

에스트로겐/칼슘 혼합요법이 난소절제 쥐의 골대사에 미치는 영향 I. 생화학적 변화에 관한 연구

이경화 · 오승호[†]
전남대학교 식품영양학과

The Effect of Combined Estrogen/Calcium Therapy on Bone Metabolism in Ovariectomized Rats I. A Study on Biochemical Parameters in Ovariectomized Rats

Kyung-Hwa Lee and Seung-Ho Oh[†]

Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

Abstract

This study was implemented in order to investigate the effects of dietary calcium-salt, estrogen-treatment, and estrogen/calcium treatment on bone metabolism. Ovariectomized rats were used as animal models. Female Sprague-Dawley rats with a body weight of 250~280g were underwent ovariectomy or sham-operation. The ovariectomized rats were divided into 9 different experimental groups including the saline-treated group, the estrogen-treated group, the high calcium salt-treated group, and the estrogen/calcium treated groups and fed for 6 weeks. Creatinine and hydroxyproline in urine were analyzed. Creatinine, calcitonin, osteocalcin, alkaline phosphatase and parathyroid hormone in plasma were also determined. The results of the experiment are as follows: The ovariectomy caused a significant increase in the level of food intake, food efficiency ratio and body weight gain in comparison with sham-operation. The overall food intake, food efficiency ratio and body weight gain were significantly decreased by estrogen. The ovariectomized animals developed obesity as a result of increased food intake. In addition, estradiol injections suppressed food intake with a concomitant loss in body weight. The level of urinary hydroxyproline, as an indicator of bone resorption, was higher in the ovariectomized rats compared to sham-operation, while these decreased in the estrogen/calcium treated group. Parathyroid hormone and calcitonin in the plasma, that were used as the indicator of calcium homeostasis, parathyroid hormone higher in the ovariectomized rats compared to sham-operation. It was lowered by estrogen and high calcium treated groups; thus, estrogen and estrogen/calcium treated groups were decreased by 32% compared to saline treated group. Osteocalcin and alkaline phosphatase which are indicators of bone formation, were significantly higher in ovariectomized group, while this showed to be decreased in the estrogen and the estrogen/calcium treated groups. Estrogen and estrogen/calcium in ovariectomized rats resulted in lower bone loss. However, estrogen treated group its gradual reduction showed little effect on bone loss, while the gradual reduction of estrogen had a preventive effect on bone loss when the treatment was combined with calcium intensification.

Key words: ovariectomized rat, hydroxyproline, parathyroid hormone, osteocalcin, calcitonin

서론

최근 경제발전과 의학의 발달로 우리나라의 노인인구 비율이 증가되어 65세 노인의 인구비율이 1985년에는 3.3%를 차지하였으나, 1994년 현재 전체인구의 4.8%를 차지하고 있는 것으로 보고 되었고 2020년에는 10.5%

가 되어(1) 다른 선진국과 마찬가지로 고령화시대에 진입하게 될 것이다. 그래서 많은 학자들은 노화현상에 대한 관심을 높여 이의 기전을 밝히려는 노력과 함께 노화로 인해 진전되는 여러 생리적 퇴화를 방지하려고 지속적인 연구를 계속하고 있다.

노령 인구층에서 문제가 되는 것 중의 하나로 폐경

[†]To whom all correspondence should be addressed

기 이후 여성의 골다공증으로 인한 빈번한 골절사고를 들 수 있다. 골다공증은 칼슘대사의 불균형으로 인해 골격의 화학적 조성에는 변화가 없고 단위용적당 질량(골밀도)이 감소되는 증상으로 칼슘대사와 관련성을 갖는 Ca(2-4), estrogen(5-11), parathyroid hormone (PTH)(12-14), vitamin D(15-17), calcitonin(18)에 기인한다고 보는 것이 일반적인 견해이다. 일찌기 Albright 등(19) 이후로 골다공증 원인은 estrogen 감소가 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 왔다. 폐경으로 인한 estrogen 감소는 Ca 이용율을 저하시키고 PTH에 의한 골격 Ca 재흡수를 증가시켜 골다공증을 유발하게 된다(20)고 하나 아직 이러한 estrogen의 작용기전은 완전히 밝혀지지 않았으며 신체장기의 노화는 여러가지에서 비롯되어 나타나는 복합적인 현상의 결과이므로 골손실에 대한 기전을 잘 파악하기 위해서는 다각적인 연구를 필요로 한다.

Heaney(21)는 폐경이후 여성에게 estrogen을 투여한 군과 투여하지 않은 군으로 나누어 칼슘 섭취량을 다양하게 섭취시킨 결과, 두군 모두에서 칼슘대사가 개선됨을 관찰함으로써 estrogen 뿐 아니라 칼슘섭취 역시 주요한 요인이 된다고 하였다. 이는 estrogen 및 칼슘을 동시에 투여한다면 골대사에 보다 효과적으로 작용할 것임을 시사하는 점이라 생각된다.

한편 지금까지 estrogen이 골대사에 긍정적으로 작

용한다는 보고가 많으나 일부 보고에 의하면 유방암(22,23), 자궁내막암(24) 등을 유발할 가능성이 있다는 보고 등도 있어서 폐경 후 골다공증 환자에게 estrogen 사용에 대한 논란의 여지가 있다. 그러므로 폐경이후 estrogen의 지속적인 사용에 대하여 재고할 여지가 있다고 보며 이들의 효율적 사용에 대한 연구가 필요하다 하겠다.

이에 본 연구는 난소를 절제한 흰쥐를 대상으로 estrogen/칼슘의 병합효과를 알아보고 대사적 항상성(homeostasis) 등을 고려하여 estrogen 사용량을 단계적으로 감소시켰을 때 골대사에 관계하는 생화학적 요인에 미치는 효과를 측정하여 상호비교하고 골손실을 막는데 가장 효율적인 방안을 모색해 보고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 생후 14주된 Sprague-Dawley종의 암컷(250~280g)으로서 체중에 따라 난괴법(Randomized Complete Block Design)에 의해 군을 나누어 sham-operation과 난소절제(ovariectomy) 수술을 실시하였다. 수술은 마취제인 sodium pentobarbital을 체중 1kg 당 40mg 복부에 주사한 후 심마취기에 이르면 복부를

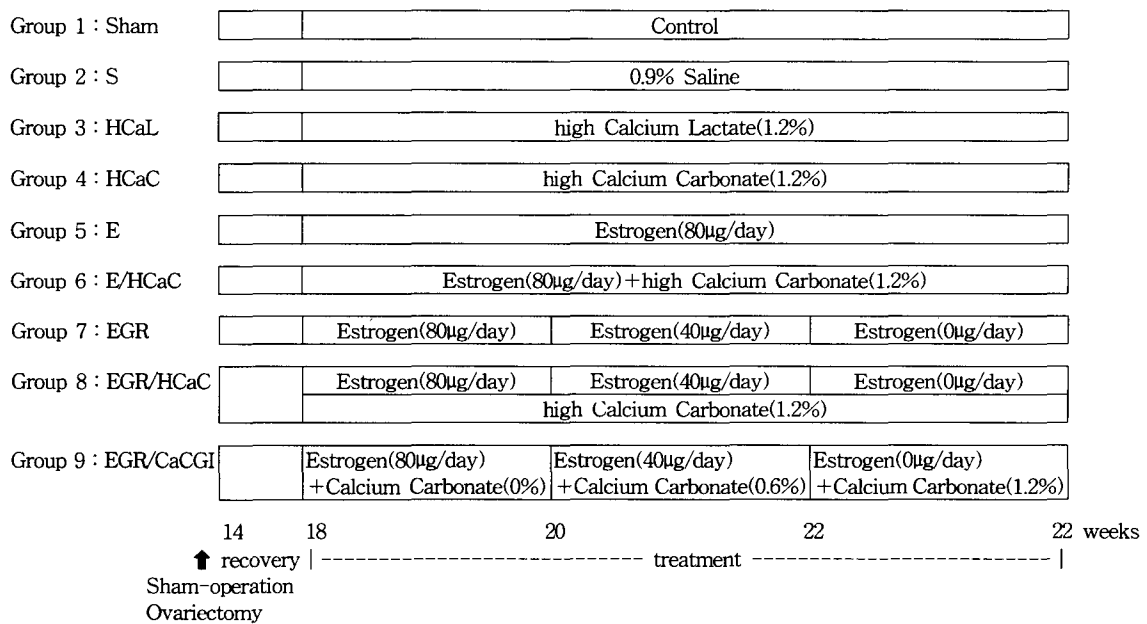


Fig. 1. Experimental design.

절개하고 난소를 제거하였으며 절개부를 봉합하고 난 후에는 감염을 방지하기 위해 항생제(Gentamycin, 제일제당)를 3일간 주사하였다. Sham-operation은 난소 절제하지 않고 개복수술만 하였다.

실험동물은 각각 실험목적에 따라 9군으로 나누었다. Sham-operation을 실시하고 control 식이로 사육한 군을 대조군(Group 1: Sham)으로 하였다. 나머지는 난소를 절제한 군들로서 난소절제 후 0.9%의 Saline 투여군(Group 2: S), 1.2%의 젖산칼슘 투여군(Group 3: HCaL)과 1.2%의 젖산칼슘 투여군, 1.2% 탄산칼슘 투여군(Group 4: HCaC), 80µg/day의 estrogen을 지속적으로 투여하는 estrogen 투여군(Group 5: E), 80µg/day의 estrogen과 1.2% 탄산칼슘 투여하는 estrogen/고탄산칼슘 혼합군(Group 6: E/HCaC), estrogen을 점진적(80→40→0µg/day)으로 감소시켜 투여하는 estrogen 점진적 감소군(Group 7: EGR), estrogen을 점진적(80→40→0µg/day)으로 감소시키면서 1.2%의 탄산칼슘을 투여하는 estrogen 점진적 감소와 고칼슘투여군(Group 8: EGR/HCaC) 및 estrogen을 점진적(80→40→0µg/day)으로 감소시키면서 탄산칼슘을 단계적(0→0.6→1.2%)으로 증가시켜 투여하는 estrogen 점진적 감소와 칼슘 점진적 증가 투여군(Group 9: EGR/CaCGI)으로 나누어 이들 모두는 6주 동안 사육하였다.

Estrogen(안식향산 에스트라디올 주사액, 삼일제약)은 근육에 주사하였다. 실험설계도는 Fig. 1에 도시한 바와 같다. 사육실의 온도는 20±2°C 및 습도 50% 전후로 유지시켰고 명암은 12시간 주기(07 : 00~19 : 00)

로 조절하였다.

실험식이

실험식이의 구성은 다음 Table 1에 표시한 바와 같다. 실험식이 중의 칼슘급원은 American Institute of Nutrition Mixture(AIN Mix.)(25) 내에 포함되어 있는 CaHPO₄를 기준(0.3mEq/kg body weight=6.7mg)으로 하여 이를 정상 칼슘식으로 하였고 2mEq/kg body weight(40mg)를 포함한 식이를 고칼슘식으로 하였다(2).

탄수화물의 급원은 옥수수전분(corn starch, 풍원)을 사용하였고 지방 급원으로는 옥수수기름(corn oil, 동방유량)을 사용하였다. 식이내 지방 함량은 8%였다.

실험식이는 탈이온수와 함께 자유섭취 방법으로 각군의 쥐에게 6주간 급여하였다.

시료의 채취

소변은 실험기간 종료 3일 전부터 매일(24시간) 소변을 채취하였다. 부패를 방지하기 위해 1ml의 toluene을 넣어 주었다. 24시간 채취한 소변은 총 용량을 측정하고 원심분리시킨 후에 상층액만을 다시 나누어 냉동보관하였다가 분석에 사용하였다.

실험기간 종료일에 14시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취시킨 상태에서 심장 천자법으로 채혈하여 항응고(EDTA) 처리된 시험관에 모아져 즉시 3000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 혈장(plasma)을 분석시까지 -70°C 냉동고에 보관하였고 혈액 채취 직후 간,

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Groups*	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5	Group 6	Group 7	Group 8	Group 9
Ingredients	Sham	Ovx	Ovx+ HCaLac	Ovx+ HCaCar	Ovx+ E	Ovx+ E/HCaCar	Ovx+ EGR	Ovx+ EGR/HCaCar	Ovx+ EGR/CaCarGI
Casein	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Corn starch	73	73	71.8	71.8	73	71.8	7.3	71.8	73→72.4→71.8
α-Cellulose powder	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Corn oil	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Salt mixture ¹⁾	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mineral mixture ²⁾	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ca · Lactate	-	-	1.2	-	-	-	-	-	-
Ca · Carbonate	-	-	-	1.2	-	1.2	-	1.2	0→0.6→1.2

*Groups are Sham=sham operation, S=saline, HCaL=high calcium lactate, HCaC=high calcium carbonate, E=estrogen, E/HCaC=estrogen and high calcium carbonate, EGR=estrogen gradually reduction, EGR/HCaC=estrogen gradually reduction and high calcium carbonate and EGR/CaCGI=estrogen gradually reduction and calcium carbonate intensification

¹⁾Salt mixture: Ca lactate 35.15, Ca(H₂PO₄)₂·H₂O 14.60, K₂HPO₄ 25.78, NaH₂PO₄ · H₂O 9.38, NaCl 4.67, MgSO₄(anhydrous) 7.19, Fe Citrate · 6H₂O 3.19

²⁾Vitamin mixture(mg/kg mixture): thiamine · HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine · HCl 700, nicotinic acid 3000, D-calcium pantothenate 1600, folic acid 200, vitamin B₁₂ 1, retinyl palmitate(Vit.A) 120, DL-α-tocopheryl acetate(Vit.E) 5000, cholecalciferol(Vit.D₃) 2.5, menadion(Vit.K) 5.0, D-biotin 20, sucrose finely powered to make 1000g

신장, 심장, 지라 및 소장을 적출해 생리식염수로 세척한 후 여과지로 여분의 수분을 제거한 뒤 무게를 측정 한 후 -70°C 냉동고에 보관하였다.

혈액 중 혈색소 농도는 cyanmethemoglobin법(26)에 의하여 혈액 20 μl 에 drabkin용액 5ml를 첨가하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈액 중 적혈구 용적 비는 microhematocrit법(26)에 의해 헤파린이 처리된 모세관에 혈액을 채우고 microhematocrit centrifuge (Triac centrifuge, Clay Adams Co., USA)를 이용하여 원침시켜 구하였다.

혈장의 Ca 및 P 함량은 일정량의 혈장을 취하여 0.1% La_2O_3 용액으로 희석하여 Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy(ICP, Jobin Yvon, France)를 이용하여 Table 2와 같은 조건에서 측정하였다.

소변과 혈장의 creatinine 함량은 Folin-Wu의 방법(26)을 이용한 kit(한국시약)를 사용하여 분석하였다. 사구체 여과율(glomerular filtration rate, GFR, ml/min)은 creatinine clearance로 측정하였는데, 소변과 혈장의 creatinine 농도로부터 다음 식에 의하여 구하였다(27).

$$C = \frac{UV}{P}$$

단, C=Clearance(ml/min)
V=Urine flow(ml/min)
U=Urinary concentration of creatinine(mg/ml)
P=Plasma concentration of creatinine(mg/ml)

소변 중 hydroxyproline은 Blumenkrante와 Asboe-hansen법(28)에 의하여 측정하였다. 소변 0.5ml에 6N HCl 3ml를 넣고 118°C drying oven에서 12시간 가수분해시킨 후 65°C vacuum drying oven 속에 넣어 완전히 증발시켰다. 증발된 시료에 1ml의 증류수를 가하고 구연산-인산완충용액(citrate-phosphate buffer), 과요오드산(periodic acid) 및 extraction mixture를 첨가한

후 vortex를 이용하여 잘 섞은 다음 원심분리하였다. 원심분리 후 상층을 취하여 Ehrlich reagent를 첨가한 다음 565nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장의 alkaline phosphatase(AP)의 활성은 Kind-King법(26)을 이용한 kit(AM 105S-K, 아산제약)를 사용하여 분석하였다.

혈장 PTH는 INC의 PTH-MMTM II Kit를 이용하여 혈장 100 μl 에 ^{125}I PTH를 200 μl 넣어 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 incubation 시킨 후 $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 2,000rpm에서 원심분리하여 상층액을 완전히 제거한 것을 Gamma Scintillation Counter를 이용하여 침전물의 radioactivity를 측정하였다.

혈장 calcitonin은 Diagnostic Product Corporation (DPC)의 double antibody calcitonin kit를 이용하였다. 혈장 200 μl 에 항혈청을 100 μl 씩 넣고 vortex한 후 실온에서 3시간 incubation 시킨 후 ^{125}I calcitonin을 100 μl 씩을 넣고 vortex한 후 4°C 에서 16시간 incubation시켰다. 그 후 PEG 1ml 넣고 vortex한 후 원심분리하여 상층액을 완전히 제거한 것을 Gamma Scintillation Counter를 이용하여 침전물의 radioactivity를 측정하였다.

혈장 osteocalcin은 BRAHMS의 kit를 이용하여 혈장 50 μl 에 ^{125}I osteocalcin을 250 μl 씩을 넣고 $4\sim 8^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 반응시키고 세척용액(washing solution) 2ml로 2회 세척한 후 Gamma Scintillation Counter를 이용하여 침전물의 방사능(radioactivity)을 측정하여 계산하였다.

통계처리

본 연구의 분석결과는 각 실험군간의 평균치와 표준오차로 표시하고 실험군간의 유의성($p < 0.05$) 검증은 Kruskal-Wallis 검정을 이용한 후 Duncan의 multiple range test를 이용하여 통계처리하였다. 또한, 칼슘투여

Table 2. The operating conditions of ICP Emission Spectro Analyzer for the analysis of calcium and phosphorus

		Conditions
Wavelength spectrum(nm)	For calcium	588.995
	For phosphorus	214.914
Line gas pressure(psi)		70.0
Coolant gas flow rate(l/min)		12.0
Nebuler	Sample gas pressure(psi)	40.0
	Calcium gas flow rate(l/min)	0.4
	Pump rate(ml/min)	1.5
Integration	Period(sec)	10.0

효과와 estrogen/칼슘 혼합요법의 효과를 알아보기 위하여 각 군끼리 대비(contrast)test를 하였다. 이러한 모든 통계검증은 statistical analysis system(SAS) package를 이용하였다.

결과 및 고찰

식이 섭취량, 체중증가 및 식이효율

6주간 사육한 흰쥐의 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율은 Table 3과 같다. 6주 동안 식이 섭취량은 난소를 절제한 군 705.4±28.3g/6 week에 비해 난소를 절제하지 않은 군(sham군)은 602.8±7.6g/6 week으로 난소를 절제한 군에서 유의하게(p<0.05) 많은 섭취 양상을 보였다. 또한 난소를 절제한 쥐에서 고젓산칼슘과 고탄산칼슘을 투여한 군은 난소를 절제한 쥐에 비해 다소 낮은 섭취양상을 보였다. 또한 난소 절제한 쥐에게 estrogen을 투여한 군에서는 식이 섭취량이 551.4±10.0g/6 week으로 유의하게 낮았다(p<0.001). Estrogen만 투여한 군에서는 낮은 식이 섭취 양상을 보이다가 estrogen/고칼슘 혼합군들에서는 estrogen 투여군에 비해 약간 증가한 식이 섭취 양상을 보였다.

식이효율은 난소를 절제한 군에서 0.04±0.01로 난소를 절제하지 않은 군 0.02±0.00에 비해 다소 높은

경향을 보였다. 칼슘염 종류에 따른 식이효율은 고젓산칼슘 투여군이 -0.02±0.01였고 고탄산칼슘 투여군은 0.01±0.01으로 고젓산칼슘 투여군이 유의하게 낮았다(p<0.05). 또한 estrogen 투여군 및 estrogen/칼슘 혼합군들에서도 식이효율이 각각 -0.02±0.01 및 -0.03±0.01로 난소를 절제한 군 보다 유의하게 낮은 경향을 보였다.

수술 전 체중은 각 군간에 차이가 없었으나 수술 후 4주간, 즉 본 실험에 들어가기 전의 체중은 난소를 절제한 군에서 난소를 절제하지 않은 군에 비해 유의하게 높았다(p<0.001). 이것은 Morris 등(29)의 난소를 절제한 군이 난소를 절제하지 않은 군에 비해 수술 후 3주에서부터 체중 증가가 유의하게 높게 나타났다는 보고와 일치하였다. 난소를 절제한 군에서의 이러한 체중 증가는 난소호르몬의 분비감소로 인해 식이 섭취량이 증가되고 체지방이 축적되어 비만이 초래되는 난소 절제 동물의 특성을 나타낸 것으로 해석할 수 있다(30).

Estrogen 투여한 군에서는 체중 증가량이 -12.3±8.1g/6 week로 체중이 감소하는 경향을 보였다. 또한 estrogen을 점진적으로 감소시켜 투여한 군의 체중 변화는 -8.3±2.7g/6 week로 보아 estrogen을 주면 식이 섭취량이 줄어들고 체중이 감소되는 것을 볼 수 있다. 이것은 아직까지 난소 호르몬이 어떤 기전에 의해 식이 섭취량

Table 3. Initial and final body weights, body weight gain, food intake, and food efficiency ratio of rats fed the experimental diets for 6 weeks

Groups ¹⁾	Initial body weight(g)	Final body weight(g)	Body weight gain(g/6 weeks)	Food intake (g/6 weeks)	Food efficiency ratio	
Group 1 : Sham	278.0± 3.9 ^c	289.6± 2.7 ^{bc}	11.6± 1.5 ^a	602.8± 7.6 ^{bcd}	0.02±0.00 ^a	
Group 2 : S	319.6± 7.5 ^a	345.4± 8.4 ^a	25.7±10.7 ^a	705.4±28.3 ^a	0.04±0.01 ^a	
Group 3 : HCaL	303.9± 4.3 ^{ab}	289.3± 6.1 ^{bc}	-14.6± 3.2 ^b	632.3± 5.5 ^{ab}	-0.02±0.01 ^b	
Group 4 : HCaC	299.6± 5.8 ^{ab}	308.3± 6.6 ^{ab}	8.7± 3.8 ^a	635.7±15.3 ^{ab}	0.01±0.01 ^a	
Group 5 : E	296.7± 8.3 ^b	282.3± 7.5 ^c	-12.3± 8.1 ^b	551.4±10.0 ^c	-0.02±0.02 ^b	
Group 6 : E/HCaC	312.2± 3.5 ^{ab}	286.3±10.4 ^c	-17.2±12.2 ^b	586.1±15.6 ^{cde}	-0.03±0.02 ^b	
Group 7 : EGR	299.7± 8.3 ^{ab}	291.4± 8.3 ^{bc}	- 8.3± 2.7 ^b	566.5±17.6 ^{dc}	-0.04±0.02 ^b	
Group 8 : EGR/HCaC	311.9±11.4 ^{ab}	299.5±10.1 ^{bc}	-12.4± 6.2 ^b	615.5±20.6 ^{bc}	-0.02±0.01 ^b	
Group 9 : EGR/CaCGI	302.0±10.6 ^{ab}	282.7± 8.7 ^c	-19.3± 5.3 ^b	570.0± 8.8 ^{de}	-0.03±0.01 ^b	
F-value ²⁾	A	<0.001	<0.05	NS	<0.05	NS
	B	NS	NS	0.05	NS	0.05
	C	NS	<0.05	0.05	NS	0.05
	D	NS	<0.001	0.001	0.001	0.001
	E	NS	NS	NS	0.05	NS

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean±standard error

Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups(p<0.05)

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups

A: Contrast of group 1 and group 2
 C: Contrast of group 2 and group 3, 4
 E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9

B: Contrast of group 3 and group 4
 D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9
 NS: Not significant

Table 4. Hemoglobin and hematocrit of rats fed the experimental diets for 6 weeks

Groups ¹⁾	Hemoglobin(g/dl)	Hematocrit(%)
Group 1 : Sham	13.69±0.45 ^{ab}	44.94±0.76 ^a
Group 2 : S	14.21±0.50 ^{ab}	43.97±2.18 ^{ab}
Group 3 : HCaL	13.36±0.55 ^{ab}	43.77±0.54 ^a
Group 4 : HCaC	14.33±0.48 ^{ab}	45.02±1.64 ^a
Group 5 : E	11.83±0.47 ^{cd}	33.71±1.39 ^d
Group 6 : E/HCaC	11.60±0.30 ^d	33.29±0.78 ^d
Group 7 : EGR	14.61±0.45 ^a	42.48±1.50 ^{ab}
Group 8 : EGR/HCaC	13.66±0.17 ^{ab}	41.40±0.23 ^{bc}
Group 9 : EGR/CaCGI	13.30±0.19 ^{bc}	39.65±0.790 ^f
F-value ²⁾		
A	NS	NS
B	NS	NS
C	NS	NS
D	<0.05	<0.001
E	<0.05	<0.05

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean±standard error.

Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups(p<0.05).

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups.

A: Contrast of group 1 and group 2

B: Contrast of group 3 and group 4

C: Contrast of group 2 and group 3, 4

D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9

E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9

NS: Not significant

과 체중 조절에 관여하는지는 확실히 밝혀지지 않았지만 estrogen을 투여하면 과식현상과 비만증이 회복되었다는 보고(31)와도 관련된 현상이 아닌가 생각된다. 칼슘염의 형태 중 젓산칼슘 형태의 칼슘염을 섭취한 군에서 체중변화는 14.6±3.2g/6 week으로 감소되었다.

혈색소 농도와 적혈구 용적비

6주간 실험 사육한 흰쥐의 혈색소 농도와 적혈구 용적비는 Table 4와 같다. 모든 실험군에서의 혈색소 농도는 11.60~14.33g/dl로 정상범위였고 적혈구 용적비도 33.29~44.94%의 정상범위였다. 난소를 절제한 군과 절제하지 않은 군 간에는 차이는 없지만 난소절제 후 estrogen 투여군과 estrogen/고칼슘 혼합군에서 혈색소 농도와 적혈구 용적비가 유의하게 낮았다(p<0.05). 이것은 estrogen 투여에 의해 식이 섭취량이 저하되어(31) 혈색소 농도와 적혈구 용적비가 낮은 것으로 사료되나 이에 대해서는 추후 더 많은 연구가 요구된다.

장기의 무게

실험 동물들의 각종 장기의 무게는 Table 5와 같다. 간, 신장, 심장 및 비장의 무게는 난소를 절제한 군과 난소를 절제하지 않은 군간에는 차이가 없는 것으로 보아 간, 신장, 심장과 비장은 난소절제에 의해 별로

영향을 받지 않음을 알 수 있다. 그러나, 소장의 무게는 난소를 절제한 군이 6.42±0.31g이었고 난소를 절제하지 않은 군이 5.49±0.20g으로 난소절제군이 유의하게 높았다(p<0.05). 이것은 윤과 이(30)의 난소절제에 의해 유발된 과식 현상이 소장 적응 변화에 미치는 영향에 관한 보고에 의하면 소장의 길이는 난소를 절제한 군과 난소를 절제하지 않은 군 사이에 차이가 없었는데 소장의 무게와 점막(mucosa)무게는 난소절제군에서 현저하게 증가되었다는 결과와 일치하였다. 난소절제에 의해 유발된 식이 섭취량의 증가는 소장점막세포의 hyperplasia(소장 점막의 단백질 함량이 증가됨과 동시에 DNA 함량이 증가되는 현상)를 초래하여(30,31) 소장 무게를 증가시키는 것으로 추정할 수 있다. Estrogen 투여군 및 estrogen/칼슘 혼합군에서 소장무게는 각각 5.43±0.28g 및 5.25±0.18g이었다. 또한 estrogen 점진적 감소군, estrogen 점진적 투여와 고칼슘 투여군 및 estrogen 점진적 감소와 칼슘 점진적 증가 투여군에서의 소장 무게는 각각 5.49±0.23g, 5.51±0.23g 및 5.11±0.20g으로 난소절제군 보다 유의하게 낮았는데(p<0.001), 이는 난소를 절제한 쥐에게 estrogen을 투여하면 소장 점막의 hyperplasia를 막을 수 있음을 알 수 있었다.

신장의 사구체 여과율

소변 중 creatinine 배설량, 혈장 creatinine 함량과

Table 5. Weight of organ

Group ¹⁾	Liver(g)	Kidney(g)	Heart(g)	Spleen(g)	Intestine(g)	
Group 1 : Sham	7.44±0.20 ^{ab}	2.10±0.07 ^{abcd}	1.00±0.03 ^a	0.72±0.02 ^{ab}	5.49±0.20 ^b	
Group 2 : S	8.34±0.43 ^a	2.12±0.07 ^{abc}	0.95±0.04 ^{ab}	0.81±0.06 ^a	6.42±0.31 ^a	
Group 3 : HCaL	5.85±0.19 ^c	1.66±0.07 ^c	0.82±0.03 ^d	0.67±0.04 ^{abc}	6.33±0.39 ^a	
Group 4 : HCaC	6.99±0.19 ^b	1.89±0.11 ^{de}	0.99±0.04 ^{ab}	0.64±0.03 ^{bc}	6.63±0.34 ^a	
Group 5 : E	7.63±0.25 ^a	2.28±0.13 ^{ab}	0.84±0.03 ^{cd}	0.49±0.02 ^d	5.43±0.28 ^b	
Group 6 : E/HCaC	7.93±0.21 ^a	1.93±0.07 ^{cde}	0.91±0.03 ^{abc}	0.49±0.02 ^d	5.25±0.18 ^b	
Group 7 : EGR	7.74±0.29 ^a	2.45±0.23 ^a	0.89±0.03 ^{bcd}	0.62±0.04 ^c	5.49±0.23 ^b	
Group 8 : EGR/HCaC	7.93±0.35 ^a	1.94±0.07 ^{bcd}	0.84±0.04 ^{cd}	0.67±0.03 ^{abc}	5.51±0.23 ^b	
Group 9 : EGR/CaCGI	7.53±0.26 ^{ab}	1.94±0.12 ^{cde}	0.81±0.03 ^d	0.65±0.04 ^{bc}	5.11±0.20 ^b	
F-value ²⁾	A	NS	NS	NS	NS	0.05
	B	0.05	NS	0.001	NS	NS
	C	0.001	0.001	NS	0.05	NS
	D	NS	NS	0.05	0.001	0.001
	E	NS	0.05	NS	0.05	NS

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean±standard error

Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups(p<0.05)

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups

A: Contrast of group 1 and group 2

B: Contrast of group 3 and group 4

C: Contrast of group 2 and group 3, 4

D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9

E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9

NS: Not significant

Table 6. Concentration of creatinine in urine and plasma and glomerular filtration rate of experimental rats

Groups ¹⁾	Urine creatinine(mg/day)	Plasma creatinine(mg/100ml)	GFR(ml/min)
Group 1 : Sham	2.15±0.17 ^a	1.75±0.05 ^a	0.14±0.02 ^{ab}
Group 2 : S	2.43±0.08 ^a	1.94±0.09 ^a	0.17±0.04 ^a
Group 3 : HCaL	2.32±0.08 ^a	1.90±0.10 ^a	0.16±0.02 ^{ab}
Group 4 : HCaC	2.29±0.10 ^a	1.80±0.13 ^a	0.15±0.01 ^{ab}
Group 5 : E	2.15±0.16 ^a	1.84±0.04 ^a	0.14±0.03 ^{ab}
Group 6 : E/HCaC	2.15±0.04 ^a	1.78±0.11 ^a	0.13±0.01 ^{ab}
Group 7 : EGR	2.32±0.10 ^a	1.92±0.06 ^a	0.16±0.01 ^{asb}
Group 8 : EGR/HCaC	2.21±0.10 ^a	1.88±0.07 ^a	0.13±0.02 ^{ab}
Group 9 : EGR/CaCGI	2.20±0.16 ^a	1.88±0.05 ^a	0.13±0.01 ^b
F-value ²⁾	A	NS	NS
	B	NS	NS
	C	NS	NS
	D	NS	NS
	E	NS	NS

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean±standard error.

Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups(p<0.05).

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups.

A: Contrast of group 1 and group 2

B: Contrast of group 3 and group 4

C: Contrast of group 2 and group 3, 4

D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9

E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9

NS: Not significant

이로부터 계산한 creatinine clearance로 측정된 사구체 여과율은 Table 6과 같다. 소변 중 creatinine 배설량은 모든 실험군별 각각 2.2±0.2~2.4±0.1mg/day 범위였는데 그 중 난소를 절제한 군은 2.4±0.1mg/day로 제일 높았다.

혈장 creatinine 함량은 모든 실험군별 각각 1.8±0.1

~1.9±0.1mg/100ml 범위로 실험군별 큰 차이가 없었다.

사구체 여과율은 난소를 절제한 군에서 난소를 절제하지 않은 군에 비해 약 18% 정도 증가하였다. 난소 절제 후 estrogen 투여, 고칼슘투여 및 estrogen/칼슘 혼합 투여군에서 모두 사구체 여과율이 감소하는 경향을 보였다. Estrogen 점진적 감소와 칼슘 점진적 증

가 투여군에서는 사구체 여과율이 감소하는 경향이 가장 많았다. 이것은 난소절제로 사구체 여과율의 증가로 인해 신장의 노화를 촉진시켜서 사구체 경화증(glomerulosclerosis) 같은 신장기능의 빠른 퇴화를 일으키며 난소를 절제한 군의 사구체 여과율은 난소를 절제하지 않은 군에 비해 증가하였다가, estrogen을 투여한 후에 사구체 여과율이 감소하였다는 Morris 등(29)의 보고와 일치하였다.

혈장 무기질 함량

혈장 칼슘 및 인의 함량은 Table 7과 같다. 혈장 칼슘 함량은 난소를 절제하지 않은 군이 $13.6 \pm 0.6 \text{mg}/100 \text{ml}$ 였고 난소를 절제한 군이 $12.6 \pm 0.3 \text{mg}/100 \text{ml}$ 로 다소 낮은 경향을 보였으나 고칼슘의 투여로 혈장 중 칼슘 함량이 $15.4 \pm 0.4 \sim 15.5 \pm 0.3 \text{mg}/100 \text{ml}$ 범위로 증가하여 난소를 절제한 군 보다도 유의하게 높았다($p < 0.0001$). 배 등(32)의 보고에 의하면 폐경 이후 여성에게 칼슘을 보충시킨 군에서 혈청 중 칼슘 함량이 유의하게 높음을 나타냈는데 이것은 본 연구와 비슷한 경향을 보였다. 한편, Thomas 등(33)은 암컷쥐를 대상으로 0.5% 칼슘과 0.1% 칼슘을 각각 섭취시켜 혈장 중 칼슘 함량을 비교해 본 결과, 0.5% 칼슘을 섭취한 군에서 혈장 중 칼슘 함량이 $10.3 \text{mg}/100 \text{ml}$, 0.1% 칼슘을 섭취한 군에서는 $9.3 \text{mg}/100 \text{ml}$ 로 0.5% 칼슘을 섭취한 군이 혈장 중 칼슘 함량이 높았다고 보고하였다. 그러나 난소를

절제한 쥐에서 칼슘 섭취량을 각각 0.1%, 0.5% 투여했을 때 혈장 칼슘 함량의 변화는 없는 것으로 보고하여 본 실험과는 다른 결과였다. 이것은 본 실험에 사용했던 칼슘 함량은 1.2%로 고칼슘을 사용했기 때문에 혈장 내 칼슘이 증가했으나 Thomas 등(33)이 사용한 0.1% 및 0.5%로는 난소를 절제한 쥐에서는 혈장 중 칼슘 농도에 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다.

Estrogen 투여군, estrogen/칼슘 혼합군, estrogen 점진적 감소와 고칼슘 투여군 및 estrogen 점진적 감소와 칼슘 점진적 증가 투여군에서 혈장 중 칼슘 함량이 각각 $15.4 \pm 0.3 \sim 16.3 \pm 0.3 \text{mg}/100 \text{ml}$ 범위로 난소를 절제한 군에 비해 현저히 증가하였다($p < 0.0001$). Cruess 등(9)의 보고에서 난소를 절제한 후 estrogen을 투여하게 되면 혈장 중 칼슘 농도가 3개월까지는 증가하였다가 그 이후에는 다시 난소를 절제한 군과 같은 수준의 혈장 농도를 보였다고 한다. 본 실험은 난소절제 후 estrogen 투여 기간이 6주로 상기 실험과 비슷한 경향을 나타낸 것 같다. 그러나 Riggs 등(34)은 골다공증 환자에게 estrogen을 투여한 결과 혈청 칼슘 함량은 오히려 감소하였다고 하므로 본 실험과는 다른 결과를 보고한 바 있고 Ornoy 등(35)의 보고에 의하면 혈청 칼슘 농도는 난소절제에 영향을 받지 않는다고 보고하였다. 이상의 결과로 보아 estrogen 투여기간에 따른 혈장 중 칼슘 함량의 변화에 대하여서는 추후 더욱 연구되어야 한다고 본다.

Table 7. Content of mineral in plasma

Groups ¹⁾	Ca(mg/100ml)	P(mg/100ml)
Group 1 : Sham	13.59 ± 0.55^c	13.76 ± 0.54^a
Group 2 : S	12.62 ± 0.33^d	14.43 ± 0.55^a
Group 3 : HCaL	15.40 ± 0.39^{ab}	13.86 ± 0.42^a
Group 4 : HCaC	15.48 ± 0.32^{ab}	14.13 ± 0.66^a
Group 5 : E	15.85 ± 0.54^{ab}	13.93 ± 0.57^a
Group 6 : E/HCaC	16.25 ± 0.30^a	13.74 ± 0.66^a
Group 7 : EGR	14.39 ± 0.23^{bc}	14.88 ± 0.56^a
Group 8 : EGR/HCaC	16.24 ± 0.30^a	14.12 ± 0.96^a
Group 9 : EGR/CaCGI	15.43 ± 0.26^{ab}	14.28 ± 0.54^a
	A	NS
	B	NS
F-value ²⁾	C	NS
	D	NS
	E	NS

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean \pm standard error

Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups($p < 0.05$)

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups

A: Contrast of group 1 and group 2

B: Contrast of group 3 and group 4

C: Contrast of group 2 and group 3, 4

D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9

E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9

NS: Not significant

난소를 절제하지 않은 군의 혈장 중 인 함량은 $13.8 \pm 0.5\text{mg}/100\text{ml}$ 이며 난소를 절제한 군의 인 함량은 $14.4 \pm 0.6\text{mg}/100\text{ml}$ 로 두 군 간에 유의한 차이는 없었다. 또한 estrogen 투여 및 고칼슘 혼합요법 등 모든 군에서 혈장 중 인의 함량에는 변화가 없었다. Morris 등(29)에 의하면 난소를 절제한 군에서 혈장 인 함량이 유의하게 높았다고 하였으며 Riggs 등(34)의 보고에 의하면 폐경 후 골다공증 환자에게 estrogen 투여는 혈장 중 인의 함량을 유의하게 감소시켰다고 하였다($p < 0.0001$). 배 등(32)도 칼슘보충으로 인해 혈장 중 인 함량이 감소한다고 하였는데 이는 본 실험과는 다른 결과였다. 그러나 Cruess와 Hong(9)에 의하면 난소를 절제한 군에 비해 난소를 절제하지 않은 군에서 혈장 중 인 함량이 높았으나 estrogen을 투여로 감소하는 경향을 보이다가 일정 시간이 경과하면 난소절제 여부와 난소절제 후 estrogen 투여 여부에 상관없이 혈장 중 인 함량은 비슷하게 된다고 하였다. Thomas 등(33)은 암컷쥐에 0.5% 칼슘 섭취와 0.1% 칼슘 섭취시 혈장 중 인 함량에는 차이가 없었고 난소절제 여부에 대해서도 차이는 없었다고 하는 상기의 보고와 혈장 인 함량은 모든 실험군 별 큰 차이가 나지 않는다는 본 실험 결과를 참고로 한다면 혈장 내 인 함량은 외부 제 조건에 크게 영향을 받지 않는 것으로 생각된다.

혈장 부갑상선 호르몬 및 calcitonin 함량

혈장 부갑상선 호르몬 및 calcitonin 함량은 Table 8과 같다. 혈장의 부갑상선 호르몬과 calcitonin은 신체의 칼슘의 항상성을 유지시키는 중심적인 역할을 한다(18,36). 혈장 부갑상선 호르몬 함량이 난소를 절제한 군이 $64.9 \pm 4.8\text{pg}/\text{ml}$ 였고 난소를 절제하지 않은 군에서는 $55.2 \pm 4.7\text{pg}/\text{ml}$ 였다. 난소절제 여부에 따라서 혈장 부갑상선 호르몬 함량은 유의하지는 않았지만 난소를 절제한 군에서 다소 높은 경향이었는데 한 등(37)의 보고에 의하면 정상 여성과 폐경 여성간의 부갑상선 호르몬 함량은 두 군간에 유의한 차이는 없었으나 폐경 여성에서 다소 높은 경향으로 본 실험과 유사한 경향을 보였는데 이로 보아 난소절제에 의해 혈장 칼슘 함량의 감소가 혈장 부갑상선 호르몬 수준을 증가시켰으리라 사료된다. 난소절제 후 estrogen을 투여한 군에서 부갑상선 호르몬 함량은 $43.9 \pm 3.4\text{pg}/\text{ml}$ 로 난소를 절제한 군에 비해 유의하게 낮아져 혈장 중 부갑상선 호르몬 함량이 32%나 감소되었다. 김(38)의 보고에서도 난소절제 쥐에 estrogen을 투여한 결과 난소를 절제한 군에 비해 유의하게 혈청 중 부갑상선 호르몬 함량이 감소하였다고 하였는데 이와 같은 결과로 보아

Table 8. Concentration of parathyroid hormone and calcitonin in plasma

Groups ¹⁾	PTH(pg/ml)	Calcitonin(pg/ml)
Group 1 : Sham	55.2 ± 4.7^{ab}	43.3 ± 4.2^{ab}
Group 2 : S	64.9 ± 4.8^a	37.2 ± 3.3^b
Group 3 : HCaL	56.1 ± 7.3^{ab}	44.4 ± 2.0^{ab}
Group 4 : HCaC	54.2 ± 7.4^{ab}	42.9 ± 5.5^{ab}
Group 5 : E	43.9 ± 3.4^b	54.7 ± 2.9^a
Group 6 : E/HCaC	43.1 ± 2.7^b	57.9 ± 4.2^a
Group 7 : EGR	58.3 ± 7.1^{ab}	45.3 ± 9.9^{ab}
Group 8 : EGR/HCaC	49.9 ± 6.8^{ab}	58.3 ± 5.6^a
Group 9 : EGR/CaCGI	57.5 ± 3.9^{ab}	53.3 ± 6.0^a
F-value ²⁾		
A	NS	NS
B	NS	NS
C	NS	NS
D	<0.05	0.01
E	NS	NS

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean \pm standard error
Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups($p < 0.05$)

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups

A: Contrast of group 1 and group 2
B: Contrast of group 3 and group 4
C: Contrast of group 2 and group 3, 4
D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9
E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9
NS: Not significant

estrogen이 부갑상선 호르몬에 대한 감수성을 둔화시켜 골교체속도를 억제함으로써 골질량을 유지시킨다는 여러보고들과 일치하였다(5,6). 또한 고칼슘투여 군에서도 난소절제 군에 비해 혈장 부갑상선 호르몬 함량이 고젖산칼슘 투여군과 고탄산칼슘 투여군에서 각각 13%와 16%씩 감소되었다. Estrogen 점진적 감소군에서의 혈장 부갑상선 호르몬 함량이 $58.3 \pm 7.1\text{pg}/\text{ml}$ 으로 난소를 절제한 군에 비해 낮아진 경향이 있으나 큰 효과는 없었다. 그러나 estrogen을 점진적 감소와 고칼슘을 투여군에서의 혈장 중 부갑상선 호르몬 함량이 $49.9 \pm 6.8\text{pg}/\text{ml}$ 로 혈장 중 부갑상선 호르몬의 증가를 막는데 어느정도 효과가 있는 것으로 보여진다.

Calcitonin의 혈장 함량은 난소를 절제하지 않은 군의 $43.3 \pm 4.2\text{pg}/\text{ml}$ 에 비해 난소절제군에서는 $37.2 \pm 3.3\text{pg}/\text{ml}$ 으로 난소를 절제한군에서 다소 낮은 경향을 보였는데, 이것은 혈장 칼슘 함량의 감소로 인해 부갑상선 호르몬 수준이 증가함에 따라 혈장 calcitonin 함량은 낮아져 칼슘대사에 항상성을 유지하려 한 것으로 사료된다.

난소절제 후 estrogen 투여군에서는 혈장 calcitonin 함량이 $54.7 \pm 2.9\text{pg}/\text{ml}$ 로 난소를 절제한 군에 비해 유의하게 증가되었음을 나타냈다($p < 0.01$). 또한 난소 절

제후 estrogen/칼슘 혼합군에서도 혈장 calcitonin 함량이 $54.9 \pm 4.2 \text{ pg/ml}$ 로 난소를 절제한 군에 비해 높았다. 이런 결과로 보아 난소절제 후 estrogen 및 고칼슘 섭취로 인해 혈장 중 칼슘 함량이 증가함에 따라서 칼슘의 체내 항상성 유지를 위해 calcitonin 함량이 증가한 것으로 생각된다(39).

혈장 osteocalcin 함량과 AP 활성

혈장 osteocalcin 함량과 AP 활성은 Table 9와 같다. 혈장 osteocalcin 함량과 AP 활성은 골형성 지표로 대사성 골질환 등 골대사 회전이 활발할 때 즉, 골재형성 시 조골세포의 활동이 증가되어 골교체율이 빠를 때 혈장 농도가 증가된다(37,39). 혈장 osteocalcin 함량과 AP 활성은 난소를 절제하지 않은 군에 비해 난소를 절제한 군에서 유의하게 높게 나타났다($p < 0.001$). 이와 같은 결과로 볼 때 난소를 절제하지 않은 군 보다 난소를 절제한 군에서 골교체율이 빠르고 골손실이 많다고 볼 수 있다. 주(40)의 연구에서 혈청 AP 활성은 연령이 많아짐에 따라 AP 활성이 증가하여 폐경 전 40대 여성에 비해 폐경 후 50대, 60대 여성에서 직선적인 증가를 보였고 특히 60대는 40대에 비해 유의한 증가를 보인다고 하였다. Aloia 등(41)의 연구에서도 폐경 후 동일 연령의 정상인 보다 폐경 후 골다공증 환자군에서 혈청 내 AP 활성이 유의하게 높게 나타나 골질량과 음의 상관관계를 나타내었다고 보고하였다. Riggs 등(34)은

골다공증 환자에 estrogen 투여한 결과 AP 활성이 유의하게 감소하였다고 보고했다. 또한 본 실험에서 난소절제 후 estrogen 투여군에서 AP 활성은 $9.0 \pm 1.0 \text{ K-A}$ 로 난소절제군의 $14.2 \pm 1.3 \text{ K-A}$ 보다 유의하게 감소하였다($p < 0.0001$). 난소를 절제한 쥐를 대상으로 실험한 Morris 등(29)은 혈청에 AP 활성이 난소를 절제하지 않은 군에 비해 유의하게 높았으며, osteocalcin 함량은 유의하지는 않았으나 난소를 절제한 군에서 높게 나타났다고 하였으며 김(42)의 연구에서 난소를 절제한 쥐에서 osteocalcin 함량과 AP 활성이 난소를 절제하지 않은 군에 비해 증가하였다고 한 여러 선행연구와 본 실험의 결과는 일치하였다.

난소절제 후 estrogen 투여군에서 osteocalcin 함량이 $3.0 \pm 0.2 \text{ ng/ml}$ 이며 난소를 절제한 군에서의 osteocalcin 함량은 $4.4 \pm 0.2 \text{ ng/ml}$ 로 난소절제 후 estrogen 투여에 의해서 혈중 osteocalcin 함량이 감소함을 알 수 있었다. 한 등(37)도 골다공증 환자에게 estrogen을 투여한 결과 osteocalcin 함량이 4.27 ng/ml 에서 3.02 ng/ml 로 감소하는 결과를 보고해 본 실험의 결과와 일치하였다. 이것으로 보아 폐경 후 골교체율이 빠른 여성에게 estrogen을 투여하게 되면 골교체율을 감소시켜 골손실을 막을 수 있음을 확인할 수 있었다.

난소를 절제한 쥐에게 고칼슘 섭취군에서도 osteocalcin 함량과 AP 활성이 유의하게 감소했다. 고칼슘 섭취에 의해서도 골교체율을 감소시켜 골손실을 지연

Table 9. Osteocalcin and alkaline phosphatase content in plasma of experimental rats

Groups ¹⁾	Osteocalcin(ng/ml)	Alkaline phosphatase(K-A)
Group 1 : Sham	3.1 ± 0.2^c	8.0 ± 0.4^c
Group 2 : S	4.4 ± 0.2^a	14.2 ± 1.3^a
Group 3 : HCaL	3.1 ± 0.2^c	9.2 ± 0.6^{bc}
Group 4 : HCaC	2.9 ± 0.1^c	9.2 ± 0.4^{bc}
Group 5 : E	3.0 ± 0.2^c	9.0 ± 1.0^{bc}
Group 6 : E/HCaC	2.9 ± 0.1^c	8.6 ± 0.7^c
Group 7 : EGR	3.9 ± 0.3^{ab}	11.6 ± 0.9^{ab}
Group 8 : EGR/HCaC	3.2 ± 0.1^{bc}	9.0 ± 0.3^{bc}
Group 9 : EGR/CaCGI	3.1 ± 0.2^c	9.0 ± 0.3^{bc}
F-value ²⁾		
A	0.001	0.0001
B	NS	NS
C	0.0001	0.001
D	0.0001	0.001
E	NS	NS

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean \pm standard error

Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups($p < 0.05$)

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups

A: Contrast of group 1 and group 2

B: Contrast of group 3 and group 4

C: Contrast of group 2 and group 3, 4

D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9

E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9

NS: Not significant

시킬 수 있다고 사료된다. 특히, estrogen/칼슘 혼합군에서 osteocalcin 함량과 AP 활성이 가장 낮게 나타났는데 이것은 estrogen/칼슘 혼합시에 골교체를 감소시키는 상승효과(synergistic effect)라고 사료된다. Estrogen 점진적 감소군에서는 osteocalcin 함량과 AP 활성이 난소절제군에 비해 크게 감소하지 않았으나 estrogen 점진적 감소와 칼슘 점진적 증가 투여군에서는 osteocalcin 함량과 AP 활성이 현저히 감소함을 보여 주어 골교체가 빠른 골다공증 환자에게는 유용한 치료방법이라고 생각된다.

소변 중 hydroxyproline 함량

폐경 후 골손실은 골교체와 연관이 있으며 골교체는 여러가지의 생화학적 지표로 추정할 수 있다. 소변 중 hydroxyproline과 칼슘을 creatinine에 대한 비로 나타내어 골흡수의 지표로 추정한다. 소변 중 hydroxyproline 함량 및 hydroxyproline/creatinine ratio는 Table 10과 같다. 본 실험에서 소변 중 hydroxyproline 함량은 난소를 절제한 군이 277.9±8.3µg/24hr에 비해 난소를 절제하지 않은 군이 167.4±4.3µg/24hr로 난소를 절제한 군에 비해 유의하게 높았다(p<0.001). 또한 hydroxyproline/creatinine ratio도 난소를 절제한 군이 난소를 절제하지 않은 군에 비하여 유의하게 높았다(p<0.001). Horsman 등(43)은 칼슘 평형이 낮거나 소변의 hydroxyproline 배설량이 높은 사람들의 골격 손실이 더 빠르게 일어남을 보고 하였다.

본 실험에서 난소 절제 후 estrogen 투여군은 소변 중 hydroxyproline 함량이 202.1±7.6µg/24hr였고 hydroxyproline/creatinine ratio가 92.8±3.8µg/24hr로 난소를 절제한 군에 비하여 유의하게 낮았다(p<0.01). Riggs 등(34)은 골다공증 환자에서 estrogen을 투여한 결과 소변으로 배설되는 hydroxyproline 함량이 25.5µg/24hr에서 19.9µg/24hr로 현저히 감소하였다고 보고하였다. Christiansen 등(11)도 조기 폐경여성에게 estrogen을 투여한 결과 소변 중 hydroxyproline/creatinine와 calcium/creatinine가 유의하게 감소하였다고 보고하였다. 김(38)의 보고에서도 난소를 절제한 쥐에게 estrogen 투여한 결과 소변으로 배설되는 hydroxyproline 함량이 현저히 감소하였다고 보고하였다. 이들 결과로 보아 estrogen은 골흡수를 감소시켜 골손실을 막는 것을 시사하였다.

난소절제 후 estrogen/칼슘 혼합요법에서 소변 중 hydroxyproline 함량이 185.7±4.9µg/24hr로 난소를 절제한 군에 비해 매우 낮은 배설량을 보였다. 이것은 estrogen과 칼슘의 혼합투여가 골흡수를 막는데 좀더 효과적이라는 것을 시사하는 점이라 사료된다.

젖산칼슘 투여 및 탄산칼슘 투여군에서 소변으로의 hydroxyproline 배설량이 크게 감소하지는 않았으나 estrogen 점진적 감소와 고칼슘 투여군 및 estrogen 점진적 감소와 칼슘 점진적 증가 투여군에서 각각 221.4±18.8 및 211.9±15.9µg/24hr로 소변으로의 hydroxyproline 배설량은 난소를 절제한 군에 비해 현저히 감

Table 10. Hydroxyproline excretion for 24 hours and ratio of creatine per hydroxyproline of experimental rats

Groups ¹⁾	Hydroxyproline excretion(µg/24 hours)	Hydroxyproline/Creatinine(10 ⁻³)
Group 1 : Sham	167.4± 4.3 ^f	69.2± 8.9 ^d
Group 2 : S	277.9± 8.3 ^a	125.3±10.5 ^a
Group 3 : HCaL	223.2±11.6 ^{abcd}	95.6± 5.1 ^{bcd}
Group 4 : HCaC	228.1± 4.7 ^{bc}	96.2± 3.8 ^{bc}
Group 5 : E	202.1± 7.6 ^{cd}	92.8± 3.8 ^{bcd}
Group 6 : E/HCaC	185.7± 4.9 ^{ef}	86.0± 1.9 ^{cd}
Group 7 : EGR	250.1±10.9 ^{ab}	108.3± 3.0 ^{ab}
Group 8 : EGR/HCaC	221.4±18.8 ^{cd}	95.2± 6.9 ^{cd}
Group 9 : EGR/CaCGI	211.9±15.9 ^{cd}	97.6± 7.7 ^{bc}
A	0.0001	0.0001
B	NS	NS
F-value ²⁾	0.01	0.01
C	0.0001	0.01
D	NS	NS
E		

¹⁾See the legend of Table 1

All values are the mean±standard error

Values bearing different superscripts are significantly different among experimental groups(p<0.05)

²⁾Determined by Kruskal-Wallis procedure for contrast among groups

A: Contrast of group 1 and group 2

B: Contrast of group 3 and group 4

C: Contrast of group 2 and group 3, 4

D: Contrast of group 2 and group 5, 6, 7, 8, 9

E: Contrast of group 5 and group 6, 7, 8, 9

NS: Not significant

소함을 알 수 있었다.

요 약

본 연구는 폐경 후 여성에게 식이 칼슘염 형태, 에스트로젠 및 에스트로젠/칼슘 혼합요법이 골대사의 생화학적 변화에 미치는 영향을 알아보기로 난소절제쥐를 이용한 총 9군으로 분류하여 6주간 사육한 후 그 효과를 살펴보았다. 식이 섭취량, 식이 효율 및 체중증가량은 난소절제로 현저히 증가하였으나 난소절제 후 estrogen 투여군 모두에서 식이 섭취량이 크게 감소되었다. 골흡수의 지표로 사용되는 소변으로 배설되는 hydroxyproline 함량은 난소절제로 현저히 증가하였으나, 난소절제 후 estrogen 투여군 모두에서 감소하였는데, 특히 estrogen/칼슘 혼합 투여군에서 가장 많은 감소를 나타내었다. 혈장 부갑상선 호르몬 함량은 난소절제로 다소 증가하나, 난소절제 후 estrogen 및 estrogen/칼슘 혼합군에서 혈장 중 부갑상선 호르몬 수준이 32%나 감소되었다. 그러나 estrogen 점진적 감소군에서는 현저한 감소를 나타내지 않았다. 골생성 및 조골세포형성의 지표인 osteocalcin 함량과 AP 활성은 난소절제로 현저히 증가하였으나, 난소절제 후 estrogen 투여군 모두에서 감소하였다. 이상의 성적으로 보아 estrogen 및 estrogen/칼슘 혼합요법은 골교체를 감소시켜 골손실을 방지하는데 효과적인 방안임을 확인할 수 있었으며, 한편 estrogen 점진적 감소요법은 골손실 감소에 크게 기여하지 못하나, estrogen 점진적 감소와 고칼슘 투여군, estrogen 점진적 감소와 칼슘 점진적 증가군에서는 골손실을 상당량 방지할 수 있음을 알 수 있었다. 칼슘염 종류에 따른 골손실에 미치는 생화학적 요인들의 변화는 크게 나타나지 않았다.

감사의 글

본 논문은 1995년 한국학술진흥재단의 공모과제연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. 임종권, 공세권, 김진숙 : 한국노인의 생활실태. 한국인 구보건연구원, p.61(1985)
2. Harrison, M. and Fraser, R. : Calcium metabolism in osteoporosis. *Lancet*, **1**, 1015(1961)
3. Whedon, G. D. : Effects of high calcium intakes on bones, blood and soft tissue; relationship of calcium intake to balance in osteoporosis. *Fed. Proc.*, **18**, 1112(1959)
4. Reid, I. R. and Ibbertson, H. K. : Calcium supplements in the prevention of steroid-induced osteoporosis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **44**, 287(1986)
5. Riggs, B. L. and Melton III, L. J. : Involutional osteoporosis. *N. Engl. J. Med.*, **314**, 1676(1986)
6. Wronski, T. J., Cintron, M., Doherty, A. L. and Dann, L. M. : Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinology*, **123**, 681(1988)
7. Anderson, J. J. B., Greenfield, J. W., Posada, J. R. and Crackel, W. C. : Effect of estrogen on bone mineral turnover in mature female rats as measured by strontium, 85'. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **135**, 883(1970)
8. Cauley, J. A., Gutai, J. P., Sandler, R. B., Laporte, R. E., Kuller, L. H. and Sashin, D. : The relationship of endogenous estrogen to bone density and bone area in normal postmenopausal women. *Am. J. Epidemiol.*, **1214**, 752 (1986)
9. Cruess, R. L. and Hong, K. C. : The effect of long term estrogen administration on bone metabolism in the female rat. *Endocrinology*, **104**, 1188(1979)
10. Horsman, A., Jones, M., Francis, R. and Nordin, C. : The effect of estrogen dose on postmenopausal bone loss. *N. Engl. J. Med.*, **309**, 1405(1983)
11. Christiansen, C., Christensen, M. S., Larsen, N. E. and Transbø, I. B. : Pathophysiological mechanisms of estrogen effect on bone metabolism : Does-response relationships in early postmenopausal woman. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **55**, 1124(1982)
12. Orimo, H., Fujita, T. and Yoshikawa, M. : Increased sensitivity of bone to parathyroid hormone in ovariectomized rats. *Endocrinology*, **90**, 760(1972)
13. Lindgren, U. and Deluca, H. F. : Role of parathyroid hormone and 1,25-dihydroxy vitamin D₃ in the development of osteopenia in oophorectomized rats. *Calcif. Tissue Int.*, **34**, 510(1982)
14. Jowsey, J. and Raisz, L. G. : Experimental osteoporosis and parathyroid activity. *Endocrinology*, **82**, 384(1968)
15. Ash, S. L. and Goldin, B. R. : Effect of age and estrogen on renal vitamin D metabolism in female rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, **47**, 694(1988)
16. Armbrrecht, H. J., Zenser, T. V. and Davis, B. B. : Effect of vitamin D metabolites on intestinal calcium absorption calcium-binding protein in young and adult rats. *Endocrinology*, **106**, 469(1980)
17. Norman, A. W. and Hurwitz, S. : The role of the vitamin D endocrine system in Avian bone biology. *J. Nutr.*, **123**, 310(1995)
18. Austin, L. A. and Heath III, H. : Calcitonin : Physiology and pathophysiology. *N. Engl. J. Med.*, **304**, 269(1981)
19. Albright, F., Smith, P. H. and Richardson, A. M. : Postmenopausal osteoporosis : its clinical features. *J. Am. Med. Ass.*, **116**, 2465(1941)
20. Hdund, L. R. and Gallagher, J. C. : The effect of age and menopause on one mineral density of the proximal femur. *J. Bone. Mineral Res.*, **4**, 639(1989.)
21. Heaney, R. P. : The calcium controversy : a middle ground between the extremens. Public Health rep(in press)

22. Jick, H., Walker, A. M., Watkins, R. M. and D'wart, C. C. : Replacement of estrogens and breast cancer. *Am. J. Epidemiol.*, **112**, 586(1980)
23. La Vecchia, C., Decarli, A. and Paraccini, F. : Non-contraceptive estrogens and the risk of breast cancer in women. *Int. J. Cancer*, **38**, 853(1986)
24. Geola, F. L., Frumar, A. M., Tataryn, I. V., Lu, K. H., Hershman, J. M., Eggena, P., Sambhi, M. P. and Judd, H. L. : Biological effects of various doses of conjugated equine estrogen in postmenopausal woman. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, **51**, 620(1980)
25. The American Institute of Nutrition : Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340(1977)
26. 이삼열, 정윤섭 : 임상병리검사법. 연세대학교 출판부(1987)
27. 지현숙 : 임상병리학. 대한임상병리학회편. 고려의학사 p.72(1996)
28. Blumenkrantz, N. and Asboe-Hansen, G. : A quick and specific assay hydroxyproline. *Anal. Biochem.*, **55**, 288(1973)
29. Morris, H. A., Porter, S. J., Durbridge, T. C., Moore, R. J., Need, A. G. and Nordin, B. E. C. : Effects of oophorectomy on biochemical and bone variables in the rat. *Bone and Mineral*, **18**, 133(1992)
30. 윤정환, 이상진 : 난소절제에 의해 유발된 과식현상이 소장적응변화에 미치는 영향. 한국영양학회지, **21**, 182(1988)
31. Danielson, C. C., Mosekilde, L. and Svenstrup, B. : Cortical bone mass, composition and mechanical properties in female rats in relation to age, long-term ovariectomy, and estrogen substitution. *Calcif. Tissue. Int.*, **52**, 26(1993)
32. 배영란, 유춘희, 김유리, 김현숙 : 에어로빅 운동과 칼슘보충이 폐경이후 여성의 칼슘대사에 미치는 영향. 한국영양학회지, **24**, 114(1991)
33. Thomas, M. L., Simmon, D. J., Kidder, L. and Ibarra, M. J. : Calcium metabolism and bone mineralization in female rats fed diets marginally sufficient in calcium : effects of increased dietary calcium intake. *Bone and Mineral*, **12**, 1(1991)
34. Riggs, B. L., Jowsey, J., Kelly, P. J., Jones, J. D. and Maher, F. T. : Effect of sex hormones on bone in primary osteoporosis. *J. Clin. Invest.*, **48**, 1065(1969)
35. Ormoy, A., Giror, S., Aner, R., Goldstein, M., Boyan, B. D. and Schwartz, Z. : Gender dependent effects of testosterone and 17β -estradiol on bone growth and modeling in young mice. *Bone and Mineral*, **24**, 43(1994)
36. Austin, L. A., Health, H. and Go, V. L. W. : Regulation of calcitonin secretion in normal man by changes of serum calcium with the physiologic range. *J. Clin. Invest.*, **64**, 1721(1979)
37. 한인곤, 박원근, 최태환, 신현호, 김선우 : 한국인 갱년기 여성의 골밀도 및 호르몬 변화에 관한 연구. 대한내분비학회지, **4**, 21(1989)
38. 김미현 : 난소절제 쥐에게 estrogen을 투여했을 때 식이 단백질 수준이 Ca 및 골격대사에 미치는 영향. 이화여자대학교 대학원 석사학위논문(1993)
39. 장준섭 : 골대사와 홀몬조절. 최신의학, **30**, 11(1987)
40. 주영신 : 한국 중년여성의 연령증가에 따른 골밀도 변화에 관한 연구. 이화여자대학교 대학원 석사논문(1989)
41. Aloia, J. F., Cohr, S. H., Vaswani, A., Yeh-J. K., Yuen, K. and Ellis, K. : Rich factors for postmenopausal osteoporosis. *Am. J. Med.*, **78**, 95(1985)
42. 김경희 : 난소절제한 흰쥐에서 식이칼슘량이 생화학적 요인 및 골밀도에 미치는 영향. 계명대학교 대학원 석사논문(1993)
43. Horman, A., Gallagher, J. C., Simpsom, M. and Nordin, B. E. C. : Prospectivetrial of oestrogen and calcium in postmenopausal women. *Br. Med. J.*, **2**, 789(1977)

(1996년 9월 21일 접수)