

生何首烏와 製何首烏가 卵巢摘出로 유발된 흰쥐의 骨多孔症 예방효과에 미치는 영향

서규태^{**}, 서부일, 박지하, 이은숙, 최도점, 최홍식, 김호경¹, 서영배², 김인락³, 박진희³

대구한의대학교, 1 : 한국한의학 연구원, 2: 대전대학교, 3: 동의대학교

Effect of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat On Prevention of Osteoporosis In Ovariectomized Rats

Gyoo-Tae Seo^{**}, Bu-Il Seo, Ji-Ha Park, Eun-Sook Lee, Do-Jeom Choi,
Hong-Sik Choi, Ho-Kyoung Kim¹, Young-Bae Seo², In-Rak Kim³, Jin-Hee Park³

College of Oriental Medicine, Daegu Haany University,

1 : Korea Institute of Oriental Medicine, 2 : College of Oriental Medicine, Daejeon University,

3: College of Oriental Medicine, Dongeui University

ABSTRACT

Objectives : The present study has been undertaken to investigate the effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on prevention of osteoporosis in ovariectomized rats.

Method : In this experiment, the rats were ovariectomized. Rats were administered by 2 kinds of medicine, Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat.

Results : The levels of spinal bone mineral density was significantly increased in comparison with OVX group at 6 weeks in Polygoni Multiflori Radix Preparat group.

The levels of serum osteocalcin and calcium didn't show significant changes in comparison with OVX group in Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat group. The levels of serum ALP showed significant decrease in comparison with OVX group at 3 weeks in Polygoni Multiflori Radix group, and showed significant decrease in comparison with OVX group at 6 weeks in Polygoni Multiflori Radix Preparat group. The levels of serum phosphorus showed significant decrease in comparison with OVX group at 3, 6 weeks in Polygoni Multiflori Radix, and showed significant decrease in comparison with OVX group at 6 weeks in Polygoni Multiflori Radix Preparat group.

The levels of urine calcium and phosphorus didn't show significant changes in comparison with OVX group in Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat group.

The levels of femoral and fibula-tibial calcium showed significant increase in comparison with OVX group in Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat group. The levels of femoral phosphorus showed significant increase in comparison with OVX group in Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat group. The levels of femoral and fibula-tibial ash weight showed significant increase in comparison with OVX group in Polygoni Multiflori Radix Preparat group. And the levels of fibula-tibial ash weight showed significant increase in comparison with OVX group in Polygoni Multiflori Radix group.

The levels of body weight and uterus weight didn't show significant changes in comparison with OVX group in Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat group.

Conclusion : Reviewing these experimental results, it appears that Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat have efficacy on prevention of osteoporosis. In particular Polygoni Multiflori Radix Preparat showed good efficacy in comparison with Polygoni Multiflori Radix Preparat.

Key Words : Polygoni Multiflori Radix, Polygoni Multiflori Radix Preparat, prevention of osteoporosis, ovariectomized rats.

^{**}제1저자, 책임저자 : 서규태. 대구한의대학교 본초학교실. 전화: 053-770-2246.

· 접수 : 2005년 4월 19일 · 수정 : 2005년 6월 17일 · 채택 : 2005년 6월 20일

緒 論

골다공증이란 낮은 골량과 골의 미세구조 이상으로 골절에 대한 감수성이 증가하는 전신성 골격질환으로서, 대사성 골질환 중 가장 흔한 질환이다¹⁾. 최근 들어 의학의 발달로 인간의 수명이 증가함에 따라 폐경기 이후의 여성인구도 급격히 증가하였고, 이에 따라 골다공증의 빈도 또한 증가하고 있으며²⁾, 육체적 운동량의 감소로 인하여 이환률이 높아지고 있다³⁾.

何首烏는 마디풀과(Polygonaceae)에 속하는 하수오 *Polygonum multiflorum* Thunb.의塊根을 기원으로 하는 한약재이다^{4,5,6)}. 何首烏는 生品으로 사용하면 苦味로 泄하며, 性은 平하고 峻하여 發散하여 解毒, 消癰, 潤腸通便하는 효능이 더 강하며, 製首烏는 味가 甘하면서 厚하고, 藥性은 微溫하여 滋陰補腎, 養肝益血, 烏鬚髮, 強筋骨하는 효능이 더 증강된다⁶⁾.

이와 같이 何首烏는 生何首烏를 사용하느냐 製何首烏를 사용하느냐에 따라 약효가 달라지는 것으로 알려져 있다. 그러나, 현재 임상에서는 炮製의 복잡성과 어려움 때문에 生何首烏와 製何首烏를 구분하지 않고 혼용되는 경우가 있다. 따라서, 여러 가지 효능 면에서 何首烏의 生品과 炮製品의 약효를 검증하는 것이 필요할 것으로 생각되어 골다공증에 미치는 효과를 중심으로 하여 한약재의 약효를 비교하고자 하였다.

著者は Saville 등^{7,8)}의 방법에 따라 흰쥐의 卵巢摘出로 骨多孔症을 人爲的으로 誘導한 다음, 生何首烏와 製何首烏의 물 추출물을 투여하여 骨密度, 血清中 osteocalcin, ALP, calcium, phosphorus의 含量, 尿中 calcium과 phosphorus의 含量, 骨의 無機成分의 含量 및 灰分의 무게, 體重 變化, 子宮 무게의 변화에 미치는 효과를 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

本實驗에 使用한 何首烏는 대구한의대학교 韓方病院 藥劑室에서 구입하여 本草學教室에서 검증한

후에 精選處理하여 使用하였다. 製何首烏는 강 등⁶⁾의 방법에 따라서 黑豆汁을 이용하여 蒸製하였다. 먼저, 黑豆 400 g에 증류수 4,000 ml를 부어 4 시간 가열하여 黑豆汁 1, 000 ml를 얻은 다음, 이 黑豆汁에 증류수 2, 000 ml를 추가하여 모두 3,000 ml의 黑豆汁 稀釋 輔料를 만들어 炮製에 활용하였다. 何首烏 4 kg에 3,000 ml의 黑豆汁 稀釋 輔料를 부어 버무린 후 단지에 넣어 중탕하였는데, 1 시간정도 重湯하고 뚜껑(종이로 여러 겹 쓴 것)을 열어서 뒤적거리주고 다시 1 시간 더 重湯(총 2시간)하여 중간 불로 가열하여 製何首烏를 얻었다.

2) 動物

건강한 Sprague-Dawley系 雌性 흰쥐 10주령 220~230 g을 주문하여 약 10일간 固形飼料(삼양사)로 飼育하다가 240g 이상이 되었을 때 실험에 사용하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

生何首烏와 製何首烏는 각 100 g에 물 1,200 ml을 넣고, 2시간 30분 동안 대용약탕기로 가열, 추출, 여과한 후 100cc로 감압 농축하여 각각의 물 추출액을 얻었다.

2) 骨多孔症의 誘發

手術은 卵巢를 切除하지 않고 단지 등 쪽의 皮膚만 切開하여 開腹한 群과 등 쪽의 皮膚를 切開하여 양쪽의 卵巢를 切除한 群으로 나누어 pentobarbital sodium(entobal, 한림제약)으로 麻醉(50mg/kg/BW, i.p.)한 다음 실시하였으며, 모든 쥐는 手術한 直後부터 精製水를 食水로 供給하였다.

3) 檢液의 投與

Sham 手術이나 卵巢切除術을 行하고 난 다음날부터 실험동물을 모두 4군으로 나누었으며, 각 群에는 7마리씩 配定하였다.

生何首烏와 製何首烏 投與群에는 卵巢를 切除한 후에 각각의 물 추출액을 體重 100g當 1 cc(體重

100 g當 生何首烏와 製何首烏 각 1 g)씩 1일 2회 6주간 경구 투여하였다. Sham群(sham-operation, 이하 Sham群)은 난소를 切除하지 않고 등 쪽의 피부만 절개하여 수술한 후에 생리식염수를 투여한 군이며, 對照群(ovariectomized group, 이하 OVX群)은 난소를 切除한 후에 생리식염수를 투여한 군으로, 이 두 군에는 0.9% 生理食鹽水を 매일 同量씩 6週間 經口 投與하였다.

4) 觀察 및 檢查項目

(1) 骨密度 測定

手術 直前과 卵巢摘出 後 3주와 6주가 되는 날 脊椎, 오른쪽 大腿骨 및 脛骨의 骨密度(bone mineral density, 이하 BMD)를 골밀도측정기(PIXIMUS™, Lunar, U.S.A.)를 利用하여 測定하였다.

(2) 血清成分의 變化

① 採血 및 血清分離

혈액은 난소를 적출한 후 3주와 6주되는 날에 채취하였는데, 摘出した 後 3주되는 날에는 새골하정맥에서 혈액을 채취하였다. 6주되는 혈액의 채취는 6주되는 날 전날부터 24시간 絶食시킨 흰쥐를 pentobarbital sod.로 0.1 cc/100 g을 복강에 주사하여 마취한 후, 복부 정중선을 따라 開腹하고 복부 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 全血의 일정량을 CBC bottle에 넣고 나머지 혈액은 실온에서 30분간 방치하여 응고시킨 후, 원심분리기로 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리시켜 실험에 사용하였다.

② 혈청 성분변화 測定

혈청중 osteocalcin 含量은 osteocalcin RIA kit(Brahms co.)를 使用하여 Radioimmunoassay (RIA)法⁹⁾에 의하여 測定하였다.

혈청중 alkaline phosphatase의 활성도 측정은 UV법¹⁰⁾에 따라 분석용 kit(히타치, 일본)를 사용하여 spectrophotometer(Hitachi 7170A, 히타치, Japan)로 측정하였다.

Calcium의 含量은 比色法¹⁰⁾(spectrophotometric

method)에 따라 분석용 kit(히타치, 일본)를 사용하여 spectrophotometer(Hitachi 7170A, 히타치, Japan)로 측정하였다.

Inorganic phosphorus의 含量은 比色法^{10,11)}(spectrophotometric method)에 따라 phosphorus 분석용 kit(히타치, 일본)를 사용하여 spectrophotometer(Hitachi 7170A, 히타치, Japan)로 측정하였다.

(3) 뇨의 성분의 변화

① 뇨 중 calcium와 phosphorus의 測定

적출 후 6주되는 전날 물을 자유롭게 섭취하게 하면서 1마리씩 흰쥐 대사 cage에 넣고 24시간 동안 採尿하고 원심분리하여 뇨량을 잰 다음, 뇨 중 calcium와 phosphorus를 측정하였다.

Calcium의 含量은 比色法¹⁰⁾(spectrophotometric method)에 따라 분석용 kit(히타치, 일본)를 사용하여 spectrophotometer(Hitachi 7170A, 히타치, Japan)로 측정하였다. Inorganic phosphorus의 含量은 比色法^{10,11)}(spectrophotometric method)에 따라 phosphorus 분석용 kit(히타치, 일본)를 사용하여 spectrophotometer(Hitachi 7170A, 히타치, Japan)로 측정하였다.

(4) 骨의 無機成分 및 灰分(ash) 무게 測定

① 骨의 無機成分 測定

Ash에 3N-HCl을 加하고 잘 녹인 다음 증류수로 희석하여 大腿骨의 calcium 含量과 inorganic phosphorus 含量을 측정하였다.

Calcium은 Unicam 929 Atomic Absorption Spectrometer(PYE UNICAM, England)를 사용하여 定量하였으며 측정조건은 다음과 같다.

Light source	HCl
Wave length	422.7nm
Flame type	N ₂ O/acetylene
Fuel flow	4.2 ℓ/min

Inorganic phosphorus의 含量은 比色法¹¹⁾(spectrophotometric method)에 따라 phosphorus 測定用 試藥(아산제약, 한국)을 사용하여 생화학 분석장치인 Automatic Chemistry Analyzer

System(Pronto Evaluation, BioSed, Italy)를 활용하여測定하였다. 分析에 쓰인 모든 硝子器具는 汚染을 막기 위해 數時間 3N HCl에 담근 후 使用하였다.

② 骨의 灰分(ash) 무게 測定

난소적출 후 6주되는 날 동물을 희생시키고 오른 쪽 大腿骨 및 腓骨·脛骨을 절취하였다. 지방 및 주위조직을 깨끗이 제거하고 恒량으로 만든 도가니에 각각 담고 6N-HCl을 數滴 가하면서 600℃ 灰化爐에서 24시간 동안 완전히 灰化시킨 다음 30분 정도 放冷한 후 ash 무게를 測定하였다²⁾.

(5) 體重 變化 測定

수술 전날과 2주, 4주, 6주되는 날의 체중을 측정하여 그 변화를 관찰하였다. 단, 6주에는 絶食 前의 體重을 觀察하였다.

(6) 子宮 무게 測定

手術後 6주되는 날 動物을 희생시키고 子宮을 摘出하여 群間의 子宮 무게를 比較하였다.

3. 統計處理

各 群間의 實驗 結果 分析은 Student's t-test로 分析하여 有意性(P<0.05)을 檢證하였다.

結 果

1. 骨密度에 미치는 影響

1) 脊椎骨密度에 미치는 影響

脊椎骨密度는 生何首烏 投與群에서는 수술 전에 비하여 3주와 6주가 각각 96.226±2.107, 100.454±1.461 %로 나타났으며, 6주군의 측정값이 OVX群에 비하여 증가되었으나 有意성은 인정되지 않았다. 製何首烏 投與群에서는 각각 95.101±3.096, 102.833±2.195 %로 나타났는데, 6주 측정값이 OVX群에 비하여 有意성(P<0.05)있게 증가되었다(Table I).

Table I. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Spinal Bone Mineral Density(BMD) in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Spinal BMD	
	3 week % of baseline ^{a)}	6 week % of baseline ^{a)}
Sham	102.91±2.260 ^{#)}	113.811±1.588 ^{#)}
OVX	97.291±1.905	96.637±1.018 ^{***}
PMR	96.226±2.107	100.454±1.461
PMRP	95.101±3.096	102.833±2.195 [*]

^{#)} Mean ± standard error of 7 rats

PMR : Water extract of Polygoni Multiflori Radix

PMRP : Water extract of Polygoni Multiflori Radix Preparat

^{*} : Significantly different from sham group(*** : P<0.001, ** : P<0.01, * : P<0.05)

^{*} : Significantly different from ovariectomized (OVX) group(*** : P<0.001, ** : P<0.01, * : P<0.05)

^{a)} : Percentage of 3 or 6 weeks to that of baseline(0 week)

2) 大腿骨密度에 미치는 影響

大腿骨密度는 生何首烏 投與群에서는 各各 102.829±1.271, 105.824±1.075 %로 OVX群에 비하여 3주와 6주 측정에서 감소되었으나, 有意성은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 各各 105.587±1.335, 107.036±1.509 %로 OVX群에 비하여 3주와 6주군에서 증가하였으나, 모두 有意성은 없었다(Table II).

Table II. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Femoral Bone Mineral Density(BMD) in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Femoral BMD	
	3 week % of baseline ^{a)}	6 week % of baseline ^{a)}
Sham	107.223±0.793 ^{#)}	111.457±0.611 ^{#)}
OVX	104.031±0.940 [†]	106.709±1.522 [†]
PMR	102.829±1.271	105.824±1.075
PMRP	105.587±1.335	107.036±1.509

Other letends are the same as Table I.

3) 腓骨脛骨密度에 미치는 影響

腓骨脛骨密度는 生何首烏 投與群에서는 수술 전 에 비하여 3주와 6주에 各各 102.649±0.823, 105.511±0.794 %로 OVX群에 비하여 6주군의 측정 에서 增加되는 傾向을 나타내었으나 有意性은 없었 다. 製何首烏 投與群에서는 3주와 6주에 各各 103.676±1.107, 107.313±1.334 %로 OVX群에 비하여 增加하였으나, 有意性은 인정되지 않았다(Table III).

Table III. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Fibula-tibial Bone Mineral Density(BMD) in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Fibula-tibial BMD	
	3 week % of baseline ^a	6 week % of baseline ^a
Sham	107.713±0.647 ^{#)}	111.517±0.486 ^{#)}
OVX	102.889±0.834 ^{***}	104.367±0.929 ^{***}
PMR	102.649±0.823	105.511±0.794
PMRP	103.676±1.107	107.313±1.334

Other letends are the same as Table I.

2. 血清成分에 미치는 影響

1) 혈청 중 osteocalcin 含量에 미치는 影響

혈청 중 osteocalcin 含量은 生何首烏 投與群에서 는 3주와 6주에서 2.886±0.168, 3.071±0.239 ng/ml로 나타나 OVX群에 비하여 增加되었으나, 모두 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 各各 2.143±0.489, 1.814±0.491 ng/ml로 나타나 OVX群에 비하여 減少되었으나, 有意性은 인정되지 않았다 (Table IV).

Table IV. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Serum Osteocalcin Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Osteocalcin Concentration (ng/ml)		
	0 week	3 week	6 week
Sham	2.279±0.489 ^{#)}	1.671±0.425 ^{#)}	1.37±0.182 ^{#)}
OVX	2.371±0.241	2.525±0.184	2.321±0.314 [*]
PMR	2.343±0.166	2.886±0.168	3.071±0.239
PMRP	1.703±0.367	2.143±0.489	1.814±0.491

Other letends are the same as Table I.

2) 혈청 중 alkaline phosphatase(ALP) 活性度에 미치는 影響

혈청 중 alkaline phosphatase 活性度는 生何首烏 投與群에서는 3주와 6주 측정에서 423.143±36.975, 273.857±11.562 IU/ℓ 로 OVX群에 비하여 모두 감소 되었으나, 3주의 측정에서 有意性(P<0.05)이 인정되 었다. 製何首烏 投與群에서는 3주와 6주 측정에서 481.143±25.082, 242.286±9.209 IU/ℓ 로 나타났으며, OVX群에 비하여 6주의 측정에서 有意性(P<0.05) 있는 감소가 있었다(Table V).

Table V. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Serum Alkaline Phosphatase Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	ALP Activity (IU/ℓ)		
	0 week	3 week	6 week
Sham	272.0±29.176 ^{#)}	259.714±24.745 ^{#)}	151.571±11.850 ^{#)}
OVX	295.857±7.836	614.714±67.067 ^{***}	309.0±21.503 ^{***}
PMR	288.0±17.622	423.143±36.975 [*]	273.857±11.562
PMRP	327.571±24.203	481.143±25.082	242.286±9.209 [*]

Other letends are the same as Table I.

3) 혈청 중 無機成分 含量에 미치는 影響

(1) 혈청 중 calcium 含量에 미치는 影響

혈청 중 calcium 含量은 生何首烏 投與群에서는

3주, 6주의 측정군에서 각각 14.471±0.971, 14.229±0.731 mg/dℓ로 OVX群에 비하여 3주군과 6주군의 측정에서 증가되었으나 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 3주, 6주의 측정군에서 각각 14.143±0.606, 13.343±0.243 mg/dℓ로 OVX群에 비하여 3주와 6주군의 측정에서는 증가되었으나 有意性은 없었다(Table VI).

Table VI. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Serum Calcium Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Serum Calcium(mg/dℓ)		
	0 week	3 week	6 week
Sham	11.843±0.381 ^{#)}	12.686±0.628 ^{#)}	13.629±0.326 ^{#)}
OVX	11.914±0.101	12.786±0.381	13.071±0.282
PMR	11.729±0.230	14.471±0.971	14.229±0.731
PMRP	12.786±0.701	14.143±0.606	13.343±0.243

Other letends are the same as Table I.

(2) 혈청 중 phosphorus 함량에 미치는 影響

혈청 중 phosphorus 함량은 生何首烏 投與群에서는 3주, 6주의 측정군에서 각각 9.129±0.429, 8.243±0.240 mg/dℓ로 나타나 OVX群에 비하여 모두 감소되었으며, 모두 有意性(P<0.05, P<0.01)이 인정되었다. 製何首烏 投與群에서는 3주, 6주의 측정군에서 각각 10.257±0.138, 8.429±0.215 mg/dℓ로 나타났으며, OVX群에 비하여 6주군의 측정에서 有意性(P<0.05)있게 감소되었다(Table VII).

Table VII. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Serum Phosphorus Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Serum Phosphorus (mg/dℓ)		
	0 week	3 week	6 week
Sham	9.9±0.513 ^{#)}	8.271±0.144 ^{#)}	7.457±0.287 ^{#)}
OVX	9.243±0.221	10.671±0.338 ^{***)}	9.357±0.219 ^{***)}
PMR	9.243±0.228	9.129±0.429*	8.243±0.240**
PMRP	9.829±0.592	10.257±0.138	8.429±0.215*

Other letends are the same as Table I.

3. 뇨 중의 成分變化에 미치는 影響

(1) 뇨 중 calcium과 phosphorus의 함량에 미치는 영향

뇨 중 calcium 함량은 生何首烏 投與群에서는 1.3616±0.2625 mg/dℓ로 OVX群에 비하여 감소되었으나 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 1.3893±0.2363 mg/dℓ로 OVX群에 비하여 감소되었으나 有意性은 없었다(Table VIII).

뇨 중 phosphorus 함량은 生何首烏 投與群에서는 0.0062±0.0011 mg/dℓ로 나타났으며, 製何首烏 投與群에서는 0.0064±0.0007mg/dℓ로 나타났으나, 두 군에서 모두 有意性은 인정되지 않았다(Table VIII).

Table VIII. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Urine Calcium and Phosphorus Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Urine	
	Calcium (mg/dℓ)	Phosphorus (mg/dℓ)
Sham	1.2844±0.0853 ^{#)}	0.0047±0.0002 ^{#)}
OVX	1.7737±0.1215 ^{**)}	0.0063±0.0003 ^{***)}
PMR	1.3616±0.2625	0.0062±0.0011
PMRP	1.3893±0.2363	0.0064±0.0007

Other letends are the same as Table I.

4. 骨의 無機成分 및 灰分의 무게에 미치는 영향

1) 骨의 calcium 함량에 미치는 영향

大腿骨의 calcium 함량은 生何首烏 投與群에서는 79.658±1.140 mg으로 OVX群에 비하여 有意(P<0.001)하게 增加되었으며, 製何首烏 投與群에서는 88.933±1.078 mg으로 OVX群에 비하여 有意(P<0.001)하게 增加되었다.

脛骨과 腓骨의 calcium 함량 生何首烏 投與群에서는 68.121±1.606 mg으로 OVX群에 비하여 有意(P<0.05)하게 增加되었으며, 製何首烏 投與群에서는 77.476±0.707 mg으로 OVX群에 비하여 有意(P<0.001)하게 增加되었다(Table IX).

Table IX. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Bone Calcium Levels in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Bone Calcium (mg)	
	Femur	Tibia and Fibula
Sham	80.281±2.228 ^{#)}	64.865±1.436 ^{#)}
OVX	67.644±1.736 ^{***)}	56.854±3.928
PMR	79.658±1.140 ^{***)}	68.121±1.606 [*]
PMRP	88.933±1.078 ^{***)}	77.476±0.707 ^{***)}

Other letends are the same as Table I .

2) 骨의 phosphorus 함량에 미치는 影響

大腿骨의 phosphorus 함량은 生何首烏投與群에서는 56.25±0.433 mg으로 OVX群에 비하여 유의(P<0.01)하게 增加되었으며, 製何首烏投與群에서는 57.107±0.529 mg으로 OVX群에 비하여 유의(P<0.01)하게 增加되었다(Table X).

脛骨과 腓骨의 phosphorus 함량은 生何首烏投與群에서는 47.357±0.303 mg으로 OVX群에 비하여 增加되었으나 유의성은 없었으며, 製何首烏投與群에서는 47.679±0.564 mg으로 OVX群에 비하여 增加되었으나 유의성은 없었다(Table X).

Table X. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Bone Phosphorus Levels in Ovariectomized Rats.

Experimental Group	Bone Phosphorus (mg)	
	Femur	Tibia and Fibula
Sham	54.857±1.079 ^{#)}	45.0±0.634 ^{#)}
OVX	52.929±1.096	42.429±2.876
PMR	56.25±0.433 ^{**)}	47.357±0.303
PMRP	57.107±0.529 ^{**)}	47.679±0.564

Other letends are the same as Table I .

3) 骨의 灰分(ash) 무게에 미치는 影響

大腿骨의 ash weight는 生何首烏投與群에서는 0.4008±0.0062 g으로 OVX群에 비하여 增加되는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었으며, 製何首烏投與群에서는 0.4097±0.0062 g으로 OVX群에 비하여

유의성(P<0.05)있게 增加되었다.

脛骨과 腓骨의 ash weight는 生何首烏投與群에서는 0.3280±0.0050 g으로 OVX群에 비하여 유의성(P<0.05)있게 增加되었으며, 製何首烏投與群에서는 0.3469±0.0093 g으로 OVX群에 비하여 유의성(P<0.01)있게 增加되었다(Table XI).

Table XI. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Ash Weight in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Ash Weight (g)	
	Femur	Tibia and Fibula
Sham	0.4033±0.0068 ^{#)}	0.3228±0.0034 ^{#)}
OVX	0.3670±0.0146 [*]	0.3130±0.0038
PMR	0.4008±0.0062	0.3280±0.0050 [*]
PMRP	0.4097±0.0062 [*]	0.3469±0.0093 ^{**)}

Other letends are the same as Table I .

5. 體重變化에 미치는 影響

體重變化는 生何首烏投與群에서는 各各 113.66±2.603, 128.41±1.533, 138.91±2.736 %으로 OVX群에 비하여 2주와 4주군에서 減少되었고, 6주군에서 增加되었으나, 유의성은 인정되지 않았다. 製何首烏投與群에서는 各各 112.87±2.634, 126.25±1.874, 132.07±1.732 %로 OVX群에 비하여 감소되었으나, 모두 유의성은 인정되지 않았다 (Table XII).

Table XII. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Body Weight in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Body Weight (%)		
	2 week % of baseline ^{a)}	4 week % of baseline ^{a)}	6 weeks % of baseline ^{a)}
Sham	110.05±1.100 ^{#)}	114.63±1.546 ^{#)}	117.69±1.560 ^{#)}
OVX	119.21±1.625 ^{***)}	129.79±2.531 ^{***)}	136.99±2.387 ^{***)}
PMR	113.66±2.603	128.41±1.533	138.91±2.736
PMRP	112.87±2.634	126.25±1.874	132.07±1.732

Other letends are the same as Table I .

6. 子宮 무게에 미치는 影響

子宮 무게는 生何首烏投與群에서는 0.1875 ± 0.0230 g으로 OVX群에 비하여 증가되는 傾向性을 보였으나, 有意性은 認定되지 않았으며, 製何首烏 投與群에서는 0.1685 ± 0.0140 g으로 OVX群에 비하여 증가되었으나 有意성은 인정되지 않았다(Table X III).

Table X III. Effects of Polygoni Multiflori Radix and Polygoni Multiflori Radix Preparat on Uterine Weight in Ovariectomized Rats

Experimental Group	Uterine Weight(g)
Sham	$0.7032 \pm 0.0758^{\#}$
OVX	$0.1462 \pm 0.0045^{***}$
PMP	0.1875 ± 0.0230
PMP	0.1685 ± 0.0140

Other letends are the same as Table I.

考 察

何首烏는 《日華子本草》에 처음으로 수록된 한약재로, 마디풀과(Polygonaceae)에 속하는 하수오 *Polygonum multiflorum* Thunb.의 塊根을 기원으로 하는 한약재이다⁴⁾. 性味는 苦澀, 微溫하며, 주로 肝, 腎經에 들어가서 效능을 발휘한다⁴⁾. 주로 補肝腎, 益精血, 潤腸通便, 解毒消腫, 截瘡하는 效능이 있어서 肝腎兩虛로 인한 頭昏眼花, 鬚髮早白, 筋骨不健, 血虛陰虧로 인한 遺精, 帶下, 腰膝酸軟의 증상을 치료하고, 癩癧, 瘡癤, 腸燥便秘 등의 증상을 치료하며, 고혈압, 관상동맥경화, 고콜레스테롤혈증 등의 증상을 치료한다^{4,13)}.

何首烏는 生品으로 사용하면 苦味로 泄하며, 性은 平하고 峻하여 發散하여 解毒, 消癰, 潤腸通便하는 效능이 더 강하며, 製首烏는 味가 甘하면서 厚하고, 藥性은 微溫하여 滋陰補腎, 養肝益血, 烏鬚髮, 強筋骨하는 效능이 더 증강된다⁶⁾.

이와 같이 何首烏는 生何首烏를 사용하느냐 製何首烏를 사용하느냐에 따라 效능이 달라진다. 그러나, 현재 임상에서는 炮製의 복잡성과 어려움 때문에 生何首烏와 製何首烏를 구분하지 않고 혼용되는 경우가 있다. 따라서, 여러 가지 效능 면에서 何首烏의 生品과 炮製品의 效능을 검증하는 것이 필요

할 것으로 생각되어 골다공증에 미치는 效능을 중심으로 하여 한약재의 效능을 비교하고자 하였다.

骨多孔症(osteoporosis)은 조직학적으로 골조성에는 변함없이 뼈의 감소된 상태를 말한다. 이러한 骨多孔症은 閉經期後의 여성에서 더욱 증가하고¹⁴⁾, 노령인구의 증가로 인해 노인성 골다공증도 날로 증가하고 있으며¹⁵⁾, 남성의 골다공증도 증대되고 있는 실정이다¹⁶⁾.

骨多孔症의 원인에 대해서 명확히 알려져 있는 것은 없으나, 원발성 골다공증의 제1형(폐경후 골다공증)은 閉經으로 인한 estrogen 결핍이 주요 원인이 되고, 제2형(노인성 골다공증)은 노령이 주요 원인이 되며, 속발성 골다공증에는 주로 갑상선 기능항진증, 당뇨병 등의 내분비질환, 알코올, 위장관 질환, 골수질환, 교원성 질환, 기타 만성질환이나 steroid 등의 藥物이 주요 원인이 된다^{17,18,19,20,21)}.

骨多孔症의 치료목표는 유발 인자를 제거하여 주면서, 骨吸收를 抑制하고 骨形成을 促進하여 減少된 骨量을 回復시키는 것이라고 할 수 있다.

한의학에서는 骨多孔症의 病因病機 및 臨床樣相으로 보아 骨多孔症의 주된 原因을 腎主骨에 근거하여 腎虛로 보고 있으며, 나타나는 症狀에 根據하여 腎虛, 腎陰虛, 腎陽虛, 肝腎虧虛, 脾腎陽虛, 氣滯血瘀, 氣血兩虛 등으로 辨證分類하고 있고, 治療에 있어서는 辨證類型에 따라 補腎陰, 補腎陽, 補腎陰腎陽, 健脾益氣, 理氣活血, 氣血雙補의 治法이 活用되고 있다^{22,23,24,25)}.

그런데, 何首烏는 임상에서 주로 補肝腎, 益精血하는 效능으로 많이 活用되어지고 있으므로 골다공증의 예방에 效능이 있을 것으로 생각되어 이번 실험에 들어가게 되었다.

흰쥐에서 卵巢를 적출한 후에는 骨質量과 骨強度가 顯著하게 減少하는 것으로 알려져 있는데, Gurkan 등²²⁾은 卵巢를 摘出した 흰쥐에서 骨密度가 減少하고 骨에서 calcium과 hydroxyproline의 含量이 減少하는 것을 觀察하여 骨多孔症의 有效한 標本이 될 수 있음을 제시하였다.

本實驗에서 對照群 各 部位의 骨密度를 3주와 6주에 觀察 檢索해 본 結果 Ammann 등²³⁾의 報告에서와 같이 骨消失이 나타났다. 本 實驗에서 脊椎骨密度를 보면, 生何首烏 投與群에서 6주군의 측정값이 OVX群에 비하여 증가되었으나 有意성은 인정되지 않았다. 製何首烏 投與群에서는 6주 측정값이 OVX群에 비하여 有意성있게 증가되었다(Table I).

大腿骨密度를 보면, 生何首烏 投與群에서는 OVX

群에 비하여 3주와 6주 측정에서 감소되었으나, 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 3주와 6주군에서 증가하였으나, 모두 有意性은 없었다(Table II).

腓骨脛骨密度를 보면, 生何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 6주군의 측정에서 增加되는 傾向을 나타내었으나 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 3주와 6주 측정에서 OVX群에 비하여 증가하였으나, 有意性은 인정되지 않았다(Table III).

Osteocalcin은 골의 구조에서 hydroxyapatite 및 칼슘과 단단하게 결합되어 있는데, 骨과 象牙質에 특이적으로 존재하며, 새로운 골 형성 시 골아세포 활성을 간접적으로 반영하는 골형성 지표로 알려져 있다^{24,25}. 이 물질은 골아세포에서 생산되어 뼈의 세포외기질에서 축적되는데, 새로 합성된 osteocalcin의 일부가 혈액 속으로 방출되므로 혈중 농도를 측정하면 골형성 정도를 알 수 있다²⁵. 本實驗에서의 血清中 osteocalcin 含量을 보면, 生何首烏 投與群에서는 3주와 6주에서 OVX群에 비하여 증가되었으나, 모두 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 減少되었으나, 有意性은 인정되지 않았다(Table IV).

ALP(Alkaline Phosphatase)는 골아세포가 골형성을 하는 동안 생성되어 그 중의 일부가 혈 중에 분비되는 효소이며, 임상에서 가장 흔히 이용되는 골형성 표지자이다²⁶. 本實驗에서 血清中 ALP 活性度를 보면, 生何首烏 投與群에서는 3주와 6주 측정에서 OVX群에 비하여 모두 감소되었으나, 3주의 측정에서 有意性이 인정되었다. 製何首烏 投與群에서는 3주와 6주 측정에서 OVX群에 비하여 6주의 측정에서 有意性있는 감소가 있었다(Table V).

血清中 calcium 濃度の變化는 뼈에 存在하는 칼슘의 影響을 받게 되고, 卵巢摘出로 인한 骨交替率의 增加는 骨質의 減少를 招來하여 血清中 calcium의 上昇을 가져오게 하므로 血清中 calcium 濃度の變化는 骨吸收와 관련이 있다. 本實驗에서 血清中 calcium 含量을 보면, 生何首烏 投與群에서는 3주, 6주의 측정군에서 OVX群에 비하여 3주군과 6주군의 측정에서 증가되었으나 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 3주, 6주의 측정군에서 OVX群에 비하여 3주와 6주군의 측정에서는 증가되었으나 有意性은 없었다(Table VI).

골 조직으로의 빠른 무기질의 再供給이 일어날 때 혈청 중 phosphorus의 含量은 증가하며²⁷, 폐경 후 여성에서는 정상 성인에 비하여 약간의 증가가

일어나는데, 骨吸收時 phosphorus는 calcium과 함께 細胞外液으로 放出되고 有機基質이 吸收되며 骨代謝가 일어나고 있을 때 증가한다²⁸. 生何首烏 投與群에서는 3주, 6주의 측정군에서 OVX群에 비하여 모두 감소되었으며, 모두 有意性이 인정되었다. 製何首烏 投與群에서는 3주, 6주의 측정군에서 OVX群에 비하여 6주군의 측정에서 有意性있게 감소되었다(Table VII).

난소적출로 유발된 골다공증 흰쥐에서 鈣중 calcium과 phosphorus의 含量은 정상 쥐에 비하여 증가하는 것으로 알려져 있는데²⁹, 鈣중 calcium 含量은 生何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 감소되었으나 有意性은 없었다. 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 감소되었으나 有意性은 없었다(Table VIII). 鈣중 phosphorus 含量은 生何首烏 投與群과 製何首烏 投與群 모두 有意性은 인정되지 않았다(Table VIII).

난소를 절제한 쥐에서는 骨의 calcium 含量과 phosphorus 含量이 감소하며, 이러한 결과를 통하여 骨吸收가 增加된 것으로 볼 수 있는데¹², 本實驗에서의 骨의 calcium 含量의 變化를 보면, 生何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 有意하게 增加되었으며, 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 有意하게 增加되었다. 脛骨과 腓骨의 calcium 含量을 보면, 生何首烏投與群에서는 OVX群에 비하여 有意하게 增加되었으며, 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 有意하게 增加되었다(Table IX). 骨의 phosphorus 含量의 變化를 살펴보면, 大腿骨의 phosphorus는 生何首烏投與群에서는 OVX群에 비하여 有意하게 增加되었으며, 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 有意하게 增加되었다(Table X). 脛骨과 腓骨의 phosphorus 含量을 보면, 生何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 增加되었으나, 有意性은 없었으며, 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 增加되었으나 有意性은 없었다(Table X).

난소를 절제한 쥐에서는 大腿骨의 ash weight가 감소되는 것으로 알려져 있는데²⁹, 이 실험에서 大腿骨의 ash weight는 生何首烏投與群에서는OVX群에 비하여 증가되는 傾向을 나타내었으나 有意性은 없었으며, 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 有意性있게 증가되었다. 脛骨과 腓骨의 ash weight를 보면, 生何首烏投與群에서는 OVX群에 비하여 有意性있게 증가되었으며, 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 有意性있게 증가되었다(Table XI).

Aitken 등^{30,31)}은 卵巢를 除去한 쥐의 體重은 增加하고 estrogen의 投與는 體重增加를 抑制한다고 하였으나, Anthony 등³²⁾은 閉經後 女性의 體重과 estrogen의 濃度는 比例한다고 하였다. 以上과 같이 卵巢摘出에 따른 estrogen 缺乏과 體重의 變化 사이의 相關 關係에 대한 研究結果는 서로 相反되게 報告되고 있으나, 대부분 증가한다는 견해가 일반적이다. 本 實驗에서 體重 變化를 보면, 手術前과 비교하여 2주, 4주와 6주의 체중을 측정할 결과, 生何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 2주와 4주군에서 減少되었고, 6주군에서 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다. 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 감소되었으나, 모두 유의성은 인정되지 않았다(Table XII).

이 등³³⁾에 의하면 子宮內膜 및 子宮筋은 모두 estrogen에 의존적이며, estrogen은 卵巢에서만 分泌되므로 卵巢가 除去되면 子宮 萎縮現象이 나타난다. 子宮 무게의 變化를 살펴보면, 本 實驗에서 生何首烏投與群에서는 OVX群에 비하여 증가되는 傾向성을 보였으나, 有意성은 認定되지 않았으며, 製何首烏 投與群에서는 OVX群에 비하여 증가되었으나 유의성은 인정되지 않았다(Table XIII).

이상에서 卵巢를 摘出した 흰쥐에 대하여 生何首烏와 製何首烏를 投與한 結果, 骨多孔症의 예방에 효과가 있었으며, 그 骨多孔症 예방효과는 製何首烏가 다소 우수한 것으로 평가되었으나, 何首烏 生品도 거의 비슷한 정도의 효능을 지니고 있는 것으로 생각된다. 따라서, 여성들의 폐경기 후 骨多孔症 예방에 있어서 生何首烏와 製何首烏를 임상에서 사용할 필요성이 있을 것으로 여겨지며, 향후 임상실험을 통하여 生品과 炮製品의 효능 비교에 관하여 좀 더 깊이 연구되어야 할 것으로 생각된다.

結 論

生何首烏와 製何首烏의 물 추출액 投與가 卵巢를 切除하여 誘發된 흰쥐의 骨多孔症에 미치는 影響을 살펴보기 위하여 骨密度, 血清中 osteocalcin, ALP, calcium, phosphorus의 含量, 尿中 calcium과 phosphorus의 含量, 骨의 無機成分의 含量 및 灰分의 무게, 體重 變化, 子宮 무게를 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 脊椎骨密度, 大腿骨密度, 腓骨脛骨密度 변화의 측

정결과를 보면, 生何首烏와 製何首烏 投與群에서 6주의 측정에서 대부분 增加의 傾向성이 있었으며, 특히 脊椎骨密度에서 製何首烏의 6주 측정에서 有意성이 認定되었다.

2. 血清 成分의 變化를 觀察한 結果, osteocalcin 含量은 生何首烏 投與群의 3주와 6주 측정에서는 대조군에 비하여 증가되는 傾向을 보였으며, 製何首烏 投與群에서는 對照群에 비하여 감소되는 傾向을 보였으나, 모두 有意성은 認定되지 않았다. 血清中 ALP 含量은 生何首烏投與群의 3주, 製何首烏 投與群의 6주 측정에서 對照群에 비하여 有意성 있게 減少되었다. Calcium 含量은 生何首烏와 製何首烏 投與群에서 對照群에 비하여 3주와 6주의 측정에서 증가되었으나 有意성은 없었다. Phosphorus 含量은 OVX群에 비하여 生何首烏의 3주와 6주, 製何首烏 投與群에서 6주 측정에서 有意성있게 감소되었다.

3. 尿의 變化를 觀察한 結果, 뇨 중 calcium과 phosphorus 含量은 生何首烏와 製何首烏 投與群에서 모두 OVX群에 비하여 별다른 變化를 보이지 않았다.

4. 骨의 變化를 觀察한 結果, 大腿骨과 腓骨脛骨의 calcium 含量에서는 生何首烏와 製何首烏 投與群에서 대조군에 비하여 모두 有意성 있는 增加가 있었으며, 大腿骨의 phosphorus 含量에서는 生何首烏와 製何首烏 投與群에서 對照群에 비하여 有意성 있는 增加가 있었다. 大腿骨의 ash weight 에서는 製何首烏 投與群에서 有意성 있게 증가하였으며, 脛骨·腓骨의 ash weight에서는 生何首烏와 製何首烏 投與群에서 대조군에 비하여 有意성 있게 증가하였다.

5. 體重의 變化에서는 生何首烏와 製何首烏 投與群에서는 대조군에 비하여 모두 有意성 있는 變化는 없었다.

6. 子宮무게의 變化에서는 生何首烏와 製何首烏 投與群에서는 대조군에 비하여 증가되었으나, 有意성은 인정되지 않았다.

이상의 결과를 종합해 보면 補肝腎하는 何首烏는 炮製 여부에 관계없이 폐경기 후 骨多孔症의 예방

에 대하여 효과가 있는 것으로 생각되며, 炮製品の 효과가 약간 더 우수한 것으로 여겨지지만, 향후 骨多孔症의 예방과 치료에 있어서 좀 더 깊은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

參考文獻

1. 大韓整形外科學會. 整形外科學. 서울:最新醫學社. 1992:13-14, 81-82.
2. 이해남, 박용문, 장미경, 변용진. 한국 여성의 요골 골밀도치에 의한 골다공증의 빈도 및 폐경에 따른 변화. 대한산부회지. 2002;45(7):1186-1190.
3. 조수현. 폐경과 골다공증. 대한의학협회지. 1992; 35(5):587-598.
4. 지형준. 대한약전 및 대한약전의 한약규격주해. 서울:한국메디칼인텍사사. 1998: 266-267, 633-634.
5. 서부일, 최호영. 임상 한방본초학. 서울:영림사. 2004:865-868.
6. 강병수, 서부일, 최호영. 한약 포제와 임상응용. 서울:영림사. 2003:239-241.
7. Saville, P.D. Changes in skeletal mass and fragility with castration in the rat: A model of osteoporosis. J. Am. Ger. Soc. 1969;17(2): 155-166.
8. Wronski, T.J., Lowry, P.L., Walsh, C.C., Ignaszewski, L.A. Skeletal alterations on avariectomized rats. Calif. Tissue. Int. 1985;37:324-328.
9. Power, M. J., et al.. Radioimmunoassay of osteocalcin with polyclonal and monoclonal antibodies. Clinical Chemistry. 1989;35:1408-1415.
10. 고문사 편집부. 임상검사법제요. 서울:고문사. 1993:455-464, 630, 707.
11. Goldberg, H., Fernandez, A.. Simplified method for estimation of inorganic phosphorus in body fluid. Clin. Chem. 1966;12:871-872.
12. Yamazaki, I., Yamaguchi, H. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat Model. J. Bone. Min. Res. 1989;4(1):13-23.
13. 서부일. 한약의 약성가 해설. 서울:목과토. 2001:251-252.
14. Lofman O, Larsson L, Ross I, Toss G, Berglund K. Bone mineral density in normal Swedish women. Bone. 1997;20:167-174.
15. Riggs BL, Melton LJ. Involutional osteoporosis. N. Engl. J. Med. 1986;314: 1676-1686
16. Stock H, Schneider A, Strauss E. Osteoporosis: a disease in men. Clin Orthop. 2004 Aug;(425):143-51.
17. Regg BL, Melton LJ. III. Medical progress Involutional osteoporosis. New Engl. J. Med. 1986;314(26):1676-1686
18. 徐舜圭. 성인병·노인병학. 서울:고려의학. 1995: 483-485
19. Miller MA, Chin J, Miller SC, Fox J. Disparate effects of mild, moderate, and fracture risk in man. J Bone Miner Res. 1998;13(12):1915-1923.
20. Kumeda Y, Inaba M, Nishizawa Y. Secondary osteoporosis and its treatments-diabetes mellitus. Nippon Rinsho. 1998;56(6):1579-1586.
21. Gennari C, Martini G, Nuti R. Secondary osteoporosis. Aging(Milano) 1998;10(3):214-224.
22. Gurkan, L., Ekeland, A., Gautvik, K. M., Langeland, N., Ronningen, H., Solheim, L. F.. Bone changes after castration in rats. A model for osteoporosis. Acta, Orthop. Scand. 1986; 57(1):67-70.
23. Ammann, P, Rizzoli, R, Slosman, D, Bonjour, J. P.. Sequential and precise in vivo measurement of bone mineral density in rats using dual-energy X-ray absorptiometry. J. Bone, Miner. Res. 1992;7(3):311-316.
24. Duba RJ, O Brien JF, Katzmann JA. Concurrent assays of circulating bone-gla protein and alkaline phosphatase: Effects of sex, age, and metabolic bone disease. J. Clin Endocrinol metab. 1988;66:951-957.
25. Bowles SA, Kurdy N, Davis AM, France MW, Marsh DR. Serum osteocalcin, total and bone-specific alkaline phosphatase following isolated tibial shaft fracture. Ann Clin Biochem. 1996;33:196-200.
26. 김덕윤. 골형성의 생화학적 표지자. 대한골대사학회지. 1994;1(1):233-239.
27. John P. Bilezikian, Lawrence G. Raisz, Gideon A. Rodan. Principle of bone biology. USA: Academic press. 1996:263.

28. 해리슨 번역편찬위원회. 국역 HARRISON'S 내과학(II권). 서울:정담. 1997:2310-2321, 2342-2348.
29. 정국영, 서부일, 박지하, 권순주, 변부형, 신순식의 1명. 參鬚가 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18(4): 13-23.
30. J. M. Aitken, E. Armstrong, and J. B. Anderson. Osteoporosis after oophorectomy in the mature female rat and the effect of estrogen and/or progestogen replacement therapy in its prevention. J. Endocr. 1972; 55:79-87.
31. Dike N. Kalu, Bahram H. Arjmandi, Chung Ching Liu, Mohammed A. Salih, Roger S. Birnbaum. Effects of ovariectomy and estrogen on the serum levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3. Bone and Mineral. 1994; 25:135-147.
32. Anthony M. Frumar, David R. Meldrum, F. Geola, Issa M. Shamonki, Ivanna V. Tataryn, Leonard J. Deftos, et al. Relationship of fasting urinary calcium to circulating estrogen and body weight in postmenopausal women. JCE&M. 1980;50(1):70-75.
33. 이환모, 한수봉, 박병문. 백서의 난소제거술후 발생한 골조송증에 대한 Calcitonin의 효과. 대한정형외과학회지. 1992;27(2):577-582.