대한침구학회지 제18권 제5호(2001년 10월)
The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society

원 저

鹿茸藥鍼이 骨形成에 미치는 影響

한상원* · 최제용** · 이윤호***

*경산대학교 한의과대학 침구학교실
**경북대학교 의과대학 생화학교실
***경희대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

Healing of Bony Defects by Cervi Pantotricuhum Cornu Herbal Acupuncture

Sang-Won, Han* · Je-Yong, Choi · Yun-Ho, Lee*****

*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyung-San University
**Department of Biochemistry, College of Medicine, Kyung-Pook University
***Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

Objective : Bone homeostasis is maintained by balance of bone formation and resorption. Therefore, bone related diseases arose by disturbance of this balance between osteoblast and osteoclast activities. To develop a successful screening system of the therapeutic components based on oriental medicine is essential to set out systematic approach for that purpose.

Methods : This study was perforated Sprague-Dawley rat femur for bony defects(ϕ 5㎜) by the fissure bur. And experimetal group were treated with Cervi Pantotricuhum Cornu injection at both Shènshū(BL23) & Dàzhù(BL11)(0.2㎖). This was evaluated by radiography and histological analysis with in situ hybridization.

Results : Cervi Pantotricuhum Cornu Herbal Acupuncture has weak effect on bony defect healing and this was evaluated by X-ray taking and histological analysis with in situ hybridization. Osteocalcin gene expression was not changed by Cervi Pantotricuhum Cornu Herbal Acupuncture in bony defects animal model.

· 접수 : 8월 11일 · 수정 : 8월 14일 · 채택 : 8월 25일
· 교신저자 : 한상원, 경산대학교 한의과대학 침구학교실(Tel. 054-450-7707)
E-mail : hansw@kyungsan.ac.kr

Conclusion : Taken together this study show that the Cervi Pantotricuhum Cornu herbal-acupuncture has a weak effect healing of bony defects, this type of approach might give a good chance to explore the favorable effects of Cervi Pantotricuhum Cornu herbal-acupuncture on bone tissue.

Key words : bony defect healing, Cervi Pantotricuhum Cornu Herbal Acupuncture, osteoclacin mRNA, in situ hybridization

Ⅰ. 서 론

人體의 骨은 形成(bone modeling)과 再形成(bone remodeling) 過程을 통하여 그 恒常性을 유지하게 된다. 骨의 形成은 태생기부터 시작하여 골격이 성숙되어 성장이 끝나는 청장년기까지 지속된다. 이 시기는 骨芽細胞의 활동으로 인한 骨形成이 破骨細胞의 활동으로 인한 骨吸收보다 훨씬 많게 되는 시기이다. 骨의 再形成은 이미 성장이 끝난 후 오래된 骨을 제거하고 다시 새로운 骨로 대치되는 과정을 말하며, 骨芽細胞와 破骨細胞의 짝을 이룬 활성의 균형을 통하여 그 항상성이 유지된다. 이러한 기전은 골 개조 단위(bone remodeling unit)라는 국소부위에서 일어나는데[1], 신체 전반적으로 영향을 미치는 systemic factors들도 중요한 역할을 한다[2].

최근 分子生物學의 눈부신 발달과 더불어 骨形成에 많은 遺傳子들이 重要한 役割을 하는 것으로 알려지고 있고, 이러한 遺傳子들의 調節物質이 骨疾患 치료제로서의 가능성을 높이고 있다. 따라서 human genome project[3]가 끝나면 여러 가지 유전자들의 조절을 이용한 약물 개발이 활발히 진행될 것으로 예상되며, 韓醫學의 지식을 바탕으로 각종 질환에 대한 치료 가능한 물질의 체계적인 검색은 미래의 生命科學 分野에 중요한 연구 전략으로 생각된다[4]. 이를 위하여 각종 질환 또는 약재 개발에 필요한 실험 모델을 개발하고, 나아가 그 모델로 찾고자 하는 물질들을 검색할 수 있는 방법을 알아내어 최종적으로 검색된 물질의 效能을 分析·評價할 수 있는 체계를 갖추는 것이 필수적이다.

骨에 대한 硏究로는 骨多孔症[5~7], 骨折[8~10] 등에 대한 報告가 있었으나, 骨形成 과정시에 일어나는 여러 遺傳子의 發顯에 관한 分子生物學的인 硏究가 미비한 실정이다.

이에 著者는 補氣血·强筋骨·益精髓의 效能을 지니고 있는 鹿茸으로 藥鍼液을 제조한 후 腎俞(BL_{23})·大杼穴(BL_{11})에 刺戟하여 骨形成에 미치는 效能을 알아보고자 白鼠의 大腿骨에 人爲的으로 骨缺損을 시킨 후 治愈되는 過程을 X-ray 所見, 組織學的 觀察 및 비교원성 골 특이 遺傳子인 osteocalcin(OSC)의 發顯을 in situ hybridization法으로 觀察하여 약간의 지견을 얻었기에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 실 험

1. 動物 및 材料

1) 動物 : 200g 내외의 성숙한 Sprague-Dawley(SD)계 雄性 白鼠((주)효창, 대구)를 購入

후 고형사료(Pellet, 삼양유지사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

飼育室은 온도 약 20~24℃, 습도 30~50%, 명암 주기는 12:12hr로 유지하였다.

2) 材料

(1) 鹿茸 : 本 實驗에서 시베리아산 鹿茸(Cervi Pantotricuhum Cornu)을 慶山大學校 附屬大邱韓方病院 藥劑課에서 購入한 후 精選하여 使用하였다.

(2) 藥鍼注入器 : Sterile Hypodemic Syringe(D · M Medicrat 1.0㎖, 26gauge,신동방의료주식회사)를 使用하였다.

2. 方法

1) 藥鍼液의 調製

鹿茸 250g을 粗末하여 圓低 flask에 넣고 蒸溜水 2000㎖를 加하여 3時間 水浴에서 抽出하고 濾過한 다음, 濾過液을 rotary evaporator로 減壓濃縮하여 全量을 325㎖로 하였다. 室溫까지 冷却하고 95% ethanol 100㎖를 加하여 室溫에서 攪拌 後 放置하여 生成한 沈澱物을 濾過하여 除去하고 濾過한 液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮하여 生成된 沈澱物을 다시 濾過한다. 濾過液을 다시 85% ethanol 100㎖를 加하여 攪拌 後 放置하여 生成된 沈澱物을 濾過하여 除去하고, 다시 濾過液에 75% ethanol 100㎖를 加한 後 같은 操作을 2회 反復한 다음 濾過液中 ethanol을 減壓法으로 除去하여 殘留 全量을 100㎖이 되도록 하여 여기에 生理食鹽水 1000㎖를 加하고 3% 鹽酸으로 pH6~7로 調節하여 냉장고 내에서 24시간 放置한 다음 微量의 浮遊物을 濾過한 後 加壓滅菌하여 試料로 使用한다.

2) 骨 缺損 誘發

實驗動物을 pentobarbital sodium (30㎎/kg)으로 마취시켜 수술대에 고정한 다음, 兩側 大腿骨 上部를 면도칼로 削毛하였다. 그리고 povidone과 alcohol로 消毒한 후 1.5㎝ 크기로 절개하여 박리한 후, 대퇴골의 골간부(diaphysis)를 노출시켰다. 노출된 골간부에 生理食鹽水를 注水하면서 저속 앤진에 장착된 fissure bur로 직경 5㎜ 크기의 骨 缺損部를 형성하고, 주변부를 생리식염수로 충분히 씻어낸 후 주변의 근육조직을 층별 봉합하고, 5~0 silk 縫合絲로 피부봉합 후 항염연고를 발라 주었다[11].

3) 藥鍼刺戟

白鼠 6마리를 한 群으로 하여 骨缺損만 誘發한 正常群, 骨缺損 후 生理食鹽水를 注入한 對照群 및 骨缺損 후 鹿茸藥鍼을 處置한 藥鍼群으로 區分하여, 對照群과 藥鍼群은 人體의 大杼(BL_{11}) · 腎俞(BL_{23})에 相應하는 實驗動物의 體表 上의 骨度分寸法[12]에 依據하여 同時 取穴한 후 兩側 穴位에 各各 0.1㎖씩 1日 1回 씩 藥鍼注入器를 利用하여 藥鍼刺戟을 하였다.

4) 組織片 製作

施術 後 3, 7, 14 및 21일째 實驗動物은 urethan으로 심장 마취시켜, 흉곽을 열고, 4% paraformaldehyde 용액을 이용하여 관류 고정하였다. 고정 후 대퇴골을 절취하여, 동일 고정액에 24시간 추가 고정한 다음, 10% ethylenediamine-tetraacetic acid(EDTA)용액으로 2~3주간 충분히 탈회하고, 통상적인 방법에 준하여 탈수, 투명화시켜 paraffin에 包埋한 후 이를 5㎛두께로 절편화하여, 4℃에 보관하였으며, 이때 사용되는 모든 용액 및 용기는 Diethyl Pyrocarbonate 용액에 처리하여 사용하였다.

5) Riboprobe 準備

오사카 大學 Nomura 敎授로부터 공여 받은

0.47kb 단편의 osteocalcin(OSC) cDNA를 Digoxigenin-UTP(DIG) labeling kit(Boehringer Mannheim, Germany)를 사용하여 Digoxigenin 11-UTP-labeled single strand RNA probe를 준비하였다.

6) In situ hybridization

Nomura 등의 방법[13]으로 다음과 같이 시행하였다.

4℃에 보관된 조직 슬라이드를 xylene으로 탈paraffin하고, 계열 알코올로 탈수 시킨 다음, 37℃ 항온조에서 Proteinase K (1㎕/㎖, 10mM Tris-HCl, pH8.0, 1mM EDTA)로 12분간 처리하였다. 처리된 조직 슬라이드를 4% paraformaldehyde 용액으로 10분간 고정하고, 0.1M phosphate buffer saline(PBS, pH7.0)로 세정한 다음, 0.1M Triethanolamine-HCl(pH8.0) 완충액으로 2분간 평형화한다. 이를 다시 0.25% acetic anhydride 용액에 10분간 처리하여 acetyl화 한 후, 0.1M PBS(pH7.0)로 세정하고, 계열 알코올로 脫水하여 실온에서 건조한 다음 보관하였다.

85℃에서 3분간 가온하여 준비된 Digoxigenin-UTP-labeled RNA probe를 0.1㎖/㎖ 첨가한 다음, 85℃에 3분간 정치시킨 후, 조직 슬라이드에 50㎕ 씩 첨가하였다. 그리고 parafilm으로 덮어 보습 상자에 위치시킨 다음, 50℃ 부란기에서 16시간 정도 반응시켰다. Hybridization 종료 후 50℃ 항온조에 위치시킨 5×standard sodium citrate (SSC) 용액에서 parafilm을 제거하였다. 그리고 2×SSC와 formamide를 동량 섞은 용액에 30분간 처리한 다음, 2×SSC와 0.2×SSC용액에서 각각 15분간 처리하였다. 세정된 슬라이드를 DIG 1 용액에서 2분간 그리고 DIG 1용액에 1.5% 되게 blocking agent를 섞은 용액에서 60분간 처리한다. 그리고 anti-Digoxigenin Fab 단편을 DIG 1 용액에 1 : 1,000으로 희석하여, 실온에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 슬라이드를 DIG 1 용액으로 세정한 다음, DIG 3 용액으로 3분간 평형화시키고, 발색제 nitroblue tetrazolium chloride(NBT)와 5-bromo-4-chloro-3-indolylphosphate-p-toluidine salt(BCIP)를 첨가하여, 37℃ 부란기에서 최대 반응이 이루어질 때까지 반응시켰다. 그리고 Tris-EDTA(TE) 용액으로 반응을 정지시킨 다음, methyl green으로 대비 염색하여 관찰하였다. 대조 반응은 sense probe를 이용하여 비교 염색하고, Depex로 mounting하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

Ⅲ. 실험성적

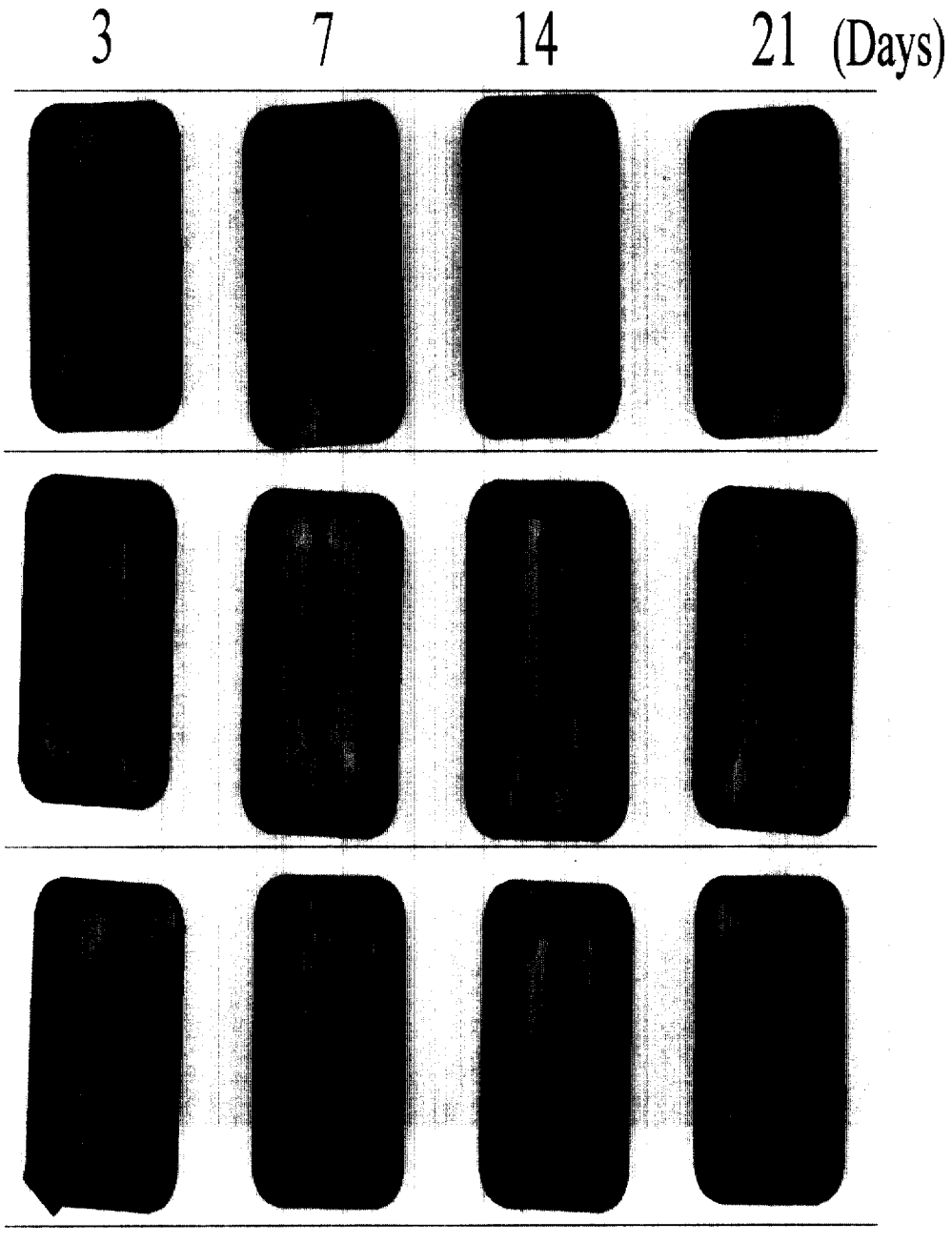
1. X-ray 所見

正常群, 對照群 및 藥鍼群 모두 3일과 7일째 所見에서는 大腿骨의 中央部位가 뚜렷하게 圓形의 radiolucent한 所見을 보임으로써 骨組織의 治愈가 完全하지 않음을 나타내었다. 7일과 14일째 所見에서는 正常群과 對照群에 비하여 藥鍼群의 骨形成이 약간 더 진행되었으나 큰 차이를 나타내지 않았다. 시간이 경과 될수록 radiopaque한 양상을 나타내었으며, 21일째 所見에서 모든 群이 正常的인 骨과 區別하기 힘들 정도로 骨組織의 治愈가 이루어져, 각 群마다 X-ray 所見上 有意性있는 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 1).

2. 組織學的 觀察

光學顯微鏡으로 觀察한 結果 1週 所見은 正常群에서 骨缺損部 주위의 기존골 변연부로부터 新生骨의 形成이 이루어지고 있으며, 對照群에서는 骨缺損部의 여러 부분에서 활발하게 新生骨이 형성되고 있었다. 藥鍼群은 骨損傷部와 骨髓腔 內로 섬유성

Fig. 1. X-ray findings of experimental femurs(A, B)

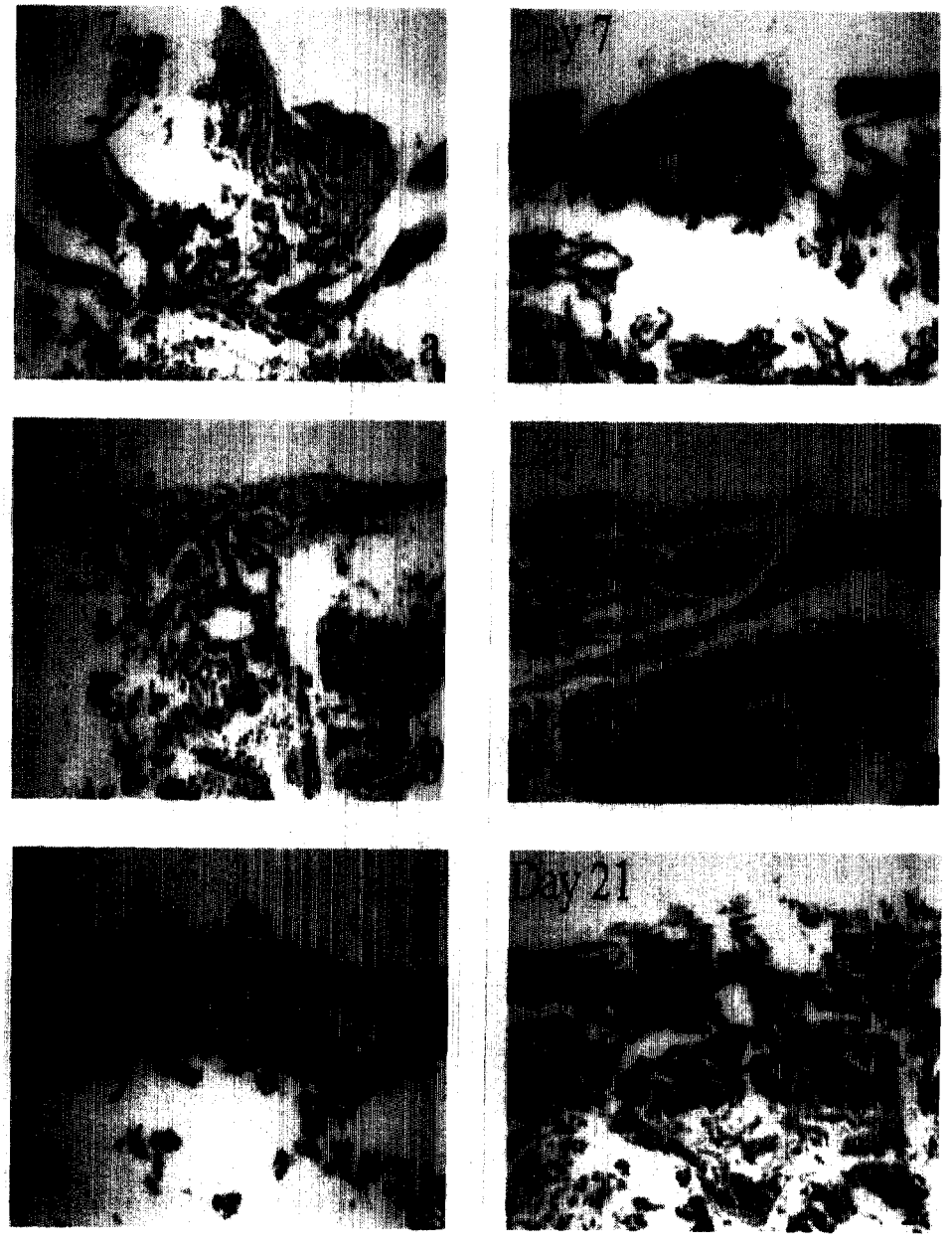


(Fig. 1. A)

(Fig. 1. B)

Normal group (a-d) : rats were nontreatment. Control group (e-h) : rats were treated with saline injection at BL_{23} & BL_{11} and Herbal-acupuncture group (i-l) : rats were treated with Cervi Pantotricuhum Cornu injection at BL_{23} & BL_{11}. Each group had the same exposure time and intensity of X-ray and indicates day 3(a,d,i), 7(b,f,j), 14(c,g,k), 21(d,h,l) respectively.

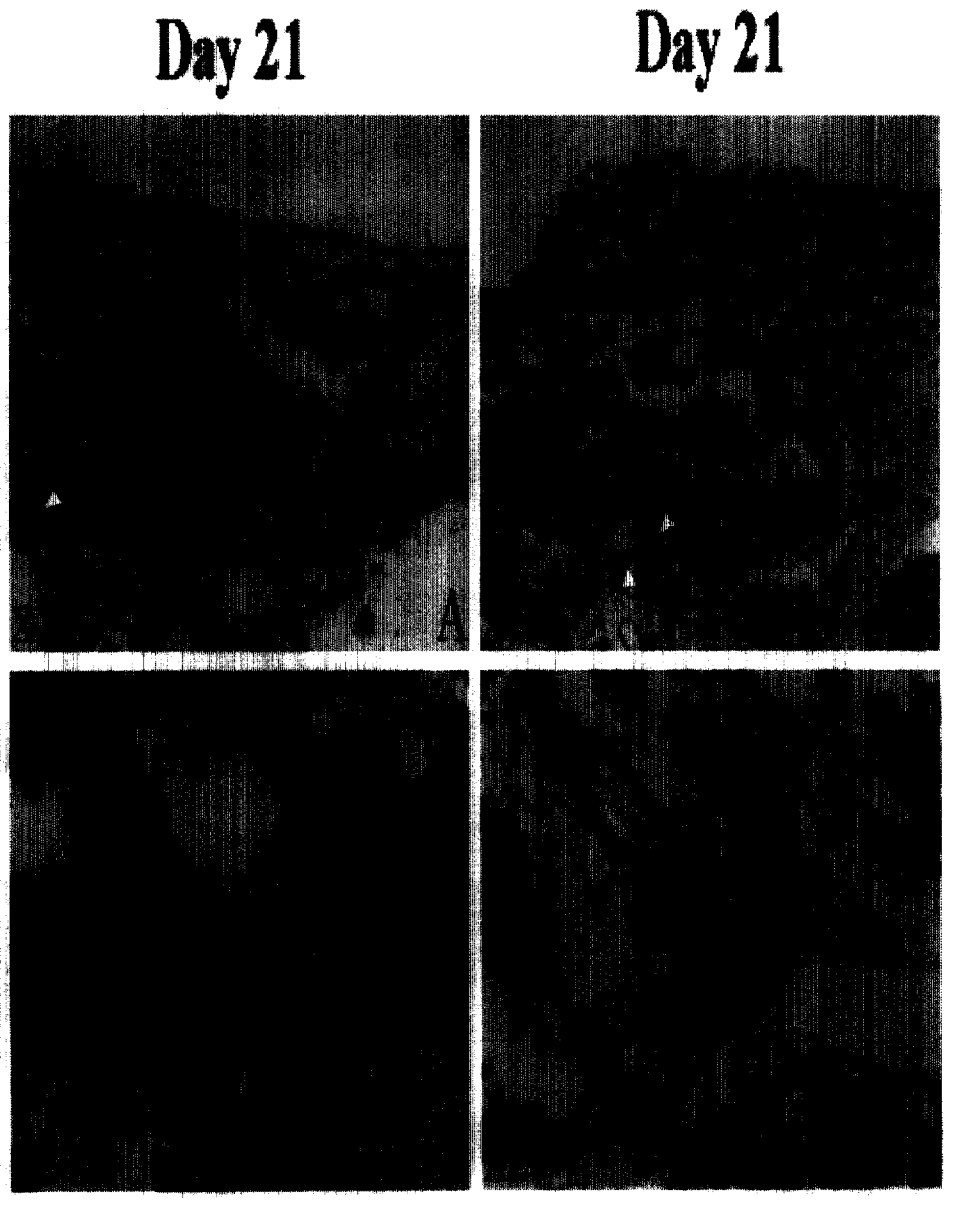
Fig. 2. Light microscopic view of experimented femurs.



Control group (a, b, c) : rats were treated with saline injection at BL_{23} & BL_{11}. Herbal-acupuncture group (d, e, f) : rats were treated with Cervi Pantotricuhum Cornu injection at BL_{23} & BL_{11}. (Magnification × 10)

Rats were sacrified and perfused with fixing solution as described in materials and methods. Femurs were decalcified and imbedded with paraffin.

Fig. 3. Localization of OSC mRNA at 3 weeks after bony healing at rat femur defect.



Control group(A and B) : rats were treated with saline injection at BL_{23} & BL_{11}. Herbal-acupuncture group(C and D) : rats were treated with Cervi Pantotricuhum Cornu injection at BL_{23} & BL_{11}. Decalcified femurs were processed as described in materals and methods. Brownish color indicates osteoclacin mRNA expression as a positve signal(arrows). Magnification (A and C ; × 10, B and D ; × 20).

결체 조직에서 뚜렷한 형태인 망상구조의 골주를 형성함으로써 신속한 골성회복이 이루어 지고 있었다.

2週 所見을 살펴보면 正常群과 對照群은 骨缺損部 주위에 新生骨이 서로 연결되어 망상구조를 이루고 있으며 骨膜이 再生되면서 皮質骨의 再生이 이루어지고 있으나 치밀골판의 형성은 아직 미약한 상태였다. 藥鍼群은 骨缺損部 주위의 치밀골판의 회복이 현저하게 나타나 있으며, 회복된 치밀 골판이 骨缺損部의 신생 골주의 망상구조와 잘 유합되어 있었다.

3週 所見은 正常群에서는 骨缺損部에 성숙되어진 망상구조를 이루고 있으며, 對照群은 骨芽細胞의 작용과 함께 破骨細胞의 작용으로 骨缺損部를 채우는 골주의 양이 많이 減少되었다. 藥鍼群에서는 皮質骨의 성숙 정도가 많이 양호하였으며, 骨髓腔 內의 신생 골주의 消失이 현저하게 나타났다. 骨損傷部 주변으로 치밀골판의 形成이 이루어지고 있었다(Fig. 2).

3. Osteocalcin mRNA 發顯

藥鍼 處置후 21일째 된 組織을 사진 4B와 4D에서 보는 바와 같이 對照群에 비하여, 藥鍼群에서 다소 强하게 나타났으나 유의성있는 차이는 없었다 (Fig. 3).

Ⅳ. 고 찰

韓醫學에서는 腎이나 骨髓와 關聯된 有機的 生理作用의 失調로 骨에 病變이 發生한다고 볼 수 있다. 腎은 精을 간직하고 精은 髓를 生하고 髓는 骨을 滋養시키는데 이를 骨生髓라 하고 腎精이 充實하면 髓가 充盛하고 骨格 또한 生長이 堅實하게 되는데, 이는 骨이 腎之府이고 髓는 腎에서 生하니 骨格의 生長과 機能은 腎氣의 盛衰에 따라서 결정되고 骨病은 대개 先天稟受가 不足하거나 腎氣가 虛弱한 者에게 많다고 인식하고 있다[14].

西洋醫學에서는 骨芽細胞와 破骨細胞의 作用을 통하여 일생동안 骨組織은 계속 破壞되고 再生되는 과정을 겪으면서 恒常性을 維持하게 된다. 骨芽細胞는 미분화된 간엽세포(mesenchymal cell)에서 유래하여 分化되면서 骨을 形成할 수 있는 능력이 부여되는 것으로 알려져 있다. 骨芽細胞의 分化에 대한 여러 가지 骨 標識因子들의 硏究는 잘 알려져 있고 아울러 分子生物學의 발달로 분화의 결정자라 할 수 있는 전사인자도 알려져 있다. 骨芽細胞의 分化는 다른 細胞의 分化와 같이 細胞 成長이 멈춘 후 骨芽細胞 고유의 기능이 나타나는 것으로 알려져 있다. 즉 骨芽細胞의 特異性은 세포 증식기에서 발현되지 않고 분화되면서 나타나는 것으로 알려져 있다. 지금까지 骨芽細胞 分化 特異的인 遺傳子로 osteocalcin과 bone sialoprotein을 들 수 있다. 이들은 骨組織 特異因子로 잘 알려져 있는 세포외 기질 단백질이다[2].

骨組織의 破壞는 破骨細胞膜 중 특수한 부위인 주름변연이 골기질에 부착하여 단백분해 효소들과 수산이온 등에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다[15]. 破骨細胞는 骨組織의 미네랄에 노출되거나 국소환경에서 여러 細胞들에 의해 만들어지는 신호들의 작용에 의해 활성화된다고 하나 그 기전은 아직 잘 알려져 있지 않다[16]. 이렇게 破壞된 骨組織은 骨芽細胞에 의한 再生過程을 거치게 된다. 骨形成 과정시 骨芽細胞는 미분화된 상태로부터 점차 분화해 가면서 骨形成에 필요한 단백질들을 만드는 것으로 알려져 있다. 骨破壞와 形成이 짝을 이루어 진행될 때 어떠한 방식으로 骨芽細胞가 分化를 이루는지에 대해서는 아직 잘 모르는 실정이며, 실지로 석회화가 시작되는 시기에 대해서도 잘 알려져 있지 않다[17]. 하지만 近年 그에 들어 分子生物學的 技法의 발

전에 힘입어 骨芽細胞의 분화정도를 가늠케 하는 여러 遺傳子들의 감지가 in situ hybridization에 의한 골기질 단백의 유전자발현 연구는 骨芽細胞의 분화 과정상의 특성을 이해하는데 많은 도움이 되고 있으며, 사용되는 골기질 유전자로 osteocalcin(OSC), osteonectin(OSN), osteopontin(OPN), matrix gla protein, bone sialoprotein 遺傳子 등을 들 수 있으며, 비교원성 골기질 단백 중 대표적인 것은 OSC으로 이는 성숙골에 많이 존재하며, 비교원성 단백질의 10~20%를 차지한다. OSC은 骨 뿐만 아니라 치아, 석회화된 연골에서 관찰된다[1].

이에 著者는 補氣血·强筋骨·補益精髓·强壯腎陽하는 效能을 지니고 있는 鹿茸[18]을 재료로 藥鍼液을 만든 후, 骨形成에 미치는 效能을 알아보고자 滋補腎陰·益水壯火·强腰脊의 穴性을 가지며 腎臟의 背兪穴로서 補腎作用이 있는 腎兪(BL_{23})[19,20]와 八會穴 중 骨會로 調骨節·舒筋脈 등의 穴性이 있는 大杼(BL_{11})[19,20]에 刺鍼하여 白鼠의 大腿骨에 骨缺損을 시킨 후 治癒되는 過程을 X-ray 所見, 組織學的 觀察 및 비교원성 골 특이 遺傳子인 osteocalcin의 發顯을 in situ hybridization法으로 觀察하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

鹿茸藥鍼의 骨形成에 미치는 效能에 대한 硏究로 X-ray 所見을 觀察한 결과 3일과 7일째 所見에서는 大腿骨의 中央部位가 뚜렷하게 圓形의 radiolucent한 所見을 보임으로써 骨形成이 완전하지 않음을 나타내었다. 7일과 14일째 所見은 對照群에 비하여 藥鍼群의 骨形成이 약간 더 進行되었으며, 시간이 경과할 수록 radiopaque한 양상을 나타내어 21일째 모든 군에서는 正常的인 骨과 구별하기 힘들정도로 骨組織의 治癒가 이루어졌다. 하지만 大腿骨을 摘出하여 肉眼으로 觀察하였을 때는 藥鍼群이 正常群과 對照群에 비하여 痂骨形成 정도가 뚜렷하게 구분될 정도로 차이를 나타내었으나, 각 群마다 X-ray 所見上 有意性있는 큰 차이를 나타내지는 않았다. 이는 白鼠의 大腿骨을 모델로 선정한 결과 骨의 크기가 작고 骨 자체의 再生力이 빨라 放射線 所見上 큰 차이가 없었던 것으로 사려된다.

光學顯微鏡上 組織學的인 觀察을 한 결과 1週 所見은 正常群은 骨缺損部 주위 기존골 변연부로부터 新生骨의 형성이 이루어지고 있었으며, 對照群에서는 骨缺損部의 여러 부분에서 활발한 骨芽細胞의 활성으로 新生骨이 형성되어지고 있었다. 藥鍼群은 骨缺損部와 骨髓腔 안쪽으로 섬유성 결체 조직에서의 骨芽細胞가 작용하여 뚜렷한 형태인 망상구조의 골주를 형성함으로써 신속한 골성 회복이 이루어지고 있었다.

2週 所見은 正常群의 骨膜이 재생되면서 皮質骨의 재생이 이루어지고 있었으나 치밀골판의 형성은 아직 미약한 상태였다. 對照群은 骨缺損部와 骨髓腔 안쪽으로 두터운 형태로 발달하는 신생골의 망상구조를 발견할 수가 있었다. 藥鍼群은 骨缺損部 주위의 치밀골판의 회복이 현저하게 나타나 있었고, 회복된 치밀골판이 骨缺損部의 신생 골주의 망상구조와 잘 유합되어 있었다.

3週 所見은 正常群에서는 骨缺損 주위 변연부에서는 치밀골판의 형성이 이루어지고 있었다. 對照群은 骨芽細胞와 破骨細胞의 작용으로 骨缺損部를 채우는 골주의 양이 많이 감소되었다. 2주 所見에 비해 뚜렷한 골성 회복이 나타났으며, 藥鍼群에서는 皮質骨의 성숙 정도가 많이 양호하였으며 骨髓腔內의 신생 골주의 소실이 현저하게 나타났다. 骨缺損部 주변으로 치밀골판의 형성이 이루어지고 있었다.

비교원성 골 특이 遺傳子 OSC mRNA의 發顯을 알아보기 위하여 in situ hybridization에 의한 方法으로 觀察한 결과 骨髓腔內의 잔존 골주를 따라 배열된 骨芽細胞들과 골개조가 진행 중인 치밀골판 내의 骨芽細胞들에서 OSC mRNA의 發顯이 强하게

나타났으며, 전체적으로 藥鍼群이 正常群과 對照群에 비하여 골성 회복정도가 약간 빠르게 나타났다.

以上에서 組織所見을 除外한 X-ray 所見 및 골조직 특이 유전자 osteocalcin mRNA 發顯을 관찰한 결과 對照群에 비하여 특이하게 현저하다고 할 만한 骨形成 촉진은 없었다. 다만 組織學的 分析을 위하여 摘出한 大腿骨을 肉眼으로 觀察하였을 때 鹿茸藥鍼群에서 훨씬 效果 있는 것으로 보였지만, X-ray 所見으로는 그와 같은 현저한 결과를 얻을 수 없었다. 이는 試料를 준비하는 과정에서 중요한 부분이 소실되었거나, X-ray 등이 현저한 차이를 낼 만큼 해상도가 충분하지 않아서 일 가능성이 높다.

V. 결 론

鹿茸藥鍼이 骨形成에 미치는 影響을 分析하고자 白鼠의 大腿骨에 人爲的으로 骨缺損을 시킨 후 治愈되는 過程을 X-ray所見, 組織學的 觀察 및 비교원성 골기질 단백 mRNA 발현 양상을 in situ hybridization法으로 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 大腿骨을 摘出하여 肉眼的으로 觀察하였을 때, 다른 群에 비하여 藥鍼群에서 痂骨形成이 뚜렷하였으나, X-ray 所見上 각 群마다 有意性있는 차이를 나타내지는 않았다.

2. 組織學的 觀察을 한 결과 1週 所見은 對照群에 비하여 藥鍼群이 骨缺損部와 骨髓腔 내쪽으로 신속한 골성회복이 이루어 지고 있었다. 2週 所見은 對照群에 비하여 藥鍼群이 骨缺損部 주위의 치밀골판의 회복이 현저하게 나타났으며, 회복된 치밀골판이 骨缺損部의 신생골주의 망상구조와 잘 유합되어 있었다. 그리고 3週 所見은 對照群에 비하여 藥鍼群이 皮質骨의 성숙 정도가 많이 양호하였으며, 骨缺損部 주변으로 치밀골판의 형성이 이루어지고 있었다.

3. Osteocalcin mRNA의 發顯은 對照群에 비하여 藥鍼群이 骨髓腔 內와 치밀골판 내의 骨芽細胞에서 mRNA의 發顯이 다소 强하게 나타났으나, 有意性있는 차이는 없었다.

VI. 참고문헌

1. Baron, R., Vignery, A. and Horowitz, M. Lympocytes, macrophages and the regulation of bone remodeling. In: Bone and Mineral Research. New York:Peck, W. J. Elsevier. 1984:175-243.
2. Lian JB, Stein GS, Canalis E, Robey PG, Boskey AL. Bone formation. In: Osteoblast lineage cells, growh factor, matrix proteins, and the mineralization process, 4th Ed. Favus MJ. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Philadelphia, U.S.A: Lippincott Williams and Wilkins. 1999: 14-27.
3. Collins, F., Patrinos, A., Jordan, E., Chakravarti, A., Gesteland, R., Walters, L., and the members of the DOE and NIH planning groups. New goals for the U.S. human genome project: 1998-2003. Science. 1998;282:682-746.
4. 김정숙. 생약을 이용한 골다공증 치료제 개발 연구. 제 1회 골다공증 연구회 심포지움 pr-

oceeding. 1998:32-6.
5. 姜成吉 外. 鹿茸藥針刺戟이 卵巢摘出 흰쥐의 脂質 및 骨代謝에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1996;17:168-177.
6. 권대현 外. 黃精藥針液의 氣海投與가 흰쥐의 骨多孔症에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1998;15(1):515-523.
7. 韓相源, 李潤浩, 金昌煥. 鹿茸藥鍼이 卵巢摘出로 誘發된 白鼠의 骨多孔症에 미치는 影響. 大韓藥鍼學會誌. 2000;3(1):177-191.
8. 孫仁貴, 陳冠群. 實驗性骨折愈合的走查電鏡觀察. 中華骨科雜誌. 1993;13(2):114-6.
9. 余希杰. 異名異冲制影響骨折愈合過程的組織學及X線定量研究. 中國中醫骨傷科雜誌. 1998;6(3):11-3.
10. 張劍宇, 李麗. 羊骨膠促進骨折愈合的初步實驗. 中國骨傷. 1998;11(3):20-2.
11. Virolainen, P., Vuorio, E., and Aro, H.T. Gene expression at graft-host interfaces of cortical bone allografts and autografts. Clin. Orthop. Rel. Res.. 1993;297:144-9.
12. 高炯均. 흰쥐에서의 골도분촌에 의한 상응혈위. 大韓鍼灸學會誌. 1998;16(3):115-122.
13. Nomura, S., Hirakawa, K., Nagoshi, J., Hirota, S., Kim, H.-M., Takemura, T., Nakase, T., Takaoka, K., Matsumoto, S., Nakajima, Y., Takebayashi, K., Takano-Yamamoto, T., Ikeda, T., Kitamura, Y. Method for detecting the expression of bone matrix protein by in situ hybridization using decalcified mineralized tissue. Acta Histochem. Cytochem. 1995;26:303-9.
14. 金完熙, 金廣中. 臟象學의 理論과 臨床. 서울: 일중사. 1996:54.
15. Chamber, T.J. Resorption of bone. In: The biological mechanism of tooth eruption and root resorption. Davidovitch. EBSCO media. Birmingham. 1998: 33-100.
16. Mundy, G. R. Inflammatory mediators and the destruction of bone. J. Periodont. Res. 1991;26:213-7.
17. Stein, G. S., Lian, J. B., Bortell, T. A. and Owen, A. Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differntiation. FASEB J. 1991;4:3111-23.
18. 全國韓醫科大學 本草學敎授 共編著. 本草學. 서울:영림사. 1991:545-6.
19. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學敎室 編著. 鍼灸學(上). 서울:집문당. 1991:476-7, 489-90.
20. 王德深 主編. 中國鍼灸穴位統監. 靑島市:靑島出版社. 1989:399-400.