

난소절제 골다공증 모델 흰쥐의 체내 칼슘 이용성 저하에 대한 칼슘 섭취 수준의 효과

오주환 · 이연숙

서울대학교 농업생명과학대학 농가정학과

Effects of Dietary Calcium Levels on the Reduction of Calcium Availability in Ovariectomized Osteoporosis Model Rats

O, Ju Hwan · Lee, Yeon Sook

Department of Home Economics, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University,
Seoul, Korea

ABSTRACT

To investigate the effects of dietary calcium levels on the Ca metabolism in a rat model of ovariectomized osteoporosis, two studies were conducted. In Expt. I, five week-old female rats ovariectomized and fed a low Ca diet(0.06% Ca) for four weeks were compared with rats fed a normal(0.53% Ca) or low Ca diet under the sham-operated condition. Ovariectomized rats showed a significant increase in body weight and food intake. In rats fed the low Ca diet, a remarkable decrease was shown regardless of ovariectomy in serum Ca concentration, breaking force of bones, Ca and phosphorus contents of bones, and apparent absorption and retention of Ca. Furthermore the decrease of Ca contents of serum and bones in rats ovariectomized and fed the low Ca diet was similar to that in rats model of postmenopausal osteoporosis. In Expt. II, rats ovariectomized and fed on the low Ca diet for four weeks were divided into three groups, those given low Ca diet, normal Ca diet and high Ca diet(1.06%) respectively. The results indicated that supplementations of Ca at the intake level of 0.53% and 1.06% for 4 weeks tend to improve the relative Ca deficiency shown in experimental rat model of ovariectomized osteoporosis.

KEY WORDS : ca intake · ovariectomized rat · osteoporosis · breaking force · ca metabolism.

서 론

골다공증은 노령화에 따른 골격대사 이상 또는 뼈 칼슘 대사의 불균형으로 인한 질환 중 가장 전형적인 것으로, 주로 뼈의 화학적 조성은 크게 변하지 않으나 뼈의 골질량(bone mass) 또는 골

밀도(bone density)가 감소하므로써 쉽게 골절을 초래하는 증후군¹⁾을 말한다. 골다공증은 어떤 연령층에서도 발생할 수 있으나, 노년기 특히 폐경기 여성에서 그 발생빈도가 높다. 골다공증의 유발요인은 다요인적(multifactorial)이고 복합적인 것으로 알려져 있다. 즉, 인종, 연령, 성별, 내분비 호르몬,

신체활동 등 유전적, 생리적, 환경적 요인 뿐 아니라 단백질, 미네랄, 비타민, 섬유소 등의 영양적 요인들이 직·간접적으로 또는 상호 복합적으로 관여된다고 보고되어 왔으며^{1,4)}, 이들 요인간의 상대적 중요도에 대해서는 아직 밝혀져 있지 않다.

많은 연구자들이 노령화에 따른 골다공증의 주요 발병요인으로서 식이 칼슘섭취의 부족과 성호르몬 분비의 불균형에 주목하여 폐경후 중년기 여성, 골다공증 환자 및 골다공증 실험모델 동물을 이용하여 칼슘섭취, 체내 칼슘대사 및 관계인자에 대해서 집중적으로 검토하여 왔으며, 일반적으로 골다공증의 예방과 치료에 있어서 충분한 칼슘섭취가 중요함을 보고하여 왔다^{4,6)}. 즉 성인기에 도달하는 최대골질량(peak bone mass)을 높게 유지하고, 노화에 따른 뼈손실 속도를 억제함으로써 골다공증을 예방하며 그 진행을 막을 수 있는 가장 중요한 인자로 지속적이고도 충분한 칼슘섭취를 들고 있다. 실제로 각국에서는 1일 칼슘 섭취 권장량(Recommended Dietary Allowances : RDA)에 대한 전반적인 재검토의 필요성이 제기되어^{7,8)} 왔으며, 미국 NIH³⁾에서는 폐경후 여성에게 현재 제안된 1일 권장량(800mg)보다 훨씬 많은 양(1000~1500mg)의 섭취를 권장하고 있다. 우리나라의 경우, 성인기 이후의 1일 칼슘권장량은 600mg으로 구미제국에 비해 낮은 수치임에도 불구하고, 국민영양조사(1989) 보고서에 따르면 전국 평균 칼슘섭취량은 권장량의 76.2%로서 상당히 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 골다공증 예방과 치료에 대한 칼슘섭취라고 하는 기본 문제에 입각하여, Ezawa등이 개발한 골다공증 실험모델 흰쥐⁵⁾ 즉, 난소절제와 칼슘결핍식이의 급여에 의한 폐경후 골다공증 실험모델 동물을 설정하고, 이 모델을 이용하여 체내 칼슘 이용성과 그에 대한 식이 칼슘의 양적 급여효과를 검토하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

체중 약 110g의 Sprague-Dawley종 암컷 흰쥐(서

울대학교 실험 동물사육장)를 환경 조절된 실험동물 사육실(온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$, 조명 6 : 00Am~6 : 00Pm)에서 stainless-steel wire cage에 한마리씩 분리 사육하였으며, 실험군은 체중에 따라 완전임의 배치하였다. 모든 실험식이와 탈이온수를 자유섭취 방법(ad libitum)으로 급여하였으며, 대사cage와 사육에 사용된 모든 기구는 무기질 오염방지를 위해 0.4% EDTA(ethylene diamine tetraacetic acid)로 씻은 후 탈이온수로 행구어 사용하였다.

실험 I에서는 난소절제와 저칼슘식이의 급여에 의한 폐경후 골다공증 실험모델 흰쥐를 설정하기 위해, 실험군 당 8마리씩 3군으로 나누었다. 그중 1군에게 양쪽 난소를 동물의 등쪽에서 절제하는 수술(Ovariectomy : OVX)을 실시한 후 저칼슘 식이를, 나머지 2군은 같은 수술과정을 거쳤으나 난소는 절제하지 않고(Sham operation : Sham) 각각 저칼슘식이와 정상 칼슘식이를 4주간 자유급여하였다.

실험 II에서는 골다공증 실험동물의 모델에 있어서 식이 칼슘 수준이 칼슘대사에 미치는 영향을 검토하기 위해서, 실험 I에서 설정된 골다공증 실험모델 흰쥐 즉, 난소를 절제한 후 저칼슘 식이를 4주간 급여한 동물을 3군으로 나누어 식이중 칼슘함량을 달리한 3종의 실험식이를 즉, 저칼슘, 정상칼슘 및 고칼슘식으로 각각 4주간 자유급여함으로써 총8주간의 동물사양 실험을 실시하였다.

실험 I과 II에 사용된 식이의 조성은 Table I과 같다.

실험식이의 원료로 정제된 카제인(cascin : 매일 유업), 옥수수 전분(미원식품), 옥수수 기름(동방유량)과 비타민 혼합물(Harper pattern : Oriental 효모 공업)을 사용하였으며, 칼슘과 인을 제외한 미네랄 혼합물(Harper pattern)⁹⁾을 조제하여 사용하였다. 식이중 칼슘급원으로서 소뼈회분(불무원식품)을 사용하였으며, 칼슘함량은 흰쥐의 사양표준(NAS-NRC)¹⁰⁾을 기준으로 하여 세수준으로 조정하였다. 인은 소뼈회분 이외에 KH_2PO_4 를 사용하였으며, 인의 함량을 칼슘함량에 맞추어 칼슘과 인의 함량 비를 약 1.3 : 1로 조정하였다. 저칼슘 식이(Low-Ca)에서는 인의 결핍을 배제하기 위해

최소 필요량 수준을 유지하였다. 즉, 저칼슘식이(는 칼슘 0.06%, 인 0.38%로, 정상칼슘식이(Nor-Ca)는 칼슘 0.53%, 인 0.43% 그리고 고칼슘식이(High-Ca)는 칼슘 1.06%, 인 0.80%를 함유하도록 하였다. 실험기간동안 체중과 식이섭취량은 2일에 한번씩 일정시간에 측정하였다.

2. 시료수집 및 분석방법

1) 시료의 수집

(1) 혈 액

식이섭취 조건을 일정하게 하기위하여 도살하기 전 하룻밤 절식시킨 후, ethyl ether로 마취한 후 경동맥혈을 채취하였다. 채취한 혈액은 냉장고(4℃)에서 하룻밤동안 방치한 후, 3,000rpm에서 20분간 원심분리(Sorvall, GLC-2B)하여 혈청을 얻었으며

분석 전까지 냉동보관 하였다.

(2) 간, 신장 및 뼈조직

혈액 채취후 즉시 간, 신장, 대퇴골(femur) 및 경골(tibia)을 각각 적출하였다. 간과 신장조직은 부착되어 있는 지방이나 근육을 깨끗이 제거한 후 냉장 생리식염수(0.9% NaCl용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음 여과지로 물기를 닦고 무게를 측정하였다. 뼈조직은 부착되어 있는 근육, 지방, 인대 등을 전부 제거한 후 무게와 길이를 측정한 후, 강도(breaking force)를 측정하였다. 모든 시료는 회화 처리 전까지 냉동 보관하였다.

(3) 변, 뇨

변과 뇨는 실험식이 급여기간 중 실험 종료전 4일간 stainless steel metabolic cage에서 수집하였으며, 변은 그대로 뇨는 여과지에 걸른 후 총량을 측정한 후 분석할 때까지 냉동보관하였다.

2) 시료분석

(1) 혈액, 조직, 변 및 뇨중의 Ca과 P함량

혈청은 TCA(trichloroacetic acid)용액으로 제단 백한 후, 1% LaCl₂용액으로 희석하여 원자흡광광도계(Atomic absorption spectrophotometer; Hitachi Z-6000)로 422.7nm에서 칼슘함량을 측정했다. 간, 신장, 대퇴골 및 경골은 105±10℃ 건조기에서 12시간 동안 예비 건조시킨 후, 550~600℃회화로에서 6~8시간 회화하여 얻은 회분을 HCl(1 N) 용액으로 용해한 후, 1% LaCl₂ 용액으로 희석하여 원자흡광광도계로 칼슘 함량을 정량하였다. 뼈의 인함량 측정은 시료의 전처리(는 칼슘과 같고 이온제거수로 희석하여 Fisk-Subbarow Method¹¹⁾(Spectrophotometer; Shimadzu UV-200S)로 정량하였다.

변 중의 칼슘의 함량 측정은 뼈조직과 거의 동일한 방법으로, 뇨의 칼슘은 혈액의 분석과 거의 동일한 방법으로 정량했다.

(2) 뼈의 강도 측정

뼈의 강도(breaking force)는 Instron(Instron Universal Testing Instrument, Model 1000)을 이용하여 길이의 일정 부위 즉, 상부와 하부 두 부위에서 측정했다.

Table 1. Composition of experimental diets(g/kg)

Ingredients	Low-Ca	Nor-Ca	High-Ca
Casein	200	200	200
Starch	662.0	654.2	639.4
Corn oil	50	50	50
Fiber	8	8	8
Cholin Chloride	2	2	2
Vit. Mix. ¹⁾	10	10	10
Min.Mix.	40	40	40
(Ca & P free) ²⁾			
PEG #4000	10	10	10
KH ₂ PO ₄	18	7	15
KCl	-	6	-
Bone ash ³⁾	-	12.8	25.6

1) Vitamin mixture : (IU/g mix.) Vitamin A palmitate, 2500 ; Cholecalciferol, 200 ; (mg/g mix.) Thiamin HNO₃, 1 ; Riboflavin, 1.5 ; Niacin, 10 ; Pyridoxine HCl, 1 ; Folic acid, 0.5 ; Vitamin K₃, 1 ; Vitamin B₁₂, 0.001 ; Ascorbic acid, 33.7 ; Calcium pantothenate, 5 ; Di-1-tocopherol, 1 ; Biotin, 0.4.

2) Calcium and phosphate-free : (g/kg mix.) NaCl, 250.6 ; MgSO₄ · 7H₂O, 99.8 ; Fe-citrate, 6.23 ; CuSO₄ · 5H₂O, 1.56 ; MnSO₄ · 7H₂O, 1.21 ; ZnCl₂, 0.2 ; KI, 0.005 ; (NH₄)₆Mo · 7O₂₄ · 4H₂O, 0.025 ; and sucrose, 640.37

3) Bone ash contained 39.78g calcium and 18.28g phosphorus per 100g powder.

3. 통계처리

실험 I과 실험 II의 결과는 SAS program을 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고, 군간의 차이를 $p < 0.05$ 수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다. 또한 뼈강도와 뼈중 칼슘 함량 및 조회분 함량 사이의 상관관계는 회귀분석(regression analysis)으로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 성장, 식이 섭취량 및 식이효율

난소절제 및 칼슘급여 수준에 따른 체중의 변화와 식이 섭취량은 Table 2와 같다.

실험 I의 경우 난소 절제군(OVX군)의 종로기 체중은 절제하지 않은군(Sham)에 비하여 유의적으로 높은 경향을 보였다($p < 0.05$). OVX군의 이러한 체중 증가는 난소호르몬의 분비감소로 인한 식이섭취량 증가와 체지방 축적 및 체중 증가라는 난소절제 동물의 특성을 나타낸 것으로 해석할¹²⁾¹³⁾ 수 있다.

실험 II에서는 난소절제 후 4주간 저칼슘 식이를 급여하여 만든 골다공증 실험모델 흰쥐(OVX-Low Ca)에게 식이중 칼슘 함량을 달리한 실험식이를

4주동안 계속 급여하였을 경우, Table 2에 나타난 바와 같이 정상칼슘 식이 또는 고칼슘식이의 섭취에 의해서 체중이 현저하게 증가되었으며, 이들 두 군간에는 차이가 없었다. 그러나 지속적인 저칼슘 식이 섭취에 의해서는 체중이 유의적으로 감소하였는데, 이것은 난소절제 동물에서 나타나는 식욕 촉진이나 체중증가가 주로 발육기에 현저했다는 실험 결과¹²⁾와 성장에 대한 저칼슘식이의 저해 효과가 장기간의 급여에 의해서 나타남을 반영한 것으로 본다.

2. 혈청 및 조직의 칼슘농도

난소절제 및 칼슘 급여수준에 따른 혈청, 간 및 신장조직의 칼슘함량은 Table 3에 제시하였다.

실험 I에서는 정상 칼슘을 급여한 군에서는 정상수준을 나타냈으나, 저칼슘 식이를 4주간 급여한 군에서는 난소절제 수술 여부에 관계없이 혈중 칼슘농도가 유의적으로 감소함을 볼 수 있었다($p < 0.05$). 또 실험 II에서는 혈중 칼슘수준이 유의적으로 감소한 OVX-Low Ca군에게 고칼슘 또는 정상 칼슘식이를 4주간 급여했을 경우, 혈중 칼슘수준은 정상수준으로 회복되었다. 한편 저칼슘식이를 4주간 더 계속 급여했을 때는 혈중 칼슘농도는 매우 낮은 값을 보였다.

이와같은 결과는 난소절제수술 및 저칼슘식이로

Table 2. Body weight, food intake and weight gain of the rats

	Initial body weight(g)	Final Body weight(g)	Daily Food intake(g)	Daily Weight gain(g)
Expt. I †				
Sham-Nor Ca	117.3 ± 12.0 ^{1)N.S.}	198.5 ± 17.5 ^{b2)}	11.7 ± 0.8 ^b	2.9 ± 0.6 ^b
Sham-Low Ca	112.7 ± 8.2	192.1 ± 18.4 ^b	12.4 ± 1.8 ^{ab}	2.8 ± 0.6 ^b
OVX-Low Ca	113.0 ± 7.4	224.8 ± 17.5 ^a	13.6 ± 0.9 ^a	4.0 ± 0.6 ^a
Expt. II ‡				
OVX-High Ca	224.1 ± 25.6 ^{3)N.S.}	287.7 ± 24.3 ^a	15.3 ± 1.3 ^a	2.3 ± 0.5 ^a
OVX-Nor Ca	218.7 ± 14.7	275.6 ± 31.9 ^a	15.1 ± 2.1 ^a	2.3 ± 0.7 ^a
OVX-Low Ca	220.3 ± 24.5	206.0 ± 24.4 ^b	10.3 ± 1.3 ^b	-0.9 ± 1.1 ^b

1) Mean ± SD of 7 or 8 rats per group.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at $p < 0.05$.

3) N.S. : Not significant

† Expt. I : Sham-operated and ovariectomized rats fed experimental diets for 4wks.

‡ Expt. II : The ovariectomized rats fed the low-Ca diet for 4wks were fed the experimental diets containing various dietary Ca levels for 4wks.

골다공증이 유도된 흰쥐의 혈청 칼슘농도가 저하하고, 그후 정상칼슘 식이를 약 4주간 급여 하였을 때 모두 정상수준의 칼슘농도를 나타냈다는 보고¹⁴⁾와도 일치하는 것으로, 난소절제 골다공증 모델 흰쥐에 있어서 혈청칼슘 농도 저하는 난소 호르몬의 투여없이 정상수준 이상의 칼슘 급여만으로도 회

복될수 있음을 시사하였다. 또 이러한 회복효과가 식이 칼슘을 요구량 이상으로 급여한 수준간에는 차이가 없음을 보였다.

간조직의 칼슘함량은 난소절제 여부에 따른 차이는 없었지만 장기간의 저칼슘식이에 의해서는 유의적으로 감소함을 보였다. 본 실험에서 측정한

Table 3. Calcium contents in serum, liver and kidney

	Serum(mg/100ml)	Liver(ug/g)	Kidney(mg/g)
Expt. I			
Sham-Nor Ca	8.50±0.73 ^{a1)2)}	19.86±4.84 ^{3)N.S.}	0.52±0.30 ^a
Sham-Low Ca	7.40±0.49 ^b	17.67±4.22	0.32±0.20 ^{ab}
OVX-Low Ca	7.45±0.37 ^b	21.66±9.06	0.12±0.11 ^b
Expt. II			
OVX-High Ca	8.78±0.45 ^a	21.26±4.85 ^a	0.44±0.04 ^a
OVX-Nor Ca	8.96±1.17 ^a	26.66±6.58 ^a	0.25±0.05 ^{ab}
OVX-Low Ca	4.89±1.16 ^b	15.22±4.55 ^b	0.05±0.02 ^b

1) Mean±SD of 7 or 8 rats per group.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05.

3) N.S. : Not significant

Table 4. Wet weight, length and breaking force of femur and tibia

	Wet wt. (g)	Length (cm)	Breaking force	
			Upper(kg/g wt.)	Lower(kg/g wt.)
Femur				
Expt. I				
Sham-Nor Ca	1.6±0.2 ^{a1)}	3.2±0.1 ^a	17.6±5.1 ^a	10.4±3.7 ^a
Sham-Low Ca	1.3±0.2 ^{b2)}	3.1±0.1 ^b	8.0±0.9 ^b	7.3±0.9 ^b
OVX-Low Ca	1.1±0.2 ^b	3.1±0.1 ^b	8.4±1.8 ^b	7.2±2.1 ^b
Expt. II				
OVX-High Ca	1.8±0.2 ^a	3.5±0.1 ^a	20.3±2.7 ^a	13.0±2.4 ^a
OVX-Nor Ca	1.7±0.2 ^a	3.5±0.2 ^{ab}	21.5±1.5 ^a	14.2±3.3 ^a
OVX-Low Ca	1.4±0.1 ^b	3.3±0.1 ^b	8.0±2.4 ^b	7.3±2.6 ^b
Tibia				
Expt. I				
Sham-Nor Ca	1.2±0.0 ^a	3.2±0.1 ^{3)N.S.}	10.9±1.4 ^a	30.0±5.0 ^a
Sham-Low Ca	0.9±0.1 ^b	3.5±0.3	8.6±1.6 ^b	12.2±2.9 ^b
OVX-Low Ca	1.1±0.2 ^a	3.5±0.4	7.8±1.8 ^b	10.3±3.5 ^b
Expt. II				
OVX-High Ca	1.4±0.2 ^{N.S.}	4.0±0.2 ^{N.S.}	14.0±2.0 ^a	24.8±6.4 ^a
OVX-Nor Ca	1.4±0.2	3.9±0.2	17.7±4.7 ^a	28.7±4.8 ^a
OVX-Low Ca	1.2±0.3	3.9±0.1	8.8±2.1 ^b	9.3±2.4 ^b

1) Mean±SD of 7 or 8 rats per group.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05.

3) N.S. : Not significant

간의 중량 또한 난소절제 여부와는 관계가 없었으며, 장기간의 저칼슘식이에 의해서 감소하였다. 신장조직의 경우 난소절제 여부에 따라 중량에는 거의 차이가 없었으나 장기간의 저칼슘식이의 급여로 중량은 감소하였다. 칼슘함량은 난소절제와 저칼슘식이 급여에 의해서 유의적인 감소를 보였으며, 정상수준 이상의 칼슘 섭취로 증가되었다.

3. 뼈의 크기 및 강도

대퇴골(femur) 및 경골(tibia)의 중량, 길이 및 강도를 Table 4에 제시하였다.

대퇴골의 중량과 길이는 난소절제 여부에 관계없이 저칼슘식이에 의해 유의적인 감소를 보였으나, 정상 혹은 고칼슘食이를 급여하였을 때 정상으로 회복되었다(실험 I과 실험 II). 이들 뼈의 강도 또한 난소절제 여부에 관계없이 저칼슘식이에 의해 유의적인 감소를 보였으며($P<0.05$), 이러한 감소를 보인 OVX-Low군에게 4주간의 정상 수준 이상을

함유한 칼슘 食이를 급여하였을 경우 정상으로 회복됨을 보였다. 식이 칼슘을 요구량 이상 수준으로 급여한 식이 군간에는 차이가 없었다. 이러한 칼슘 섭취 부족으로 인한 뼈의 강도 저하는 폐경기 이후 여성에서도 나타남이 보고되어 왔으며, 뼈의 강도 유지에 있어서 충분한 칼슘섭취의 중요성이 강조되어 왔다¹⁵⁾¹⁶⁾. 본 실험에서 사용한 대퇴골과 경골에 있어서 상부와 하부의 강도를 비교해보면, 상부의 강도가 높았으나 강도에 대한 식이의 영향은 같은 경향을 보였다. 이것은 뼈의 강도를 측정 비교할 때 대퇴골, 경골 모두 시료로서 적합하며, 뼈의 상부 또는 하부 모두가 측정 부위로서 적합함을 시사하였다.

4. 뼈조직의 칼슘과 인 함량

대퇴골 및 경골의 회분, 칼슘 및 인 함량은 Table 5와 같다. 대퇴골의 조회분량, 칼슘함량 및 인의 함량은 난소절제 여부에 관계없이 저칼슘식이군이

Table 5. Calcium and phosphorus contents of femur and tibia

	Ash (mg/g)	Ca (mg/g)	P (mg/g)	Ca : P	Ca % (Ca/ash × 100)
Femur					
Expt. I					
Sham-Nor Ca	323.90 ± 45.43 ^{a1)}	98.76 ± 7.93 ^a	49.44 ± 2.44 ^a	2.00 ± 0.10 ^a	30.70 ± 2.04 ^{3)N.S}
Sham-Low Ca	190.93 ± 21.73 ³⁾²⁾	64.99 ± 5.91 ^b	34.13 ± 0.11 ^b	1.73 ± 0.11 ^b	31.04 ± 1.88
OVX-Low Ca	185.29 ± 25.13 ^b	58.22 ± 10.90 ^b	35.26 ± 6.65 ^b	1.65 ± 0.05 ^b	31.26 ± 1.71
Expt. II					
OVX-High Ca	299.04 ± 11.31 ^a	93.96 ± 11.45 ^a	47.08 ± 4.74 ^a	1.99 ± 0.70 ^a	31.40 ± 3.30 ^a
OVX-Nor Ca	315.54 ± 11.10 ^a	97.95 ± 6.88 ^a	49.15 ± 5.06 ^a	2.00 ± 0.16 ^a	31.04 ± 1.12 ^a
OVX-Low Ca	162.37 ± 14.77 ^b	43.33 ± 5.58 ^b	26.34 ± 3.64 ^b	1.65 ± 0.15 ^b	26.87 ± 3.06 ^b
Tibia					
Expt. I					
Sham-Nor Ca	341.94 ± 13.07 ^a	83.95 ± 6.09 ^a	41.21 ± 2.87 ^a	2.04 ± 0.24 ^a	24.62 ± 7.83 ^{N.S}
Sham-Low Ca	217.45 ± 29.41 ^b	57.27 ± 6.13 ^b	35.87 ± 0.63 ^b	1.60 ± 0.14 ^b	26.99 ± 2.18
OVX-Low Ca	198.70 ± 30.84 ^b	46.10 ± 9.46 ^b	33.32 ± 11.41 ^b	1.52 ± 0.81 ^b	23.66 ± 11.24
Expt. II					
OVX-High Ca	323.46 ± 16.36 ^a	84.11 ± 9.55 ^a	40.14 ± 11.20 ^{ab}	2.23 ± 0.63 ^a	25.96 ± 2.00 ^a
OVX-Nor Ca	342.95 ± 18.50 ^a	92.75 ± 8.68 ^a	47.88 ± 4.33 ^a	1.94 ± 0.16 ^a	27.00 ± 1.31 ^a
OVX-Low Ca	203.38 ± 27.24 ^b	44.15 ± 4.83 ^b	33.90 ± 17.61 ^b	1.46 ± 0.36 ^b	22.36 ± 1.57 ^b

1) Mean ± SD of 7 or 8 rats per group.

2) Values with different superscript within the column are significantly different at $p<0.05$.

3) N.S. : Not significant

정상칼슘 식이군보다 유의적으로 저하하였으나(실험 I), 정상이나 고칼슘식을 급여함으로써 회복되었다(실험 II). 이러한 결과는 식이칼슘 수준에 의해 뼈의 칼슘대사가 크게 영향을 받는다고 하는 기존 실험 결과들¹⁵⁾¹⁶⁾과 일치했다. 회복중의 칼슘 함유율은 연령이 같을 경우 난소 절제나 저칼슘 식이에 의해 4주간의 단기간동안에는 영향을 받지 않았으나, 8주간의 장기간 동안에는 유의적으로 감소되었다(실험 I과 실험 II). 이것은 골다공증의 경우 뼈의 무기질 조성에는 큰 차이가 없이 뼈의 양적 손실을 초래한다고 하는 칼슘대사의 특성을 반영한 것으로 본다.

본 실험의 뼈의 칼슘대사 결과들을 종합해 볼 때 난소절제와 칼슘섭취량 부족으로 유발된 골다공증 모델의 경우, 난소 호르몬 투여 없이도 칼슘 섭취 수준을 필요량 이상으로 급여함으로써 뼈의 강도 및 무기질 함량이 개선될 수 있음을 시사하였다. 많은 연구에서 폐경후 여성의 경우 1일 칼슘 섭취량 부족으로 인하여 뼈의 절대량 감소 및 골밀도의 감소가 보고되어 왔으며, 골질의 빈도가 증가함이 보고되어 왔다. 이러한 골질량 감소에 대하여 1일 칼슘 섭취량을 증가시킴으로써 뼈의 손실량 및 골밀도의 감소가 억제됨도 보고되고 있다¹⁵⁾¹⁶⁾.

경골의 조회분량 그리고 칼슘과 인의 함량 등에 대한 실험 결과는 Table 5에서 보는 바와 같이 대체로 대퇴골의 결과와 같았다.

5. 뼈의 조성과 뼈 강도와의 상관관계

본 실험에서 처음 시도된 Instron을 이용한 뼈 강도의 측정치와 뼈조직의 조성 즉, 칼슘 및 조회분의 함량 사이에 상관관계가 있는지를 확인하고자 각 실험에 따라 대퇴골의 강도를 설명변수로 하고 대퇴골 조직의 칼슘함량 및 조회분 함량을 목적변수로 한 산점도를 작성하였으며, Fig. 1과 Fig. 2에 제시하였다. Figures 에서 보는 바와 같이 뼈강도가 증가함에 따라 칼슘 함량 및 조회분 함량이 증가하는 경향을 보였으며, 거의 직선적인 관계를 나타냈다. 이들의 함수관계가 일차식으로 추정되어 일차회귀식($y=ax+b$)을 설정하고 그 직선의 방향

계수와 절편을 구하였다. 이때의 r 값은 0.8이상으로 높은 상관관계를 나타냈다. Fig. 2의 난소절제 동물의 경우 r 값은 0.9로서 보다 높은 상관계수를 나타냈다. Instron을 이용한 뼈강도 측정치가 뼈중의 칼슘함량 또는 조회분함량을 반영하며, 흰쥐에 있어서 특히 뼈조성 변화가 일어나기 쉬운 상태의 골격대사에 따른 칼슘대사 측정의 하나의 parameter로서 이용될 수 있음을 시사하였다.

6. 칼슘의 체내 보유량 및 변과 뇨중 배설량

난소절제 및 식이조건에 따른 칼슘 섭취량, 변중 칼슘 배설량, 뇨중 칼슘배설량, 칼슘 보유량[보유량=섭취량-(변중 배설량+뇨중 배설량)] 및 칼슘흡수량[흡수량=섭취량-변중 배설량]은 Table 6에 제시하였다.

실험 I의 경우 난소절제 여부에 관계없이 저칼슘 식이의 급여에 따라 변중 칼슘 배설량, 뇨중 칼슘

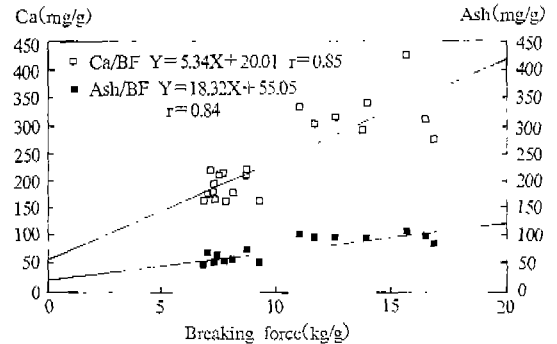


Fig. 1. The correlation of Ca and ash contents to breaking force(Expt. I)

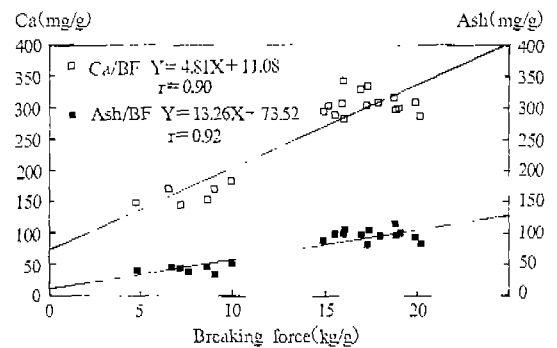


Fig. 2. The correlation of Ca and ash contents to breaking force(Expt. II)

골다공증 모델 흰쥐의 체내 칼슘 이용성

Table 6. Daily Ca intake, fecal and urinary Ca excretion, Ca retention and apparent Ca absorption

	Ca intake (mg/d)	Fecal Ca excretion (mg/d)	Urinary Ca excretion (mg/d)	Ca retention (mg/d)	Apparent Ca absorption (mg/d)
Expt. I					
Sham-Nor Ca	62.09± 4.20 ^{a1)}	7.09± 2.51 ^a	0.19± 0.03 ^a	54.83± 4.20 ^a	55.02± 4.20 ^a
Sham-Low Ca	7.46± 1.10 ^{b2)}	0.38± 0.04 ^b	0.06± 0.03 ^b	7.02± 1.10 ^b	7.08± 1.10 ^b
OVX-Low Ca	8.15± 0.57 ^b	0.03± 0.02 ^b	0.05± 0.01 ^b	8.07± 0.57 ^b	8.12± 0.57 ^b
Expt. II					
OVX-High Ca	162.09± 13.86 ^a	92.05± 23.14 ^a	1.42± 0.22 ^a	68.62± 13.86 ^a	70.04± 13.86 ^a
OVX-Nor Ca	79.99± 10.93 ^b	19.69± 6.73 ^b	1.72± 0.46 ^a	58.58± 10.93 ^a	60.30± 10.93 ^a
OVX-Low Ca	6.20± 0.80 ^c	0.10± 0.06 ^c	0.04± 0.02 ^b	6.06± 0.80 ^b	6.10± 0.80 ^b

1) Mean±SD of 7 or 8 rats per group.

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at $p<0.05$.

배설량, 보유량 그리고 흡수량이 유의적으로 낮았다. 실험 II에서는 골다공증 모델에서도 식이 칼슘 급여에 따라 보유량과 소화흡수량이 증가됨을 볼 수 있었다($p<0.05$). 이와 같이 일반적으로 폐경후 여성의 경우 골다공증 및 골질의 한 원인으로서 식이 칼슘 섭취량의 부족과 함께 장내 칼슘 흡수량의 감소를 들고 있다.

본 실험 결과에서 난소절제 및 저칼슘식이 섭취로 유발된 폐경후 골다공증 실험모델 동물에 있어서 호르몬의 투여 없이 식이 칼슘 섭취의 증가만으로도 칼슘의 체내 이용성은 크게 개선될 수 있으며, 이것이 혈청 칼슘 수준 및 뼈의 칼슘대사의 개선에도 기여할 수 있음이 고찰된다. 실제로 본 실험 결과를 인간의 골다공증 치료에 그대로 적용하긴 어려우나¹⁻⁴⁾ 에스트로젠이나 칼슘만의 단독 섭취 효과를 보고한 임상 실험 예¹⁶⁾를 고려한다면 폐경후 골다공증 환자에게 식이 칼슘량을 증가시킬 경우 칼슘대사가 개선될 것으로 기대된다. 한편 본 실험에서 사용한 동물이 칼슘 대사가 활발한 성장기 동물로서 이에 따른 에스트로젠 이외의 타 호르몬, 즉 성장호르몬과 같은 것의 역할을 배제할 수 없다. 따라서 노령기의 골다공증 모델 동물에서도 본 실험의 결과와 동일하게 얻어질 수 있는지에 대해서는 다소 의문이 제기된다.

요약 및 결론

폐경 이후 여성 및 노인의 뼈질환 특히 골다공증

환자의 증가 추세에 있어서 그 예방과 치료 효과로 칼슘의 섭취가 강조되고 있는 현시점에서, 본 연구는 실험동물 흰쥐를 이용하여 난소절제 및 저칼슘식이의 급여에 의해서 폐경후 골다공증과 유사한 실험동물 모델을 만들고(실험 I), 이 실험 모델의 칼슘 이용성 저하에 대한 칼슘의 양적 급여 효과(실험 II)를 검토하였다.

1) 실험 I에서 난소를 절제한 군(OVX)의 성장과 식이 섭취량은 난소를 절제하지 않은 군(Sham)보다 유의적으로 상승하였으며($p<0.05$), 난소절제후 저칼슘 식이를 4주동안 섭취한 군(OVX-Low Ca)에서는 혈중 칼슘농도, 뼈강도, 뼈중 칼슘과 인의 함량 및 뼈의 Ca:P비 그리고 칼슘의 보유량 및 흡수량이 정상 칼슘식이군(Sham-Nor Ca)보다 유의적으로 감소하였으며, 저칼슘식이군(Sham-Low Ca)과는 유사하였다.

2) 실험 II에서 난소를 절제한 후 4주간 저칼슘 식이를 급여한 폐경후 골다공증 실험모델 흰쥐에게 식이 칼슘을 수준별로 급여하였을 때, 정상(식이중 칼슘함량 0.53%) 또는 고칼슘식이(식이중 칼슘함량 1.06%)를 급여한 흰쥐에서는 혈청의 칼슘농도와 뼈강도 및 뼈조직 중의 칼슘과 인의 함량이 유의적으로 상승하여($p<0.05$) 정상적으로 회복효과를 보였다. 또한 칼슘 보유량 및 흡수량도 유의적으로 상승하였다($p<0.05$).

이상의 결과는 난소를 절제한 흰쥐에게 저칼슘 식이를 급여했을 때 폐경후 골다공증과 유사한 체내

칼슘 이용성이 저하함을 보였으며, 이 골다공증 실험모델 동물에게 식이 칼슘을 요구량 이상 급여하면 저하된 칼슘 이용성이 개선됨을 보였다. 식이 칼슘을 요구량 이상으로 급여한 수준간에는 차이가 없었다. 따라서 칼슘섭취 및 흡수가 부족한 노년기 또는 폐경후 골다공증 환자들에게 칼슘을 요구량수준 이상으로 섭취할 것을 권장하도록 제안한다.

본 연구를 위하여 연구비를 지원해 준 풀무원 식품(주)에 심심한 사의를 표합니다.

Literature cited

- 1) Gallagher JC. The pathogenesis of osteoporosis. *Bone & Mineral* 9 : 215-227, 1990
- 2) Lawrence GR, Jo-Anne Smith. Pathogenesis, prevention, and treatment of osteoporosis. *Ann Rev Med* 40 : 251-267, 1989.
- 3) Spencer H, Kramer L. NIH consensus conference : Osteoporosis factors contributing to osteoporosis. *J Nutr* 116 : 316-319, 1986
- 4) Heaney RP. Nutritional factors in bone health in elderly subjects : Methodological and contextual problems. *Am J Clin Nutr* 50 : 1182-1189, 1989
- 5) Ezawa I. Studies on calcium metabolism. *日本家政學會誌* 38 : 695-703, 1987
- 6) Smith EL, Gilligan C, Smith PE, Sempos CT. Calcium supplementation and bone loss in middle-aged women. *Am J Clin Nutr* 50 : 833-842, 1989
- 7) Heaney RP, Recker RR, Saville PD. Calcium balance and calcium requirements in middle-aged women. *Am J Clin Nutr* 30 : 1603-1611, 1977
- 8) Kelly PJ, Pocock NA, Sambrook PN, Eisman JA. Dietary calcium, sex hormones, and bone mineral density in men. *Br J Med* 300 : 1361-1378, 1990
- 9) Roger QR, Harper AE. Amino acid diets and maximal growth in the rat. *J Nutr* 87 : 267-273, 1965
- 10) NRC. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. National Academy of Sciences, Washington, DC, 1984.
- 11) Fisk CH and Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66 : 375-400, 1925
- 12) 이상선 · 윤정환. 난소절제가 체조성에 미치는 장기적 영향. *한국영양학회지* 22 : 102-107, 1989
- 13) Blaustin JD, Wade GN. Ovarian influences on the meal patterns of female rats. *Physiol Behav* 17 : 201-208, 1976
- 14) Ezawa I, Fusako A. The effect of cow-bone-powder on osteopenia of rat model of postmenopausal osteoporosis. *日本家政學會誌* 34 : 555-559, 1983
- 15) Freudenheim JL, Johnson NE, Smith EL. Relationships between usual nutrient intake and bone-mineral content of women 35-65 years of age : longitudinal and cross-sectional analysis. *Am J Clin Nutr* 44 : 863-876, 1986
- 16) Polley KJ, Nordin BEC, Baghurst PA, Walker CJ, Chatterton BE. Effect of calcium supplementation on forearm bone mineral content in postmenopausal women : a prospective, sequential controlled trial. *J Nutr* 117 : 1929-1935, 1987