

흰 쥐에서 난소 적출술로 유발한 골다공증에 대한 Estradiol의 효과

서울대학교 의과대학 정형외과학교실, 생화학교실*

중앙대학교 의과대학 해부병리학교실**

이명철 · 성인호 · 성상철 · 최인호 · 이동호 · 박상철* · 송계용**

— Abstract —

The Effect of Estradiol on the Osteoporosis Induced by Oophorectomy in the Rat

Myung-Chul Lee, M.D., In-Ho Seong, M.D.,
Sang-Cheol Seong, M.D., In-Ho Choi, M.D., Dong-Ho Lee, M.D.,
Sang-Chul Park*, M.D., and Key-Yong Song**, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery and Department of Biochemistry,
Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea*

*Department of Pathology**, Chung-Ang University College of Medicine,
Seoul, Korea*

Post-menopausal osteoporosis is known to be related to estrogen deficiency.

The purpose of this experimental study is to investigate whether or not estrogen administration can prevent or retard the process of osteoporosis induced by oophorectomy in rats.

Fifty-two Sprague-Dawley rats, aged five months, were separated into three groups. Group 1 (4 rats) was control group that had sham operation without oophorectomy. Group 2 (32 rats) was another control group that had bilateral oophorectomy alone. Group 3 (16 rats) was experimental group that had estradiol administration from the fourth week through the eighth week after bilateral oophorectomy. In group 1, all the rats were killed at the fourth week after sham operation. In group 2 and group 3, four rats in each group were killed weekly until the eighth week after oophorectomy. All the animals were subjected to radiological, histological studies on the tibia, ilium, skull, and the sixth lumbar vertebra. Also, histomorphometric measurements were

※ 통신저자 : 이 명 철

서울시 종로구 연건동 28번지

서울대학교 의과대학 정형외과학교실

※ 본 연구는 1994년도 서울대학교병원 임상연구비 지원(01-94-074)에 의한 결과임

done on the trabeculae of the proximal tibia. Following results were observed:

1. Osteoporotic changes were evident from the fifth week after oophorectomy and increased with time on the radiologic examination in group 2. In contrast, osteoporotic changes were evident from the second week after oophorectomy and progressed with time on the histological and histomorphometric studies in group 2.

2. After administration of estradiol, osteoporotic changes which include thinning of the cortex, decrease of the amount of trabeculae were partially restored on the radiological, histological studies in group 3.

3. Histomorphometric study revealed that the trabecular area percent (the proportion of total area of the trabeculae from the whole metaphyseal area), decreased progressively through the eight week after oophorectomy in group 2. Whereas the trabecular area percents of group 3 were higher than those of group 2, but still lower than initial value before oophorectomy.

Based on the above observations, estradiol administration appeared to delay the progression of the osteoporotic changes induced by oophorectomy in rats.

Key Words : Rat, Oophorectomy, Osteoporosis, Estradiol.

서 론

골다공증(osteoporosis)은 가장 흔한 골(bone)의 대사성 질환의 하나로 같은 성별 및 연령층에 비하여 총골량(total bone mass)이 감소한 상태인데, 선천성, 폐경이후, 노인성 혹은 불용성 골다공증 및 갑상선 기능 항진증, 부갑상선 기능 항진증, 만성 신부전증, 부신 피질 호르몬 투여 등에 따른 속발성 골다공증 등 다양한 원인에 의해 발생한다(Jaworski, 1981). 이 중, 폐경이후 골다공증은 가장 흔한 유형의 하나로서 여성 호르몬의 결핍이 그 원인으로 생각되어지고 있다.

폐경이후 골다공증의 표본으로는 난소 적출술이 여러 저자들에 의하여 쓰여졌다. 이들 연구에는 혈액 검사, 조직학적 방법, 골밀도 검사 등을 이용한 것이 있는데, 방사선학적 검사에 대한 것은 아직 보고된 바가 없었다. 또한 조직학적 검사 역시, 골다공증이 유발되느냐의 사실 여부나, 정량적 측정에 초점이 맞추어졌고, 시간의 경과에 따른 점진적 변화에 대한 자세한 보고도 아직 없는 실정이다.

한편, 폐경이후 골다공증이 estrogen 결핍에 의한 것이라면, 이의 투여가 골다공증을 예방하거나, 회복 시켜줄 수 있을 것이라는 가설하에, 여러 저자들의 실험적 연구가 있었다. 그러나 이것도 역시 점진적 조직 형태학적 변화에 관한 것은 미흡한 실정이다.

이에, 저자들은, 흰쥐의 양측 난소를 적출한 후, 골의 변화를 시간 경과에 따라 방사선학적 및 조직학적으로 추시, 관찰하여 골다공증이 유발되는 것을 확인하고, 여성 호르몬의 투여가 골다공증을 회복시키는 지의 여부를 밝히고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

실험 재료로는 서울대학교 의과대학 동물 실험실에서 분양받은 생후 5개월된 암컷 흰 쥐(Sprague Dawley rat) 52마리를 사용하였으며, 체중은 250-300gram 정도였다. 전 실험기간 중 사료로는 마우스용 페레트형 고형 압축 사료를 공급하였고, 식수로는 수돗물을 사용하였으며, 항생제는 사용하지 않았다. 사육은 40×25×17cm 크기의 사육장(cage)

에 각각 4마리씩 사육하였다. 기타 사육 조건은 모든 쥐에서 동일하게 유지하였다.

2. 연구방법

연구 과정은 크게 난소 적출술의 시행, 적출술후 일정 기간 마다 흰 쥐를 희생하여 표본골 채취, 방사선학적 관찰, 조직학적 관찰 및 조직 형태 계측학적 관찰의 다섯 단계로 시행되었다.

가. 난소 적출술

총 52마리의 흰 쥐중 48마리를 대상으로 양측 난소 적출술을 시행하였다. 5% ketamine 20mg/100g을 복강내 주입하여 전신 마취 시킨 다음, 양측 복배부의 털을 제거한 뒤, 10% betadine 용액으로 수술 부위를 소독한후, 무균 조작하에서 수술을 시행하였다.

일측의 하 측배부에서 1.5cm 정도로 피부, 복근 및 복막을 절개하고, 난소를 노출시켜, 난관을 silk사로 결찰한 후 난소를 절제하고, silk사 및 nylon사로 복막, 복근 및 피부를 봉합하였다. 반대측에 대해서도 같은 방법으로 난소를 적출하였다. 나머지 4마리에 대해서는 복막 절개까지만 같은 방법으로 시행하고, 난소를 적출하지 않은 채로 다시 봉합하는 모의 수술(sham operation)을 시행하여, 이들을 정상 대조군으로 사용하였다.

나. 표본 골 채취

위와 같은 수술을 시행한 후, 이들은 다음과 같은 3개의 군으로 나누어 실험하였다.

제 1군 (4마리) : 모의 수술(sham operation)을 시행한 군

제 2군 (32마리) : 난소 적출술후 아무 약제도 투여 않은 군

제 3군 (16마리) : 난소 적출술 4주후부터 estradiol을 투여한 군

즉, 제 1군은 대조군(control group), 제 2군은 또 다른 대조군인 골다공증군(osteoporosis group), 제 3군은 실험군인 estradiol 투여군(estradiol group)이다.

제 1군은, 술후 4주째에, 4마리를 희생하여, 양측 경골(tibia), 양측 장골(ilium), 두개골(skull) 및

제 6요추(lumbar vertebra)를 채취하였다.

제 2군은 난소 적출술후 제 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 8주에 각각 4마리씩 희생하여 제 1군에서와 같은 방법으로 표본 골을 채취하였다.

제 3군에 대해서는 난소 적출술후 제 4주째부터 estradiol을 투여하였다. Estradiol 1mg을 0.5ml corn oil에 녹여서 복강내 주사로 투여하였는데, 이를 1주에 3회씩 시행하였다. 술후 제 5주부터 이중 4마리씩을 희생하여 제 1군에서와 같은 방법으로 표본 골을 채취하였다.

다. 방사선학적 검사

위에서 얻은 골 표본중, 두개골과 제 6요추는 조직이 너무 얇아 방사선 투과성이 강하여 각 군간의 차이를 비교하기가 어려워, 방사선 촬영에서 제외되었으며, 양측 경골 및 양측 장골에 대해서 단순 방사선 촬영을 시행하였다.

Mannography film(FUJI사 제조)을 사용하여, 160mAs, 30kVP, 보정 2+의 조건하에, 2배 확대 되도록 촬영하였다.

라. 조직학적 검사

단순 방사선 검사후, 골 표본을 10% 중성 formalin 용액에 고정하였다. 각각의 표본은 무기질의 탈석회(decalcification)을 위해 10% nitric acid에 6시간 두고, 탈수는 알콜 80%부터 100%까지 10단계로 하였고, xylene 2회와 paraffin 2회로 포매한 후, 골 절단용 microtome으로 근위 경골부에서 4 micrometer 두께의 조직 절편을 만들어, Hematoxylin-Eosin 염색을 실시하였다. 이 과정을 거쳐 얻어진 slide를 20배율, 40배율 및 100배율로 현미경 관찰을 시행하였다.

마. 조직 형태 계측학적 검사

조직 형태 계측학적 검사로서, 각 군에서, 근위 경골부가 현미경의 한 시야에 들어오는 상태인 40배율로 조직 소견 사진을 만들었다. 이 사진을 재료로 하여, digitizer로 각 골소주의 윤곽선을 따라 그려서 computer 화면에 영상을 얻고, 특수한 computer 체계(VIDAS image analysis system, Zeiss사, 독일)를 이용해서 이 영상의 면적을 자동적으로 계산하여, 시야내에 있는 전체 근위 경골 면적 및 골소주의 면적을 계수화하였고, 이것으로 골

소주 면적 비율을 계산하였다. 즉,

$$\text{골소주 면적 비율} = \frac{\text{골소주 면적}}{\text{전체 근위 경골 면적}}$$

으로 계산되었다.

각 군에서 매 주마다 희생한 네 마리의 표본에 대하여 골소주 면적 비율을 계산해서, 이를 평균하여 각 군의 매 주마다의 평균 골소주 면적 비율을 구하였다.

결 과

가. 방사선 검사.

단순 방사선 검사상, 난소 적출술을 시행한 이후 제 2군의 경골에서는, 골다공증의 변화가 근위 경골의 골간단부(metaphysis)에서 가장 뚜렷하였던바, 정상골과 확실히 구별되어지는 골소주의 감소 소견이 난소 적출 술후 6-8주에서 관찰되었다. 즉, 난소 적출술후 기간이 경과하면서 정상 경골에 비해, 근위 골간단의 골소주가 감소하였고, 피질골은 가늘어지고, 군데 군데 단절되어 보이는 변화를 보였고, 방사선 투과성이 증가되는 경향을 보였다. 그러나, 각 골 표본들 간에 개체간의 차이가 커서, 이 변화가 반드시 점진적으로 변화하지는 않았다. Estradiol 투여군인 제 3군에서는 2주째 이후부터 시간이 경과함에 따라, 골소주가 증가하고, 뚜렷해지며, 피질골이 두껍고 분명해지며, 방사선 투과성이 감소하는 변화를 보여, 골다공증에서 회복되어 감을 시사하였다(Fig. 1).

장골(ilium)에서는, 제 2군에서 난소 적출술후의 골다공증의 변화가 비교적 점진적으로 진행되는 것을 볼 수 있었다. 정상 장골과 비교할 때, 난소 적출술후 제 1-4주에는 골소주의 심한 감소는 없었고, 시간이 경과함에 따라 서서히 감소되어 갔다. 제 5주이후부터는 이 변화가 더욱 뚜렷하여 정상골과 비교할 때 확연히 골다공증의 소견을 보여주었다. Estradiol 투여군에서는 투여 2주째 이후부터 골소주가 뚜렷해지고, 방사선 투과성이 감소하며 피질골도 두껍고 분명해지는 변화를 보여, 골다공증에서 회복되어 감을 시사하였다.

나. 조직학적 검사

Hematoxylin-Eosin 염색한 slide로 저배율 및

고배율 시야에서 각 군을 비교하여 보면, 경골에서는 근위 골간단에서 조직 절편을 제작하였는데, 정상에 비하여 난소 적출술후 시간이 경과함에 따라 골소주의 수량과 크기가 감소함을 관찰할 수 있었다. 제 1주부터 감소가 시작되어, 제 2주와 제 3주를 거치며 서서히 감소가 진행되며, 제 7주나 제 8주에서는 감소가 매우 심하였다. Estradiol을 투여한 군에서는 난소 적출술후 같은 기간이 경과한 제 2군에 비하여 골소주의 수량및 크기가 더 컸으나, 난소 적출술후 초기에서나 대조군에 비하여는 감소되어 있었다(Fig. 2).

다. 조직 형태 계측학적 검사

조직 형태 계측학적 검사에서는, 각 군 경골의 평균 골소주 면적 비율이, 대조군인 제 1군이 54.5%이었고, 제 2군에서는, 제 1주는 50.4%, 제 2주는 43.3%, 제 3주는 44.3%, 제 4주는 36.7%, 제 5주는 34.4%, 제 6주는 33.6%, 제 7주는 28.2%, 제 8주는 21.9%이었으며, 제 3군에서는, estradiol 투여후 제 1주는 38.8%, 제 2주는 36.4%, 제 3주는 39.6%, 제 4주는 34.3%이었다. 즉, 난소 적출술후 시간이 경과함에 따라 골소주 면적 비율이 서서히 감소하는 경향을 보였고, 난소 적출술후 8주째에는 골소주 면적 비율이 21.9%에 불과하여, 대조군의 54.5%에 비하여 심한 감소를 보였다. Estradiol 투여군에서는 난소 적출술후 같은 기간이 경과한 상대군에 비하여 골소주 면적 비율이 다소 높은 결과를 나타내었다(Fig. 3).

고 찰

골다공증의 여러 유형중, 폐경이후 골다공증에 대하여 Albright¹⁾가 처음 기술한 이후, estrogen의 결핍이나 난소의 호르몬에 대한 작용의 변화가 골아세포(osteoblast)의 기능적 결여와 관련된다고 알려져왔다.

Urist등¹⁴⁾에 의해 발표된 초기의 실험적 연구에 의하면, estrogen이 결핍된 쥐에서, 골 형성의 감소와 골흡수의 증가가 있다고 하였다.

Gurkan등⁵⁾은 난소를 제거한 쥐에서 골 밀도가 감소하고, 골에서 칼슘과 hydroxyproline의 함량이 감소하는 것을 관찰하여, 이것이 골다공증의 유효한

Fig. 1. Radiographic change of the tibia after oophorectomy

- (A) Control. Thick cortical bone and radiopacity was noticed.
- (B) 6 weeks after oophorectomy with marked cortical thinning and radiolucency.
- (C) 8 weeks after oophorectomy showing disruption of cortical continuity.
- (D) 2 weeks after administration of estradiol. Cortical bone was more prominent and radiopacity increased.
- (E) 4 weeks after administration of estradiol. Radiopacity increased and well-formed cortical bone was noticed.

표본이 될 수 있음을 제시하였다. Faugere⁴⁾의 연구에 의하면 쥐의 난소 적출술후 해면골(cancellous bone)과 피질골(cortical bone)의 골량(bone mass)이 감소하였고, 무기질화된 골과 비무기질화된 골사이의 비율이 감소하였으며, calcitriol을 이

난소 적출술을 시행한 쥐에 투여한 결과, 최소한 부분적으로, 이 골손실이 교정되었고, 무기질화된 골과 비무기질화된 골사이의 비율이 정상화되었고, 성장판의 두께가 정상화되었다고 하였다. 이를 증명하기 위한 방법으로서, Malluche¹⁰⁾의 정량적 조직

Fig. 2. Histological changes of the proximal tibia after oophorectomy. (Hematoxylin-Eosin staining, X 40)

- (A) Control. Low power view. Trabecular pattern of the osteoid was condense and was well preserved in both the epiphysis and metaphysis.
- (B) 2 weeks after oophorectomy. Trabeculae were much resolved.
- (C) 6 weeks after oophorectomy. Trabecular portion was reduced and the cellular and vacuolar portion of marrow became more predominant.
- (D) 8 weeks after oophorectomy. Severe reduction in the size and the number of the trabeculae was observed.
- (E) 2 weeks after administration of estradiol. More abundant trabeculae comparing to those of 6 weeks after oophorectomy, but less than control.
- (F) 4 weeks after administration of estradiol. More abundant trabeculae were visible comparing to those of the rats of 8 weeks after oophorectomy.

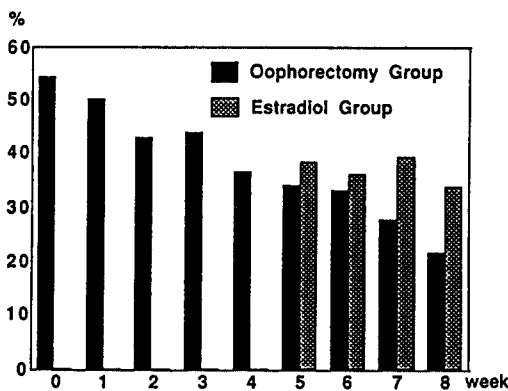


Fig. 3. Weekly measurements of the average trabecular area percent of the proximal tibiae of each group. After oophorectomy it decreased gradually, reaching 21.9% at 8 weeks later. Those of the estradiol-treated group was higher comparing to the specimens of the same duration after oophorectomy.

학적 분석의 방법, 즉 조직 형태 계측법(histomorphometry)을 이용하였다. Durbridge등²⁾은 흰 쥐에서 부신피질 절제술 혹은 난소 적출술을 시행한 결과 모의 수술(sham operation)에 비하여, 골소주 골량(trabecular bone volume)이 유의하게 감소되었음을 보고하였다. 이 비교에 있어서 조직 형태 계측적 기법(histomorphometric technique)을 이용하였다.

여러 문헌에서 보면, 난소 적출술이 여러 동물에서 골다공증을 유발시킨 결과가 보고되고 있으며, 그 측정 방법으로는, 골 밀도 측정, 골의 화학 성분 측정, 조직학적 방법 등이 있다. 그러나, 이 문헌들은 골다공증이 일어난 후의 상태에 중점을 두었으며, 골다공증을 유발하는 시술을 시작한 이후부터 시간의 경과에 따른 점진적 변화의 양상을 기술한

보고는 없었다. 또한 골다공증의 평가 방법으로서 방사선학적 방법을 사용하거나, 방사선학적 변화를 기술한 보고도 없었다.

실험 동물의 선택에 있어서, Kalu등⁶⁾에 의하면, 설치류 골 표본의 제한점으로서, 쥐의 피질골에는 하버시안 관(Haversian canal)이 없고, 난소 적출술로 비롯된 골 손실의 경우에 사람에서처럼 골절이 일어나지 않으며, 설치류는 층판골(lamellar bone)을 형성하지 않고, 골 재형성에 관한 단지 제한된 능력밖에 없다고 하였다.

그러나, 쥐의 골다공증 표본은, 동물을 얻기가 용이하고, 여러 시술 및 조작이 간편하며, 사육이 쉽고 일반화되어 있고, 성장 및 대사가 빨라서 골에 있어서도 신속한 대사 변화를 볼 수 있는 장점이 있어, 본 실험에서도 Sprague-Dawley rat를 사용하였다.

본 연구에서는 흰 쥐의 난소 적출술로서 골다공증을 유발하였고, 그 시간에 따른 변화를 1주일 단위로, 방사선학적 및 조직학적으로 관찰, 기술하였으며, 객관성을 위하여 조직 형태 계측학적 방법을 이용하여, 골소주가 감소하는 것을 정량화 및 도식화하여 골다공증의 진행을 확인하였다.

골다공증의 표본을 확립함은 향후 골다공증의 연구에 있어서 매우 중요하며, 난소 적출술로 골다공증이 유발되지만, 얼마나 기간이 경과해야 충분히 골다공증이 유도되는 지를 명확히 할 필요가 있다. 골다공증의 정의상 그 어떤 정량적 기준이 정해져 있는 것이 아니므로, 충분한 골다공증이 유발되었는지에 대한 판별은 다분히 주관적일 수 밖에 없으며, 또한 본 실험의 결과에서 나타난 바와 같이 골다공증의 변화가 점진적으로 일어나기 때문에, 단정적인 시기를 결정하기는 불가능하다. 그러나, 이 실험의 여러 결과를 종합해 볼 때, 난소 적출술후 5주부터는 중등도의 골다공증의 변화를 보였으며, 8주째에는 완전한 골다공증의 양상을 보였다고 할 수 있었다.

Estrogen 결핍이 골다공증을 유발시키는 작용 기전에 대한 연구가 여러 저자들에게 의해 보고되었으나, 현재까지 estrogen의 골에 대한 정확한 작용 기전은 밝혀지지 못한 상태이다. Orimo등¹¹⁾은 estrogen결핍시 부갑상선 호르몬(PTH)에 대한 골격의 감수성이 증가하여, 골격에 대해서 PTH 과다상태

의 효과를 일으킨다고 하였다. 반면에, Lindgren등⁸⁾은 쥐에서 난소 적출술후 PTH와 1,25-dihydroxy-vitamin D₃치의 혈청 level을 측정하여, 골다공증이 PTH에 대한 감수성의 증가나 1,25-dihydroxy-vitamin D₃치의 감소에 의한 것은 아니라고 하였다. Eriksen등³⁾은 골아세포(osteoblast)에서, Komm등⁷⁾은 골아세포와 유사한 골육종 세포에서 estrogen에 대한 수용체(receptor)가 있음을 보고하여, estrogen이 수용체가 매개된 기전을 통해 골아세포에 직접적으로 작용할 수 있음을 시사하였다. Pacifici등¹²⁾은 난소 적출술을 시행한 여성에서 인체 단핵 세포의 cytokine으로서 골흡수에 관여하는 것으로 알려진 granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), interleukin 1 (IL-1), tumor necrosis factor α (TNF-α)의 분비의 증가에 의해 골 흡수가 급격히 증가하고, estrogen 대체 요법(estrogen replacement therapy)이 골 교체(bone turnover)를 정상화시키고 수술전 cytokine 치료 회복시켰다고 보고하였다.

Estrogen의 투여가 폐경기후 골다공증을 예방 또는 회복시킨다는 여러 보고가 있었고, 임상적으로 사용되어져 왔다. Recker¹³⁾는 폐경기후 골다공증 환자에게 estrogen 및 칼슘을 각각 투여하여 골 손실이 감소한다고 하였고, Lindsay⁹⁾는 난소 적출술 직후 estrogen 치료가 시작된 경우, 골 손실이 거의 완전히 중단되었고, 난소 적출술후 몇 년 뒤에 시작한 경우도 효과가 있었으나, 초기에 시작한 경우보다는 효과가 적었다고 하였다.

본 실험에서도 난소 적출술을 시행한 쥐에게 estradiol을 투여하여 그 점진적 변화를 방사선학적 및 조직학적으로 관찰하였고, 그 결과 난소 적출술을 시행하고 estradiol을 투여하지 않은 같은 시기의 쥐에 비해 골다공증의 정도가 더 경한 소견을 보였다. 그러나, estradiol 투여이후 시간이 경과함에 따라 골다공증에서 회복되어 가는 소견은 확실하지가 않았다. Estradiol의 투여 1주후의 골소주 면적 비율이 38.8%에서 4주후에는 34.2%로 약간 감소하여, 비록 더 장기적인 추시는 없었으나, estradiol 투여군에서도 골다공증이 서서히 진행한다고 볼 수 있다. 따라서, 이 실험의 결과만으로는 estradiol이 최소한 골다공증의 진행을 억제한다는 것을 보

여 주었다고 할 수 있겠다.

Estradiol의 투여가 골다공증의 진행을 막을 수 있는 가능성을 제시되었지만, 그 진행을 완전히 방지하지 못한 이유는 몇 가지 가능성이 있을 수 있다. 첫째, 난소 적출술후의 골다공증이 단순히 estrogen 한 가지에만 관련된 것이 아니고, 다른 인자도 관련되어 있을 가능성이 있다. 이런 경우 estrogen만을 투여한다면 그 진행을 완전히 방지하지는 못할 수 있다. 둘째, estradiol이 골다공증을 방지하기에 충분한 용량을 투여하지 못했을 가능성이 있다. 복강내 투여로서 estradiol이 충분한 혈청치에 도달할 수 있는지 확인할 수 없었고, 만일 그 혈청치를 측정하여 일정한 수치에 도달하게 하더라도 각 개체마다 그 반응에 차이가 있을 수 있다.

셋째, estradiol의 투여 시기가 중요한 요소일 수 있다. 장기간의 estrogen 결핍에 의해 심한 골다공증 변화가 초래되어 골이 완전히 파괴된다면, 그 원인이 되는 요소를 제거해도 다시 복원될 수 없는 비가역적인 변화를 일으킬 가능성이 있다. 본 실험에서는 난소 적출술후 제 4주이후부터 estradiol을 투여하였는데 이 보다 더 빠른 시기에 estradiol을 투여했다면, 완전한 회복이 가능했을 수도 있고, 난소 적출술 직후에 투여했다면 골다공증 변화를 전혀 보이지 않아 골다공증의 예방이 가능했을 수도 있었을 것이며, 반대로, 이 보다 더 늦은 시기에 estradiol의 투여를 시작하였다면 전혀 효과가 없었을 수도 있었을 것이다.

방사선 추시상, 특히 경골에서, 난소 적출술후 골소주나 방사선 투과성의 변화가 연속적이지 않았는데, 이것은 각 개체간의 차이가 큰 것이 원인일 수 있다. 이 가능성을 없애려면, 첫째, 동일 개체에 대하여 난소 적출술을 시행하기 전에 방사선 검사를 하고, 시간이 경과함에 따라 순차적으로 방사선 촬영을 하여 비교하는 방법을 사용했어야 했을 것이다. 본 실험에서는 조직학적 검사와 병행하기 위하여, 난소 적출술후 같은 기간이 경과한 쥐 네 마리를 한군으로 묶어서 동일하게 처리하였는데, 이 방법처럼 한 군으로 묶어 처리하려면, 개체간의 차이를 없애기 위한 두번째 방법으로서, 객관적으로 골다공증의 정도를 측정하여 통계적 검증을 거쳐야 할 것이다.

시간에 따른 골의 변화에는 난소 적출술이후의 변

화 이외에도 쥐의 성장에 따른 골의 변화도 관여할 수 있다. 그러므로 대조군을 선택할 때, 모의 수술을 실시한 쥐를 난소 적출술을 실시한 쥐들과 같은 조건에서 성장시켜서 같은 시기에 희생시켜서, 수술 후 같은 기간이 경과한 것끼리 비교하였어야 성장에 관계된 변수를 줄일 수 있었을 것이다.

본 실험의 또다른 제한점으로는, 방사선 사진을 보고 그 골다공증의 정도를 보는 것은 다분히 주관적인 것으로, 객관성이 결여되어 있다. 객관성을 확립하게 위해서는 이를 정량화할 필요성이 있고, 이런 목적으로 조직 형태 계측법(histomorphometry)이 사용되어졌으며, 본 실험의 결과에서 수치상 혹은 도표상으로 골소주가 시간의 경과에 따라 감소해 가는 경향이 잘 나타났다. 그러나, 표본의 개수가 많지 않아서, 통계적인 유의성의 검증은 시행하지 못하였다.

Estrogen 결핍이 골다공증을 유발시키는 기전이나, 골다공증이 유발된 골의 생화학적, 생리학적 및 역학적 특성, 골절의 치유나 골연장술등 임상적 관련 분야에 있어서 골다공증이 미치는 영향 등은 향후 연구되어야 할 과제들이라 생각되며, 본 실험의 자료는 이들 연구에 있어서 이용될 수 있는 표본을 제시하였다고 사료된다.

요약 및 결론

쥐의 난소 적출술에 의해 실제로 골다공증이 유발되는 지를 형태학적으로 확인하고, 또한 이 유발된 골다공증이 여성호르몬의 투여에 의해서 회복되는 지를 확인하고자 본 연구를 시행하였다.

생후 5개월된 암컷 흰 쥐(Sprague Dawley rat) 52마리를 대상으로, 모의 수술을 받은 제 1군, 난소 적출술을 시행한 제 2군과, 난소 적출술을 시행한 후 제 4주부터 estradiol을 투여한 제 3군에 대하여, 시간의 경과에 따라 표본 골을 채취하여, 이에 대해서 방사선학적, 조직학적 및 조직 형태 계측학적 검사를 수행하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1. 제 2군의 방사선학적 및 조직학적 검사에서, 골다공증의 변화가 난소 적출술후 시간이 경과함에 따라 진행하였다.

2. 제 3군에서는, estradiol의 투여이후, 방사선학적 및 조직학적 검사에서, 골다공증의 변화로부

터, 시간이 경과함에 따라 부분적으로 회복되었다.

3. 조직 형태 계측학적 검사에서, 골소주 면적 비율이 제 2군에서는 난소 적출술후 점진적으로 감소하였고, 제 3군에서는 골소주 면적 비율이 난소 적출술후 같은 시기의 제 2군에 비해 더 높은 결과를 보였다.

결론적으로, estradiol의 투여는 흰 쥐에서 난소 적출술로 유발한 골다공증을 부분적으로 회복시키거나 그 진행을 지연시켰다.

REFERENCES

- 1) Albright F, Smith PH and Richardson AM : Postmenopausal Osteoporosis; Its Clinical Features. *JAMA*, 116:2465-2474, 1941.
- 2) Durbridge TC, Morris HA, Parson AM, Parkinson IH, Moore RJ, Porter S, Need AG, Nordin BEC and Roberts BV : Progressive Cancellous Bone Loss in Rats after Adrenalectomy and Oophorectomy. *Calcified Tissue International*, 47:383-387, 1990.
- 3) Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann GK, Spelsbreg TC and Riggs BL : Evidence of Estrogen Receptor in Normal Human Osteoblast-Like Cell. *Science*, 241:84-86, 1988.
- 4) Faugere MC, Okamoto S, DeLuca HF and Malluche HH : Calcitriol Corrects Bone Loss Induced by Oophorectomy in Rats. *American Physiological Society*, E35-E38, 1986.
- 5) Gurkan L, Ekland A, Gautvik KM, Langelland N, Roenningen H and Solheim LF : Bone Changes after Castration in Rats. : A model for osteoporosis. *Acta Orthopedica Scandinavica*, 57:67-70, 1986.
- 6) Kalu DN, Liu CC, Hardin RR and Hollis BW : The Aged Rat Model of Ovarian Hormone Defecency Bone Loss. *Endocrinology*, 124:7-16, 1989.
- 7) Komm BS, Terpending CM, Benz DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O 'Malley BW and Haussler MR : Estrogen Binding, Receptor mRNA, and Biologic Response in Osteoblast-Like Osteosarcoma Cells. *Science*, 241:81-83, 1988.
- 8) Lindgren U and DeLuca HF : Role of Parathyroid Hormone and 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in the Development of Osteopenia in Oophorectomized Rats. *Calcified Tissue International*, 34:510-514, 1982.
- 9) Lindsay R : Estrogen Therapy in the Prevention and Management of Osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol*, 156:1347-1351, 1987.
- 10) Malluche HH, Sherman D, Meyer W and Massry SG : A New Semiautomatic Method for Quantitative Static and Dynamic Bone Histology. *Calcified Tissue International*, 34:439-448, 1982.
- 11) Orimo H, Fujita T and Yoshikawa M : Increased Sensitivity of Bone to Parathyroid Hormone in Ovariectomized Rats, *Endocrinology*, 90:760-763, 1972.
- 12) Pacifici R, Brown C, Puschek E, Friedrich E, Slatopolsky E, Maggio D, McCracken R and Aioli LV : Effect of Surgical Menopause and Estrogen Replacement of Cytokine Release from Human Blood Mononuclear Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:5134-5138, 1991.
- 13) Recker RR, Saville PD and Heaney RP : Effect of Estrogen and Calcium Carbonate on Bone Loss in Postmenopausal Women. *Annals of Internal Medicine*, 87:649-655, 1977.
- 14) Urist MR, Budy AM, McLean FC : Sepcies Differences in the Reaction of the Mammalian Skeleton to Estrogens. *Proc. Biol*, 69:324-326, 1948.