

## 身痛逐瘀湯이 늑골골절 유발 Rat의 골유합에 미치는 영향

남대진 · 오민석

대전대학교 한의과대학 한방재활의학교실

### The Effect of *Sintongchukea-tang* (*Shentongzhuyu-tang*) on Bone Fusion in Rib Fractured Rats

Dae-Jin Nam, K.M.D., Min-Seok Oh, K.M.D.

Department of Korean Medicine Rehabilitation, College of Korean Medicine, Daejeon University

RECEIVED June 15, 2020

REVISED June 28, 2020

ACCEPTED July 5, 2020

#### CORRESPONDING TO

Min-Seok Oh, Department of  
Korean Medicine Rehabilitation,  
College of Korean Medicine,  
Daejeon University, 75  
Daedeok-daero, 176beon-gil,  
Seo-gu, Daejeon 35235, Korea

TEL (042) 470-9424

FAX (042) 470-9005

E-mail ohmin@dju.ac.kr

Copyright © 2020 The Society of  
Korean Medicine Rehabilitation

**Objectives** This study was designed to evaluate the bone regeneration effects of *Sintongchukea-tang* (SC) on rib fractured rats.

**Methods** Rats were randomly divided into 5 groups (normal, control, positive control, SC low [SC-L] and SC high [SC-H]). All groups were subject to fractured rib except normal group. Normal group received no treatment at all. Control group was orally fed with phosphate buffered saline, and positive control group was medicated with tramadol (20 mg/kg). SC group was orally medicated with SC (50 mg/kg, 100 mg/kg) once a day for 14 days. The fracture healing process was observed by x-ray, micro CT and fracture tissue slide was observed by immunohistochemical staining. We analysed levels of transforming growth factor- $\beta$ 1, Ki67, alkaline phosphatase (ALP), runt-related transcription factor 2 (Runx2), receptor activator of nuclear factor kappa- $\beta$ , tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) and analysed levels of *Osteocalcin* in plasma. We measured levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), ALP, blood urea nitrogen (BUN) and creatinine in plasma, for hepatotoxicity and nephrotoxicity of SC.

**Results** Though X-ray and micro-computed tomography, more callus formation was observed and bone union was progressing. Through Hematoxylin and Eosin, callus formation was increased compared to the control group. Runx2 level at SC-H was significantly increased and TRAP level at SC-L was significantly decreased compared with the control group. AST, ALT, ALP, BUN and creatinine were not statistically different from the control group.

**Conclusions** As described above, SC promoted fracture healing by stimulating the bone regeneration factor. And SC shows no hepatotoxicity and nephrotoxicity. In conclusion, it seems that SC helps to promote fracture regeneration and it can be used clinically to patients with fracture. (*J Korean Med Rehabil* 2020;30(3):1-21)

**Key words** *Sintongchukea-tang*, Fracture healing, Bone fractures, Immunohistochemistry

## 서론»»»»

골절이란 뼈의 연속성이 불완전 또는 완전하게 소실된 상태를 말한다<sup>1)</sup>. 골절은 교통사고, 산업재해, 골다공증

같은 질병, 스포츠 손상 등에 의해 발생하며<sup>2)</sup> 최근 고령화 사회로 접어들면서 골절환자가 점차 증가하고 있다<sup>3)</sup>.

골절이 발생하면 대부분 피부, 피하조직, 근막, 신경 및 혈관 등의 손상을 동반할 수 있다<sup>1)</sup>. 골절치료는 우

선 해부학적 정복, 내고정 그리고 골과 주위조직 손상의 감소 및 회복을 위한 물리치료, 관절 구축 최소화를 위한 주위관절의 조기 운동 등이 있다<sup>4)</sup>. 골절의 치유과정은 염증기, 복원기, 재형성기의 순서로 연속적으로 중복되면서 진행이 되는데<sup>5)</sup> 복원기는 다시 연성 가골기와 경성 가골기로 나뉜다<sup>1)</sup>. 골절유합은 호르몬과 영양상태, 골절의 모양, 골절 부위로 혈액공급, 치료 방법 등의 요소들에 영향을 받는다<sup>6,7)</sup>.

한의학에서는 《外臺祕要》<sup>8)</sup>에서 ‘救急療骨折, 接令如故, 不限人畜也方’이라 하여 최초로 현대적 의미의 골절을 언급하였다. 당시 치료 방법에 대해서는 언급하지 않았으며, 이후 《千金要方》<sup>9)</sup>에서 정복 및 고정에 대해 기술하였다. 이후 《傷科補要》, 《醫宗金鑑》 등을 거치면서 골절의 치료법을 체계적으로 기록해왔다<sup>5)</sup>. 《聖濟總錄》<sup>10)</sup>에서 약물치법에 대해 기록하였는데 골절을 시기별로 나누어 골절 초기에는 活血祛瘀, 消腫止痛, 중기에는 接骨續筋, 후기에는 補氣養血, 補益肝腎, 健壯筋骨의 방법을 통해 약물치료를 시행해야 한다<sup>5)</sup>고 자세히 설명하였다.

身痛逐瘀湯은 清代 王青任의 《醫林改錯》<sup>11)</sup>에 수록되어 있다. 구성약물 및 효능을 살펴보면 紅花, 當歸, 川芎, 桃仁, 牛膝은 活血化瘀하고, 五靈脂, 沒藥, 地龍은 活絡止痛하고, 秦艽, 羌活은 祛風濕하고, 香附子, 甘草는 利氣작용이 있어 活絡化瘀, 通絡止痛, 祛風濕하는 효능으

로 瘀血로 인한 근육통 및 관절통을 치료하는데 활용되고 있다<sup>12)</sup>.

身痛逐瘀湯은 실험적으로 Kim<sup>13)</sup>의 抗血栓, Son<sup>14)</sup>의 鎮痛, 消炎, 解熱作用, Ryu<sup>15)</sup>의 抗炎, 鎮痛 및 血管擴張, 抗血栓, Lee<sup>16)</sup>의 壓迫으로 인한 外傷瘀血病態 회복, Lee<sup>17)</sup>의 신경 손상회복, Park<sup>18)</sup>의 骨芽細胞 재생, Park<sup>19)</sup>의 骨多孔症 등의 효과가 있다고 보고되었으나 身痛逐瘀湯의 골절 유합 개선에 관한 연구는 없었다.

이에 저자는 身痛逐瘀湯이 골절유합에 미치는 영향을 알아보기 위해, rat에 늑골 골절을 유발한 후 영상학적 검사, 조직학적 검사, 혈액검사, 안전성 검사를 통하여 유의한 실험 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법》》》》

### 1. 재료

#### 1) 약재

실험에 사용한 身痛逐瘀湯(Sintongchukea-tang, SC)의 구성 약재는 桃仁, 當歸, 沒藥, 五靈脂, 牛膝, 地龍, 川芎, 甘草, 紅花, 羌活, 秦膠, 香附子로 《醫林改錯》<sup>11)</sup>을 기준으로 하였다. 모든 구성 약재는 음니허브(Daegu, Korea)에서 구입하였고, 처방 구성은 Table I과 같다.

**Table I.** The Herbal Composition of Sintongchukea-tang

Herbal medicine name	Amount (g/d)
<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	8
<i>Angelica gigas</i>	8
<i>Commiphora myrrha</i> Engl.	8
<i>Trogopterus xanthipes</i> Milne-Edwards	8
<i>Achyranthes japonica</i> (Miq.) Nakai	8
<i>Pheretima aspergillum</i> (E. Perrier)	8
<i>Ligusticum officinale</i> (Makino) Kitag.	8
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	8
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	8
<i>Notopterygium forbesii</i> Boiss	4
<i>Gentiana straminea</i> Maxim	4
<i>Cyperus rotundus</i> L.	4
Total amount	84

## 2) 실험동물

실험동물은 대한바이오링크(Eumseong, Korea)에서 7주령 수컷 Sprague Dawley 랫드 (300-350 g)를 분양받아 5주일간 사육한 뒤 실험에 사용하였다. 실험동물은 실험 당일까지 고형사료와 물을 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 사육환경은 자유식이하면서 온도는  $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 로 맞추었고 12시간 light-dark cycle의 환경에 7일간 적응시킨 후 실험에 투입하였다. 본 연구의 동물실험에 관한 모든 사항은 대전대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받은 후 진행하였다(승인번호: DJUARB2019-006).

## 2. 방법

### 1) 약재추출

2첩 분량의 한약재 168 g에 1 L의 증류수를 넣고 약탕기(Daewoong, Naju, Korea)를 이용하여 약 2시간동안 열수추출하였다. 끓인 약재는 Whatman No. 2 filter (Maidstone, UK)로 여과해 용액에 추출된 성분만을 분리하였다. 여액은 rotary evaporator (Buchi, Switzerland)로  $70^{\circ}\text{C}$ 에서 감압증발한 뒤 동결건조하여 40.69 g의 건조분말을 얻어 추출효율은 24.2%였다. 분말은  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 분주하여 보관하였고, 사용하기 전 식염수로 희석하여  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  필터로 거른 후 사용하였다.

### 2) 골절유발 방법

실험 동물에게 60 mg/kg의 ketamine (Yuhan Corporation, Seoul, Korea)과 500  $\mu\text{L/kg}$ 의 rompun (Bayer, Leverkusen, Germany)을 섞어 근육 주사하여 마취하였다. 골절 유발을 위한 방법으로 가슴을 삭모한 다음 피부와 근육을 절개한 뒤 수술용 가위를 이용하여 왼쪽 9번 늑골을 절단하여 골절을 유발하였다. 골절 유발 후 근육, 피부 순서로 봉합사를 이용하여 5 mm 간격으로 단순 결찰 봉합하였다.

### 3) 군 분류 및 약물투여

실험동물은 무작위로 각각의 그룹으로 나누었다. 정상군(Nor), 대조군(Con), 양성대조군(Tra)은 6마리씩, 약물 투여군은 저농도(SC-L)와 고농도(SC-H) 10마리씩 배속시키고 골절 후 1주와 2주에 5마리씩 처사하였다.

정상군은 늑골 골절 손상을 주지 않았다. 그 외 모든 그룹의 실험동물은 늑골에 골절 손상을 주었고 실험 약물은 1주 혹은 2주 동안 1일 1회 일정 시간에 경구 투여하였다. 양성 대조군은 임상에서 골절 혹은 수술 후 진통제로 사용하는 tramadol (20 mg/kg; Sigma Aldrich Co., Ltd., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. 실험군은 SC (50 mg/kg, 100 mg/kg)을 사용하였다.

### 4) Plasma 분리

마취된 실험동물의 심장에서 직접 채혈한 뒤 골장 ethylenediaminetetraacetic acid가 들어 있는 BD vacutainer tube (BD, Franklin Lakes, NJ, USA)에 넣고 가볍게 흔들어 혈액 응고를 억제하였다. 이후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 뒤 상등액을 취하여 plasma를 확보하였다.

### 5) 골절 부위의 영상학적 관찰

#### (1) X-ray

골절된 뼈와 재생된 뼈를 확인하기 위하여 X-ray (ROTANODE-E7239X; Toshiba, Tokyo, Japan)를 사용하여 늑골을 촬영하였다. X-ray 소스는 관전압 36 kVp, 관전류 5 mA로 촬영하였다. X-ray 촬영 후 이미지는 Fire-CR (3DISC, Herndon, VA, USA)을 사용하여 영상을 분석하였다.

#### (2) Micro-computed tomography (Micro-CT)

재생된 뼈를 확인하기 위하여 Micro-CT (Quantum FX Micro-CT; Perkin Elmer Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 늑골을 스캔하였다. X-ray 소스는 관전압 90 kVp, 관전류 160  $\mu\text{A}$ 로 3분간 스캔하였다. 8.8  $\mu\text{m}$ 의 공간 분해능에서  $0.7^{\circ}$ 의 회전 단계로  $360^{\circ}$ 에 걸쳐 스캔을 수행하였다. Micro-CT 스캔 후 이미지는 Dataview (Bruker, Ettlingen, Germany)를 사용하여 정리하였다.

### 6) 골절 조직 분석

#### (1) 조직슬라이드 제작

치사된 실험동물에서 골절을 유발한 늑골 부위를 적출한 뒤 10% formalin에 1주일동안 조직을 고정하였다. 고정된 조직을 조직처리 과정(processing)을 거쳐 파라핀에 포매(embedding)한 후 파라핀 블록을 4  $\mu\text{m}$  두께로 박절(cutting)하여 절편(section)을 만들었다.

## (2) Hematoxylin & Eosin (H&E) staining

탈 파라핀 후 함수, 수세 과정을 거쳐 Hematoxylin 과정을 10분간 처리하고, 수세 후 Eosin에 1분 40초간 처리하였다. 그 다음 함수, 청명 과정을 거쳐 cover glass를 덮고 봉입 하였다. 조직슬라이드는 40배 배율의 bright field microscope (Nikon, Tokyo, Japan)로 관찰하였다.

## (3) Safranin O staining

탈 파라핀 후 Weigert's iron hematoxylin 과정을 5분간 처리하였다. 수세 후 0.02% Fast green 5분, 1% acetic acid 10초, 0.1% Safranin O 5분의 처리과정을 순서대로 거쳤다. 그 다음 함수, 청명 과정을 거쳐 cover glass를 덮고 봉입하였다. 조직슬라이드는 40배의 배율로 bright field microscope (Nikon)로 관찰하였다.

## 7) Immunohistochemistry(IHC) 분석

### (1) IHC 슬라이드 제작

치사된 실험동물에서 골절을 유발한 늑골 부위를 적출한 뒤, 10% formalin에 1주일 동안 조직을 고정하였다. 고정된 조직을 조직처리 과정(processing)을 거쳐 파라핀에 포매(embedding)한 후 파라핀 블록을 4 µm 두께로 박절(cutting)하여 절편(section)을 만들고 탈 파라핀, 함수과정을 거쳐 증류수로 세척하였다. 내인성 peroxidase의 활성을 없애기 위해 Peroxide Blocking (DAKO, Glostrup, Denmark)를 실온에서 10분간 처리하고, phosphate buffered saline로 2회 세척하였다.

### (2) Transforming growth factor-β1 (TGF-β1), Ki67

항체 TGF-β1 (Dilution 1:200; Abcam, Cambridge, UK), Ki67 (Dilution 1:100; Abcam)를 4°C에서 overnight동안 반응시킨 후 Wash buffer (DAKO)로 세척하고 Envision+Rabbit (DAKO)으로 30분간 반응시켰다. 반응 후 반응용액은 Wash buffer (DAKO)로 세척하고, 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)으로 약 3분간 발색하였다. 발색 후 증류수로 중화하고, Mayer hematoxylin으로 대조 염색 후 수돗물에 세척하여 남은 염색 시약을 제거한 뒤 함수, 청명 과정을 거쳐 cover glass를 덮고 봉입하였다. 조직슬라이드는 200배, 400배의 배율로 bright field microscope (Nikon)로 관찰하였다.

### (3) Alkaline phosphatase (ALP), Runt-related transcription factor 2 (Runx2)

항체 ALP (1:200; MyBioSource, San Diego, CA, USA),

Runx2 (Dilution 1:100; Abcam)를 4°C에서 overnight동안 반응시킨 후, Wash buffer (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)로 세척하고 Biotinylated antibody-Rabbit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)으로 30분간 반응시켰다. 반응 후 반응용액은 Wash buffer (Thermo Fisher Scientific)로 세척하고, Avidin Biotin HRP complex (Vector Laboratories)로 반응시켰다. Wash buffer로 세척 후 DAB로 약 3분간 발색하였다. 발색 후 증류수로 중화하고, Harris hematoxylin으로 대조 염색 후 수돗물에 세척하여 남은 염색 시약을 제거한 뒤 함수, 청명 과정을 거쳐 cover glass를 덮고 봉입하였다. 조직슬라이드는 200배의 배율로 bright field microscope (Nikon)로 관찰하였다.

### (4) Receptor activator of nuclear factor kappa-β (RANK)

항체 RANK (Dilution 1:100; Abcam)를 4°C에서 overnight동안 반응시킨 후 Wash buffer (Thermo Fisher Scientific)로 세척하고 Biotinylated antibody-Mouse (Vector Laboratories)로 30분간 반응시켰다. 반응 후 반응용액은 Wash buffer (Thermo Fisher Scientific)로 세척하고, Avidin Biotin HRP complex (Vector Laboratories)로 반응시켰다. Wash buffer로 세척 후 DAB로 약 3분간 발색하였다. 발색 후 증류수로 중화하고, Harris hematoxylin으로 대조 염색 후 수돗물에 세척하여 남은 염색 시약을 제거한 뒤 함수, 청명 과정을 거쳐 cover glass를 덮고 봉입하였다. 조직슬라이드는 200배의 배율로 bright field microscope (Nikon)로 관찰하였다.

### (5) Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP)

항체 TRAP (Dilution 1:100; Abcam)를 4°C에서 overnight동안 반응시킨 후, Wash buffer (Thermo Fisher Scientific)로 세척하고 Biotinylated antibody-Rabbit (Vector Laboratories)으로 30분간 반응시켰다. 반응 후 반응용액은 Wash buffer (Thermo Fisher Scientific)로 세척하고, Avidin Biotin HRP complex (Vector Laboratories)로 반응시켰다. Wash buffer로 세척 후 DAB로 약 3분간 발색하였다. 발색 후 증류수로 중화하고, Harris hematoxylin으로 대조 염색 후 수돗물에 세척하여 남은 염색 시약을 제거한 뒤 함수, 청명 과정을 거쳐 cover glass를 덮고 봉입하였다. 조직슬라이드는 200배의 배율로 bright field microscope (Nikon)로 관찰하였다.

## 8) IHC staining score

조직슬라이드의 정보를 블라인드 처리 후 발현량 정도를 0부터 5까지 Scoring 하였다. 발현량 score 점수는 Table II와 같다.

## 9) 혈액생화학적 분석

혈액생화학적 분석하기 위하여 COBAS 8000 C702 analyzer (Roche Diagnostic system, Basel, Switzerland)를 사용하였다. 시약은 Roche Diagnostics (Indianapolis, IN, USA)를 사용하였다. ALP, aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT)는 Colorimetry 검사법을 이용하였고, blood urea nitrogen (BUN)은 Kinetic test, creatinine은 Enzyme법을 이용하였다. 실험동물에서 분리한 plasma를 이용하여 각각의 혈액생화학적 분석을 수행하였다.

## 10) Osteocalcin 분석

Rat Gla-Osteocalcin ELISA kit (Takara Bio Inc., Kusatsu, Japan)를 이용하여 antibody coated microtiter plate에 plasma를 100  $\mu$ L씩 분주하고 1시간 동안 반응시킨다. Washing buffer를 이용하여 세척 하고, antibody-POD conjugate를 각 well에 100  $\mu$ L씩 넣어 1시간 동안 반응시킨 뒤 다시 washing buffer를 이용하여 세척하고, tetramethylbenzidine을 각 well에 100  $\mu$ L씩 넣는다. 15분 뒤에 stop sol-

ution 100  $\mu$ L를 넣은 후 흡광도 측정을 ELISA reader 450 nm에서 하였다.

## 3. 통계분석

모든 실험 결과는 mean $\pm$ standard error of the mean으로 기록하였으며, 통계처리는 GraphPad Prism 5 (version 5.01; GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) 프로그램을 이용하였고, Mann-Whitney test로 유의성을 검증하였다. p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

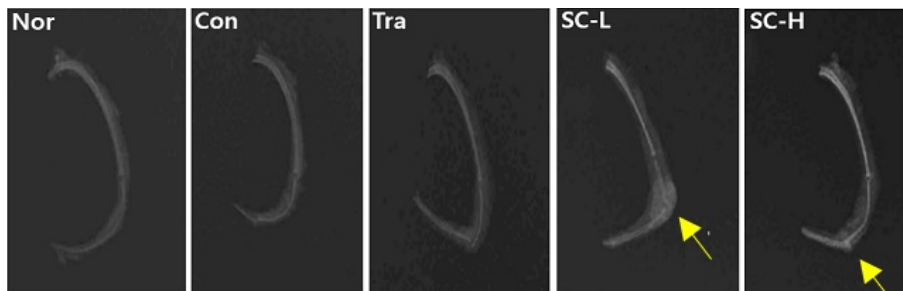
## 결과»»»»

### 1. 골절 부위의 영상학적 분석

#### 1) X-ray

X-ray 관찰 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군을 포함한 모든 그룹에서 늑골의 골절부위가 회복되지 않았음을 관찰할 수 있었고, SC-L과 SC-H에서 callus가 형성된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

골절 유발 후 14일이 지난 실험동물에서도 1주와 마찬가지로 대조군을 포함한 모든 그룹에서 늑골의 골절 부위를 확인할 수 있었고, SC-L과 SC-H에서 골 유합이



**Fig. 1.** X-ray image of rib bone at 7 days after fracture. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The fractured rib bone was isolated and analyzed by X-ray. SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).

**Table II.** Grade of Immunohistochemistry Score

Score	0	1	2	3	4	5
Staining intensity	No staining	Weak	Mild weak	Moderate	Mild strong	Strong

진행되고 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

## 2) Micro-CT

Micro-CT 관찰 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군을 포함한 모든 그룹에서 늑골의 골절부위가 회복되지 않았음을 관찰할 수 있었고, SC-L과 SC-H에서는 골 유합이 진행되고 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

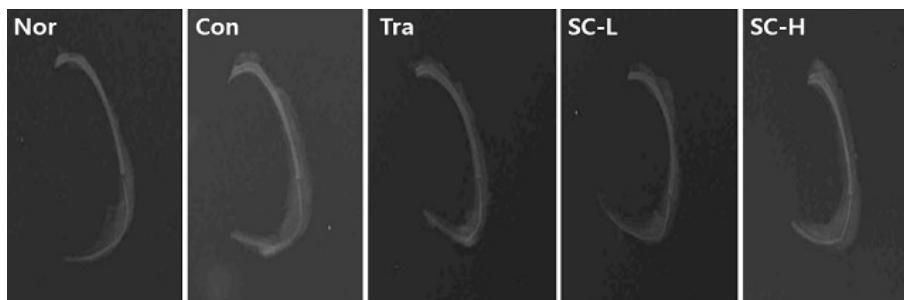
골절 유발 후 14일이 지난 실험동물에서도 1주와 마

찬가지로 대조군을 포함한 모든 그룹에서 늑골의 골절 부위를 확인할 수 있었고, SC-L과 SC-H에서 골 유합이 진행되고 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

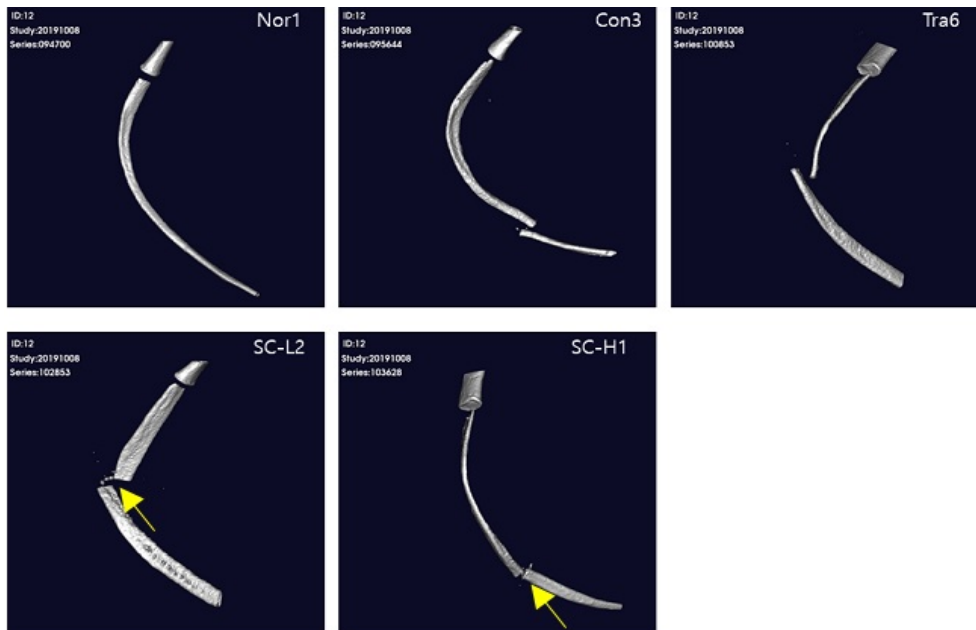
## 2. 골절 조직 슬라이드 분석

### 1) H&E staining

H&E로 염색하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발



**Fig. 2.** X-ray image of rib bone at 14 days after fracture. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The fractured rib bone was isolated and analyzed by X-ray. SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).



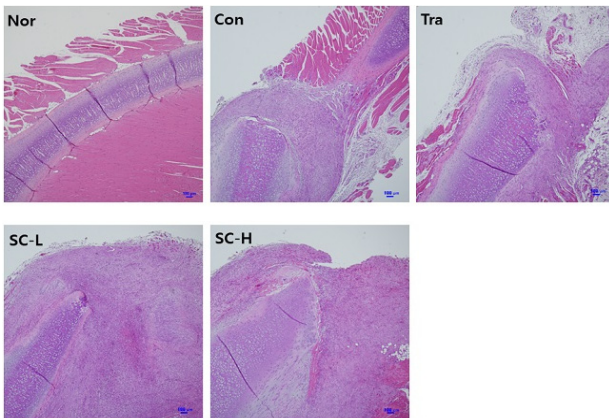
**Fig. 3.** Micro-CT image of rib bone at 7 days after fracture. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The fractured rib bone was isolated and analyzed by Micro-CT. Micro-CT: micro-computed tomography, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).

7일 후에는 대조군 및 양성대조군 그리고 SC-L 및 SC-H에서 모두 골절이 관찰되었고, SC-L과 SC-H의 골절부위에서의 callus 형성이 대조군과 양성대조군에 비해 증가하였다(Fig. 5).

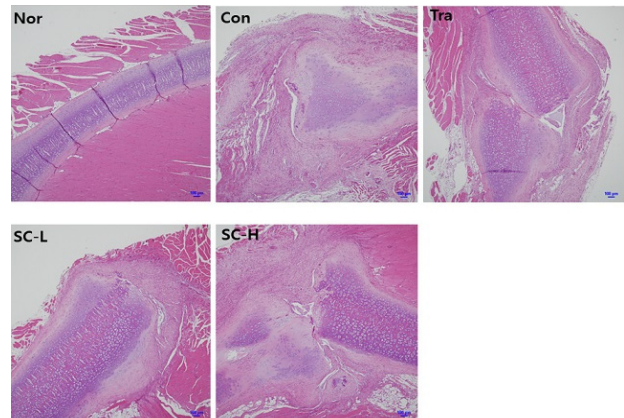
골절 유발 14일 후에는 대조군 및 양성대조군 그리고 SC-L 및 SC-H에서 모두 골절이 관찰되었고, 대조군에 비해 양성대조군 및 SC-L과 SC-H의 골절부위에서의 callus 형성이 감소되는 것이 관찰되었다(Fig. 6).



**Fig. 4.** Micro-CT image of rib bone at 14 days after fracture. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The fractured rib bone was isolated and analyzed by Micro-CT. Micro-CT: micro-computed tomography, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).

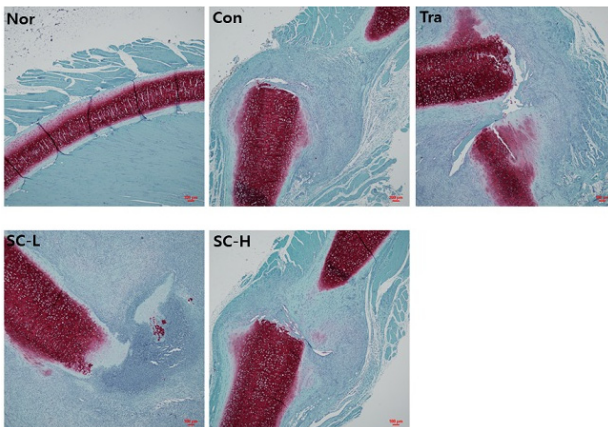


**Fig. 5.** The histological analysis of rib fracture with Hematoxylin and Eosin staining after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. Magnification,  $\times 40$ . SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).



**Fig. 6.** The histological analysis of rib fracture with Hematoxylin and Eosin staining after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. Magnification,  $\times 40$ . SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).





**Fig. 7.** The histological analysis of rib fracture with safranin O staining after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. Magnification,  $\times 40$ . SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).

## 2) Safranin O staining

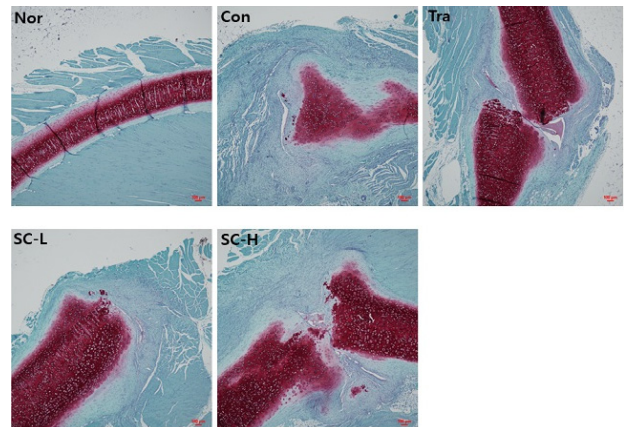
Safranin O로 염색하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군 및 양성대조군 그리고 SC-L 및 SC-H에서 모두 골절이 관찰되었고, SC-L의 골절부위에서의 callus 형성이 대조군에 비해 증가되는 것이 관찰되었지만 양성대조군과 SC-H의 골절부위에서의 callus가 대조군과 비슷하게 형성되는 것이 관찰되었다 (Fig. 7).

골절 유발 14일 후에는 대조군 및 양성대조군 그리고 SC-L 및 SC-H에서 모두 골절이 관찰되었고, 대조군에 비해 양성대조군 및 SC-L과 SC-H의 골절부위에서의 callus 형성이 감소되는 것이 관찰되었다 (Fig. 8).

## 3. IHC 분석

### 1) TGF- $\beta$ 1

TGF- $\beta$ 1에 대한 항체를 결합한 뒤 면역조직염색을 실시하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군( $4.3 \pm 0.50$ )의 병변 부위에서 TGF- $\beta$ 1 발현세포들이 유의하게 증가하였다. 그러나 SC-L ( $1.8 \pm 0.50$ )과 SC-H ( $1.3 \pm 0.50$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대



**Fig. 8.** The histological analysis of rib fracture with safranin O staining after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. Magnification,  $\times 40$ . SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).

조군( $4.3 \pm 0.50$ )에 비해 TGF- $\beta$ 1 발현세포들이 유의하게 감소하였다 (Fig. 9).

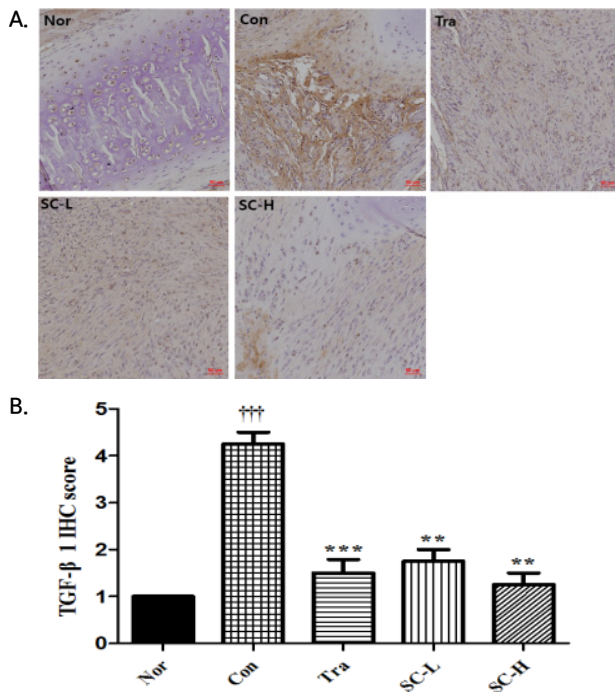
골절 유발 14일 후에는 SC-L ( $1.5 \pm 0.58$ )과 SC-H ( $1.5 \pm 1.00$ )의 골절이 일어난 실험동물의 병변 부위에서 TGF- $\beta$ 1 발현세포들이 증가하였으나 유의하지 않았다. 그러나 대조군( $1.8 \pm 0.50$ )에 비해 SC-L ( $1.5 \pm 0.58$ )과 SC-H ( $1.5 \pm 1.00$ )의 골절부위에서의 TGF- $\beta$ 1 발현세포들이 감소하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 10).

### 2) Ki67 분석

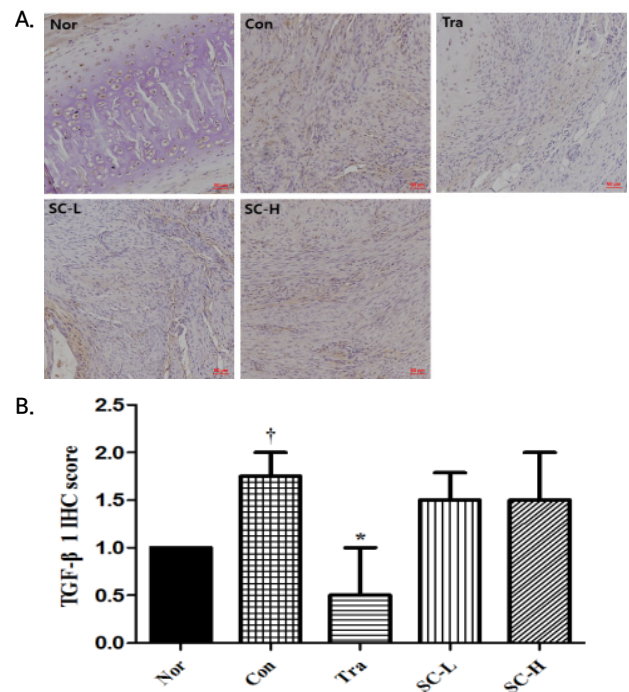
Ki67에 대한 항체를 결합한 뒤 면역조직염색을 실시하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군( $1.0 \pm 0.82$ )의 골절이 일어난 병변 부위에서 Ki67의 발현이 유의하게 감소하였다. 그러나 SC-L ( $2.8 \pm 0.50$ )과 SC-H ( $3.0 \pm 0.82$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $1.0 \pm 0.82$ )에 비해 Ki67 발현세포들이 유의하게 증가하였다 (Fig. 11).

골절 유발 14일 후에는 대조군( $3.8 \pm 0.50$ )의 실험동물의 병변 부위에서 Ki67 발현세포들이 감소하였으나 유의하지 않았다. 또한 SC-L ( $0.5 \pm 0.58$ )과 SC-H ( $1.5 \pm 0.58$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $3.8 \pm 0.50$ )에 비해 Ki67 발현세포들이 유의하게 감소하였다 (Fig. 12).

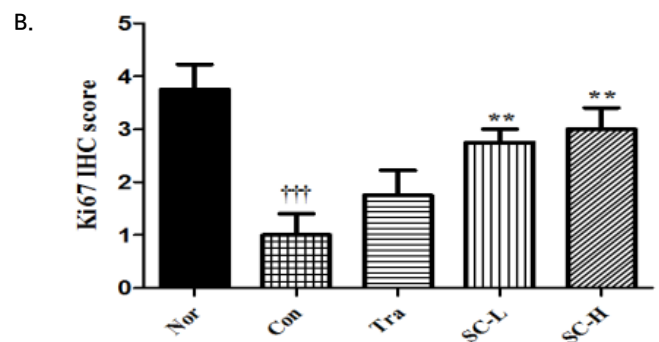
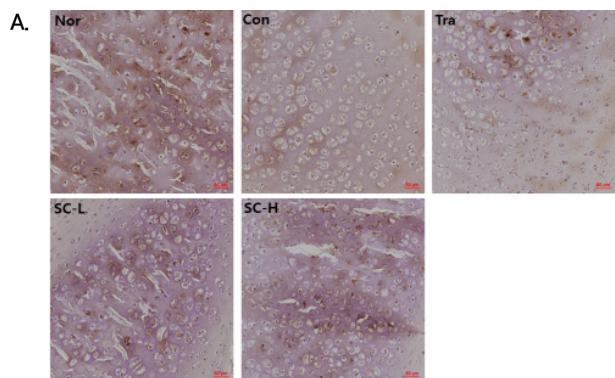




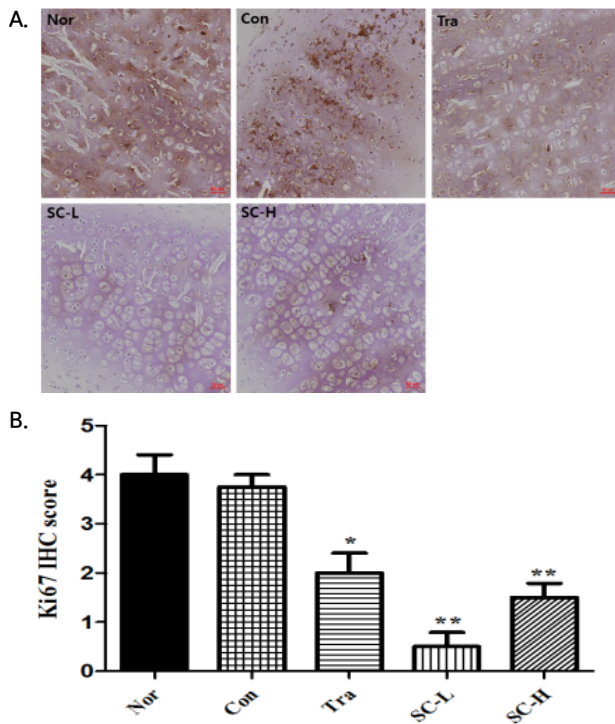
**Fig. 9.** IHC staining with TGF-β1 in rib fracture after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with TGF-β1 antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, TGF-β1: transforming growth factor-β1, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). †††Significantly different from normal ( $p < 0.001$ ), \*\*\*Significantly different from control ( $p < 0.001$ ), \*\*Significantly different from control ( $p < 0.01$ ).



**Fig. 10.** IHC staining with TGF-β1 in rib fracture after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with TGF-β1 antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, TGF-β1: transforming growth factor-β1, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). †Significantly different from normal ( $p < 0.05$ ), \*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 11.** IHC staining with Ki67 in rib fracture after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with Ki67 antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). †††Significantly different from normal ( $p < 0.001$ ), \*\*Significantly different from control ( $p < 0.01$ ).

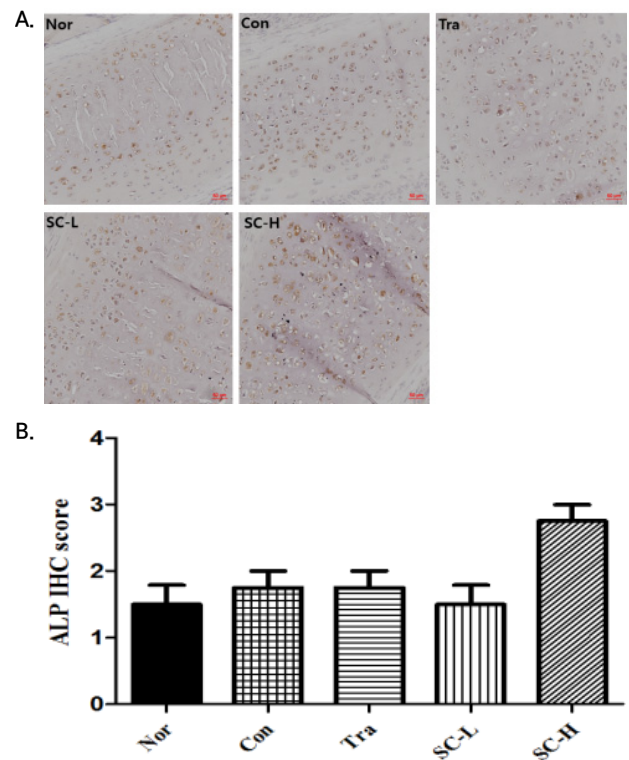


**Fig. 12.** IHC staining with Ki67 in rib fracture after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with Ki67 antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). \*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ), \*\*Significantly different from control ( $p < 0.01$ ).

### 3) ALP 분석

ALP에 대한 항체를 결합한 뒤 면역조직염색을 실시하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군( $1.8 \pm 0.50$ )과 양성대조군( $1.8 \pm 0.50$ ) 및 SC-H ( $2.8 \pm 0.50$ )에서 실험동물의 골절이 일어난 병변 부위에서 ALP의 발현이 증가하였으나 유의하지 않았다. 또한 SC-H ( $2.8 \pm 0.50$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $1.8 \pm 0.50$ )에 비해 ALP발현세포들이 증가하였으나 유의하지 않았고, SC-L ( $1.5 \pm 0.58$ )에서는 대조군( $1.8 \pm 0.50$ )에 비해 ALP 발현세포들이 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 13).

골절 유발 14일 후에는 대조군( $0.8 \pm 0.50$ )은 유의하게 감소하였고, 양성대조군( $1.5 \pm 0.58$ )에서 골절이 일어난 실험동물의 병변 부위에서 큰 변화가 거의 없었다. 그

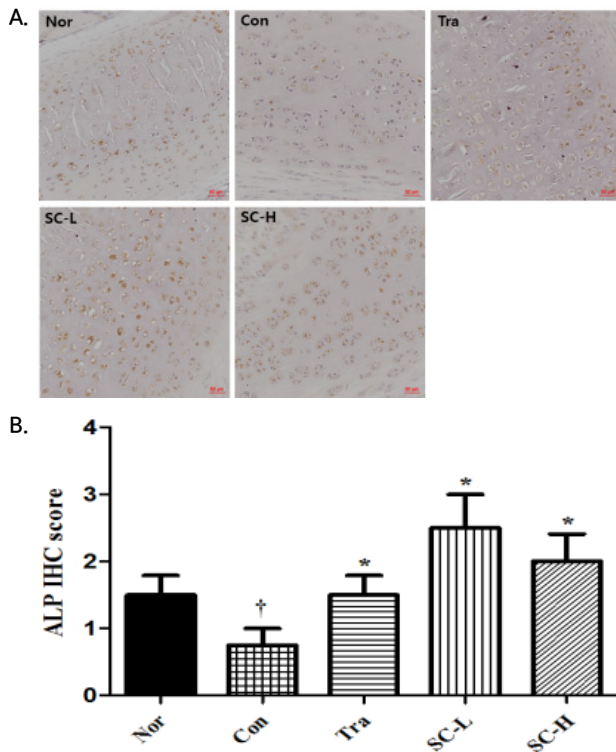


**Fig. 13.** IHC staining with ALP in rib fracture after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with ALP antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, ALP: alkaline phosphatase, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).

러나 SC-L ( $2.5 \pm 1.00$ )과 SC-H ( $2.0 \pm 0.82$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $0.8 \pm 0.50$ )에 비해 ALP 발현이 유의하게 증가하였다(Fig. 14).

### 4) RANK 분석

RANK에 대한 항체를 결합한 뒤 면역조직염색을 실시하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군( $2.5 \pm 1.29$ )의 골절이 일어난 병변 부위에서 RANK의 발현이 유의하게 증가하였다. SC-L ( $2.8 \pm 1.26$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $2.5 \pm 1.29$ )에 비해 RANK의 발현이 증가하였으나 유의하지 않았고, SC-H ( $2.3 \pm 1.26$ )에서 대조군( $2.5 \pm 1.29$ )에 비해 RANK의 발현이 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 15).

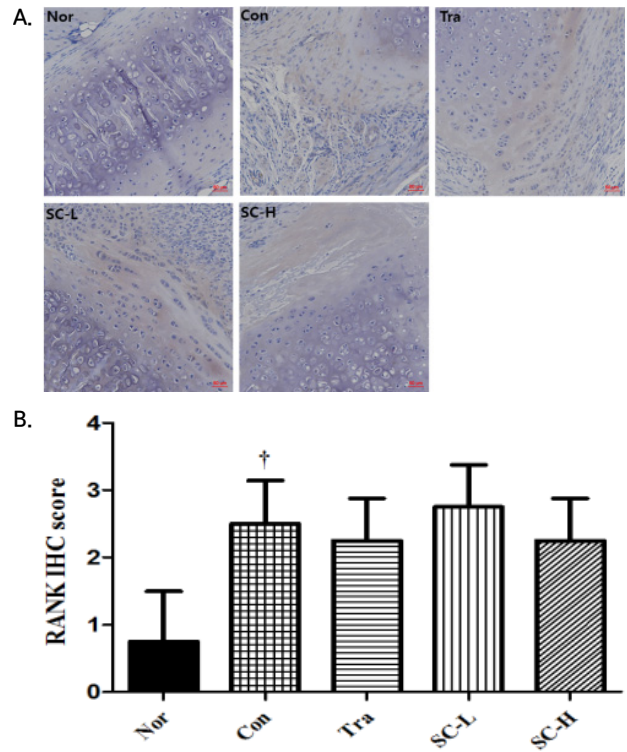


**Fig. 14.** IHC staining with ALP in rib fracture after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with ALP antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, ALP: alkaline phosphatase, SC: *Sintongchukea-tang*. Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). †Significantly different from normal ( $p < 0.05$ ), \*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

골절 유발 14일 후에는 양성대조군( $1.3 \pm 0.96$ )과 실험군의 골절이 일어난 실험동물의 병변 부위에서 RANK의 발현이 증가하였으나 유의하지 않았다. 또한, SC-L ( $1.0 \pm 0.82$ )에서는 대조군( $1.8 \pm 1.26$ )에 비해 RANK의 발현이 감소하였으나 유의하지 않았고, SC-H ( $2.0 \pm 0.82$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $1.8 \pm 1.26$ )에 비해 RANK의 발현이 증가하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 16).

##### 5) Runx2 분석

Runx2에 대한 항체를 결합한 뒤 면역조직염색을 실시하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발 7일 후에는

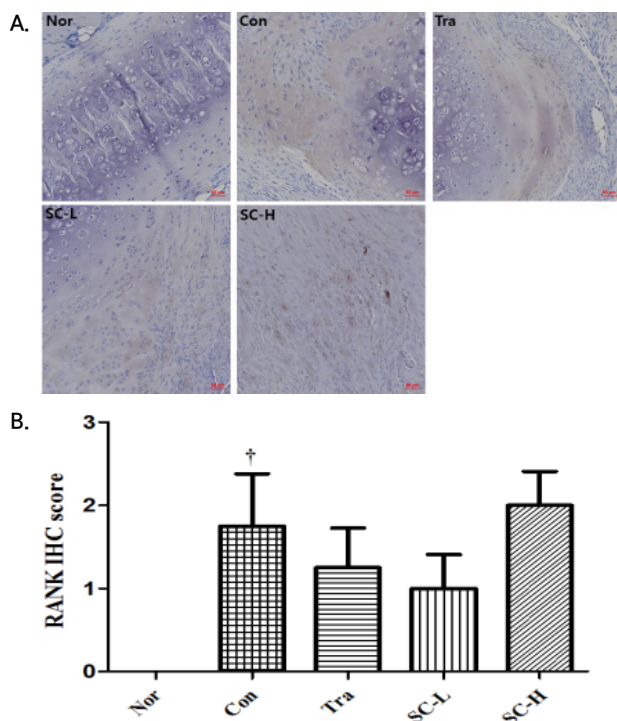


**Fig. 15.** IHC staining with RANK in rib fracture after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with RANK antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, RANK: receptor activator of nuclear factor kappa- $\beta$ , SC: *Sintongchukea-tang*. Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). †Significantly different from normal ( $p < 0.05$ ).

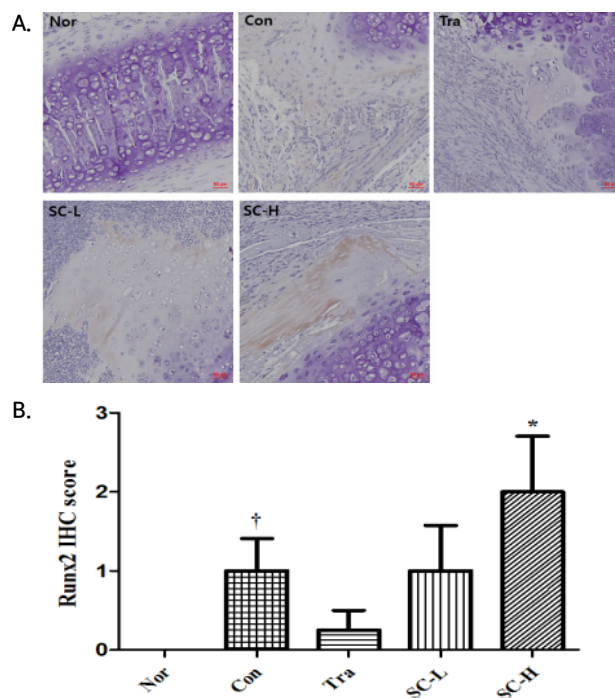
대조군( $1.0 \pm 0.82$ )의 골절이 일어난 병변 부위에서 Runx2의 발현이 유의하게 증가하였다. SC-H ( $2.0 \pm 1.41$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $1.0 \pm 0.82$ )에 비해 Runx2 발현이 유의하게 증가하였다 (Fig. 17).

골절 유발 14일 후에는 양성대조군( $0.5 \pm 0.58$ ) 및 실험군을 포함하여 골절이 일어난 실험동물의 병변 부위에서 Runx2의 발현이 증가하였으나 유의하지 않았다. 그러나, SC-L ( $1.0 \pm 0.82$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $1.3 \pm 0.50$ )에 비해 Runx2의 발현이 감소하였으나 유의하지 않았고, SC-H ( $1.5 \pm 0.58$ )에서는 대조군( $1.3 \pm 0.50$ )에 비해 Runx2의 발현이 증가하였으나 유의하지 않았다 (Fig. 18).

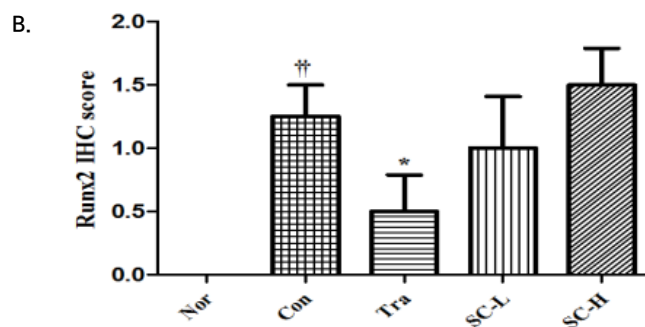
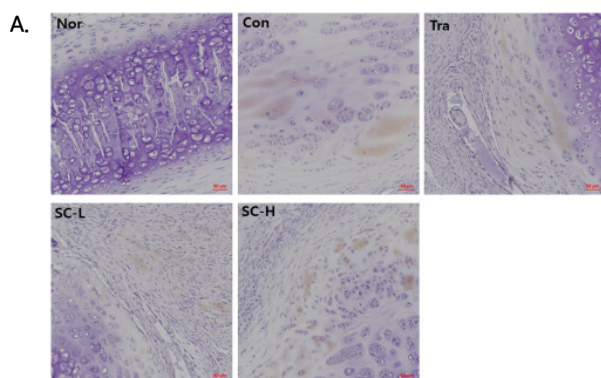




**Fig. 16.** IHC staining with RANK in rib fracture after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with RANK antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, RANK: receptor activator of nuclear factor kappa- $\beta$ , SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). <sup>†</sup>Significantly different from normal ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 17.** IHC staining with Runx2 in rib fracture after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with Runx2 antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, Runx2: runt-related transcription factor 2, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). <sup>†</sup>Significantly different from normal ( $p < 0.05$ ), <sup>\*</sup>Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 18.** IHC staining with Runx2 in rib fracture after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with Runx2 antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, Runx2: runt-related transcription factor 2, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). <sup>††</sup>Significantly different from normal ( $p < 0.01$ ), <sup>\*</sup>Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

## 6) TRAP 분석

TRAP에 대한 항체를 결합한 뒤 면역조직염색을 실시하고 현미경으로 관찰한 결과 골절 유발 7일 후에는 대조군( $2.3 \pm 0.50$ )의 골절이 일어난 병변 부위에서 TRAP의 발현이 유의하게 증가하였다. 그러나 SC-L ( $1.3 \pm 0.50$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $2.3 \pm 0.50$ )에 비해 TRAP 발현세포들이 유의하게 감소하였고 SC-H ( $1.8 \pm 1.96$ )에서는 대조군( $2.3 \pm 0.50$ )에 비해 TRAP 발현세포들이 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 19).

골절 유발 14일 후에는 양성대조군( $2.0 \pm 0.82$ )의 골절이 일어난 실험동물의 병변 부위에서 대조군( $0.3 \pm 0.50$ )

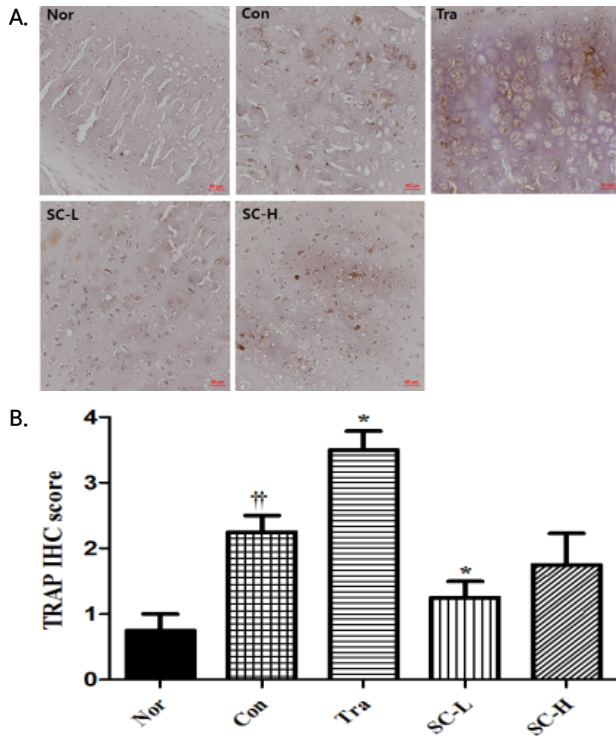
에 비해 TRAP 발현세포들이 유의하게 증가하였다. 또한, SC-L ( $3.8 \pm 0.50$ )과 SC-H ( $2.0 \pm 0.82$ )에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군( $0.3 \pm 0.50$ )에 비해 TRAP 발현세포들이 유의하게 증가하였다(Fig. 20).

## 3. 안전성 검사

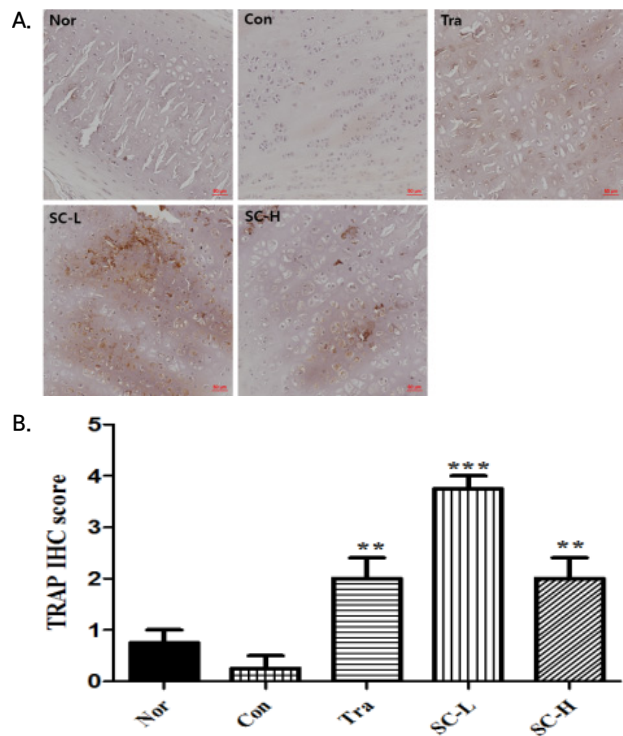
### 1) 간독성 평가

#### (1) ALP

골절 유발 7일 후 ALP 수치는 정상군에서  $320.3 \pm 31.73$ 이었을 때 대조군은  $267.2 \pm 24.0$ 으로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $229.5 \pm 20.66$ 으



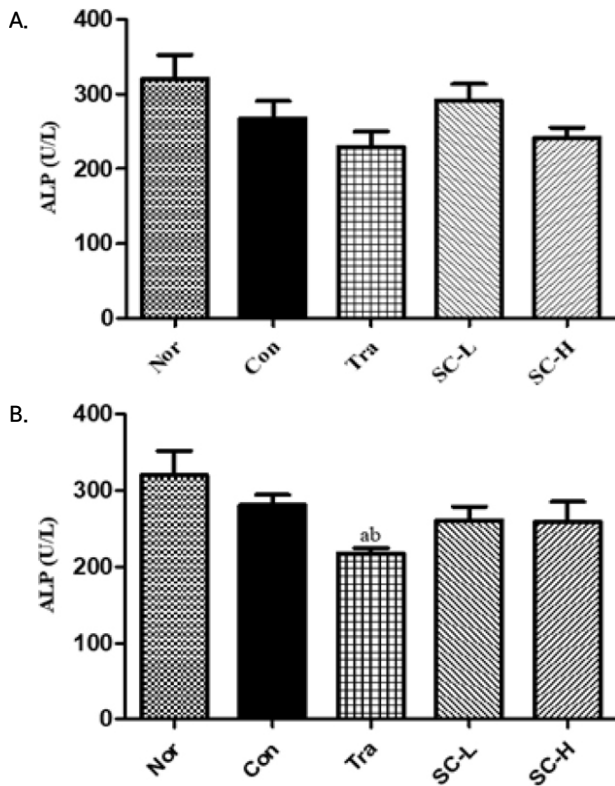
**Fig. 19.** IHC staining with TRAP in rib fracture after 7 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with TRAP antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, TRAP: tartrate resistant acid phosphatase, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).  $\dagger\dagger$ Significantly different from normal ( $p < 0.01$ ), \*Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 20.** IHC staining with TRAP in rib fracture after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The damaged rats ribs were isolated and used for tissue slide specimen. The sliced bone tissue were incubated with TRAP antibody and subjected to IHC. Magnification,  $\times 200$ . IHC: immunohistochemistry, TRAP: tartrate resistant acid phosphatase, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). \*\*Significantly different from control ( $p < 0.01$ ), \*\*\*Significantly different from control ( $p < 0.001$ ).

로 정상군과 대조군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. SC-L은  $291.6 \pm 21.97$ 로 정상군에 비해서는 감소하였지만 대조군에 비해서는 증가하였으나 유의하지 않았다. SC-H는  $241.6 \pm 13.97$ 로 정상군과 대조군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 21A).

골절 유발 14일 후 ALP 수치는 정상군에서  $320.3 \pm 31.73$ 이었을 때 대조군은  $281.2 \pm 13.33$ 으로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $217.8 \pm 7.13$ 으로 정상군과 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, SC-L과 SC-H는 각각  $261.0 \pm 17.74$ ,  $259.2 \pm 26.17$ 로 정상군과 대조군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 21B).

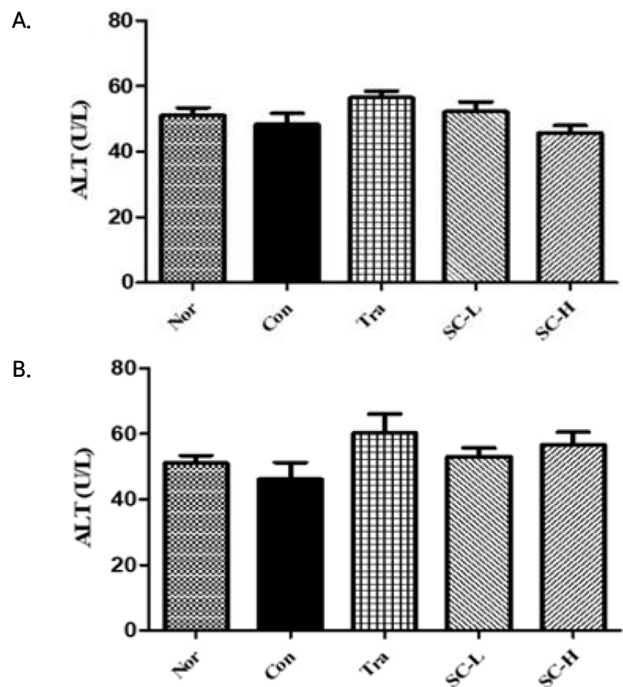


**Fig. 21.** ALP in serum of rib fracture model of rats after 7 days (A) and 14 days (B). Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days and 14 days. The result were presented by the mean $\pm$ standard error of the mean. ALP: alkaline phosphatase, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). <sup>a</sup>Significantly different from Normal ( $p < 0.05$ ), <sup>b</sup>Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

## (2) ALT

골절 유발 7일 후 ALT 수치는 정상군에서  $51.13 \pm 2.31$ 이었을 때 대조군은  $48.30 \pm 3.39$ 로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $56.47 \pm 2.0$ 으로 정상군과 대조군에 비해 증가하였지만 유의하지 않았다. SC-L은  $52.20 \pm 2.97$ 로 정상군과 대조군에 비해 증가하였으나 유의하지 않았고, SC-H에서는  $45.72 \pm 2.26$ 으로 정상군과 대조군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 22A).

골절 유발 14일 후 ALT 수치는 정상군에서  $51.13 \pm 2.31$ 이었을 때 대조군은  $46.26 \pm 5.01$ 로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $60.20 \pm 5.83$ 으로 정상군과 대조군에 비해 증가하였으나 유의하지 않았고, SC-L과 SC-H 또한 각각  $53.12 \pm 2.61$ ,  $56.62 \pm 3.93$ 으로 정상군과 대조군에 비해 증가하였으나 유의하지 않았다(Fig. 22B).



**Fig. 22.** ALT in serum of rib fracture model of rats after 7 days (A) and 14 days (B). Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days and 14 days. The result were presented by the mean $\pm$ standard error of the mean. ALT: alanine aminotransferase, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).



### (3) AST

골절 유발 7일 후 AST 수치는 정상군에서  $73.83 \pm 7.21$ 이었을 때 대조군은  $71.72 \pm 5.74$ 로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $117.3 \pm 12.70$ 으로 정상군과 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. SC-L과 SC-H에서는 각각  $119.9 \pm 21.39$ 와  $84.72 \pm 5.07$ 로 정상군과 대조군에 비해 증가하였으나 유의하지는 않았다(Fig. 23A).

골절 유발 14일 후 AST 수치는 정상군에서  $73.83 \pm 7.21$ 이었을 때 대조군은  $81.72 \pm 13.11$ 로 정상군에 비해 증가하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $98.00 \pm 11.63$ 으로 정상군과 대조군에 비해 증가하였으나 유의하지 않았고, SC-L과 SC-H 또한 각각  $82.60 \pm 4.68$ ,  $84.28 \pm 5.38$

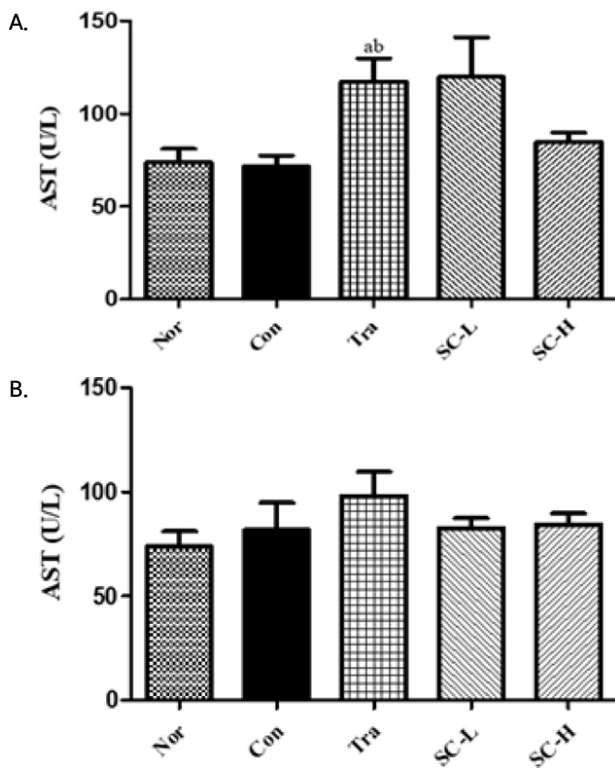
로 정상군과 대조군에 비해 증가하였으나 유의하지 않았다(Fig. 23B).

## 2) 신독성 평가

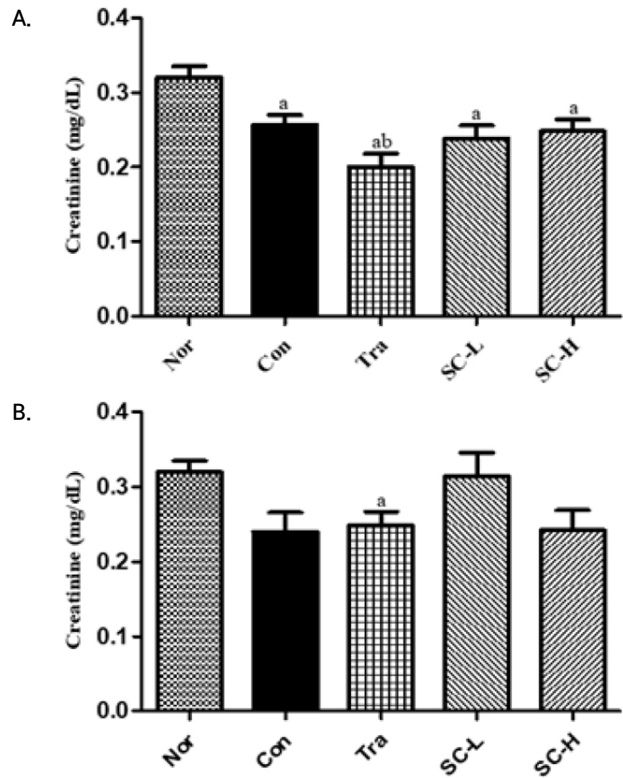
### (1) Creatinine

골절 유발 7일 후 creatinine 수치는 정상군에서  $0.32 \pm 0.02$ 이었을 때 대조군은  $0.26 \pm 0.01$ 로 정상군에 비해 유의적으로 감소하였다. 양성대조군은  $0.20 \pm 0.02$ 로 정상군과 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, SC-L과 SC-H는 각각  $0.24 \pm 0.18$ ,  $0.25 \pm 0.02$ 로 정상군 및 대조군 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 24A).

골절 유발 14일 후 creatinine 수치는 정상군에서  $0.32 \pm 0.02$ 이었을 때 대조군은  $0.24 \pm 0.03$ 으로 정상군에 비해 감소



**Fig. 23.** AST in serum of rib fracture model of rats after 7 days (A) and 14 days (B). Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days and 14 days. The result were presented by the mean±standard error of the mean. AST: aspartate aminotransferase, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). <sup>a</sup>Significantly different from normal ( $p < 0.05$ ), <sup>b</sup>Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 24.** Creatinine in serum of rib fracture model of rats after 7 days (A) and 14 days (B). Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days and 14 days. The result were presented by the mean±standard error of the mean. SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). <sup>a</sup>Significantly different from Normal ( $p < 0.05$ ), <sup>b</sup>Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).

하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $0.25 \pm 0.02$ 로 정상군에 비해 유의적으로 감소하였다. SC-L은  $0.31 \pm 0.03$ 으로 정상군에 비해서는 감소하였지만 유의하지 않았고, 대조군에 비해서는 증가하였으나 유의하지 않았다. SC-H는  $0.24 \pm 0.03$ 으로 대조군과 거의 비슷하였으나 유의하지 않았다(Fig. 24B).

## (2) BUN

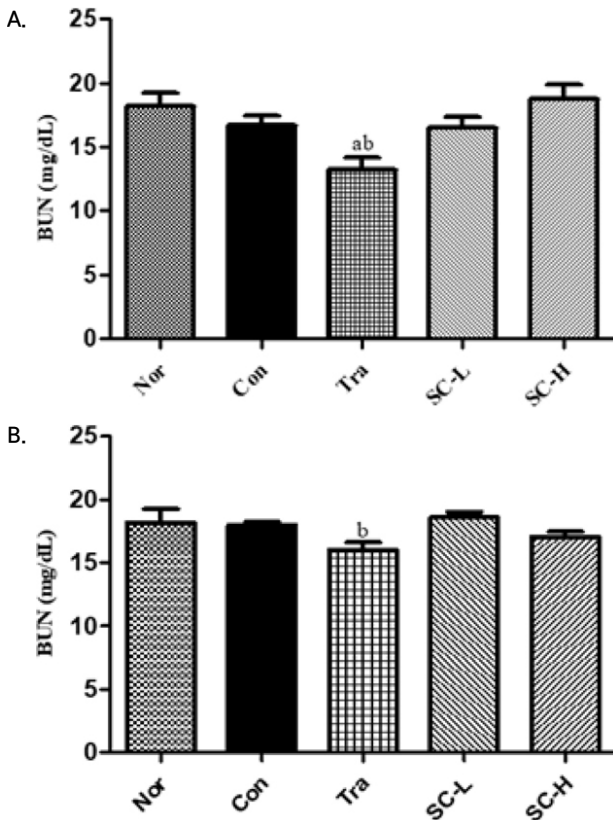
골절 유발 7일 후 BUN 수치는 정상군에서  $18.20 \pm 1.06$ 이었을 때 대조군은  $16.68 \pm 0.76$ 으로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $13.27 \pm 0.90$ 으로 정상군과 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으

며, SC-L은  $16.52 \pm 0.87$ 로 대조군과 비슷하였으나 유의하지 않았고, SC-H는  $18.80 \pm 1.04$ 로 정상군의 값과 거의 비슷하였으나 유의하지 않았다(Fig. 25A).

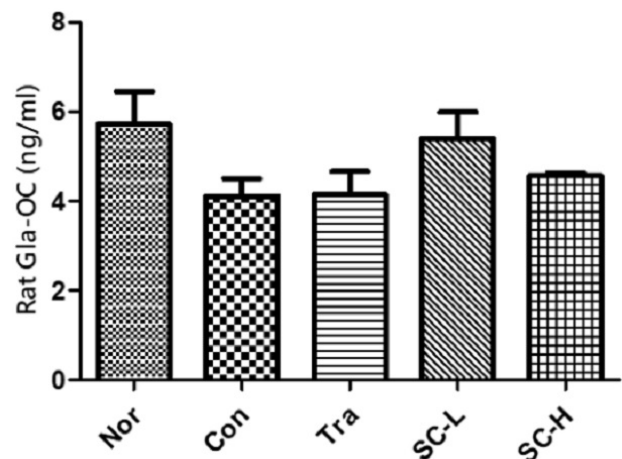
골절 유발 14일 후 BUN 수치는 정상군에서  $18.20 \pm 1.06$ 이었을 때 대조군은  $17.98 \pm 0.26$ 으로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군은  $16.03 \pm 0.57$ 로 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며, SC-L은  $18.60 \pm 0.41$ 로 정상군과 대조군에 비해 증가하였으나 유의하지 않았고, SC-H는  $17.08 \pm 0.38$ 로 대조군과 변화가 없었으나 유의하지 않았다(Fig. 25B).

## 4. Osteocalcin 분석

*Osteocalcin* 수치는 정상군에서  $5.71 \pm 0.74$ 이었을 때 대조군은  $4.11 \pm 0.40$ 으로 정상군에 비해 감소하였으나 유의하지 않았다. 양성대조군 또한  $4.146 \pm 0.51$ 로 대조군과 비슷한 값을 나타내었으나 유의하지 않았다. SC-L과 SC-H는 각각  $5.410 \pm 0.59$ 와  $4.57 \pm 0.07$ 로 대조군에 비해서는 증가하였으나 유의하지 않았다(Fig. 26).



**Fig. 25.** BUN in serum of rib fracture model of rats after 7 days (A) and 14 days (B). Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 7 days and 14 days. The result were presented by the mean±standard error of the mean. BUN: blood urea nitrogen, SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day). <sup>a</sup>Significantly different from normal ( $p < 0.05$ ), <sup>b</sup>Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 26.** Osteocalcin in serum of rib fracture model of rats after 14 days. Sprague Dawley rats were subjected to rib fracture and orally administered with SC (50 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for 14 days. The result were presented by the mean±standard error of the mean. SC: *Sintongchukea-tang*, Nor: normal, no fracture, Con: control, rib fracture with vehicle, Tra: rib fracture with tramadol (20 mg/kg/day), SC-L: rib fracture with SC (50 mg/kg/day), SC-H: rib fracture with SC (100 mg/kg/day).

## 고찰»»»

늑골 골절은 흉부 외상 환자에서 비교적 흔하게 발생하고 심한 통증을 일으킬 수 있기 때문에 적극적인 치료가 필요한 질환이다<sup>20)</sup>. 늑골 골절은 흉부 외상에서 7~40% 정도를 차지하며 직접적, 접촉적인 외상에 의해 발생하며 드물게는 감염, 암, 지속되는 기침에 의해 나타나기도 한다<sup>21)</sup>. 그러나 일반 X-ray 촬영 검사에서 모든 늑골 골절을 진단할 수 없기 때문에 실제 발생 빈도는 훨씬 높을 것으로 생각된다<sup>22)</sup>.

늑골 골절의 증상으로는 골절 부위로 나타나는 심한 통증과 호흡 및 동작 시 악화되는 통증을 들 수 있으며, 염발음을 동반하거나 늑골 사이의 근육, 인대의 파열과 염좌를 동반하기도 한다. 늑간신경까지 손상이 가해질 경우 지속적인 통증을 호소하기도 하고 늑간신경 압박으로 견갑골 주변에서부터 앞가슴까지 통증이 느껴진다. 늑골 골절의 호발 부위는 4~9번 늑골이며, 9~12번 늑골 골절은 복부 장기 손상을 유발할 수 있기 때문에 이에 대한 치료가 반드시 필요하다<sup>22)</sup>. 늑골골절을 포함한 모든 골절 치료의 궁극적인 목표는 골유합을 유도하여 통증을 완화시키고 기능을 회복시켜 본래의 생활로 복귀시키는 것이다<sup>1)</sup>.

골절 발생 초기에는 혈종과 조직 결손부는 육아조직으로 바뀌고 결합조직이 증식한다. 그 부위에서 조골세포가 증식하여 가골(callus)이라는 뼈의 기질을 만들고 골절이 발생한 뼈의 양 끝을 일시적으로 결합시킨다. 조골세포가 증식하여 만든 기질인 유골(osteoid)에 칼슘이 침착하면 초기골(woven bone)이 된다<sup>23)</sup>. 일반적으로 골절부위는 과잉의 가골을 형성하면 파골세포(osteoclast), 조골세포가 관여하여 자가 교정을 일으켜서 뼈가 재형성되고 점차 원래의 형태를 갖추게 된다<sup>24)</sup>. 골절의 치유는 이처럼 일련의 생리적 과정을 거쳐 비정상적으로 끊어진 상태에서 시작해 뼈의 연속성이 회복되어 골격 본래의 부하를 견딜 수 있는 강도를 되찾기까지의 과정으로 일반적인 상처치유과정을 포함한 매우 복잡한 과정이다<sup>25)</sup>. 그렇기 때문에 골절을 치료할 때는 국소적인 면뿐만 아니라 전체적인 면을 중시해야 하며 외상과 내상을 고려하고, 고정과 활동이 결합되어야 하며 골절의 치유와 동시에 기능 회복에 신경써야 한다<sup>26)</sup>.

한의학에서는 《外臺祕要》<sup>8)</sup>에서 처음으로 현대적

의미의 골절에 대해 언급되었고, 《醫宗金鑑》<sup>27)</sup>에서는 ‘此膏治跌打損傷, 筋斷骨折, 腫硬青紫’로 외상으로 힘줄이 끊어지고 골절이 되면 손상 부위가 붓고 청자색이 되는데 이는 膏藥으로 치료한다 하였고, 《傷科補要》<sup>28)</sup>에서는 ‘或有从高倒墜, 天柱骨折, 致頸插入腔內’로 높은 곳에서 떨어져 경추가 골절되면 목이 흉강내로 함입된다 하여 골절의 원인, 증상, 손상 형태, 치료에 대한 구체적 언급이 있었고, 이후 《聖濟總錄》에서 골절의 시기별 약물요법에 대해 자세히 기록하고 있다<sup>10)</sup>.

골절의 한의학적 치료는 초기에 攻下逐瘀, 行氣消瘀, 清熱涼血하며 중기에 和營生新, 接骨續筋, 舒筋活絡하고 후기에 補氣養血, 調理脾胃, 補益肝腎하는 치법을 활용하며, 여기에 瘀血이라는 병적 개념을 도입하여 치료한다<sup>5)</sup>. 골절이 발생하면 뼈와 연부조직, 주위의 혈관 및 신경 등이 손상되고, 이어서 기혈의 운행이 통하지 못하게 되어 국소에 血流가 壅結되면서 腫痛을 일으키기 때문에 골절 이전에 瘀血이라는 병적 개념의 치료는 중요하다.

身痛逐瘀湯은 清代 王青任의 《醫林改錯》<sup>11)</sup>에 수록되어 있으며 桃仁, 紅花, 川芎, 牛膝, 當歸, 沒藥, 五靈脂, 地龍, 羌活, 秦艽, 香附子, 甘草로 구성되어 있다. 活絡化瘀, 通絡止痛, 祛風濕하는 효능으로 瘀血을 동반한 근육의 疼痛, 拘攣, 運動障礙, 關節의 變形, 浮腫, 屈伸시 통증이 발생하는데 사용되어 왔으며 현대에 이르러서는 타박, 류마티스 관절염 및 좌골신경통 등에 사용되고 있다<sup>29)</sup>.

身痛逐瘀湯에 관한 연구로 국소부위 통증의 鎮痛, 消炎, 解熱作用에 관한 研究 및 抗血栓效果<sup>15)</sup>, 損傷된 骨芽細胞의 미치는 效果<sup>18)</sup>, 骨多孔症에 미치는 效果<sup>19)</sup> 등이 보고되었지만 身痛逐瘀湯의 골절 유합 개선에 대한 연구는 없었다.

본 연구는 한의학적으로 瘀血이 골절유합의 生理病理과 밀접한 관련이 있으며 임상적으로 活血祛瘀, 消腫止痛하는 身痛逐瘀湯의 작용이 골절 치유에 적합하리라는 가설을 세워 진행하였다. 이를 평가하기 위해 rat에 늑골 골절을 유발시킨 뒤 2주 동안 SC를 투여하여 rat의 골절치유에 미치는 영향을 알아보았다.

身痛逐瘀湯의 투여용량에 대한 기준은 다음과 같다. 2첩 분량의 한약에서 40 g의 건조분말을 얻었고, 이는 성인 60 kg을 기준으로 했을 때 1일 투여량이 670 mg/kg이 된다. 체표면적을 기준으로 환산지수<sup>30)</sup>를 활용하면

108 mg/kg으로 대략 100 mg/kg이 인체투여용량을 환산한 rat의 1일 투여 용량이 된다. 이에 대한 1/2의 용량을 저농도 투여 용량으로 결정하였다.

양성대조군으로 선정한 tramadol은 기본적으로 여러 질환에 쓰이며 근골격계 질환이나 골 관련 질환에서도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 양성대조군에 tramadol을 투여하여 경과를 관찰하기로 하였다.

X-ray와 Micro-CT에서 상 골절 유발 7일 후 SC-L과 SC-H에서 callus가 형성된 것을 확인할 수 있었다. 14일이 지난 실험동물에서도 1주와 마찬가지로 대조군을 포함한 모든 그룹에서 늑골의 골절부위를 확인할 수 있었고, SC-L과 SC-H에서 골 유합이 진행되고 있는 것을 관찰할 수 있었다. SC가 가골 형성에 영향을 미치고 이는 골재생에 긍정적인 효과가 있다고 생각한다.

골절조직을 분석하기 위해 슬라이드로 만든 뒤 H&E로 염색하고 현미경으로 관찰하였다. 골절 후 7일 경과 시에 골절부 주위에 많은 양의 가골이 관찰되었으며, 시간의 경과에 따라 가골의 양이 감소함을 알 수 있었다. 이는 가골의 골화에 따라 해면골로 전화되어 가는 것을 나타낸다고 생각한다.

TGF- $\beta$ 1은 골유합 과정 중 연골세포와 골아세포에 의해 생성되며 골아세포, 연골세포, 파골세포 등을 조절하는 조절인자로 작용하여 골 및 연골의 분화, 피부 반흔 조직의 생성 등에 관여하며 골절 치유에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>31)</sup>. 골절 유발 7일 후에는 SC-L과 SC-H에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군에 비해 TGF- $\beta$ 1 발현 세포들이 유의하게 감소하였다. 골절 발생 시점부터 7일까지 SC-L과 SC-H에서 TGF- $\beta$ 1의 발현 세포의 최고점이 있을 것으로 생각되며 SC가 골절초기인 염증기 기간을 단축시키는 것으로 생각한다. 추후 골절 발생 7일 전 TGF- $\beta$ 1 발현 세포 측정 연구가 필요할 것으로 보인다.

Ki67은 핵내 비히스톤 단백질로 세포 내에서 조직 증식 때 발현되는 단백질로 여러 종양에 적용되어 세포 증식을 확인하기 위한 표지자로 사용되고 있다<sup>32)</sup>. 골절 유발 7일 후에는 SC-L과 SC-H에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군에 비해 Ki67 발현세포들이 유의하게 증가하였다. 14일 후에 SC-L과 SC-H에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군에 비해 Ki67 발현세포들이 유의하게 감소하였다. Ki67 발현세포가 유의하게 증

가한 7일 동안 대조군에 비해 골유합을 위한 세포증식이 활발하였을 것으로 생각한다.

ALP는 골아세포에서 분비되는 당단백질로 임상에서 흔히 이용되는 골형성 표지자이다<sup>33)</sup>. 골절 유발 후 14일 후에는 SC-L과 SC-H에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군에 비해 ALP 발현이 유의하게 증가하였다. 혈청 중 ALP의 증가는 골의 무기질화를 의미하는데, 이는 골아세포는 다량의 ALP를 합성시키기 때문이다. 따라서 SC는 골의 무기질화를 증가시켜 골유합을 촉진시킨다고 생각된다.

RANK는 성숙파골세포는 물론, 전구파골세포와 순환 단핵세포 및 몇몇 암세포 등의 세포 표면에 발현되며 파골세포의 형성 및 활성화에 직접적으로 관여한다<sup>34)</sup>. 연구에서 SC농도에 따른 RANK의 발현이 상반된 결과가 나왔으나 결과 값이 모두 유의하지 않았다.

Runx2는 중간엽줄기세포가 골모세포로 분화하는데 있어서 필수적인 전사인자로<sup>35)</sup> 골모세포의 표지자 역할을 하는 *type I collagen*, *osteopontin*, *bone sialoprotein*, *osteocalcin* 등 여러 유전자의 전사를 유도한다<sup>36)</sup>. 분화 초기에 발현되고 후기에는 점차 감소한다. 골절 유발 7일 후에는 SC-H에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군에 비해 Runx2 발현이 유의하게 증가하였다. 골절이 발생하면 초기에 골유합이 활발히 진행되는데 골모세포분화를 촉진시키기 때문에 Runx2의 발현이 증가한 것으로 생각된다.

파골세포의 분화과정에서의 표지자로는 TRAP, calcitonin receptor, the vitronectin receptor를 들 수 있으며 최근에는 TRAP가 파골세포의 기능과 골흡수에 대한 표지자로서 많이 이용되고 있다<sup>37)</sup>. TRAP는 골 흡수가 주작용은 아니며 다른 어떠한 작용을 하는지는 아직 분명하게 알려져 있지 않다. 골절 유발 7일 후에는 SC-L에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군에 비해 TRAP 발현세포들이 유의하게 감소하였고, SC-H에서는 대조군에 비해 TRAP 발현세포들이 감소하였으나 유의하지 않았다. 14일 후에는 SC-L과 SC-H에서 실험동물의 골절병변부위에서 대조군에 비해 TRAP 발현세포들이 유의하게 증가하였다. 이는 SC가 골절 초기뿐만 아니라 골 흡수가 많이 필요한 복원기에도 효과를 미친다고 생각된다.

身痛逐瘀湯의 안전성 평가를 위해 골절 유발 7일, 14

일 후에 혈액검사를 통해 ALP, AST, ALT, BUN, creatinine 수치를 관찰하였다.

간기능 검사 중 가장 기본적이고 경제적인 검사는 혈액검사로, 그 중 대표적인 것으로 ALP, AST, ALT 등이 있다<sup>38)</sup>. ALP는 담관 손상의 지표로서 종양, 간염, 간경화 등의 질환일 경우 증가하며<sup>39)</sup> 동시에 골아세포에서 분비되는 당단백질로써 임상에서 많이 이용되는 골형성 표지자이기도 하다<sup>33)</sup>. AST, ALT는 간세포의 염증과 괴사를 나타내는 생화학 지표로 이용되고 있으며<sup>40)</sup>, 간 실질 세포에 장애가 생기면 AST와 ALT는 혈액으로 방출되므로 혈장 AST와 ALT 증가는 간 손상을 의미한다<sup>41)</sup>. SC군의 ALP, AST, ALT 수치가 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 나지 않았으며, 이를 통해 SC가 간 기능에 유의한 독성을 유발하지 않음을 확인하였다.

일반적으로 흔히 사용되는 신기능 검사는 혈장 BUN, creatinine, 사구체 여과율 등이다<sup>42)</sup>. BUN과 creatinine 모두 신기능 저하 시 수치가 증가한다. BUN 수치는 경미한 신손상에는 비교적 민감하지 않으나 중등도 신기능 손상의 경우 좋은 임상적 지표로 사용된다. Creatinine은식이 단백질에 영향을 받는 BUN에 비해 비교적 신기능을 정확하게 반영하는 장점이 있다<sup>43)</sup>. 골절 유발 7일 후 creatinine 수치는 SC-L과 SC-H 모두 정상군 및 대조군 비해 유의적으로 감소하였다. SC군의 혈중 BUN 및 creatinine 수치가 대조군에 비해 유의하게 증가하지 않아 SC가 신독성을 유발하지 않음을 확인하였다.

Osteocalcin은 분화된 조골세포에서 높게 발현되는 것으로 밝혀져 뼈에 관한 연구 시 조직특이적인 골형성 지표로 사용되며, 특히 조골세포의 후기분화를 반영하는 지표로 쓰인다<sup>44)</sup>. 새로 합성된 것의 약 30%가 혈중으로 방출되어 그 값을 측정하면 골형성의 정도를 예측할 수 있다<sup>45)</sup>. 14일 후 osteocalcin 값은 SC-L과 SC-H 모두 대조군에 비해서는 증가하였으나 유의하지 않았다.

이상의 연구 결과를 종합해보면 늑골골절을 유도한 rat에 2주간 SC를 경구 투여한 후 골절부위의 영상관찰 결과 X-ray 및 micro-CT에서 SC군은 대조군에 비해 callus 증가와 빠른 골유합이 진행됨을 알 수 있었고, 골절부의 슬라이드에서 H&E 및 Safranin O staining에서 골절 유발 7일 후 callus가 증가하였고 이는 SC가 골절 초기 골유합에 유효한 효과가 있음을 알 수 있었다. 안전성 평가를 위해 시행한 혈액 검사 결과 간기능 지표

인 AST, ALT, ALP와 신기능 지표인 BUN, creatinine의 결과 값이 모두 SC군과 대조군 서로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 혈액 검사 결과 골형성지표인 SC군의 osteocalcin 수치는 골절 유발 14일 후 대조군에 비해 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다.

이를 통해 SC가 골절 초기인 염증기에 효과적으로 작용하여 그 기간을 줄이고, 골모세포 분화와 연골세포의 발현을 촉진하여 골 형성을 증가시켜 연성 및 경성 가골기를 앞당기는 가능성이 있으며 간, 신독성을 유발하지 않음을 알 수 있었다. SC의 活血祛瘀, 消腫止痛 작용이 골절 초기 瘀血을 효과적으로 제거하여 염증반응을 줄이고, 골유합을 촉진하는 것으로 생각된다. 이는 실험적으로 SC의 안전성과 골절 유합에 대한 영상학 및 조직학적 효과를 규명한 것으로 앞으로 임상적으로 골절 치료에 SC를 더욱 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 하지만 본 연구에서는 골절 후 초기인 2주까지만 follow up이 이루어졌고, 그 이후의 기간에 대해서는 연구가 이루어지지 않았다. 임상적으로 rib fracture의 회복기인 4~6주 까지 연구가 진행되었다면 골절 유합에 미치는 SC의 효과를 더 구체적으로 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

## 결론»»»

身痛逐瘀湯(SC)이 골절 유합에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 늑골골절을 유발한 Sprague Dawley rat을 이용하여 영상의학적 소견, 골절 조직의 관찰, 혈액검사 및 골절유합 관련 유전인자 등을 측정한 결과 다음과 같았다.

1. X-ray와 Micro-CT에서 callus 형성 및 골 유합이 진행되고 있었다.
2. H&E로 염색한 골절조직에서 7일 후 callus 형성이 대조군에 비해 증가하였고, 14일 후 감소하였다. Safranin O로 염색한 골절조직에서 7일 후 SC-L의 callus 형성이 대조군에 비해 증가하였고, 14일 후는 감소하였다.
3. TGF-β1의 값은 7일 후 대조군에 비해 유의하게 감소하였다.
4. Ki67의 값은 7일 후 대조군에 비해 유의하게 증가

하였고, 14일 후 대조군에 비해 유의하게 감소하였다.

5. ALP의 값은 14일 후 대조군에 비해 ALP 발현이 유의하게 증가하였다.
6. Runx2의 값은 7일 후 SC-H가 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.
7. TRAP의 값은 7일 후 SC-L이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 14일 후 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.
8. ALP, AST, ALT, creatinine 및 BUN의 수치가 대조군과 유의한 차이가 나지 않았다.
9. Osteocalcin의 값은 14일 후 대조군에 비해서는 증가하였으나 유의하지 않았다.

이상과 같이 身痛逐瘀湯은 영상학적, 조직학적 분석을 통해 골절 유합에 유의한 효과가 있었음을 확인할 수 있었고, 임상적으로 골절 환자에게 유의한 효과가 있을 것으로 생각된다.

## References>>>>

1. The Korean Orthopaedic Association. Orthopaedics. 7th ed. Seoul:Chosin Medical Publishing Co. 2013:779-831, 1153-75, 1177.
2. Hole JW. Human anatomy and physiology. Dubuque: W.C. Brown Publishers. 1993:170-227.
3. Suh YS, Kim YB, Choi HS, Yoon HK, Seo GW, Lee BI. Postoperative mortality and the associated factors in elderly patients with hip fracture. Journal of the Korean Orthopaedic Association. 2012;47(6):445-51.
4. Shin KM, Jung CY, Hwang MS, Lee SD, Kim KH, Kim KS. Effects of administration of pyritum on fracture healing in mice. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2009;26(5):65-75.
5. The Society of Korean Medicine Rehabilitation. Korean Medicine Rehabilitation. 4th ed. Paju:Koonja Publishing. 2015:206-10.
6. Hadjiargyrou M, McLeod K, Ryaby J, Rubin C. Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound. Clinical Orthopaedics & Related Research. 1998;355:216-29.
7. Goodship AE, Cunningham JL, Kenwright J. Strain rate and timing of stimulation in mechanical modulation of fracture healing. Clin Orthop Relat Res. 1998;355:105-15.
8. Wang D. Medical secrets of an official. Seoul:Seongbo Publishers Co. 1975:749-50.
9. Son SM. Invaluable prescriptions for emergencies. Beijing:The People's Medical Publishing House. 1982:454-5.
10. Jo G. Seongje chongnok. Seoul:Yeo Gang Publishing Company. 1987:460-64.
11. Wang QR, Yilingaicao. Taipei:Tailian Guofeng Publisher. 1975:65.
12. Lee KS, Na YH, Cha YS, Heo Y, Kim DH, Han SH. Effects of Sintongchukeo-tang on the cultured spinal sensory neurons injured by hydrogen peroxide. The Journal of Internal Korean Medicine. 2001;22(4):557-65.
13. Kim DS. Effect of Shintongchugeotang on the intravascular coagulation induced by endotoxin in rats [dissertation]. Seongnam:Kyungwon University; 1988.
14. Son JG. Experimental studies of the Sintongchugeotang and Sintongchugeotanggamibang on the carrageenin-pretreated rats [dissertation]. Seoul:Kyunghee University; 1996.
15. Ryu JY. Study on the anti-inflammatory, analgesic and anti-thrombotic effects of Shintongchugeotang in the experimental animals [dissertation]. Iksan:Wonkwang University; 1996.
16. Lee KH. Study on the effects of Shentongzhuyutang on experimental blood stasis model induced by compression [dissertation]. Seoul:Kyunghee University; 1997.
17. Lee KS. Effects of Sintongchukeotang on the cultured spinal sensory neurons injured by hydrogen peroxide [dissertation]. Iksan:Wonkwang University; 2000.
18. Park JW. Effects of Sintongchukeatang water extract on cultured osteoblast damaged by xanthine oxidase/hypoxanthine(XO/HX) [dissertation]. Iksan:Wonkwang University; 2001.
19. Park JW. Effects of Sintongchukeatang on the ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis [dissertation]. Iksan:Wonkwang University; 2003.
20. Kerr-Valentic MA, Arthur M, Mullins RJ, Pearson TE, Mayberry JC. Rib fracture pain and disability: can we do better? J Trauma. 2003;54:1058-63.
21. Kang JH, Lee SK, Seo MB, Na JY, Jang JH, Kim KY. A clinical study of intercostal neuropathy after rib fracture. The Korean Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2010;43(1):53-7.
22. Kim HY, Kim MY. Management of patients with rib fractures: analysis of the risk factors affecting the outcome. Korean Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2010;43(3):285-91.
23. Song GY, Chi JG, Ham EK. Essential pathology. 1st ed. Seoul:Korea Medical Book Publishing Company. 1998:772.
24. Sung SC, Choi IH, Lee MC, Park SC, Song GY. Expression of osteocalcin and transglutaminase C dur-



- ing fracture healing and distraction osteogenesis in rat's tibia. J Korean Orthop Assoc. 1994;29(5):1312-25.
25. Hulth A. Current concepts of fracture healing. Clin Orthop Relat Res. 1989;(249):265-84.
26. Park JY. Eastern physical therapy Medicine. Seoul: Komoonsa. 1993:325.
27. Oh G. Uijonggeumgam. Seoul:Bupin Publishing Company. 2006:1250.
28. Jeon SC. Sanggwaboyo. Seoul:Iljung Publishing Company. 1992:176.
29. Jung YJ. Review of clinical research about the central post-stroke pain and thalamic syndrome with Korean medicine [dissertation]. Busan:Dong-Eui University; 2018.
30. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. FASEB J. 2008;22(3):659-61.
31. Matsumoto K, Matsunaga S, Imamura T. Expression and distribution of transforming growth factor- $\beta$  and decorin during fracture healing. In Vivo. 1994;8(3):215-20.
32. Scotlandi K, Serra M, Manara MC, Maurici D, Benini S, Nini G, Campanacci M, Baldini N. Clinical relevance of Ki-67 expression in bone tumors. Orthopaedic Research Society. 1995;75(3):806-14.
33. Kim DY. Biochemical markers of bone formation. Korean Journal of Bone Metabolism. 1994;1(1):233-9.
34. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymphnode organogenesis. Nature. 1999;397:315-23.
35. Nobta M, Tsukazaki T, Shibata Y. Critical regulation of bone morphogenetic protein-induced osteoblastic differentiation by Delta1/Jagged1-activated Notch1 signaling. The Journal of Biological Chemistry. 2005;280(16):15842-8.
36. Komori T. Regulation of skeletal development by the Runx family of transcription factors. Journal of Cellular Biochemistry. 2005;95(3):445-53.
37. Roodman GD. Advances in bone biology, the osteoclast. Endocrine Reviews. 1996;17:308-32.
38. Rhee SH, Park JS, Yeo HS, Choi YK, Jun CY, Park CH, Kim DW. Relationship between herb-medicine and liver damage. J Int Korean Med. 2006;27(3):572-8.
39. Sipes IG, McQueen CA, Grandolifi AJ. Comprehensive toxicology. 3rd ed. Didcot:Pergamon. 1997:251-71.
40. Reichling JJ, Kaplan MM. Clinical use of serum enzymes in liver disease. Dig Dis Sci. 1988;33(12):1601-14.
41. Kim HS. Effects of the Saururus chinensis Baill hot-water extract intake on the lipid components and metabolic enzyme activities in hyperlipidemic rats. Kor J Exercise Nutr. 2006;10:99-106.
42. Kwon SK, Son DC, Song WS. A study of effects on renal function from continuous long-term herbal medication. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2004;25(4):300-5.
43. Sisson JA. Handbook of clinical pathology. Philadelphia: J.B. Lippincott Co. 1976:164-205.
44. Price PA. Role of vitamin-K-dependent proteins in bone metabolism. Annual Review of Nutrition. 1988;8:565-83.
45. Price PA, Parthermore JG, Doftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. J Clin Invest. 1980;66(5): 878-83.

