원광의과학 연구소, 2: 군산병원 정형외과학교실, 3: 산본병원 내분비내과학교실, 4: 산본병원 마취통증의학교실, 5: 한의과대학 병리학교실, 6: 원광대학교 의과대학 산부인과학교실

Effect of Water Extract of Aloe in RANKL-induced Osteoclast Differentiation

Jeong Hugh Lee, Myeung Su Lee¹, Soo Uk Chae², Ha Young Kim³, Seo Young Moon⁴,
Byung Hoon Jeon⁵, Hae Joong Cho^{6*}

Department of Anatomy, 1: Department of Internal Medicine, Division of Rheumatology and Institute of Wonkwang Medical Science, 2: Department of Orthopedic Surgery, Gunsan Medical Center, 3: Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Sanbon Medical Center, 4: Division of Anesthesiology and Pain Medicine, Sanbon Medical Center; 5: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, 6: Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Wonkwang University

Osteoporosis is the leading underlying cause of fractures, particularly in postmenopausal women, due to the loss of estrogen-mediated suppression of bone resorption. More than 50% of adults 50 years of age or older are estimated to have osteoporosis. Osteoclast which is main target for treatment of osteoporosis is originated from hematopoietic cell line. Aloe has been widely used in worldwide country as a coadjuvant medicine. Extracts of the leaves of Aloe have been used in condition to improve dermatologic problem such as seborrheic dermatitis, aphthous stomatitis, xerosis, lichen planus and has been known to exert anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-tumor effects. However, despite the popularity of aloe as a plant food supplements, the evaluation of its efficacy as a possible therapeutic option for osteoporosis remains scarce. Thus, we evaluated the effect of Aloe on receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclast differentiation. Here we found that Aloe significantly inhibited osteoclast differentiation induced by RANKL. Aloe suppressed the activation of p38 pathway and NF κ B in bone marrow macrophages (BMMs) treated with RANKL. Also, Aloe significantly inhibited the mRNA expression of c-Fos, tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP), osteoclast-associated receptor (OSCAR), nuclear factor of activated T cells (NFAT)c1 and cathepsin K in BMMs treated with RANKL. Particularly, Aloe greatly inhibited the protein expression of c-fos and NFATc1. Taken together, our results suggested that Aloe may be useful tool for treatment of osteoporosis by inhibition of osteoclast differentiation.

Key words : Aloe(蘆會), osteoporosis, osteoclast, RANKL

서론

골다공증은 골의 질환으로 골밀도가 감소하고 골의 소 구조의 변화가 발생하여 골질의 위험성을 증가 시킨다¹⁾. 골다공증은 두 가지로 구분되는데 첫 번째는 폐경과 연관된 여성호르몬 감

소로 인한 골다공증이고 두 번째 고령에서 남자와 여자에 같은 비율로 발생하는, 연령과 관련된 골다공증이다. 골다공증으로 인한 골절은 척추 골절과 장골의 골절로 구분 할 수 있는데, 척추 골절은 증상이 없을 수도 있지만 급성 요통과 신경증상을 야기 하기도 한다. 한번 척추 골절이 발생한 환자에서 척추 골절이 다시 일어날 확률이 여성에서 5배가량 높으며²⁾, 폐경 후 골다공증이 있는 여성에서 척추 골절 발생 1년 이내에 다른 부위의 척추 골절이 발생할 확률이 무려 20%나 되어³⁾ 골다공증성 골절을 예

* 교신저자 : 조해중, 익산시 신용동 원광대학교 의과대학 산부인과학교실

· E-mail : chojh69@wku.ac.kr, · Tel : 063-859-1544

· 접수 : 2011/11/09 · 수정 : 2011/12/09 · 채택 : 2011/12/12

방하는 것뿐만이 아니라 골다공증성 골절이 발생한 환자에서 다른 부위의 골절을 예방하는 것도 매우 중요하다. 인구의 고령화가 진행될수록 골다공증에 대한 관심이 증가하고 있으며 뼈의 건강을 증진시키기 위한 칼슘 복용 등이 증가하고 있다. 골은 생성과 흡수의 균형으로 골격이 정상적으로 이루어지는데⁴⁾ 파골세포의 기능이 비정상적으로 증가되면 골 흡수가 증가하여 골다공증이 야기되며 골 흡수 기능을 담당하고 있는 파골세포의 분화를 억제하거나 그 기능을 억제하는 것이 골다공증의 치료에 응용되고 있다. 파골세포로의 분화를 매개하는 주된 신호 물질은 receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)이다⁵⁾. RANKL은 파골 전구세포의 표면에 발현된 receptor activator of NF- κ B ligand (RANK)와 결합하여 파골세포 분화에 필수적인 역할을 하는 NF- κ B, c-Fos, Nuclear factor of activated T cell c1 (NFATc1)과 같은 물질의 발현을 유도한다⁶⁾. 그동안 파골세포의 분화를 억제하는 천연물에 대한 연구가 여러 가지 이루어졌으며 이를 통한 골다공증 억제 약물을 개발하려는 시도가 이어져 왔다. 특히 녹용 추출물⁷⁾이나 오미자 추출물에서⁸⁾ RANKL로 유도되는 파골세포 분화를 억제하는 효과가 있음이 발표되었다. 천연물은 기존 골다공증 치료 약물이 가지는 부작용등이 없고 여러 가지 인체에 도움이 되는 생물학적인 기능을 가지고 있어 향후 연구의 가치가 높은 분야이다. 노회(蘆會)는 알로에를 말하는 것으로 원산지는 북아프리카, 열대 아프리카이며 우리나라에서는 주로 제주도에서 재배되고 있다. 노회는 로제트 형태의 다육질 식물로 겹겹이 나는 다육질 잎의 가장자리에 가시가 난다. 노회(蘆會)는 보습 작용과 멜라닌 색소 억제 작용이 있어 화장품의 주성분으로 사용되기도 하고 상처의 치유와 화상 등의 피부병변에도 많이 사용되고 있다. 최근 연구에서 노회(蘆會)가 항산화 효소 작용의 조절과 항암 효과를 가지고 있다고 보고되었다⁹⁾. 또한 노회(蘆會)는 cyclo-oxygenase 경로를 저해하여 prostaglandin의 합성을 억제하는 작용이 있어 항염 작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있고¹⁰⁾, 비만세포에서 항원-항체 반응을 억제하여 히스타민과 leukotriene 분비를 억제하는 작용이 알려져 있다¹¹⁾. 노회(蘆會)는 최근 우리나라에서도 건강 보조 식품으로 상품화된 제품들이 많이 있고 비교적 흔하게 접할 수 있는 물질로서 여러 가지 알려진 효능이외에 뼈에 미치는 영향은 아직까지 알려진 바가 없다. 이에 저자는 천연 물질 중 노회(蘆會)가 파골세포 분화를 억제함으로써 골다공증에 유용하게 응용될 수 있는지의 여부를 알아보기 본 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

1. 시료

노회(蘆會)를 물로 추출하여 감압 농축한 후 72시간 동안 동결 건조하여 얻었다. Human RANKL과 M-CSF는 Peprotech (London, UK)사에서 구입하였고, XTT assay kit는 Roche (Indianapolis, IN, USA)사에서 구입하였다. Phospho (p)-JNK, JNK, p-ERK, ERK, p-p38, p38, I- κ B 항체는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA)사의 제품을 사용하였다. c-Fos

와 NFATc1 항체는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)사에서 구입하였다.

2. 파골세포 분화

경추 탈골법으로 희생시킨 5주령 ICR 생쥐의 대퇴골과 경골을 분리하고 1 ml 주사기를 이용하여 뼈의 속질을 수세하여 골수세포를 얻었다. 분리된 골수세포는 10% FBS, 항생제, M-CSF (30 ng/ml)가 포함된 α -minimum essential medium (α -MEM)배지 (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA) 에서 3일간 배양하였다. 3일 후, 부착된 세포를 얻은 다음 대식세포 (bone marrow macrophage, BMM)로 사용하여 실험하였다. 대식세포는 M-CSF (30 ng/ml)와 RANKL (50 ng/ml)을 처리하여 배양하면서 노회(蘆會) 추출물을 대식세포에 농도별로 각각 0.25, 0.5, 1, 10 micro-liter 처리하였다. 배양 4일 후, 배양한 세포를 TRAP 용액 (Sigma Aldrich, USA)으로 염색하고 붉은색으로 염색된 세포를 성숙된 파골세포로 간주하고 숫자를 기록하였다.

3. 독성검사

대식세포를 1×10^4 /well의 밀도로 96-well plate에 첨가하고 M-CSF (30 ng/ml)와 노회(蘆會) 추출물을 농도별로 처리하여 3일간 배양하였다. 3일 후, XTT 용액 50 μ l를 각각의 well에 첨가하고 4시간 배양 후 ELISA reader (Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 확인하였다.

4. RT-PCR 분석

각각의 세포에서 TRIzol (Invitrogen) 용액으로 제조사의 방법에 따라 RNA를 분리한 후 분리한 RNA 1 μ g은 oligo dT primer, dNTP, buffer, dithiothreitol, RNase inhibitor와 Superscript II reverse transcriptase를 이용하여 cDNA로 합성하였다. 합성된 cDNA를 PCR 증폭을 위해 사용한 primer는 다음과 같다.

c-Fos sense, 5'- CTGGTGCAGCCACTCTGGTC-3';

c-Fos antisense, 5'- CTTTCAGCAGATTGGCAATCTC-3';

NFATc1 sense, 5'- CAACGCCCTGACCACCGATAG-3';

NFATc1 antisense, 5'- GGCTGCCTCCGTCTCATAGT-3';

TRAP sense, 5'-ACTTCCCCAGCCCTTACTAC-3';

TRAP antisense, 5'-TCAGCACATAGCCCACACCG-3';

OSCAR sense,

5'-CTGCTGGTAACGGATCAGCTCCCCAGA-3';

OSCAR antisense,

5'-CCAAGGAGCCAGAACCTTCGAAACT-3';

Cathepsin K sense, 5'-CACTGCTCTCTCAGGGCTT3';

Cathepsin K antisense,

5'- ACGGAGGCATTGACTCTGAA-3';

5'-GAPDH sense, 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3';

GAPDH antisense, 5'-TCCACCACCCTGTGTGCTGTA-3'.

PCR 후, 증폭된 cDNA는 1% agarose gel에서 분리하였고 Et-Br로 염색하여 U.V.상에서 관찰하였다.

5. Western blot 분석

배양된 세포는 lysis buffer (50 mM tris-Cl, 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 1% Triton X-100, 1 mM sodium fluoride, 1 mM sodium vanadate, 1% deoxycholate, protease inhibitors)를 이용하여 용해하고 원심분리 (14,000 rpm)를 수행하여 순수한 단백질을 얻었다. 단백질은 DC Protein assay kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 정량하고 동량의 단백질은 10% SDS-polyacrilamide gel에서 분리하였다. 분리된 단백질은 PVDF 막 (Amersham Biosciences)으로 옮기고 PVDF 막은 5% non-fat dry milk를 처리하여 비 특이 단백질이 붙는 것을 방지하기 하였다. 그리고 1차 항체 및 2차 항체를 처리했다. TBS-T 완충용액으로 PVDF막을 세척하여 enhanced chemiluminescence를 이용해 단백질 발현을 관찰했다.

6. 통계분석

정량적인 결과는 평균값과 표준편차로 표시하였다. 통계적인 차이는 Student's t-test를 이용하여 분석하였고 p 값이 0.05 이하인 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하여 별표(*)로 표시하였다.

결 과

1. 파골세포 분화에 미치는 노회(蘆會) 추출물의 효과

파골세포는 골 흡수 작용을 하는 세포로서 파골세포 분화를 억제함으로써 골 흡수 억제 작용을 기대할 수 있다. 본 저자는 노회(蘆會) 추출물이 파골세포의 분화 과정에 미치는 영향을 알아보고자 실험을 시행하였다. 노회(蘆會)의 효과를 검증하기 위해 대식세포에 M-CSF와 RANKL을 첨가하여 파골세포 분화 환경을 만들고, 노회(蘆會) 추출물을 농도별로 처리하여 4일간 배양하였다. 노회(蘆會) 추출물을 처리하지 않은 대조군은 RANKL의 자극에 의해 TRAP 양성 다핵성 파골세포로 분화되었지만, 노회(蘆會) 추출물을 같이 처리한 실험군은 노회(蘆會) 추출물 농도가 증가함에 따라 TRAP 양성 다핵성 파골세포로의 분화가 억제되었고(Fig. 1A), 성숙한 파골세포의 숫자도 의미 있게 억제되었다(Fig. 1B). 또한 노회(蘆會) 추출물에 의한 TRAP 양성 파골세포 분화의 억제가 세포독성에 의한 것인지를 알아보기 위해 MTT 검사를 실시하였다. 다핵성 파골세포로의 분화를 억제하는 농도의 노회(蘆會) 추출물에서는 세포의 독성을 나타내지 않았다(Fig. 1C).

2. RANKL에 의한 유전자 발현에 노회(蘆會) 추출물의 효과

RANKL은 RANK와 결합한 후 신호 전달 체계를 거쳐 전사 인자 c-Fos 와 NFATc1의 발현을 촉진하고 성숙한 파골세포의 지표인 TRAP과 OSCAR, Cathepsin K의 유전자 발현을 유도한다. 본 저자는 RANKL에 의해 성숙한 파골세포 분화시에 유도되는 여러 가지 유전자 발현에 노회(蘆會) 추출물이 미치는 효과를 실험하였다. RANKL로 파골세포 분화를 자극한 파골세포에서 c-Fos, NFATc1등의 주요 전사 인자의 발현이 증가하였고, 또한

TRAP, OSCAR, Cathepsin K의 발현도 증가하였으나, RANKL과 노회(蘆會) 추출물을 동시에 처리한 실험군에서는 파골세포 분화에 중요한 주요 유전자 및 성숙 파골세포의 표지자의 발현이 억제되었다(Fig. 2).

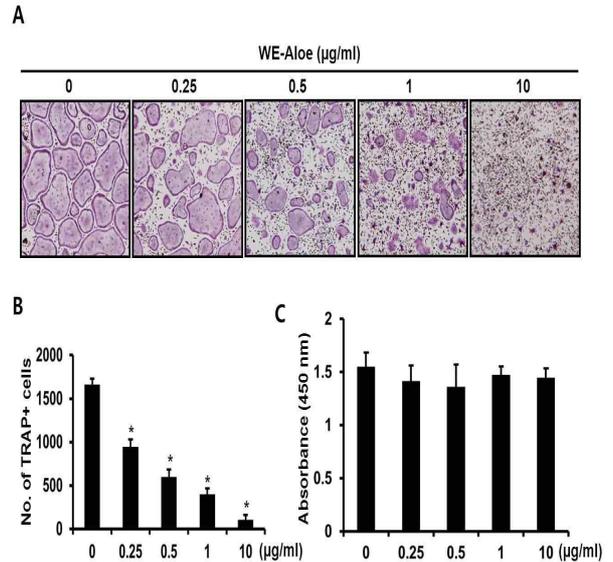


Fig. 1. Inhibition of RANKL-induced osteoclast differentiation by water extract Aloe. (A) Bone marrow macrophages (BMMs) were cultured for 4 d with M-CSF (30 ng/ml) and RANKL (100 ng/ml) in the presence of WE-Aloe. Cells were fixed in 3.7% formalin, permeabilized with 0.1% Triton X-100, and stained with TRAP solution. TRAP-positive cells were photographed under a light microscope (Magnification: x100). (B) TRAP-positive cells were counted as osteoclasts. Asterisks (+) indicate statistical differences from the control (p < 0.05). (C) BMMs were cultured for 3 days with M-CSF (30 ng/ml) in the presence of WE-Aloe. After 3days, 50 µl of XTT reagents were added to each well, and the cells were incubated for 4 h. The absorbance was measured at 450 nm using a microplate reader.

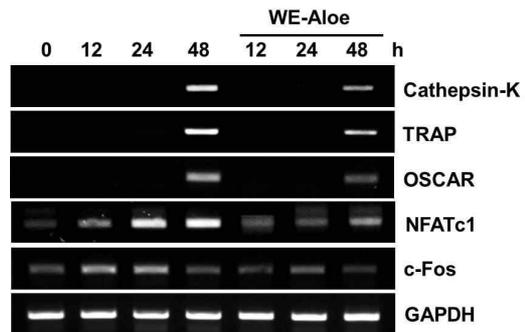


Fig. 2. WE-Aloe inhibits RANKL-induced gene expression. BMMs were pretreated with WE-Aloe (10 µg/ml) for 1 h and then stimulated with RANKL for the indicated times. Total RNA was obtained at the indicated time points. The mRNA expression levels of the indicated genes were analyzed by RT-PCR.

3. c-Fos와 NFATc1 단백질 발현에 미치는 노회(蘆會) 추출물의 효과

파골세포 분화 시 RANKL에 의해 유도되는 인자 중 가장 중요하다고 알려진 유전자가 c-Fos와 NFATc1이다. 따라서 본 저자는 c-Fos와 NFATc1 단백질 발현에 노회(蘆會) 추출물의 효과를 검증하기 위하여 western blotting을 시행하였다. RANKL을

처리한 후 12시간과 24시간에서 c-Fos의 단백질 발현이 유의하게 증가되었으며, NFATc1의 발현은 48시간에 증가되었다. 그러나 노회(蘆會) 추출물을 처리한 실험군에서는 각각 c-Fos와 NFATc1 단백질 발현이 현저히 억제 되었다(Fig. 3).

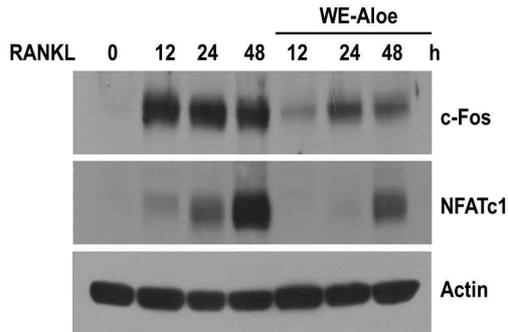


Fig. 3. Inhibition of RANKL-induced c-Fos and NFATc1 expression by WE-Aloe. BMMs were pretreated with or without WE-Aloe (10 µg/ml) for 1 h and then stimulated with RANKL (100 ng/ml) for the indicated time. The cell lysates were analyzed by Western blotting with antibodies for c-Fos, NFATc1, and actin.

4. 파골세포 분화의 신호전달 경로에 미치는 노회(蘆會) 추출물의 효과

노회(蘆會) 추출물에 의한 파골세포 분화 억제 작용기전을 규명하기 위해 RANKL에 의해 전달되는 주요 신호전달체계에 노회(蘆會) 추출물이 미치는 영향을 실험하였다. 대식세포를 노회(蘆會) 추출물로 전 처리 하고 RANKL을 시간별로 처리한 다음 MAPKs의 인산화를 측정하였다. RANKL에 의해 자극된 파골세포에서 p38, JNK, ERK의 증가가 관찰되었으나 노회(蘆會) 추출물 군에서 p38의 발현이 감소하였고 I-κB의 발현이 지속되었다(Fig. 4). 이러한 결과를 토대로 노회(蘆會) 추출물에 의한 파골세포 억제 작용기전은 p38 활성화의 억제와 I-κB의 지속 발현에 의한 것으로 생각된다.

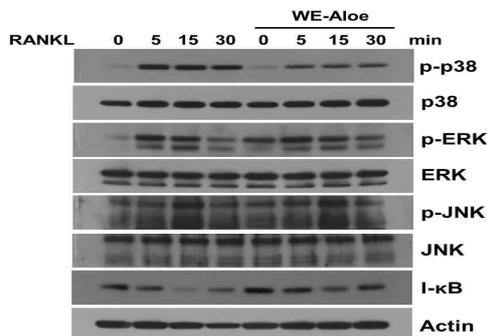


Fig. 4. Effect of WE-Aloe inhibits the activation of p38 pathway and NF-κB. BMMs were pretreated with or without WE-Aloe (10 µg/ml) for 1 h and then stimulated with RANKL (100 ng/ml) for the indicated time. The cell lysates were analyzed by Western blotting with the indicated antibodies.

고찰

골다공증은 골 질량 중 가장 흔하며 골 구조의 약화를 야기

하여 골절의 위험성을 증가시킴으로 최근 관심의 대상이 되고 있다. 세계적으로 약 2억 명 가량이 골다공증을 가지고 있으며 매년 9백만 건의 골다공증성 골절이 발생하는 것으로 보고되고 있다^{12,13}. 골다공증의 치료에 가장 많이 사용되고 있는 약물은 Bisphosphonate 계열의 약물로 파골세포가 골의 표면에 작용하는 부위에서 물리적으로 파골세포의 기능을 억제한다¹⁴. 최근에 여러 가지 새로운 치료 약제들의 개발이 시도되고 있는데 이중 Denosumab 은 파골세포 분화에 핵심적인 역할을 담당하는 RANKL의 단클론성 항체로서 기존 약제만큼의 효과를 가지고 있는 것으로 보고되고 있다¹⁵. 최근 들어 새로운 약제 개발의 필요성 또한 대두되고 있는데 특히 부작용이 없는 생약이나 천연물을 이용한 치료가 장기적인 치료를 요하는 골다공증 치료에 도움이 될 것이라 판단된다. 노회(蘆會)는 건조한 지역에서 자라는 식물로서 주로 피부미백이나 상처 치유 효과를 위해 민간에서도 사용되어 왔다. 그러나 최근 노회(蘆會)가 함유한 여러 가지 성분이 인체에 유익한 작용을 하는 것이 밝혀지면서 건강식품 등으로 개발되고 있다. 노회(蘆會)는 세층으로 구성되어 있는데 가장 안층의 gel 은 99%의 물 성분과 아미노산, 비타민, 지방, glucomannan등으로 이루어져있고, 중간층은 쓴맛이 나는 노란색 수액이 anthraquinones과 glucosides를 함유하며, 가장 외층은 두꺼운 세포층으로 보호 작용을 한다. Pack등은 노회(蘆會)에 함유되어 있는 aloin 과 emodin이 prostaglandin E의 합성을 줄이고 nitric oxide의 생성을 억제하는 작용을 한다고 보고하였고 이로 인해 노회(蘆會)가 항염 작용을 하는 기전을 제시하였다¹⁶. 기존에 노회(蘆會)가 항 진균작용과 항균 작용이 있음이 연구되어 있는데¹⁷ 이러한 작용 역시 함유된 aloin 과 emodin의 역할로 알려져 있다. 노회(蘆會)의 파골세포 분화 억제 작용 및 그에 대한 기전을 밝힘으로 골다공증에 대한 유용성을 알아보고자 시행한 본 실험에서 노회(蘆會) 추출물에 의해 RANKL로 유도된 파골세포 분화가 억제 되었고 파골세포의 분화에 중요한 전사인자인 c-Fos, NFATc1의 유전자 발현을 억제시킴으로 인한 것임을 알게 되었다. 특히 NFATc1은 파골세포 분화에 핵심적인 전사인자이면서 스스로 칼슘 신호에 의해 자가 활성화가 되어 더욱 파골세포 분화에 유도 작용을 한다¹⁸. 본 실험에서 NFATc1의 발현을 노회(蘆會) 추출물이 억제 시킨 결과는 파골세포 분화의 핵심 역할을 저해하는 작용을 가지고 있음을 의미한다. NFATc1의 상위 신호 전달 체계인 mitogen-activated protein kinase (MAPK)의 활성을 실험하여 노회(蘆會) 추출물이 p38의 발현이 감소시키고, I-κB의 발현이 지속시킴을 확인하였고 이 결과를 통해 노회(蘆會) 추출물에 의한 파골세포 억제 작용기전은 신호전달 체계 중에서 p38 활성화의 억제와 I-κB의 지속 발현에 의한 것으로 알게 되었다. I-κB의 지속 발현은 NF-κB의 작용 억제체를 의미하는데 이미 여러 가지 연구에서 NF-κB 발현이나 활성을 억제하면 파골세포로의 분화가 억제 된다는 것이 보고되어 있다¹⁹.

노회(蘆會) 추출물에 의해 파골세포 분화 중에 발현되는 osteoclast-associated receptor (OSCAR) 의 발현이 억제되는데, OSCAR는 파골세포에서 발현되어 자극에 의해 활성화되는 부가적인 경로이며, OSCAR의 발현에 이상이 있는 경우 폐경 후 골

다공증의 위험이 증가한다고 보고되었다²⁰⁾. 노회(蘆會) 추출물은 드물지만 약물 유도성 간염 등의 간독성을 나타낼 수 있는데, 보고된 증례의 경우 대부분이 용량에 비례하기보다는 특발성으로 나타나는 경우가 많았다²¹⁾. 본 실험에서 사용된 노회(蘆會) 추출물의 농도에서는 세포 독성은 나타나지 않았다. 노회(蘆會)는 이미 화장품이나, 음료, 경구용 건강 보조제로 상업화되고 있는 접근이 비교적 쉬운 물질로서 본 연구를 통해 노회(蘆會)가 골 흡수기능을 담당하는 파골세포의 분화 기전에서 p38 활성화의 억제와 I- κ B의 지속 발현을 통해 파골세포 분화를 억제하는 효능을 가짐을 확인하였다. 향후 세포 수준에서 뿐만이 아니라 동물 실험을 통해서 노회(蘆會)의 골 흡수 억제를 통한 골 보호기능을 가짐을 확인하는 것이 필요할 것으로 판단된다.

결 론

노회(蘆會) 추출물은 파골세포 분화를 현저히 억제하는 효능을 가짐을 본 연구를 통하여 밝혔고, 고령인구가 많아짐으로 발생하는 골다공증성 골절의 예방과 골다공증의 치료에 노회(蘆會)를 응용할 수 있는 근거를 제시하였다. 이를 통해 국내 노회(蘆會) 재배 및 노회(蘆會) 가공 산업에 새로운 기회를 제공 할 수 있고 기존의 피부질환이나 항균작용, 항산화 작용 이외의 새로운 영역의 효능을 알게 되어 노회(蘆會)의 약물로서의 또 다른 영역의 가능성을 제시하는 결과라고 하겠다. 또한 앞서 표준화된 노회(蘆會)의 성분과 함량을 통한 연구가 이루어져야 축적되는 연구 결과를 응용하는데 도움이 될 것이다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 원광대학교 교비 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Melton, L.J., 3rd, Atkinson, E.J., O'Connor, M.K., et al. Bone density and fracture risk in men. *J Bone Miner Res* 13: 1915, 1998.
- Black, D., Arden, N.K., Palermo, L., Pearson, J., Cummings, S.R. Prevalent vertebral deformities predict hip fractures and new vertebral deformities but not wrist fractures. *J Bone Miner Res* 14: 821-828, 1999.
- Ross, P.D., Davis, J.W., Epstein, R.S., Wasnich, R.D. Pre-existing fractures and bone mass predict vertebral fracture incidence in women. *Ann Intern Med* 114: 919-923, 1991.
- Rodan, G.A., Martin, T.J. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science* 289(5484):1508-1541, 2000.
- Roodman, G.D. Regulation of osteoclast differentiation. *Ann N Y Acad Sci* 1068: 100-109, 2006.
- Teitelbaum, S.L., Ross, F.P. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 4(8):638-649, 2003.
- Kwak, H.B., Kim, J.H., Kim, D.J., Kwon, Y.M., Oh, J., Kim, Y.K. Effect of water extract of deer antler in osteoclast differentiation. *Korean J Oriental Physiology & pathology*. 22: 891-895, 2008.
- Le Yan, Lee Ho-Sub, Jang Sung-Jo, Song Jung-Hoon. Effect of Water Extract of Schisandra Chinensis on Osteoclast Differentiation. *Korean J Oriental Physiology & pathology*. 24: 848-853, 2010.
- El-Shemy, H.A., Aboul-Soud, M.A., Nassr-Allah, A.A., Aboul-Enein, K.M., Kabash, A., Yagi, A. Antitumor properties and modulation of antioxidant enzymes' activity by Aloe vera leaf active principles isolated via supercritical carbon dioxide extraction. *Curr Med Chem*. 17(2):129-138, 2010.
- Hutter, J.A., Salmon, M., Stavinoha, W.B., Satsangi, N., Williams, R.F., Streeper, R.T., et al. Anti-inflammatory C-glucosyl chromone from Aloe barbadensis. *J Nat Prod*. 59: 541-543, 1996.
- Ro, J.Y., Lee, B., Kim, J.Y., Chung, Y., Chung, M.H., Lee, S.K., et al. Inhibitory mechanism of aloe single component (Alprogen) on mediator release in guinea pig lung mast cells activated with specific antigen-antibody reactions. *J Pharmacol Exp Ther*. 292: 114-121, 2000.
- Gambacciani, M., Vacca, F. Postmenopausal osteoporosis and hormone replacement therapy. *Minerva Med* 95: 507-520, 2004.
- Cole, Z., Dennison, E., Cooper, C. Update on the treatment of post-menopausal osteoporosis. *Br Med Bull* 86: 129-143, 2008.
- Mc Clung, M.R. Bisphosphonates. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2: 253-271, 2003.
- Miller, P.D. Denosumab: anti-RANKL antibody. *Curr Osteoporos Rep* 7: 18-22, 2009.
- Park, M.Y., Kwon, H.J., Sung, M.K. Evaluation of aloin and aloe-emodin as anti-inflammatory agents in aloe by using murine macrophages. *Biosci Biotechnol Biochem*. Apr 23; 73(4):828-832, 2009.
- Ndhlala, A.R., Amoo, S.O., Stafford, G.I., Finnie, J.F., Van Staden, J. Antimicrobial, anti-inflammatory and mutagenic investigation of the South African tree aloe (Aloe barberae). *J Ethnopharmacol*. Jul 30; 124(3):404-408, 2009.
- Asagiri, M., Takayanagi, H. The molecular understanding of osteoclast differentiation. *Bone*. Feb;40(2):251-264, 2007.
- Shimizu, H., Nakagami, H., Tsukamoto, I., Morita, S., Kunugiza, Y., Tomita, T., Yoshikawa, H., Kaneda, Y., Ogihara, T., Morishita, R. NF kappaB decoy

- oligo-deoxynucleotides ameliorates osteoporosis through inhibition of activation and differentiation of osteoclasts. *Gene Ther.* 13(12):933-941, 2006.
20. Kim, G.S., Koh, J.M., Chang, J.S., Park, B.L., Kim, L.H., Park, E.K., et al. Association of the OSCAR promoter polymorphism with BMD in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 20: 1342-1348, 2005.
21. Yang, H.N., Kim, D.J., Kim, Y.M., Kim, B.H., Sohn, K.M., Choi, M.J., Choi, Y.H. Aloe-induced toxic hepatitis. *J Korean Med Sci. Mar*; 25(3):492-495, 2010.