

## 난소를 절제한 나이가 다른 흰쥐에서 식이 칼슘 수준이 골격 대사에 미치는 영향

김화영 · 최현규 · 이현숙

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과

### The Effects of Dietary Ca Levels on Ca and Skeletal Metabolism in Ovariectomized Rats of Different Ages

Kim, Wha Young · Choi, Hyun Kyu · Lee, Hyun Sook

Department of Food & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

#### ABSTRACT

To investigate the effect of dietary Ca levels on metabolic changes of Ca and skeleton in postmenopausal women, 10-month-old ovariectomized female rats were compared with 2 month old rats. The rats were fed either 0.2% or 1.2% Ca diets for 16 weeks. Food intake and weight gain as higher in rats fed high Ca diets and in ovariectomized rats. Apparent Ca absorption as higher, and Ca balance was lower in the low Ca groups. Vertebrae density was higher in old rats or those fed a high Ca diet. The old rats and ovariectomized rats showed decreased bone formation, increased bone resorption and kidney function deterioration resulting in increased urinary Ca excretion. Contradictory to the above observation, old rats and ovariectomized rats still showed higher bone mass and bone ash content. Therefore aging was not fully ongoing in 10-month-old rats. Bone weights, mineral contents, and mineral/wt ratio were lower in ovariectomized rats. Dietary Ca level did not affect urinary Ca excretion, urinary protetin excretion, GFR, serum alkaline phosphatase, or urinary hydroxyproline excretion. This means that dietary Ca level did not influence kidney function or bone turnover. However Ca content and the ash content of femur, 4th vertebra, and scapula were increased in high Ca groups. Therefore, it is considered that decreased bone formation and accelerated bone resorption may account for the increased osteoporotic risk in women in menopause after middle age. However, Ca metabolism can be improved and bone components can be maintained if Ca is supplemented. (*Korean J Nutrition* 31(4) : 716~728, 1998)

**KEY WORDS :** dietary Ca level · ovariectomy · serum alkaline phosphatase · urinary hydroxyproline · Ca balance · mineral apposition rate.

#### 서론

최근 국내외적으로 노년층 인구의 증가에 따라 골다

공증으로 인한 척추 골절과 요골 원위부 및 대퇴 근위부의 골절의 발생빈도가 높아져 골다공증에 대한 관심이 고조되고 있다. 골다공증이란 골밀도가 감소하는 것으로 폐경 후 1년 이내에 척추의 압박 골절이 주로 발생하는 폐경기후 골다공증과, 70세 이후에 대퇴골 골절

이 주로 발생하는 노인성 골다공증으로 분류된다.

노인성 골다공증은 골 형성이 감소하고 골 재흡수가 증가하므로 골밀도가 감소하여 발생한다<sup>2)</sup>. 노인성 골다공증은 70세 이상의 노인에게서 자주 발생하며 노인 여성의 1/2 이상과 노인 남성의 1/4 이상이 노인성 골다공증을 나타내는 것으로 보고되고 있다<sup>3)</sup>. 폐경기 후 골다공증은 폐경이 직접적인 원인으로 estrogen의 감소에 기인한다. 중년 이후 여성의 골밀도는 폐경 직후인 50~64세 사이에서는 골밀도가 매년 1~2%씩 빠르게 감소하고 폐경 20년 후부터는 매년 약 0.18%씩 완만하게 감소한다<sup>4)</sup>. 김화영과 김미현<sup>5)</sup>은 난소절제 쥐에게 estrogen을 투여하였을 때 칼슘 흡수율이 증가하고 대퇴골 회분 함유율이 증가하였다고 보고하여 estrogen이 칼슘 흡수에 영향 미침을 보여주었다.

칼슘 섭취의 부족은 골다공증의 또 다른 주요 원인이 다. 골다공증 환자는 같은 연령에 있는 정상인에 비해 식이 칼슘 섭취가 부족한 것으로 나타났다<sup>6,7)</sup>. 칼슘 섭취가 부족하게 되면 혈청 칼슘 수준이 감소하게 되고 부갑상선호르몬이 분비되어 뼈의 칼슘 재흡수가 가속화되므로 골다공증을 일으키게 된다. 우리나라에서는 현재 가장 부족한 영양소가 칼슘이고, 노년층으로 갈수록 칼슘 부족 현상이 현저하게 나타나고 있다<sup>8)</sup>. 한국 남녀 노인 중에 1일 칼슘 섭취량이 229~400mg인 사람은 대퇴 경부 골밀도가 0.52~0.53인 반면 525~895mg인 사람은 이 부위의 골밀도가 0.76~0.92로 나타났다<sup>9)</sup>. 또한 55세와 65세 사이의 여성에게서 2년동안 중수골의 피질 부위가 1.18% 감소한 것에 비해 같은 연령의 여성에게 하루 1.04g의 Ca를 2년간 보충해 준 결과 0.22%만 감소하였다<sup>10)</sup>.

고단백 식이는 신장 기능을 저하시켜 노 Ca 배설을 증가시키며 골격 재흡수도 증가시킨다는 사실이 사람과 동물을 대상으로 한 여러 연구들에서 보고되어 있다<sup>11)40-42)</sup>. 1995년 국민영양조사결과에 의하면 우리나라 성인의 단백질 섭취는 권장량의 121.8%로 1984년 이후 계속 권장량 이상을 섭취하고 있는 것으로 나타났다.

이상과 같이 폐경후 여성에게, 혹은 노인에게 Ca 섭취 수준이 어떤 영향을 미치는가에 대해서 여러 선행 연구가 있어 왔다. 그러나 식이 단백질 수준이 높은 현실을 감안하여 골다공증의 위험 집단인 노인 및 여성에 대한 Ca 보충이 어떤 영향을 미칠 것인가에 대한 연구는 많지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서는 난소를 절제하여 인위적으로 폐경을 유도한 암컷 쥐를 대상으로 고단백식을 섭취시키면서 Ca 수준을 달리한 식이를 공급했을 때 Ca과 골격 대사에 미치는 영향을 조사하기 위하여 계획되었다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험 동물의 사육 및 식이

본 연구는 10개월(체중 : 260~490g)과 2개월된(체중 : 180~260 g) 암컷 흰쥐(서울대 보건 대학원 동물 사육실)를 구입하여 고탄사료로 1주일간 적응시킨후 체중에 따라 난괴법에 의해 두 군으로 나누어 난소 절제 수술(ovariectomy) 또는 sham-operation을 실시하고 1주일간 회복시켰다. 이들을 다시 나이, 난소 절제 여부에 따라 각기 2군으로 나누어 Ca 수준을 0.2% 또는 1.2%로 달리한 실험 식이로 16주간 사육하였다. 즉 실험군은 나이든 쥐(10개월령) - 난소절제 - 고Ca군(OOH : 8마리), 나이든 쥐 - 난소절제 - 저Ca군(OOL : 8마리), 나이든 쥐 - sham - 고Ca군(OSH : 6마리), 나이든 쥐 - sham - 저Ca군(OSL : 7 마리), 어린 쥐(2개월령) - 난소절제 - 고Ca군(YOH : 7마리), 어린 쥐 - 난소절제 - 저Ca군(YOL : 8마리), 어린 쥐 - sham - 고Ca군(YSH : 8마리), 어린 쥐 - sham - 저Ca군(YSL : 7마리)의 8군이였다.

식이 내 Ca과 P의 함량은 3 : 2의 비율이 되도록 조절하였는데, 미리 casein 내의 Ca과 P의 함량을 분석하여 casein에 들어 있는 양을 제외한 양을 CaCO<sub>3</sub>와 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O로 첨가해 주었다. 모든 실험 식이의 단백질은 25% casein을 포함하도록 하였고 지방으로는 옥수수유를 10% 수준으로 함유하도록 하였다. 탄수

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

	Ca content(% kg diet)	
	1.2%	0.2%
Corn starch	547.68	607.99
Casein	250	250
Corn oil	100	100
Salt mixture <sup>1)</sup>	14.72	14.72
Vitamine mixture <sup>2)</sup>	10	10
CaCO <sub>3</sub>	1.29	0.56
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	10.25	71.29
Choline Chloride	2	2
D-Methionine	3.75	3.75

1) Salt mixture(mg/kg mixture) : MgCO<sub>3</sub>6900, ZnCO<sub>3</sub>96, FeSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 124, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 150, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 20, KI 1.3, NaCl 2300, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>1600, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>3530, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>0.22

2) Vitamine mixture(mg/kg mixture) : Thiamine · HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine · HCl 700, Nicotinic acid 3000, D-Calcium pantothenate 1600, Folic acid 200, Vitamine B<sub>12</sub>1, Retinyl palmitate(Vit.A)120, D,L- $\alpha$ -Tocopherylacetate(Vit.E)5000, Cholecalciferol(Vit.D<sub>3</sub>) 2.5, Menadione(Vit.K) 5.0, D-Biotin 20, Sucrose finely powdered to make 1000g

화물의 급원은 옥수수 전분을 사용하였다(Table 1). 실험 동물은 한마리씩 분리하여 사육하였고 물과 식이는 제한 없이 제공하였으며, 물은 1차 증류수를 사용하였다.

## 2. 시료의 채취 및 생화학적 분석

사육기간중 4주, 8주, 12주, 16주에 혈액과 뇨와 변을 채취하였다. 뇨와 변은 선행연구<sup>9)</sup>와 같은 방법으로 대사장에서 수집하였고 사육기간 중의 혈액은 실험동물의 안저정맥(ophtalmic venous plexux)에서 채취하였다. 사육 기간이 끝난후에는 희생 시키기 전 12시간을 굶긴 후 ethyl ether로 마취시킨 후 복개하여 heart puncture에 의해 혈액을 채취하였고 대퇴골과 4번째 척추골, 견갑골을 떼어내어 800℃에서 12시간 회화시켜 분석에 사용하였다.

Creatinine clearance는 뇨와 혈청의 creatinine 농도로부터 구하였다<sup>12)</sup>. 뇨중 단백질 함량은 Lowry법<sup>13)</sup>을 이용하여, 뇨중 hydroxyproline 함량은 Blumenkrantz와 Asboe-hansen 방법<sup>14)</sup>에 의해 측정하였다. 뇨와 뼈의 Ca 함량은 이미 보고한 방법<sup>15)</sup>에 의하여 측정하였다. 혈청의 Alkaline phosphatase는 kit (아산제약)를 사용하여 분석하였다.

뼈의 무기질 축적률(Mineral apposition rate) 및 해면골 밀도 측정을 위해 6마리의 쥐를 서울대학교 치과대학 구강병리과에 의뢰하여 골격조직검사를 실시하였다. 이때 조직 검사를 한 쥐는 각 나이군에서 실험 8주째의 뇨 hydroxyproline 배설량이 높은 쥐 2마리와 가장 낮은 쥐 1마리를 선정하여 희생시키기 26일전과 7일전에 각각 demeclocycline과 calcein을 1.5mg/100g B.W.으로 투여하였다. 희생 후 이들 뼈를 석회화한 채로 10 $\mu$ m의 두께로 연마하여 형광현미경으로 관찰하였으며 media cybernatics의 Image Pro 3.0으로 골주의 밀도와 형광 물질의 밴드에 의해 형성되는 신생골의 두께를 측정하였다.

## 3. 자료의 처리

실험 결과는 SAS 프로그램을 이용하여 각 실험군의 평균치와 표준 오차를 계산하였으며 난소 절제 유무, 식이 Ca 수준에 의한 영향을 보기 위해 2way ANOVA를 실시하였고, 4주, 8주, 12주, 16주에 측정된 자료는 난소 절제 유무, 식이 Ca 수준, 기간에 의한 영향을 보기 위해 3way ANOVA를 실시하였다. 이러한 차이가 나이에 따라 영향을 받는 지를 알아보기 위해 난소 절제 유무나 식이 칼슘 수준이 같은 경우에 나이가 다른 두 군에 대하여 t-test를 실시하여  $\alpha=0.05$  수준에서 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 식이섭취량 및 체중증가량

실험기간 16주 동안의 총 식이 섭취량 및 체중 증가량은 Table 2에 나타내었다. 총 식이 섭취량은 10개월 된 쥐나 2개월된 쥐에서 모두 난소 절제, 식이 칼슘 수준에 따른 차이는 없었다. 총 체중 증가량은 2개월된 쥐(YOH, YOL, YSH, YSL)가 10개월된 쥐에 비해 높았다. 10개월 된 쥐에서는 저칼슘군(OOL, OSL)이 고칼슘군에 비해 유의적으로 높았다. 2개월된 쥐에서는 난소 절제와 식이 칼슘 수준에 의한 영향이 나타나 난소 절제군이 대조군에 비해, 저칼슘군이 고칼슘군에 비해 총 체중 증가량이 높았다.

난소 절제군의 체중 증가가 대조군에 비해 높은 것은 다른 보고<sup>16)</sup>와 같은 것으로 이는 Wronski 등<sup>17)</sup>이 제시한 것처럼 난소를 절제한 흰쥐가 체중을 증가시킴으로

Table 2. Diet intake and weight gain

	Total diet intake (g/16weeks)	Weight Gain (g/16 weeks)
OOH <sup>1)</sup>	1825.9 $\pm$ 75.26 <sup>2)</sup>	30.36 $\pm$ 10.5*
OOL	1849.0 $\pm$ 104.2	39.22 $\pm$ 19.30*
OSH	1658.3 $\pm$ 109.0	-15.76 $\pm$ 4.21*
OSL	1952.5 $\pm$ 66.81	25.58 $\pm$ 15.96*
SF <sup>3)</sup>	NS	B
YOH	1700.8 $\pm$ 80.01	79.31 $\pm$ 11.63
YOL	1789.2 $\pm$ 57.76	114.08 $\pm$ 20.69
YSH	1727.5 $\pm$ 88.87	41.52 $\pm$ 4.63
YSL	1778.6 $\pm$ 52.31	79.77 $\pm$ 8.83
SF <sup>3)</sup>	NS	A, B

1) Group abbreviations are as follows : OOH=10month old, ovariectomized, 1.2% dietary Ca level group ; OOL=10 month old, ovariectomized, 0.2% dietary Ca level group ; OSH=10month old, sham-operated, 1.2% dietary Ca level group ; OSL=10 month old, sham-operated, 0.2% dietary Ca level group ; YOH=2 month old, ovariectomized, 1.2% dietary Ca level group ; YOL=2 month old, ovariectomized, 0.2% dietary Ca level group ; YSH=2 month old, sham-operated, 1.2% dietary Ca level group ; YSL=2 month old, sham-operated, 0.2% dietary Ca level group

2) Mean  $\pm$  SE

\*denote statistically significant differences( $p<0.05$ ) in the effect of age between 10month old rats and 2 month old rats, which are the same in the level of ovariectomy or dietary Ca level, by Student's t-test

3) significant factor from 2-way ANOVA ;

A : statistically significant( $p<0.05$ ) in the effect of ovariectomy by F-test

B : statistically significant( $p<0.05$ ) in the effect of dietary Ca level by F-test

NS : not statistically different( $p<0.05$ ) among groups

써 체중 지탱 능력(weight bearing activity)를 키우고 에스트로젠 생성이 가능한 체지방을 증가시키려는 기전으로 풀이된다. 특히 이 난소 절제에 의한 체중 증가 효과는 2개월된 쥐에서 두드러졌고 이는 성장기에 있었기 때문이라 생각된다.

2. 칼슘 대사

사육 기간 동안 4주 간격으로 측정된 뇨칼슘 배설량, 칼슘 흡수율 및 칼슘 균형은 Table 3에 제시하였다. 뇨칼슘 배설량은 10개월된 쥐에서 난소절제군이 대조군에 비해 높았고 사육 기간이 경과함에 따라 증가하였으

Table 3. Urinary Ca excretion, apparant Ca absoprtion, and Ca balance

Period (week)		Ca intake (mg/d)	Fecal Ca excretion (mg/d)	Urinary Ca excretion (mg/d)	Apparant Ca absorption (%)	Ca balance (mg/d)
4	OOH	198.46 ± 15.72 <sup>1)</sup>	162.20 ± 15.14	0.44 ± 0.01*	19.00 ± 2.05	36.03 ± 3.48
	OOL	35.51 ± 1.51	25.18 ± 0.83	0.42 ± 0.02*	28.75 ± 1.51	9.92 ± 0.88
	OSH	189.68 ± 23.11	152.26 ± 17.39	0.41 ± 0.04*	19.17 ± 1.17	37.02 ± 5.82
	OSL	36.91 ± 2.06	24.77 ± 0.89*	0.40 ± 0.01*	32.14 ± 2.36	11.74 ± 1.42
8	OOH	150.27 ± 6.94	118.42 ± 10.57	0.47 ± 0.01*	22.13 ± 0.81	32.64 ± 1.63
	OOL	28.50 ± 0.73	19.49 ± 0.60*	0.45 ± 0.02*	30.88 ± 1.16	8.36 ± 0.45
	OSH	146.12 ± 9.91	111.38 ± 6.90	0.43 ± 0.02*	23.50 ± 1.89	34.31 ± 4.50
	OSL	27.91 ± 1.06	19.23 ± 0.95	0.43 ± 0.01*	31.14 ± 1.50	8.25 ± 0.39
12	OOH	162.17 ± 7.30	131.44 ± 6.81	0.50 ± 0.03*	19.05 ± 1.30	30.23 ± 2.14
	OOL	29.92 ± 1.23	20.67 ± 0.66*	0.42 ± 0.04*	30.81 ± 1.01	8.83 ± 0.66
	OSH	138.04 ± 7.10	112.05 ± 5.11	0.43 ± 0.05*	19.19 ± 0.81	26.32 ± 2.14
	OSL	32.60 ± 1.83	21.84 ± 1.20	0.64 ± 0.11*	32.95 ± 0.79	10.11 ± 0.75
16	OOH	197.22 ± 5.91	165.03 ± 14.09*	0.53 ± 0.02*	16.13 ± 0.79*	31.65 ± 2.12
	OOL	27.83 ± 1.52	19.47 ± 1.13	0.53 ± 0.02*	30.00 ± 1.61	7.83 ± 0.65
	OSH	185.65 ± 4.41	153.30 ± 3.38	0.50 ± 0.02*	17.50 ± 0.62	31.86 ± 1.59
	OSL	31.75 ± 0.47 <sup>^</sup>	21.93 ± 0.57*	0.51 ± 0.03*	31.00 ± 1.66	9.31 ± 0.54
	SF <sup>2)</sup>	B, C, B*C	B, C, B*C	A, C	B, C	B
4	YOH	191.28 ± 13.79	150.85 ± 10.41	0.28 ± 0.03	20.86 ± 0.74	40.15 ± 3.75
	YOL	33.58 ± 2.51	23.37 ± 1.38	0.25 ± 0.02	30.88 ± 1.99	10.4 ± 1.13
	YSH	207.20 ± 18.54	161.38 ± 14.90	0.21 ± 0.02	22.00 ± 1.61	45.61 ± 5.38
	YSL	31.78 ± 1.71	21.50 ± 1.16	0.20 ± 0.02	32.14 ± 0.99	10.09 ± 0.70
8	YOH	153.73 ± 8.10	118.10 ± 6.86	0.32 ± 0.04	23.14 ± 0.83	35.21 ± 1.84
	YOL	26.38 ± 1.59	17.66 ± 1.30	0.31 ± 0.03	33.13 ± 1.91	8.41 ± 0.65
	YSH	145.16 ± 7.06	106.79 ± 5.29	0.27 ± 0.01	26.38 ± 0.56	38.10 ± 2.01
	YSL	27.14 ± 0.94	17.47 ± 0.33	0.26 ± 0.02	35.29 ± 2.93	9.41 ± 1.11
12	YOH	155.38 ± 7.39	122.53 ± 4.78	0.37 ± 0.05	20.93 ± 0.85	32.49 ± 2.70
	YOL	26.83 ± 1.55	17.83 ± 1.06	0.50 ± 0.11	33.56 ± 0.65	8.49 ± 0.52
	YSH	141.33 ± 7.39	111.05 ± 4.72	0.30 ± 0.02	21.11 ± 0.10	29.96 ± 2.81
	YSL	29.21 ± 1.13	19.18 ± 0.35	0.34 ± 0.04	34.48 ± 1.69	9.82 ± 0.83
16	YOH	180.72 ± 5.60	145.70 ± 5.65	0.40 ± 0.03	19.29 ± 0.92	34.62 ± 1.31
	YOL	25.79 ± 0.99	17.61 ± 0.65	0.39 ± 0.03	31.63 ± 1.57	7.79 ± 0.64
	YSH	192.66 ± 6.07	156.70 ± 6.09	0.36 ± 0.02	18.63 ± 1.00	35.60 ± 1.62
	YSL	25.09 ± 0.93	16.01 ± 0.46	0.35 ± 0.03	35.86 ± 2.54	8.72 ± 0.90
	SF <sup>2)</sup>	B, C, B*C	B, C, B*C	A, C	B, C	B, C

1) Mean ± SE

\* denote statistically significant differences(p < 0.05) in the effect of age between 10month old rats and 2' month old rats, which are the same in the level of ovariectomy or dietary Ca level, by Student's t-test.

2) significant factor from 3-way ANOVA :

A : statistically significant(p < 0.05) in the effect of ovariectomy by F-test

B : statistically significant(p < 0.05) in the effect of dietary Ca level by F-test

C : statistically significant(p < 0.05) in the effect of experimental period by F-test

B\*C : statistically significant(p < 0.05) in the interactive effect of dietary Ca level and experimental period by

F-test. NS : not statistically different(p < 0.05) among groups

나 식이 칼슘 수준에 의한 유의적인 영향은 발견되지 않았다. 10개월된 쥐에서 칼슘흡수율(apparent Ca absorption ratio)은 전기간에 걸쳐 저칼슘군에서 높았고, 난소절제에 의한 영향은 없었으며 8주까지는 증가하다가 12주 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 칼슘 균형은 고칼슘군에서 높게 나타났고, 난소절제나 사육 기간에 의한 영향은 나타나지 않았다. 2개월된 쥐는 노칼슘 배설량, 칼슘흡수율, 칼슘 균형에 있어 10개월된 쥐에서와 같은 경향을 보였다. 10개월된 쥐는 2개월된 쥐에 비해 노 Ca 배설량이 유의적으로 높았고, 칼슘 흡수율은 낮았다.

나이가 증가할수록 노 칼슘 배설량이 증가한다는 것은 10개월된 수컷 흰쥐가 1개월된 수컷 흰쥐에 비해 노칼슘 배설량이 높았다고 보고한 안주원과 김화영<sup>24)</sup>의 연구에서도 마찬가지였다. 또한 본 실험 결과 난소를 절제한 흰쥐들에게서 노칼슘 배설량이 높게 나타났다. Yendt<sup>25)</sup>에 의하면 난소 절제에 의해 estrogen의 수준이 감소하면서 신장 기능에 영향을 미쳐 신세뇨관에서의 칼슘 재흡수를 감소시키므로 고칼슘노증을 유발하게 된다고 한다. 본 연구에서 10개월된 쥐와 난소를 절제한 쥐에서 노칼슘 배설량이 높은 것을 볼 때 소장 내 칼슘흡수율의 증가, 혹은 골격 재흡수의 증가를 그 원인으로 짐작해 볼 수 있다. 그러나 본 실험 결과 칼슘흡수율에 나이와 난소 절제가 유의적인 영향을 미치지 않았으므로 나이가 많거나 난소를 절제한 경우 나타난 노칼슘 배설량의 증가는 칼슘흡수율의 차이에 의한 것은 아닌 것으로 보인다.

식이 칼슘 수준이 노칼슘 배설량에 미치는 영향에 대해서는 다양한 결과가 보고되었다. Gilantz 등<sup>26)</sup>은 성장기의 토끼에게 저칼슘 식이를 섭취 시켰을 때 노칼슘 배설량이 감소했다고 보고하였다. 그러나 Matkovic 등<sup>27)</sup>에 의하면 사춘기 소녀에게서 노칼슘 배설량이 식이 칼슘의 증감과 관련이 없다고 하였다. 본 실험에서는 노칼슘 배설량은 식이 칼슘 수준에 의한 영향을 받지 않았다.

이런 결과들로 볼 때 난소를 절제한 쥐나 10개월된 나이드는 쥐에서는 노칼슘 배설량이 증가됨으로서 골 손실이 일어날 가능성이 큰 것으로 보이며 이들 쥐에서 식이 칼슘 수준이 노 칼슘 배설량에 미치는 영향은 적은 것으로 사료된다.

### 3. 혈청 칼슘 및 alkaline phosphatase 활성

사육 기간이 끝난 후에 측정된 혈청 칼슘 농도와 alkaline phosphatase 활성의 수준은 Table 4에 제시하였다. 혈청 칼슘 농도는 모든 실험군에서 7.82~9.

**Table 4.** Serum Ca and alkaline phosphatase

	Serum Ca(mg/ml)	ALP(K-A)
OOH	7.82±0.39 <sup>1)</sup>	15.35±2.22*
OOL	8.69±0.14	17.86±1.85
OSH	8.50±0.51	15.60±2.51*
OSL	9.22±0.16	13.32±1.68
SF <sup>2)</sup>	B	NS
YOH	8.04±0.27	33.89±5.54
YOL	9.04±0.14	20.07±2.49
YSH	8.37±0.44	21.98±3.80
YSL	8.72±0.32	20.91±2.73
SF	B	NS

1) Mean±SE

\*denote statistically significant differences( $p < 0.05$ ) in the effect of age between 10month old rats and 2month old rats, which are the same in the level of ovariectomy or dietary Ca level, by Student's t-test

2) significant factor from 2-way ANOVA :

B : statistically significant( $p < 0.05$ ) in the effect of dietary Ca level by F-test

NS : not statistically different( $p < 0.05$ ) among groups

22mg/ml 사이로 정상 범위에 있었다. 그러나 나이 또는 난소 절제 여부와는 관계없이 저칼슘군이 고칼슘군에 비해 혈청 칼슘 농도가 유의적으로 높은 경향을 보였다. 혈청 alkaline phosphatase 활성은 난소 절제 유무와 식이 칼슘 수준의 영향은 없었으나 나이에 의한 영향을 받아 2개월된 쥐에서 그 활성도가 높았다.

혈청 alkaline phosphatase의 수준은 골격 형성의 지표로서 본 실험 결과 2개월된 쥐가 10개월된 쥐에 비해 alkaline phosphatase 활성도가 높은 것은 성장기 일 때는 골격 형성이 활발하지만 나이가 많을수록 골격 형성 능력이 떨어지는 것을 보여 주는 것으로 생각된다. 혈청 alkaline phosphatase 활성이 난소 절제에 의해 증가한다는 다른 보고와는 달리<sup>19)</sup> 본 실험에서 혈청 alkaline phosphatase 활성도는 난소 절제에 의해 유의적인 차이를 보이지 않았다.

### 4. 사구체 여과율, 뇨단백질 배설량 및 뇨 hydroxyproline 배설량

실험기간 중 4주마다 creatinine clearance로 측정된 사구체여과율과 뇨 단백질 배설량, 그리고 골격 재흡수의 지표인 뇨 hydroxypoline 배설량은 Table 5에 제시하였다. 사구체여과율은 난소 절제에 의한 영향을 받아 2개월된 쥐와 10개월된 쥐 모두에서 난소 절제시 높게 나타났다. 또한 사구체여과율은 10개월된 쥐가 2개월된 쥐보다 높았으며 사육기간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 뇨 단백질 배설량은 사육기간이 경과할수록 증가하는 경향이었다. 그러나 난소 절제와

식이 칼슘 수준은 뇨 단백질 배설량에 영향을 미치지 않았다.

골 재흡수의 지표인 뇨 hydroxyproline 배설량은 10개월된 쥐와 2개월된 쥐 모두에서 난소를 절제한 경우에 높은 경향이었고 사육 기간이 경과함에 따라 증가하였다. 또한 10개월된 쥐가 2개월된 쥐에 비해 뇨 hydroxyproline 배설량이 높았다. 그러나 뇨 hydroxy-

proline 배설량에 식이 칼슘 수준은 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

신장의 사구체 여과율은 신장 기능을 나타내는 지표로서 청장년기까지 지속적으로 증가하며 그 이후 노화와 함께 감소한다<sup>26)</sup>. 본 연구의 결과 10개월 정도의 나이는 아직도 사구체여과율이 증가하는 나이로 보이며 식이 칼슘은 사구체여과율에 영향을 미치지 않는 것으

**Table 5.** Creatinine clearance(GFR), urinary protein excretion and urinary OH-proline excretion

		GFR (ml/min)	urinary protein (mg/d)	urinary OH-proline (mg/d)
4	OOH	2.07 ± 0.24 <sup>1)</sup>	4.02 ± 0.92*	356.01 ± 57.07
	OOL	2.17 ± 0.45	2.33 ± 0.65	217.40 ± 15.86
	OSH	1.60 ± 0.19	2.12 ± 1.09	235.15 ± 52.53
	OSL	1.80 ± 0.28	2.96 ± 0.91	267.67 ± 82.25
8	OOH	1.89 ± 0.17*	4.28 ± 1.26	447.25 ± 103.72
	OOL	1.65 ± 0.10*	3.73 ± 0.98	173.02 ± 43.11
	OSH	1.32 ± 0.17*	2.50 ± 0.85	144.02 ± 37.45
	OSL	1.69 ± 0.11*	3.28 ± 1.08	171.48 ± 42.45
12	OOH	2.26 ± 0.33	4.43 ± 0.83	409.35 ± 56.08
	OOL	1.40 ± 0.29	4.81 ± 1.10	277.92 ± 59.50
	OSH	1.31 ± 0.29	5.42 ± 1.31	166.39 ± 24.98
	OSL	1.69 ± 0.19	5.28 ± 0.80	263.68 ± 37.04
16	OOH	1.96 ± 0.76	5.92 ± 2.27	511.90 ± 61.57
	OOL	1.52 ± 0.52	2.18 ± 0.22	532.01 ± 72.48*
	OSH	0.99 ± 0.06	7.82 ± 2.90	355.80 ± 32.24
	OSL	1.21 ± 0.15	8.27 ± 2.56	436.14 ± 54.87*
SF <sup>2)</sup>		A, A*B	C	A, A*B, C
4	YOH	1.73 ± 0.28	0.77 ± 0.59	240.92 ± 23.29
	YOL	1.57 ± 0.30	1.28 ± 0.67	167.17 ± 48.33
	YSH	1.35 ± 0.20	0.04 ± 0.01	167.17 ± 37.48
	YSL	1.35 ± 0.27	0.83 ± 0.66	142.65 ± 54.49
8	YOH	0.93 ± 0.09	1.34 ± 0.93	230.64 ± 26.29
	YOL	1.00 ± 0.10	1.35 ± 0.50	185.17 ± 26.13
	YSH	0.69 ± 0.08	0.89 ± 0.57	171.62 ± 20.11
	YSL	0.76 ± 0.08	1.67 ± 0.54	162.76 ± 21.74
12	YOH	1.73 ± 0.21	5.12 ± 2.94	247.79 ± 21.30
	YOL	1.75 ± 0.40	2.02 ± 0.41	174.10 ± 27.90
	YSH	1.12 ± 0.12	3.21 ± 1.21	196.41 ± 23.33
	YSL	1.52 ± 0.23	3.42 ± 1.81	186.93 ± 26.68
16	YOH	1.13 ± 0.15	4.53 ± 1.66	317.10 ± 22.98
	YOL	1.30 ± 0.13	2.61 ± 0.27	264.47 ± 30.29
	YSH	0.82 ± 0.07	3.27 ± 1.11	294.19 ± 39.25
	YSL	1.05 ± 0.05	1.85 ± 0.54	244.77 ± 22.24
SF <sup>2)</sup>		A, C	C	A, B, C

1) Mean ± SE

\*denote statistically significant differences(p<0.05) in the effect of age between 10month old rats and 2month old rats, which are the same in the level of ovariectomy or dietary Ca level, by Student's t-test

2) significant factor from 3-way ANOVA :

A : statistically significant(p<0.05) in the effect of ovariectomy by F-test

B : statistically significant(p<<0.05) in the effect of dietary Ca level by F-test

C : statistically significant(p<0.05) in the effect of experimental period by F-test

A\*B : statistically significant(p<0.05) in the interactive effect of ovariectomy and dietary Ca level by F-test

로 보인다. 이는 김소향<sup>18)</sup>이 6개월된 쥐를 식이 Ca 수준을 달리하여 12주간 사육했을 때 식이 Ca 수준이 사구체여과율에 영향을 미치지 않았다는 보고와 일치하는 것이다. 노 단백질 배설량은 신장의 퇴화 정도를 알아보는 지표로, 본 실험에서 전반적으로 10개월된 쥐에서 높았다. 이런 결과들로 볼 때 10개월된 쥐에서 사구체여과율이 높고, 노 단백질 배설량도 높아서 나이가 많으면 신장에서 많이 여과하지만 선택적 여과 기전은 퇴화되어 신장 기능이 쇠퇴하는 것으로 보인다. 따라서 10개월된 쥐에서 노 Ca 배설량이 증가한 것도 세노관의 재흡수 기능 등 신장 기능 쇠퇴에 의한 것으로 생각된다. 그러므로 난소 절제쥐나 10개월된 나이든 쥐에서 노 칼슘 배설량이 많았던 것은 이 들 쥐의 신장 기능의 퇴화에 기인할 수 있다고 보겠다. 난소를 절제한 경우 앞서 설명한 것처럼 난소 절제에 의해 estrogen의 수준이 감소하면서 신장 기능에 영향을 미쳐 칼슘의 신세뇨관에서의 재흡수가 감소되므로 고칼슘뇨증이 유발된다<sup>5)</sup>. 따라서 난소를 절제한 쥐나 10개월된 나이든 쥐에서 노 칼슘 배설량이 많았던 것은 이들 쥐에서 신장의 사구체여과율이나 노단백질 배설량의 증가 등으로 미루어 볼 때 고여과, 선택적 여과 기전 쇠퇴, 신세뇨관에서의 칼슘 재흡수 감소 등 신장 기능의 변화가 한 가지 원인으로 작용한 것으로 볼 수 있다. 한편 식이 칼슘 수준은 노칼슘 배설량에 영향을 미치지 않았고 또한 노 단백질 배설량이나 사구체여과율에도 영향을 미치지 않았다. 따라서 식이 칼슘 수준과 신장 기능과는 관련이 없으며 따라서 노칼슘 배설량에도 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

Hydroxyproline는 골격 및 연조직에 많이 함유되어 있는 콜라겐의 주성분으로 콜라겐 분해가 많아질수록 노 hydroxyproline 배설량이 많아지므로<sup>20)</sup> 노 hydroxyproline 배설량은 골격 재흡수의 지표로 사용된다. 본 실험 결과 2개월된 쥐보다 10개월된 쥐에서 노 hydroxyproline 배설량이 증가했다는 것은 노인형 골다공증에서 골격 재흡수가 증가한다는 보고<sup>21)</sup>와 일치하는 결과이다. 본 실험에서 난소 절제를 했을 때 노 hydroxyproline 배설량이 높았고 이는 난소 절제한 4개월된 흰쥐로 8주간 사육한 조성연 등<sup>22)</sup>의 보고에서 노 hydroxyproline 배설량이 난소 절제 군에서 증가하였다는 결과와 부합한다. 난소 절제군과 10개월된 나이든 쥐에서 노 hydroxyproline 배설량이 높은 것으로 볼 때 이들 쥐에서 골격 재흡수가 증가했음을 짐작할 수 있고 따라서 이들 쥐에서 노칼슘 배설량이 높았던 것은 일부는 골격 재흡수의 증가때문인 것으로 사료된다.

식이 칼슘 수준은 골격에 영향을 미쳐 성장기에 고칼

슘 식이 섭취시 bone turnover가 빨라진다<sup>21)</sup>고 했으며 Horwitz 등<sup>23)</sup>은 폐경 후 여성에게 식이 칼슘 보충이 노 hydroxyproline 배설량을 감소시킨다고 보고하였다. 그런데 본 실험에서는 2개월된 쥐에서는 식이 칼슘 수준이 높은 군에서 노 hydroxyproline 배설량이 더 높은 경향을 보였으며 특히 10개월된 쥐에서는 16 주째의 OOH 군을 제외하고는 난소 절제를 하고 고칼슘 식이를 먹인 쥐들에서 노 hydroxyproline 배설량이 높았다. 따라서 식이 칼슘 수준이 노 hydroxyproline 배설량에 미치는 영향은 대상의 연령, estrogen 분비 여부 등에 따라 다르며, 노 hydroxyproline 배설량은 식이 칼슘 수준보다는 나이와 estrogen의 영향을 더 받는 것으로 사료된다.

## 5. 골격 대사

사육 기간이 끝난 후에 채취한 대퇴골, 4번째 척추골, 견갑골의 구성 성분에 대한 결과는 Table 6에 제시하였다. 대퇴골의 무게는 10개월된 쥐에서는 고칼슘군이 저칼슘군에 비해 높았으며 2개월된 쥐에서도 난소 절제를 한 군에서는 이와 같은 결과를 보였으나 sham 처리군에서는 이와 반대로 고칼슘군이 저칼슘군에 비해 낮았다. 척추골의 무게는 10개월된 쥐에서는 난소 절제와 식이 칼슘 수준에 의한 영향이 없었으나 2개월된 쥐에서는 난소절제와 식이 칼슘 수준에 의한 유의적인 차이를 보여 난소절제를 하고 고칼슘식이를 먹인 쥐들에서 높았다. 견갑골의 무게는 10개월된 쥐에서는 난소절제군이 sham 처리군에 비해 유의적으로 낮았으며, 식이 칼슘 수준에 의한 영향은 없었다. 2개월된 쥐에서는 난소 절제 또는 식이 칼슘 수준에 의한 유의적인 영향이 나타나지 않았으나 난소절제를 한 고칼슘군(YOH)이 가장 높은 값을 보였다.

대퇴골, 척추골, 견갑골의 골밀도는 난소 절제나 식이 칼슘 수준에 의한 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 그러나 나이에 따른 차이는 유의적이어서 10개월된 쥐는 2개월된 쥐에 비해 척추골의 밀도가 유의적으로 높게 나타났고, 대퇴골과 견갑골의 경우 유의적이지는 않으나 10개월된 쥐가 높은 경향을 보였다.

대퇴골의 회분과 칼슘 함량은 10개월된 쥐에서 고칼슘 식이 섭취시 높았으며 난소 절제를 한 군에서 낮았다. 대퇴골의 인 함량도 10개월된 쥐에서 난소 절제하였을 때에는 낮아 회분 함량과 같은 결과를 보였으나 식이 칼슘 수준의 영향은 달라 고칼슘군에서 대퇴골의 인 함량이 낮아지는 결과를 보였다. 2개월된 쥐에서는 대퇴골의 회분 함량, 칼슘 함량, 인 함량은 난소 절제나 식이 칼슘 수준의 영향을 받지 않았다. 10개월된 쥐에

서는 척추골의 회분과 칼슘 함량은 난소 절제군에서 낮고 고칼슘군이 높았다. 그러나 척추골의 인 함량은 식이 칼슘 수준에 의한 영향을 받지 않았다. 2개월된 쥐에서는 10개월된 쥐에서와 마찬가지로 고칼슘군에서 척추골의 회분, Ca, 그리고 인 함량이 높았으나, 난소 절제의 영향은 달라 난소를 절제했을 때 척추골의 회분, Ca, 그리고 인 함량이 더 높았다. 견갑골의 경우 10개월된 쥐에서는 회분 함량은 난소를 절제하였을 때 낮았으나 칼슘과 인 함량은 난소 절제나 식이 칼슘 수준에 의한 영향이 나타나지 않았다. 2개월된 쥐에서는

견갑골의 회분과 Ca 함량은 난소 절제나 식이 칼슘 수준에 의해 차이를 보이지 않았으나 인 함량은 난소를 절제했을 때 높았다. 대체적으로 세 뼈에 있어 고칼슘 식이를 먹인 쥐의 뼈가 무게가 무거웠고, 무기질 성분 함량도 많은 편이었다. 그러나 난소를 절제했을 경우 골격 무게가 적게 나가고 무기 성분 함량도 적은 편이었다.

본 실험에서 10개월된 쥐가 2개월된 쥐에 비해 척추골의 골밀도가 높은 것을 비롯하여 대퇴골, 척추골, 견갑골의 골격 무게, 골격 회분량이 높게 나타났다. 그러

Table 6. Bone composition

Type	Wet weight (mg)	Density	Ash(mg)	ash/wt (%)	Ca(mg)	Ca/wt (%)	P(mg)	
Femur	OOH	664.76±6.00 <sup>1)*</sup>	3.78±0.09	305.06±6.14	45.89±0.82	127.81±3.06	19.23±0.40	64.99±1.17
	OOL	605.49±6.83	3.71±0.12	283.85±7.07	46.84±0.77	114.84±1.99	18.98±0.34	66.04±1.09 <sup>*</sup>
	OSH	651.43±6.97 <sup>*</sup>	4.00±0.12	317.15±5.95	48.68±0.70 <sup>*</sup>	147.78±5.56	22.70±0.94	73.33±2.71
	OSL	642.91±6.85 <sup>*</sup>	3.87±0.14	309.13±6.54 <sup>*</sup>	48.06±0.67 <sup>*</sup>	128.10±4.85	19.91±0.64	81.76±1.99 <sup>*</sup>
	SF <sup>2)</sup>	B, A*B	NS	A, B	A	A, B	A, B, A*B	A, B, A*B
	YOH	627.53±5.62	3.59±0.17	299.70±6.97	47.74±0.93	114.13±5.74	18.22±1.01	59.46±3.12
	YOL	621.78±6.10	3.59±0.12	288.85±5.58	46.47±0.87	102.79±7.65	16.57±1.29	60.49±3.05
	YSH	532.67±4.80	4.06±0.32	296.24±6.33	56.58±1.10	126.03±8.97	24.01±1.53	63.74±3.47
	YSL	584.00±6.31	3.77±0.12	293.26±5.36	50.21±0.76	113.31±3.62	19.41±0.59	67.74±2.49
	SF <sup>2)</sup>	A, B, A*B	NS	NS	A, B, A*B	NS	A, B	NS
Vertebra	OOH	319.91±4.92 <sup>*</sup>	4.24±0.08 <sup>*</sup>	87.83±0.92	27.47±0.20 <sup>*</sup>	47.46±0.56	14.95±0.15	35.79±1.07 <sup>*</sup>
	OOL	322.60±7.09	4.19±0.06 <sup>*</sup>	81.00±2.00	25.10±0.15	42.13±0.55 <sup>*</sup>	12.95±0.13	34.04±1.33 <sup>*</sup>
	OSH	335.53±4.83 <sup>*</sup>	4.37±0.05 <sup>*</sup>	94.23±1.10 <sup>*</sup>	27.97±0.04	52.37±0.86 <sup>*</sup>	15.60±0.14	41.40±1.48
	OSL	329.20±8.34 <sup>*</sup>	4.22±0.07 <sup>*</sup>	87.43±2.21 <sup>*</sup>	26.59±0.59	47.66±1.24 <sup>*</sup>	14.49±0.34	39.20±0.90 <sup>*</sup>
	SF <sup>2)</sup>	NS	NS	A, B	A, B	A, B	A, B	A
	YOH	337.04±5.32	4.04±0.03	87.50±0.99	25.98±0.34	48.37±0.72	14.37±0.35	39.28±0.85
	YOL	334.31±5.25	3.95±0.09	85.28±0.65	25.55±0.42	45.69±0.43	13.75±0.33	38.14±0.52
	YSH	308.95±3.00	4.11±0.02	84.06±1.07	27.22±0.45	46.60±0.86	15.10±0.38	38.41±1.61
	YSL	288.66±4.01	4.04±0.02	73.80±0.61	25.60±0.51	39.76±1.09	14.02±0.51	32.51±0.70
	SF <sup>2)</sup>	A, B	NS	A, B, A*B	B	A, B, A*B	B	A, B, A*B
Scapula	OOH	141.71±6.69	2.53±0.19	63.26±2.52	44.83±1.19	37.04±5.53	25.62±3.00	16.21±1.32
	OOL	147.49±2.56	2.27±0.04	68.00±2.20	46.10±1.25	35.08±3.98	23.80±2.71	17.29±0.89
	OSH	165.02±5.81	2.52±0.23	73.70±2.89 <sup>*</sup>	44.69±1.26	34.13±1.05 <sup>*</sup>	20.81±0.97	16.00±1.41
	OSL	163.76±2.65	2.20±0.06	72.99±1.93	44.53±0.65	36.37±1.99 <sup>*</sup>	22.25±1.31	17.69±0.90
	SF <sup>2)</sup>	A	NS	A	NS	NS	NS	NS
	YOH	151.15±6.61	2.18±0.13	67.29±3.38	44.60±1.71	32.74±3.55	21.85±2.49	19.33±1.99
	YOL	147.31±5.90	2.17±0.09	67.38±1.88	45.95±0.97	27.49±2.73	18.83±2.07	17.82±1.40
	YSH	126.33±4.04	2.33±0.13	58.51±1.67	46.52±1.49	26.10±1.54	20.63±1.01	12.18±0.98
	YSL	149.51±5.98	2.18±0.06	67.59±3.40	45.12±0.92	26.92±3.04	18.07±2.08	17.74±1.22
	SF <sup>2)</sup>	A*B	NS	NS	NS	NS	NS	A, A*B

1) Mean±SE

\*denote statistically significant differences(p<0.05) in the effect of age between 10month old rats and 2month old rats, which are the same in the level of ovariectomy or dietary Ca level, by Student's t-test

2) significant factor from 2-way ANOVA :

A : statistically significant(p<0.05) in the effect of ovariectomy by F-test

B : statistically significant(p<0.05) in the effect of dietary Ca level by F-test

A\*B : statistically significant(p<0.05) in the interactive effect of ovariectomy and dietary Ca level by F-test

NS : not statistically different(p<0.05) among groups



나 이것을 단위 무게 당으로 환산해 보면 대퇴골에서는 10개월된 쥐보다 2개월된, sham 처리한 쥐들의 회분 무게가 더 높았으며 척추골에서는 10개월에 난소절제한 고칼슘군(OOH)이 YOH군보다 회분 무게가 더 높았다. 암컷의 골격 성장은 12개월까지 계속되며 그 이후에는 멈춘다<sup>30)</sup>고 보고되고 있는 것과 비교해 볼 때, 본 실험에서 2개월된 쥐는 회생시 6개월의 나이였으므로 아직 최대 골 질량에 도달하지 않은 상태로 판단되며, 10개월된 쥐는 회생시 14개월의 나이였으므로 최대 골격 무게에서 감소하는 과정에 있는 것으로 생각된다. 골 밀도나 골 회분량은 나이에 의한 단순 비교보다는 최대 골격 무게시부터 지속적으로 골 밀도의 변화를 측정하는 방법이 필요할 것으로 생각된다.

본 실험에서 난소 절제를 한 쥐가 골 회분 함량, 골 칼슘 함량이 낮았고, 이는 생후 90일에 난소절제한 쥐에서 10개월간 식이를 제한했을 때 대퇴골의 회분과 칼슘 함량의 감소를 나타냈다는 보고<sup>31)</sup>와 일치한다. 이러한 회분 함량의 감소는 난소를 절제한 경우에 골 재흡수가 증가하여 노칼슘 배설량이 증가하고 뼈에서의 칼슘 함량이 감소하였기 때문으로 생각된다.

Meier<sup>32)</sup>가 난소 절제에 의해 해면골이 많이 손실되는 한편 피질골에는 별 영향이 없다고 한 보고나 Cummings<sup>33)</sup>이 estrogen의 해면골에 대한 반응이 피질골에 비해 8배가 예민하다고 한 보고와는 달리 본 실험에서는 난소 절제가 해면골이 많다고 알려진<sup>34)</sup> 척추골과 피질골이 많다고 알려진 대퇴골, 척추골과 대퇴골의 중간적인 성격을 가진다고 알려진 견갑골의 골밀도에 영향을 미치지 않았다. 또한 본 실험에서는 식이 칼슘 수준도 골밀도에는 영향을 미치지 않았다.

본 실험에서 고칼슘식을 섭취했을 때 뼈의 회분, 칼슘함량이 증가하였고 이는 Freudenheim 등<sup>34)</sup>이나 Polley 등<sup>35)</sup>이 식이 칼슘 수준에 의해 뼈의 칼슘 대사가 크게 영향받았다고 한 것이나 Jowsey와 Gershoncohen<sup>36)</sup>이 5달간 저칼슘식을 먹었을 때 성숙한 고양이의 골격 무게가 감소했다고 한 것과 일치한다. 그러나 Ettinger 등<sup>36)</sup>은 폐경 후 여성에게 하루 1500mg의 Ca 보충이 척추의 골 무기질 함량이나 distal radius 혹은 metacarpal cortical bone mass에도 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 본 연구 결과에서 식이 칼슘 수준이 높을 때 칼슘 균형이 증가되고 노칼슘 배설량에는 차이가 없으며 따라서 체내 칼슘 보유가 증가한 것이 체내 칼슘 보유고인 뼈에 저장되었다고 생각할 수 있다.

본 실험에서 식이 칼슘 수준이 골격 대사와 골 구성 성분에 미치는 영향은 나이나 난소 절제의 영향에 비해

현저하지 않았다. Teitelbaum<sup>39)</sup>에 의하면 저칼슘 식이 섭취에 의한 저칼슘혈증시 부갑상선호르몬이 증가하여 골재흡수를 증가시킴에 의해 골 재형성 활성을 증가시키고, 또한 만성 신부전과 같은 만성적 저칼슘혈증 상황은 bone turnover를 증가시킨다고 한다. 본 실험에서는 식이 칼슘 수준이 노칼슘 배설량, 노 단백질 배설량과 사구체여과율에 영향을 미치지 않았으므로 고저 칼슘 식이 섭취에 의해 신장 기능에 변화를 일으키는 것은 않았고 따라서 신장 기능의 저하에 의한 저칼슘혈증의 상황은 발생하지 않았다고 보인다. 본 실험에서 식이 칼슘 수준이 달라짐에 따라 alkaline phosphatase와 노hydroxyproline에도 차이가 나타나지 않았으므로 칼슘 섭취 수준이 골 재흡수나 골격 대사에 영향을 미치지 않았다고 할 수 있다. Riis 등<sup>39)</sup>은 폐경 후 여성에게 2년간 하루에 2000mg씩의 칼슘 보충을 실시한 결과 전박(forearm)에서 골 손실을 늦추었고, 총 골격에서 칼슘의 손실을 늦추었지만, 해면골이 많은 골격에서는 골 손실이 대조군에 비해 완화되지 않았다고 보고했다. 그러나 본 연구에서 칼슘 섭취 수준이 골격 형성과 골격 재흡수에 영향을 미치지 않은 것과는 달리 대퇴골, 척추골, 견갑골의 무기 성분들이 고칼슘식이군에서 높았으므로 골격 무기질화 과정이 식이 칼슘 수준에 의한 영향을 받았다고 생각되며 이는 앞서 인용한 보고<sup>34)</sup><sup>35)</sup><sup>36)</sup>와도 일치한다. 따라서 칼슘을 보충한 식이를 공급했을 때 골격 칼슘을 비롯한 무기 성분이 유지된다고 할 수 있다.

## 6. 골격 조직의 형태학적 변화

본 실험에서는 골격 재흡수의 지표로 이용되는 노 hydroxyproline 배설량이 실제 골밀도와 무기질 축적

Table 7. Mineral apposition rate and trabecular bone density

	MAR <sup>1)</sup> ( $\mu\text{m}/\text{d}$ )	TBD <sup>2)</sup> (%)	EBD <sup>3)</sup> (mg/cm)	Ur OH-Pro <sup>4)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Sr ALP (K-A) <sup>5)</sup>
OOH7	1.18	24.3	4.34	709	13.3
OOH4	0.53	49.5	4.23	672	9.0
OSH8	1.32	34.3	4.56	250	11.7
YOL3	0.99	31.4	4.79	415	18.1
YOL5	0.53	37.9	3.98	123	20.5
YSL2	0.62	45.0	3.89	192	11.5

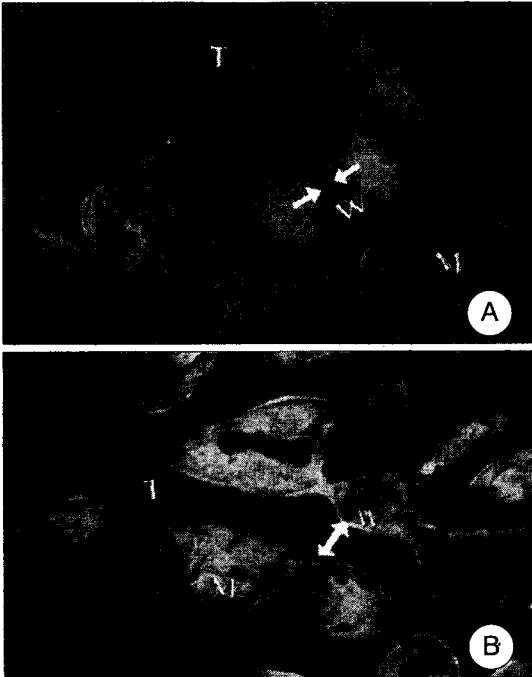
1) Mineral apposition rate

2) Trabecular bone density, measured from bone slide using image pro 3.0 package

3) Entire bone density, measured in femur using Archimedes discipline

4) Urinary hydroxyproline, measured using the method of Blumenkrantz and Asboe-Hanse

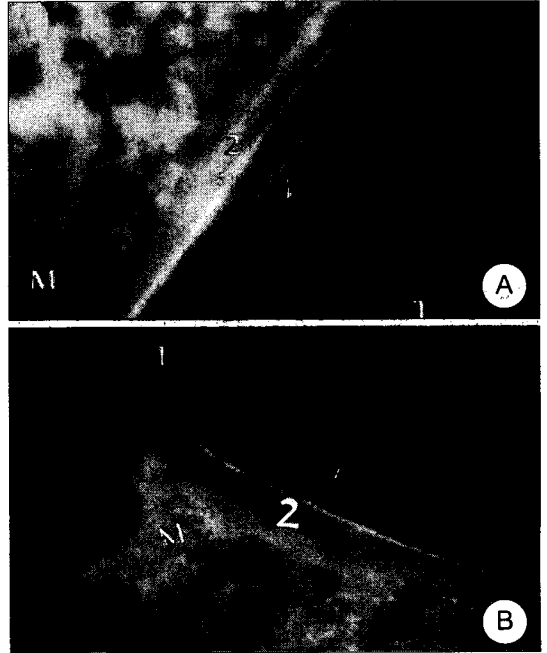
5) Serum alkaline phosphatase, measured from serum using Kind King Method



**Fig. 1.** Photomicrographs of femur sections in OOH7(A) and YSL2(B).

- A) A distance in trabecular bone is small and irregularity and bone density is lower( $\times 100$ ).
- B) A distance in trabecular bone is large and regularity and bone density is higher than photo A( $\times 100$ ).

를과는 어떤 관계가 있는지 알아보기 위하여 식이에 관계없이 실험 8주째의 뇨 hydroxyproline 배설량이 많은 쥐 2마리와 적은 쥐 1마리를 각 나이 군에서 3마리씩 선정하여 무기질축적률(MAR)을 측정하였다. Table 7에는 골격 조직 slide로부터 측정된 MAR과 해면 골밀도를 수록하였고 골격 조직 검사를 한 쥐들에 대한 총 골밀도, 뇨 hydroxyproline 배설량, 혈청 alkaline phosphatase를 같이 제시하여 비교하였다. 광학 현미경으로 조사한 결과 이들 쥐의 뼈에서 실험 식이나 나이, 뇨 hydroxyproline 배설량에 따른 골주의 폭경, 주행이나 형태상의 뚜렷한 차이는 관찰되지 않았다. 또한 모든 뼈에 있어 골연화증이나 기타 심각한 골병변의 현상은 나타나지 않았다. 다만 MAR이 높은 쥐(OOH7, OSH8)에서 해면골의 골밀도는 낮은 것으로 나타났다. 또한 뇨 hydroxyproline 배설량이 많은 것(OOH7, YOL3)이 해면골의 골밀도는 낮았다. 같은 OOH군에서도 OOH4와 OOH7은 대조적인데 둘 다 모두 뇨 hydroxyproline 배설량은 높게 나타났으나, OOH4는 해면골 밀도는 높으면서 MAR은 낮은 반면 OOH7은 해면골 밀도는 낮으면서 MAR은 높아 같은



**Fig. 2.** Photomicrographs of femur sections in OOH7(A) and YSL2(B).

- A) Note the wide MAR, the distance of 1(demeclocycline line) and 2(calcein line)( $\times 400$ ). W, T, M represents trabecular bone width of trabecular bone, trabecular bone, marrow cavity respectively
- B) Note the narrow MAR( $\times 400$ ).

식이 형태를 섭취하고서도 뼈에 미치는 영향은 다르게 나타났다. 2개월된 쥐는 10개월된 쥐에 비해 MAR이 낮게 나타났으나 해면골 밀도는 별 차이가 없었다. 2개월된 쥐에서도 10개월된 쥐와 마찬가지로 뇨 hydroxyproline 배설량이 많은 것(YOL3)이 해면골 밀도는 낮았고 MAR은 높게 나타났다. 해면골의 골 밀도와 총 골 밀도는 유의적인 상관관계를 나타내지 않았다. 즉 뇨 hydroxyproline 배설량에 의한 골 흡수 정도나 나이에 따른 MAR이나 해면골 밀도가 일관된 경향을 보이지 않았고 개체의 차이가 많았다.

Fig. 1의 A는 10개월된, 난소를 절제하고 고칼슘식이를 먹인 쥐(OOH7)의 100배 확대된 대퇴골 사진인데 이 쥐는 8주째의 뇨 hydroxyproline 배설량이 높았던 쥐이며 사진에서 보는 바와 같이 골주의 폭경이 작고 균일하지 않으며 해면 골밀도도 낮았다. Figure 2의 A는 OOH7의 400배 확대 사진이며 demeclocycline line(사진에서 line 1)과 calcein line(사진에서 line 2)간에 간격이 넓어 MAR이 높게 나타났다. Fig. 1의 B는 2개월된 sham 처리하고 저칼슘식이를 먹인 쥐(YSL2)의 사진으로 8주째의 뇨 hydroxyproline 배설

량이 낮았고, 사진에서는 골주의 폭경이 일정하게 넓으며 골밀도가 Fig. 1의 A에 비해 높다. Fig. 2의 사진 B는 사진 A에 비해 demeclocycline line과 calcein line의 간격이 좁아 MAR이 낮게 나타났다.

Kochanowski에 의하면<sup>37)</sup> 0.5% Ca 식이를 섭취한 쥐에 비해 0.3% Ca 식이를 섭취한 암컷 쥐에게서 경골의 해면골 부피가 감소했다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 고칼슘(1.2% Ca)식이를 섭취한 쥐들이 저칼슘(0.2% Ca)식이를 섭취한 쥐들보다 해면골 부피가 적었고, 이는 1.2% Ca 식이를 섭취한 쥐들은 모두 10개월된 쥐였고 0.2% Ca 식이를 섭취한 쥐들은 모두 2개월된 쥐였기 때문으로 생각된다. 나이에 의한 영향을 볼 때 10개월된 쥐들이 모두 1.2% Ca 식이를 섭취하였음에도 0.2% Ca 식이를 섭취한 2개월된 쥐에 비해 해면골 밀도가 낮게 나타나 나이 든 쥐에서 해면골 밀도가 낮음을 알 수 있었다.

### 요약 및 결론

본 연구는 고 단백질 식이를 섭취하고 있는 여성이 폐경 후에 Ca 수준이 다른 식이를 섭취하였을 때 Ca 및 골격 대사가 어떻게 변화하는지를 연구하기 위하여 행하여졌다. 동물 모델로는 10개월과 2개월된 암컷 흰쥐에게 임의로 난소절제술을 행하여 폐경을 유도하여 폐경의 시기가 다른 경우를 비교하였고 이들에게 25% casein을 함유한 고단백식이를 주면서 식이 내 Ca 수준을 0.2%와 1.2%로 달리한 식이를 주어 16주간 사육하였다.

실험 기간 동안의 총 식이섭취량은 10개월과 2개월된 쥐 모두 난소절제, 식이 칼슘 수준에 따른 차이는 없었다. 체중증가량은 2개월된 쥐가 10개월된 쥐보다 높았고 난소절제군이 대조군에 비해 높았다.

칼슘흡수율, 혈청 칼슘 농도는 저칼슘(0.2% Ca)식이군이 고칼슘(1.2% Ca)식이군에 비해 높았다. 칼슘 균형은 식이 칼슘 수준에 따른 유의적인 차이가 있어 고칼슘군이 높았으며 난소 절제나 나이는 유의적인 영향을 미치지 않았다. 뇨 Ca 배설량은 난소를 절제한 쥐들과 나이든 쥐에서 높았으며 식이 칼슘 수준에 따른 차이는 없었다.

골격 형성의 지표인 혈청 alkaline phosphatase 활성은 2개월된 쥐에서 높았으나 난소 절제에 의해 유의적인 차이를 보이지 않았다. 골격 재흡수의 지표인 뇨 hydroxyproline 배설량은 실험 기간이 증가함에 따라 전반적으로 증가하는 경향을 보였고 10개월된 쥐에서와 난소 절제를 했을 때 뇨 hydroxyproline 배설량이

높았다. 그러나 혈청 alkaline phosphatase 활성과 뇨 hydroxyproline 배설량에 식이 칼슘 수준의 영향은 나타나지 않았다.

사구체여과율은 난소 절제한 쥐가 대조군에 비해 높은 경향을 나타냈으나 식이 칼슘 수준에 의한 영향은 나타나지 않았다. 뇨 단백질 배설량은 2개월된 쥐보다 10개월된 쥐에게서 높았다.

대퇴골, 척추골, 견갑골을 보면 고칼슘식이를 섭취한 쥐에서 골격 무게가 무거웠고, 무기 성분 함량도 많았으며, 골격 무게에 대한 무기 성분비도 높은 편이었다. 그러나 난소를 절제했을 경우 골격 무게가 적게 나가고 무기 성분도 적었고 골격 무게에 대한 무기 성분비도 낮은 편이었다. 무기질 축적률이 높은 10개월된 쥐에서 해면골 밀도가 낮게 나타났다.

결론적으로 나이가 많은 쥐와 난소를 절제한 쥐에서 신장 기능이 쇠퇴하고 뇨 hydroxyproline 배설량으로 측정된 골격 용출이 높아 뇨 칼슘 배설량이 증가하고, 혈청 alkaline phosphatase로 측정된 골격 형성은 낮게 나타났다. 이로 인해 난소 절제한 쥐에서는 대퇴골의 밀도가 낮았고, 다른 뼈들도 골격 무게, 골 회분량이 낮아졌다고 생각된다.

식이 칼슘 수준이 골격 대사와 골 구성 성분에 미치는 영향은 나이나 난소 절제의 영향에 비해 현저하지 않았다. 식이 칼슘 수준은 뇨칼슘 배설량, 뇨 단백질 배설량과 사구체여과율에 영향을 미치지 않았고, 혈청 alkaline phosphatase 활성과 뇨 hydroxyproline 배설량에도 차이를 나타내지 않았다. 그러므로 Ca 섭취 수준이 신장 기능이나 뇨 hydroxyproline 배설량으로 측정된 골 재흡수에 영향을 미치지 않았다고 할 수 있다. 그러나 고칼슘식이를 섭취한 쥐들에서 칼슘 균형이 높았으며 골격내 회분 무게와 칼슘 및 인의 함량이 높은 점으로 볼 때 식이 칼슘 수준은 칼슘 보유와 골격 무기질화 과정에 영향을 미친다고 볼 수 있다.

### Literature cited

- 1) Kim SJ, Cho JR, Han JH, Cho SS. Correlation of the osteoporosis and abnormal bone fracture. *Kor J Orthoped* 27 : 1284-1292, 1992
- 2) Gallagher JC. The pathogenesis of osteoporosis. *Bone Mineral* 9 : 215, 1990
- 3) Riggs BL, Melton LJ III. Evidence for two distinct syndromes of involutional osteoporosis. *Am J Med* 75 : 899-901, 1983
- 4) Mazess RB. Bone density in diagnosis of osteoporosis :

- Threshold and breakpoints. *Calcif Tissue Int* 41 : 117-118, 1983
- 5) Kim WY, Kim MH. Effect of estrogen and dietary protein level on Ca and skeletal metabolism in ovariectomized rats. *Korean J Nutr* 28(4) : 298-308, 1995
  - 6) Riggs BL, Kelley Pj, Kinney VR, Scholaz DA, Blanco AJ. Jr. Ca deficiency and osteoporosis. *J Bone Jt Surg* 49A : 915-924, 1967
  - 7) Kim SH. Ca and osteoporosis in Korean. *Korean J Nutr* 26(2) : 203-212, 1993
  - 8) Kang MH. Nutritional status of Korean elderly people. *Korean J Nutr* 27(6) : 616-635, 1994
  - 9) Kim SH, Kim WY. Aging. Seoul, Minum Co, 1995
  - 10) Recker RR, Saville PD, Heaney RP. Effect of Estrogens and calcium carbonate on bone loss in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 87 : 649-655, 1977
  - 11) Kim WY, Moon KW, Kim JH. A study of the long term effects of dietary protein level on Ca and skeletal metabolism in ovariectomized rats. *Korean J Nutr* 28(5) : 415-425, 1995
  - 12) Lee KN, Kim JK. Clinical Medicine. Seoul, Medicine Co, p72, 1988
  - 13) Peterson GL. A simplification of the protein assay method of Lowry et al which is more generally applicable. *Anal Biochem* 83 : 346-356, 1977
  - 14) Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. A quick and specific assay hydroxyproline. *Anal Biochem* 55 : 288-291, 1973
  - 15) Hawk PB, Oser BL, Summerson WH. <Practical physiological chemistry> New York, Macgrow-Hill Book, pp1219, 1965
  - 16) Blaustin JD, wade GN. Ovarian influences on the meal patterns of female rats. *Physiol Behav* 17 : 201-208, 1976
  - 17) Wronski L. Response of femoral neck to estrogen depletion and parathyroid hormone in aged rats. *Bone* 16 : 551-557, 1995
  - 18) Kim SH. The effects of dietary protein and Ca intake on Ca and skeletal metabolism in female rats. A Master's Thesis, Graduate School, Ewha Womans University; 1992
  - 19) Morris HA, Porter SJ, Durdridge TC, Moore RJ, Need AC, Nordin BEC : Effect of oophorectomy on biochemical and variables in the rat. *Bone Mineral* 18 : 133-142, 1992
  - 20) Dull TA, Henneman PH. Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bone. *New Engl J Med* 17 : 132-134, 1963
  - 21) Sinha R, Smith JC, Soares JH. The effect of dietary calcium on bone metabolism in young and aged female rats using a short term in vivo model. *J Nutr* 118 : 1217-1222, 1988
  - 22) Cho SY, Jang YA, Lee HS, Kim WY. The effect of dietary protein level on the Ca and bone metabolism in ovariectomized rats. *Korean J Nutr* 26(8) : 915-914, 1993
  - 23) Horowitz M, Need AJ, Philcox JC, Nordin BEC. Effect of clacium supplementation on urinary hydroxyproline in osteoporotic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 39 : 857-859, 1984
  - 24) Ahn JW, Kim WY. The effects of dietary protein level on kidney function and on Ca metabolism in rats of different ages. *Korean J Gerontology* 3 : 319, 1993.
  - 25) Yendt ER, Cohamin, Jarzylo S. Reduced glomerular filtration and a renal tubular Ca leak in women with primary osteoporosis. *J Bone Min Res* 4(s) : 253, 1989
  - 26) Gilsanz V, Roe TF, Antunes J, Carlson M, Duarte ML, Goodman WG. Effect of dietary calcium on bone density on growing rabbits. *Am J Physiol* 260 : E471-E476, 1991
  - 27) Matkovic V, Fontana D, Tominac C, Goel P, Chesnut CH III. Factors that influence peak bone mass formation : a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. *Am J Clin Nutr* 52 : 878-888, 1990
  - 28) Schoolwerth AC, Sandler RS, Hoffman PM, Klahrs. Effects of nephron reduction and dietary protein content on ammoniogenesis in the rat. *Kidney Int* 7 : 397-404, 1975
  - 29) Yunghee K, Hellen ML. Effect of level of protein intake on calcium metabolism and on parathyroid and renal function in the adult human male. *J Nutr* 109 : 1399-1404, 1979
  - 30) Dike NK, Chung-Ching L, Robert RH, Bruce WH. The aged rat model of ovarian hormone deficiency bone loss. *Endocrinology* 124 : 7-16, 1989
  - 31) Wronski TJ, Cintron M, Doherty AL, DAnn LM. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinol* 123 : 681-686, 1988
  - 32) Meier DE, Orwoll ES, Jones JM. Marked disparity between trabecular and cortical bone loss with age in health men. *Ann Int Med* 101 : 605-612, 1984
  - 33) Cummings SR, Kelsy JL, Nevitt MC, O'Dowd KJ. Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fracture. *Epidemiol Rev* 7 : 178-208, 1985
  - 34) 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
  - 35) 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

- 36) Jowsey J, Gershon-Cohen J. Effect of dietary calcium levels on production and reversal of experimental osteoporosis in cats. *Proc Soc Exp Biol Med* 116 : 437-441, 1964
- 37) Kochanowski BA. Effect of calcium citrate-malate on skeletal development in young growing rats. *J Nutr* 120 : 876-881, 1990
- 38) Teitelbaum SL, Rosenberg EM, Richardson CA, Avioli LV. Histological studies of bone from normocalcemic postmenopausal osteoporotic patients with increased circulating parathyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 42 : 537, 1976
- 39) Riis B, Thomsen K, Christiansen C. Does calcium supplementation prevent postmenopausal osteoporosis? *New Engl J Med* 316 : 173-177, 1987
- 40) Hegsted M, Linkswiler HM. Long-term effects of level of protein intake on calcium metabolism in young adult women. *J Nutr* 111 : 244-251, 1981
- 41) Schuettle SA, Zemel MB, Linkswiler HM. Studies on the mechanism of protein-induced hypercalciuria in older men and women. *J Nutr* 110 : 305-315, 1980
- 42) Bell RR, Sie TL, Draper HH, Engelmann DT. Effect of a high protein intake on Ca metabolism in the rat. *J Nutr* 105 : 475-483, 1975