

가시오가피가 함유된 성장촉진용 조성물의 골성장효과 연구

양동식 · 차민호 · 강봉주 · 오세욱¹ · 김영언¹ · 윤유식*

한국한의학연구원, ¹한국식품개발연구원

A Study on the Longitudinal Bone Growth of Growth-stimulating Material with *Eleutherococcus senticosus*

Dong-Sik Yang, Min-Ho Cha, Bong-Joo Kang, Se-Wook Oh¹,
Young-Eon Kim¹ and Yoosik Yoon*

Korea Institute of Oriental Medicine, ¹Korea Food Research Institute

This study was conducted to evaluate the effect of a growth-stimulating material (GSM) containing *Eleutherococcus senticosus* on the longitudinal bone growth. The effects of GSM on proliferation zone and IGF-1 mRNA expression in rat growth plate, IGF-1 mRNA expression in MG-63 osteoblast and Hep-G2 hepatocyte, and bone growth of mouse tibia were studied. GSM significantly increased the proliferation zone in growth plate of proximal tibia ($P<0.001$) and the IGF-1 mRNA expression in growth plate was also increased ($P<0.01$). Treatment of GSM to MG-63 osteoblast and Hep-G2 hepatocyte also increased IGF-1 mRNA expression more than twice. In addition, bone mineral density of mouse tibia was significantly increased by GSM ($P<0.05$). Therefore, it was shown that GSM has an activity of bone growth promotion by increasing the expression of IGF-1, a major bone growth factor.

Key words: *Eleutherococcus senticosus*, growth plate, Hep-G2, IGF-1, MG-63

서 론

성장이란 신장의 증가를 말하며, 영양과 성장호르몬 등에 의하여 촉진된다. 특히 성장호르몬을 분비하는 뇌를 포함한 신경계는 유년기에 현저하게 생장하고, 그 후는 성장이 완만해진다. 최근에 생활 환경 및 영양상태의 향상으로 인하여 성장기 아동의 신장이 크게 증가되면서, 상대적으로 저신장의 어린이와 청소년들의 소외감이 증가되는 결과를 초래하였고 그 결과로 소아의 성장에 대한 관심이 크게 증가하였다. 성장호르몬 부족으로 성장이 비정상적으로 느린 아동을 위한 전문의약품으로 성장호르몬 주사제가 있으나 복용이 어렵고 말단비대증, 갑상선 기능저하증 등의 부작용을 일으킬 수도 있으므로 정상적인 호르몬 분비능력을 지닌 대다수의 아동에게는 비타민, 미네랄 등의 충분한 영양 공급과 함께 식품을 통하여 성장인자의 체내 발현을 안전하게 증가시키는 방법이 필요하다고 볼 수 있다.

장골 길이 성장은 신체의 신장과 골격을 결정지으며, 특별한 기작에 의해 조절되어 진다. 특히 장골의 근위부 성장판

(epiphyseal growth plate)의 성장이 골의 길이 성장과정에 가장 중요한 척도가 된다. 성장판은 연골세포(chondrocyte)를 증식시키는 증식층(proliferation zone)과 연골세포의 성숙과 비대 작용을 하는 성숙층(maturation zone)과 비대층(hypertrophic zone)으로 나누어지고, 이들의 상호작용으로 장골의 길이 성장이 이루어진다⁽¹⁾.

IGF-1(Insulin-like Growth Factor-1)은 70개의 아미노산으로 이루어진 골성장의 주요한 인자로 간과 골조직에서 발현된다. 간세포 수용체와 성장호르몬의 상호작용으로 간에서 IGF-1 유전자 발현이 촉진되고, IGF-1이 분비된다⁽²⁾. IGF-1은 IGF-1 수용체와 결합하여 태아의 성장조절에 관여할 뿐만 아니라, 태아의 출생 후에도 성장과 발육에 매우 중요한 조절물질로 작용하는 등, 성장발달 및 체세포 분화에 매우 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다⁽³⁾. 특히 골형성에 관여하는 조골세포(osteoblast)는 IGF-1에 의해서 분화와 증식을 촉진시킨다. 성장판(growth plate)내의 연골세포의 증식과 최종적인 골화 과정의 결과로 장골말단 성장판이 증식하고 장골의 길이 성장을 이루게 된다⁽⁴⁾. IGF-1이 결핍된 환자에게 IGF-1을 투여한 경우에는 체조성, 인슐린 민감성, 골 무기질 밀도 및 길이 성장이 개선된다는 보고가 있다⁽¹⁾.

두릅나무과인 가시오가피(*Eleutherococcus senticosus*)는 siberian ginseng이라고 알려져 있을 정도로 약효가 우수한 약용 식물로, 1969년 Brekhmann이 가시오가피에 adaptogen으로서

*Corresponding author : Yoosik Yoon, Medical R&D Department, Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea
Tel: 82-2-3442-1994(207)
Fax: 82-2-3447-1994
E-mail: ysyoon@kiom.re.kr

의 효능이 있음을 주창한 아래 독일과 러시아 등지에서 꾸준하게 연구되어왔다⁽⁵⁾. 한방에서는 여름에서 가을 사이에 뿌리와 나무껍질을 말려서 양위, 관절류머티즘, 요통, 퇴행성관절증후군, 수종, 각기, 타박상 등에 처방하였다⁽⁶⁾. 국내에서는 여러 가지 이유로 가시오가피의 효능 및 성분 분석에 대한 연구자체가 미흡하였으나 최근에 연구가 이루어지기 시작하여, 스트레스성 위궤양 치료⁽⁷⁾, 혈관이완효과⁽⁸⁾, 고지혈증 치료⁽⁹⁾, 지질과산화억제⁽¹⁰⁾, 지구력 증진^(11,12), 항알러지 활성⁽¹³⁾ 등의 연구가 보고되고 있다. 또한 흰쥐의 장골길이 성장촉진에도 관여한다는 결과가 발표되었으나 구체적인 작용기전은 알려져 있지 않다⁽¹⁴⁾.

따라서, 본 연구는 가시오가피를 포함한 조성물 GSM(Growth Stimulating Material)의 골성장촉진 작용기전을 IGF-1과 관련하여 *in vitro*와 *in vivo* 연구를 병행하여 조사하였다.

재료 및 방법

시료

가시오가피 추출물 제조는 AOAC방법⁽¹⁵⁾에 의해 행하였다. 가시오가피는 (주)그린케어에서 수입한 북한산 가시오가피 농축액을 동결건조(freeze dryer, Bondiro, Korea)하여 가시오가피 추출물을 제조하였고, 각종 비타민, 미네랄 등과 조합하여 가시오가피가 함유된 성장촉진용 조성물을 제조하였다. 이 조성물을 GSM(Growth Stimulating Material)이라 명명하였다(Table 1).

실험동물 및 실험설계

생후 4주령의 수컷 C57BL/6 마우스(20.5 ± 1.4 g)와 7주령 수컷 Sprague-Dawley(SD) 흰쥐(238 ± 2 g)를 각각 20마리씩 대한 바이오 링크에서 구입하여 1주일간 고형배합사료(삼양배합사료)와 물로 예비 사육시킨 후에 실험을 수행하였다. 마우스는 족경골(tibia)의 생장을 측정하기 위하여 사용되었고, SD 흰쥐는 족경골의 조직을 관찰하는데 이용되었다. 모든 동물실험설계는 종류수를 투여하는 대조군($n = 10$)과 GSM을 투여한 실험군($n = 10$)으로 분류하였고, 매일 1회 각각 종류수와 시료를 경구투여 하였다. 동물사육의 환경은 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$ 로 조정하였고, 12시간 명암주기를 유지하였다.

Table 1. Composition of growth-stimulating material (GSM) with *Eleutherococcus senticosus*

| Component | Amount (mg/kg/day) |
|-----------------------------------|--------------------------|
| <i>Eleutherococcus senticosus</i> | 7.2 |
| Vitamin A | 0.014 |
| Vitamin B ₁ | 0.028 |
| Vitamin B ₂ | 0.028 |
| Vitamin B ₆ | 0.056 |
| Vitamin C | 2.8 |
| Vitamin D ₃ | 0.0014 |
| Vitamin E | 0.72 |
| Nicotinamide | 0.056 |
| Folic acid | 0.0072 |
| Others | calcium, iron, zinc etc. |

성장판의 종식영역 관찰

성장판의 종식영역 관찰을 위해서 박 등의 방법⁽¹⁴⁾에 따라 조직표본제작 및 종식영역의 길이를 측정하였다. 실험동물 SD 흰쥐에 3주간 종류수와 GSM을 투여하고, diethylether(Showa, Japan)로 마취를 시킨 후, 개흉한 다음 needle을 좌심실에 주입한 후 해파린 처리된 PBS를 심장에 관류시켰다. 이어서 0.1 M phosphate buffer에 녹인 pH 7.4의 4.0% formalin 고정액으로 관류시킨 후, 흰쥐의 좌우 족경골을 떼어내어 0.1 M phosphate buffered formalin 고정액에 고정시킨 다음, 고정된 골조직을 paraffin 절편으로 제작하였다. 조직절편을 H&E staining⁽¹⁶⁾하여 광학현미경으로 관찰하고 형상분석프로그램(IMT(VT)-Morphology, USA)으로 성장판내에 종식영역의 길이를 μm 단위로 측정하였다.

In situ hybridization

*In situ hybridization*은 Zimmermann 등의 방법⁽¹⁷⁾을 이용하여 조직내의 IGF-1 mRNA 발현양상을 관찰하였다. 상기와 같이 준비된 조직절편을 사용하였다. Xylene으로 조직절편의 왁스층을 제거하고, 에탄올로 털수 후 proteinase K를 10분간 반응시켰다. Hybridization buffer에 희석된 IGF-1 probe를 첨가하여 5분간 80°C 로 가열후, 37°C 에서 16시간 반응시켰다. 반응된 조직을 0.1%의 Tween 20이 함유된 PBS로 세척하고 biotinylated anti-fluorescein으로 20분간 반응시킨 뒤, Streptavidin Horseradish peroxidase conjugate로 다시 20분간 반응시켰다. 반응정도는 DAB(diaminobenzidine, USA)에 의해 갈색으로 반응된 정도를 알아보았으며, IGF-1 probe의 sequence는 5'-TCCACCAGCTCAGCCCCGCAAAGGGTCTCTGGTCC-3'와 같다.

조골세포 및 간세포에서 IGF-1 발현 측진 효과

조골세포 및 간세포에서 IGF-1 발현 측진을 관찰하기 위하여 Marinaro 등에 의한 방법⁽¹⁸⁾을 변형하여 total RNA 분리 및 RT-PCR을 수행하였다. MG-63 조골세포와 Hep-G2 간세포는 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였다. MG-63 세포와 Hep-G2 세포를 10% FBS가 포함된 DMEM 배지에서 6 well plate에 배양한 다음, FBS-free DMEM 배지에서 16시간 동안 방치하여 FBS의 효과를 제거하였다. 이후 각 well에 GSM을 0, 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/mL}$ 농도별로 포함된 FBS-free DMEM 배지로 교체한 후 24시간 방치하여 세포 시료를 준비하였다.

Total RNA 5 μg 에 100 pmol의 Oligo dT primer를 부가한 다음, 65°C 에 10분간 방치하고 RT premix(bioneer: K2044)를 이용하여 reverse transcription를 수행하였다. PCR에 사용된 IGF-1 특이적 primer는 각각 5'-CCAAATTATTAAAGTGCTG C-3'(left primer)과 5'-CAAATGTACTTCCTTCTGGG-3'(right primer)이며, PCR 산물의 크기는 396 bp이다. PCR은 94°C , 5 min \rightarrow (94°C , 1 min \rightarrow 60°C , 1 min \rightarrow 72°C , 1 min)(40 cycle) \rightarrow 72°C , 10 min \rightarrow 4°C 의 조건으로 수행하였으며, internal control로는 GAPDH gene specific primer를 이용하여 94°C , 5 min \rightarrow (94°C , 1 min \rightarrow 65°C , 1 min \rightarrow 72°C , 1 min) (25 cycle) \rightarrow 72°C , 10 min \rightarrow 4°C 의 조건으로 수행하였다. IGF-1 gene 발현량은 Image Master VDS software(Amersham Pha-

macia Biotech, UK)를 이용하여 측정하였다.

족경골 생육 효과

실험동물 C57BL/6에 3주간 증류수와 GSM을 경구투여한 후, diethylether(Showa, Japan)로 마취를 시킨 후, 좌우 족경골(tibia)을 분리하여 길이와 두께를 캘리퍼스로 측정하였다. 또한 X-ray 골밀도측정기(PIXImus densitometer, LUNAR, USA)를 이용하여 경골의 골무기질밀도를 측정하였다.

통계

모든 data는 mean \pm SEM으로 나타내었으며, 통계분석은 약물 투여군을 대조군과 비교한 Student's t-test⁽¹⁹⁾를 행하였다.

결과 및 고찰

족경골 성장판 증가 효과

최근에 경제성장으로 인하여 성장기 아동의 성장발육이 크게 촉진됐으나, 상대적으로 저신장의 어린이와 청소년들의 소외감이 증가하고 있고 인스턴트 식품의 과대섭취에 따른 비타민, 미네랄 부족 등의 영양불균형 문제가 대두되고 있는 시점에서 저신장 아동에게는 비타민, 미네랄 등의 충분한 영양 공급과 함께 식품을 통하여 성장인자의 체내 발현을 안전하게 증가시키는 방법이 필요하다. 따라서 본 실험은 가시오가피를 포함한 성장촉진용 조성물(GSM)이 성장인자의 체내 발현을 증가시키는지 알아보기 위하여 수컷 SD 흰쥐를 공시동물로 선정하였고, 주령은 수컷 SD 흰쥐의 계속적인 성장 증가를 보이지만 5주에서 6주사이에 가장 많은 성장증가를 보인다는 연구결과에 의해 성장이 둔화되기 시작하여 성장인자의 발현이 감소될 수 있는 시점인 7주령을 채택하였다⁽²⁰⁾.

먼저 GSM이 장골 길이 성장에 어떤 영향을 미치는지 관찰하기 위하여, GSM을 3주간 투여한 SD 흰쥐의 족경골 근위부의 성장판을 관찰하였다. GSM 투여군에서 성장판 두께의 증가를 보였고, 또한 증식층 길이가 96% 증가함을 관찰할 수 있었다(Fig. 1)(P<0.001). 성장판은 연골세포의 형태, 크기, 대사능력에 따라 증식층, 성숙층, 비대층으로 분류되며, 골성장은 증식층의 연골세포 분열이 활발히 이루어진 후에 성숙과정을 거쳐 비대층에서 비대가 이루어지고 무기질로 이루어진 연골 조직으로 대체되면서 성장이 일어난다. 따라서 성장판의 두께는 장골길이 성장의 중요한 지표로서 사용되어 왔고, 또한 골성장을(bone growth rate)은 성장판내에서 세로축의 세포 생성율과 비대층 연골세포의 평균 높이의 두 요인에 의해 이 비례한다고 보고되어 있다⁽²¹⁾. 위 보고들은 성장판내의 성장을 강조하는 것으로 GSM투여에 의한 성장판 두께 증가 및 증식층 길이 증가가 장골길이 증가에 영향을 미칠 것으로 간주된다. 또 다른 연구에 의하면 연령 증가로 인한 장골길이 성장의 감소는 연골세포 생산의 감소와 비대층의 세포 크기 감소가 원인이 된다고 한다⁽²²⁾. 따라서, GSM이 장골 길이성장 조절에 관여하여, 증식층에서 연골세포의 증식과 분화 과정을 활발하게 촉진시키고 비대층에서 세포의 비대 및 골화 과정에 효과적으로 작용하는 것으로 생각된다.

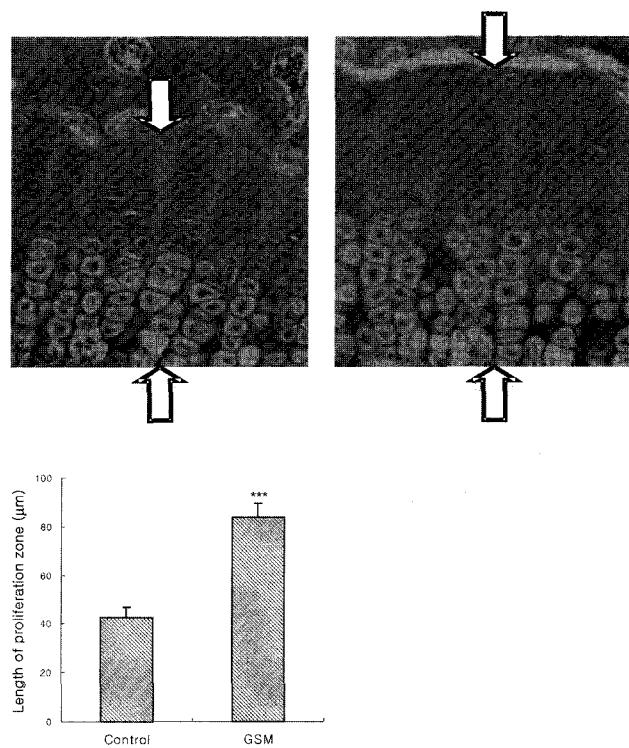


Fig. 1. Epiphyseal growth plate in rats treated with GSM.

GSM treatment increases length of proliferation zone in the growth plate. Distance between vertical arrows indicates the width of the epiphyseal growth plate. ***means significant difference compared with DW-treated control group ($P<0.001$).

족경골 성장판과 조골세포 및 간세포에서 IGF-1 유전자 발현 촉진 효과

GSM 투여가 성장판을 증가시켜 골성장을 촉진시키는 것으로 관찰되었으므로 3주간 GSM 투여한 흰쥐의 족경골 성장판내에서 *in situ* hybridization 방법을 이용하여 골성장을 직접적으로 촉진하는 주요 성장인자로 알려진 IGF-1의 mRNA 발현 증가 여부를 확인하였다. Fig. 2에서 IGF-1 mRNA 발현 부분은 검은색을 띠고 있는 부분으로, 대조군에 비해 GSM 투여군에서, IGF-1 mRNA 발현량의 급격한 증가를 확인 할 수 있었다(Fig. 2). 성장판내의 IGF-1 mRNA 발현 면적은 대조군($4712 \mu\text{m}^2$)에 비해 GSM 투여군($7260 \mu\text{m}^2$)이 54% 증가하였고, IGF-1 mRNA 발현 세포수에서 대조군 93개, GSM 투여군 168개로 역시 81%의 유의적 증가를 보였다(Fig. 2)(P<0.01).

골성장 인자인 IGF-1은 주로 간 및 골조직에서 발현된다고 알려져 있다⁽²³⁾. 따라서 GSM의 성장촉진효과가 유전자 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 주요 골성장인자인 IGF-1의 발현 양상을 *in vitro* 세포 배양을 이용하여 인간 조골세포 MG-63과 간세포 Hep-G2에서 RT-PCR 방법을 이용하여 관찰하였으며, IGF-1 발현양상은 GAPDH 발현량 대비로 %비율로 표시하였다.

MG-63 조골세포에 GSM을 0, 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리한 결과 농도 의존적으로 IGF-1 발현량이 증가하였고, 특히 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 GSM 무처리군보다

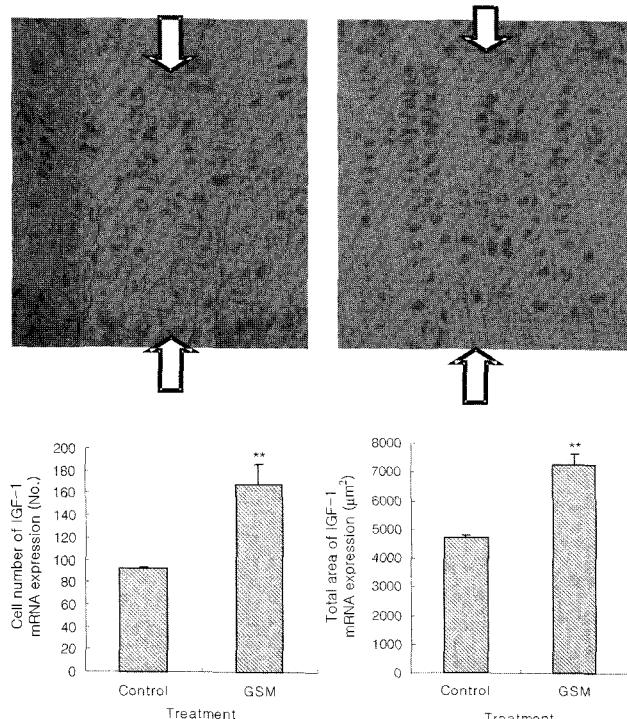


Fig. 2. IGF-1 mRNA expression in the epiphyseal growth plate *in situ* hybridization.

GSM treatment increases the number and the total area of chondrocytes expressing IGF-1 mRNA in growth plate. Distance between vertical arrows indicates the width of the epiphyseal growth plate. **means significant difference compared with DW-treated control group ($P<0.01$).

IGF-1 발현량이 2.3배 증가함을 보였다(Fig. 3)($P<0.05$). 또한 간세포 Hep-G2 에서는 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 GSM 무처리군 보다 IGF-1 발현량이 3.1배 증가를 나타내었다(Fig. 4)($P<0.01$). 세포실험에서는 GSM 농도에 따라 MG-63세포와 Hep-G2세포에서 IGF-1 유전자의 발현 양상은 각기 다르게 나타냈지만, 결론적으로 GSM이 간과 골조직에서 IGF-1 유전자 발현을 촉진시킨다는 것을 뒷받침하고 있다. 따라서, 동물실험에서의 성장판내의 IGF-1 mRNA 발현량 증가와 세포 실험에서의 간과 골세포에서의 IGF-1 mRNA 발현량 증가는 GSM이 성장인자의 체내 발현을 증가시킴을 확인할 수 있고, 이는 곧 IGF-1이 골형성에 관여하는 조골세포의 분화와 증식을 촉진시킨다는 많은 연구결과에 의해^(4,24,25), IGF-1 발현을 촉진시키는 GSM이 장골길이성장에 크게 관여 할 것으로 생각된다.

족경골 생육 효과

GSM이 다양한 범위에서 효과가 있는지 알아보기 위하여, 실험동물을 mouse로 선택하여 족경골 생육 효과를 관찰하였다. 골성장촉진 효과를 측정하기 위하여, 마우스에 3주간 GSM을 경구투여 한후, 족경골의 길이, 두께 그리고, 골무기질밀도를 측정하였다(Table 2). 족경골의 길이는 대조군과 GSM 투여군에서 각각 16.72 mm, 16.92 mm이었으나 통계적인 유의성은 없었다. 족경골 근위부의 두께에서는 GSM 투여군(1.13 mm)이 대조군(1.09 mm)보다 유의적인 증가를 보였

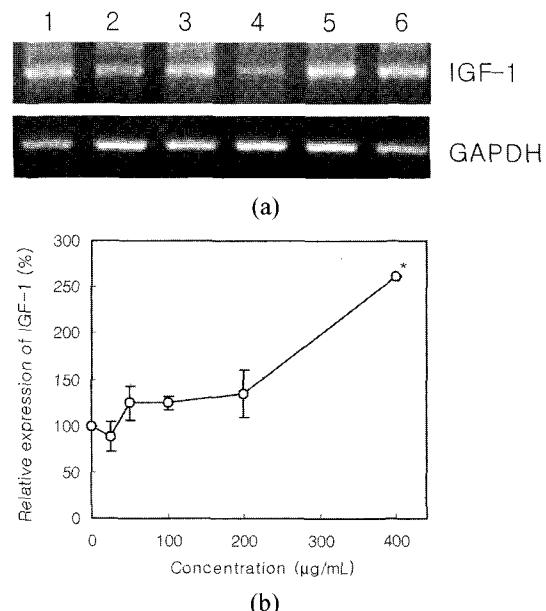


Fig. 3. IGF-1 mRNA expression in MG-63 human osteoblast cell line that were treated with GSM.

(a) Electrophoresis of IGF-1 RT-PCR product. Lane 1: GSM 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 2: 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 3: 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 4: 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 5: 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 6: 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$. (b) Expression ratio of IGF-1 mRNA compared with non-treated control cell. *means significant difference compared with GSM non-treated control group ($P<0.05$).

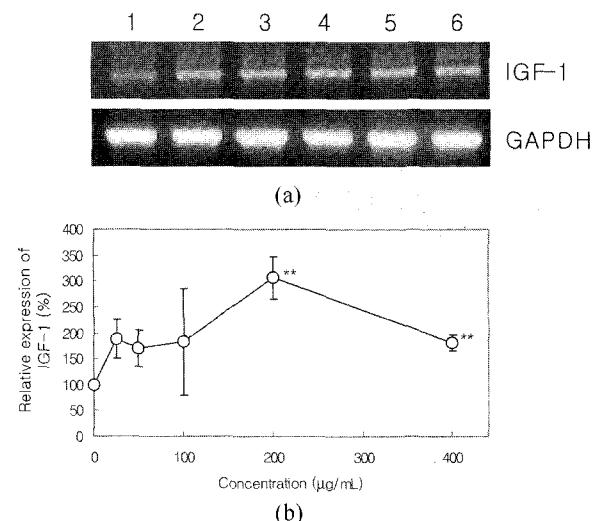


Fig. 4. IGF-1 mRNA expression in Hep-G2 human liver cell line that were treated with GSM.

(a) Electrophoresis of IGF-1 RT-PCR product. Lane 1: GSM 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 2: 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 3: 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 4: 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 5: 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lane 6: 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$. (b) Expression ratio of IGF-1 mRNA compared with non-treated control cell. **means significant difference compared with GSM non-treated control group ($P<0.01$).

다($P<0.01$). 실험동물에 IGF-1 투여시 장골길이와 근위부 두께가 증가한다는 연구 결과가 많이 보고되고 있지만^(26,27), GSM 투여군에서 IGF-1 분비가 증가함에도 불구하고 족경골 길이에서 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않은 것은

Table 2. Effect of growth-stimulating material (GSM) on bone growth in mouse

| Treatment | Length ¹⁾ (mm) | Width ¹⁾ (mm) | BMD ^{1,2)} (mg/cm ²) |
|-----------|---------------------------|--------------------------|---|
| Control | 16.72 ± 0.16 | 1.09 ± 0.01 | 41.2 ± 0.6 |
| GSM | 16.92 ± 0.07 | 1.13 ± 0.01** | 43.0 ± 0.5* |

¹⁾Values are mean ± SEM of 10 mouse.

²⁾BMD: bone mineral density.

*, **: Significantly different compared to the value for control groups at *P<0.05, and **P<0.01, respectively.

GSM의 처리기간이 짧았던 때문으로 추정된다. 또한 골의 외부 충격에 대한 저항력의 척도가 되는 골무기질 밀도에서는 GSM 투여군(43.0 mg/cm²)이 대조군(41.2 mg/cm²)보다 증가를 보였고 유의적인 차이를 나타내었다(P<0.05). 이 결과는 에스트로겐과 더불어 IGF-1도 골무기질 밀도를 조절한다는 최근의 보고와 일치한다⁽²⁸⁾. 그러므로, GSM은 SD 흰쥐에서의 결과뿐만 아니라 달라진 실험동물에서도 장골길이성장에 척도가 되는 족경골의 두께와 골무기질 밀도를 증가시킴으로서 장골길이성장에 효과를 나타낼 것으로 보인다.

요 약

본 연구는 가시오가피를 함유한 성장촉진용 조성물인 GSM의 성장촉진 효과를 관찰하기 위하여, 족경골 말단의 성장판 증식과 골성장인자 IGF-1 유전자 발현에 미치는 영향, 골세포와 간세포에서 골성장인자 IGF-1 유전자 발현, 그리고 족경골의 생육 효과를 관찰하였다. GSM은 세포실험을 통하여 주요 성장 인자인 IGF-1을 간에서 합성을 촉진시킬 뿐만 아니라, 골에서도 합성을 촉진시키는 효과를 나타내었다. 그리고 간과 골에서 합성이 촉진된 IGF-1은 동물실험을 통하여 장골 길이 성장의 중요한 척도가 되는 성장판 말단부의 증식층 및 비대층의 연골세포 활력을 증대시켜 성장판 두께를 증가시켰고, 또한 골무기질밀도를 증가시키는 효과를 보여주었다. 따라서 본 연구는 GSM의 지속적인 연구를 통하여 성장기 어린이에게 성장촉진 및 골강화에 응용할 수 있는 소재로 개발 가능성이 있음을 제시하였다.

문 헌

1. Loveridge, N. Bone: more than a stick. *J. Anim. Sci.* 77: 190-196 (1999)
2. Laron, Z. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Mol. Pathol.* 54: 311-316 (2001)
3. Roith, D.L. Insulin-like growth factors. *N. Engl. J. Med.* 336: 633-640 (1997)
4. Hunziker, E.B. and Schenk, R.K. Physiological mechanisms adopted by chondrocytes in regulating longitudinal bone growth in rats. *J. Physiol.* 414: 55-71 (1989)
5. Brekhmann, I.I. and Dardymov, I.D. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Ann. Rev. Pharmacol.* 9: 419-430 (1969)
6. Lee, S.I. *Herbology*, pp. 283-284. Young Lim Co., Seoul, Korea (1998)
7. Whang, W.K., Choi, S.B. and Kim, I.H. Physiological activities of mixed extracts of *Acanthopanax senticosus*, *Radicis cortex* and *Eucommiae cortex*. *Korean J. Pharmacogn.* 27: 65-74 (1996)
8. Kang, B.S., Kim, H.H., Ahn, D.K. and Choi, H.Y. Vasodilation effect of the various parts of the water extract of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. on isolated thoracic aorta and abdominal aorta from rat. *Korean J. Herbology* 16: 13-18 (2001)
9. Lee, S.Y., Jung, S.H., Lim, S.S., Ji, J., Lee, S.H. and Shin, K.H. Effects of the water extract from the stem bark of *Acanthopanax senticosus* on hyperlipidemia in rats. *Korean J. Pharmacogn.* 32: 103-107 (2001)
10. Han, Y.N., Kwon, Y.K. and Han, B.H. Comparison on the protective effect of the root of *Panax ginseng* and the root bark of *Acanthopanax senticosus* against lipid peroxidation. *Korean J. Pharmacogn.* 12: 26-30 (1981)
11. Paik, I.Y., Park, T.S., Oh, S.W., Woo, J.H., Jin, H.E. and Park, H.R. The effects of *Eleutherococcus senticosus* extract on human fatigue factors and oxidant-antioxidant system during maximal and submaximal exercise. *Korean J. Physical Edu.* 41: 305-315 (2002)
12. Song, Y., Han, D.S., Oh, S.W., Park, I.Y. and Park, T. Effect of dietary supplementation of *Eleutherococcus senticosus*, taurine and carnitine on endurance exercise performance in rats. *Korean J. Nutr.* 35: 825-833 (2002)
13. Yoon, T.J., Lee, S.W., Shin, K.S., Choi, W.H., Hwang, S.H., Seo, S.H., Kim, S.H. and Park, W.M. Effect of hot water extract from *Acanthopanax senticosus* on systemic anaphylaxis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 518-523 (2002)
14. Park, S.Y., Lee, D.H., Boo, Y., Leem, K., Cho, K.H., Suk, K., Kim, S.Y., Jho, T.S., Yoon, S.H. and Kim, H. Effect of ginseng-sungjanwon on the growth of longitudinal bone in adolescent male rats. *J. Korean Soc. Herbal Medicine* 4: 1124-1133 (2001)
15. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1995)
16. Jekal, S.J. *Histotechnology*, pp. 156-160. Korea Medical Publishing Co., Seoul, Korea (1992)
17. Zimmermann, E.M., Sartor, R.D., McCall, R.D., Pardo, M., Bender, D. and Lund, P.K. Insulinlike growth factor 1 and interleukin 1 β messenger RNA in a rat model of granulomatous enterocolitis and hepatitis. *Gastroenterology* 105: 399-409 (1993)
18. Marinaro, J.A., Hendrich, E.C., Leeding, K.S. and Bach, L.A. HaCaT human keratinocytes express IGF-II, IGFBP-6, and an acid-activated protease with activity against IGFBP-6. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 276: 536-542 (1999)
19. Sendecor, G.W. and Cochran, G.W. *Statistical Methods*. Iowa State University Press, Ames, IA, USA (1989)
20. Song, C.W., Hwang, H.S. and Han, S.S. Studies on the basic data of Ktc:SD rats with age: body weight, hematology, serum chemistry and urine analysis. *Korean J. Lab. Ani. Sci.* 6: 33-43 (1990)
21. Ogawa, T., Yamagawa, H., Hayami, T., Liu, Z., Huang, K.Y., Tokunaga, K., Murai, T. and Endo, N. Human PTH (1-34) induces longitudinal bone growth in rats. *J. Bone Miner. Metab.* 20: 83-90 (2002)
22. Wakisaka, A., Tanaka, H., Barnes, J. and Liang, C.T. Effect of locally infused IGF-1 on femoral gene expression and bone turnover activity in old rats. *J. Bone Miner. Res.* 13: 13-19 (1998)
23. Ohlsson, C., Bengtsson, B.A., Isaksson, O.G.P., Andreassen, T.T. and Slootweg, M.C. Growth hormone and bone. *Endo. Rev.* 19: 55-79 (1998)
24. Jones, J.I. and Clemmons, D.R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *End. Rev.* 16: 3-34 (1995)
25. Roith, D.L., Bondy, C., Yakar, S., Liu, J.L. and Butler, A. The

- somatomedin hypothesis: 2001. End. Rev. 22: 53-74 (2001)
26. Rosen, H.N., Chen, V., Cittadini, A., Greenspan, S.L., Douglas, P.S., Moses, A.C. and Beamer, W.G. Treatment with growth hormone and IGF-1 in growing rats increases bone mineral content but not bone mineral density. J. Bone Miner. Res. 10: 1352-1358 (1995)
27. Guler, H.P., Zapf, J., Scheiwiller, E. and Froesch, E.R. Recombinant human insulin-like growth factor 1 stimulates growth and has distinct effects on organ size in hypophysectomized rats. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 4889-4893 (1988)
28. Ravaglia, G., Forti, P., Maioli, F., Nesi, B., Pratelli, L., Cucinotta, D., Bastagli, L. and Cavalli, G. Body composition, sex steroids, IGF-1, and bone mineral status in aging men. J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci. 55: 516-521 (2000)

(2003년 3월 4일 접수; 2003년 6월 18일 채택)