

생쥐의 골격성장과 Ca대사에 미치는 식이Ca과 칼슘조절 호르몬의 영향

정차권[†] · 한은경 · 남상명 · 문유선* · 최수용** · 하경선

한림대학교 식품영양학과

*의과대학 가정의학과

**한국원자력병원 임상의학실

Bone Growth and Calcium Metabolism in Mouse Affected by Dietary Calcium and Calcium-regulating Hormone Administration

Cha-Kwon Chung[†], Eun-Kyung Han, Sang-Myung Nam, Yoo-Sun Moon*,
Soo-Yong Choi** and Kyung-Sun Ha

Dept. of Food and Nutrition, and *Family Medicine, Hallym University Chunchon 200-702, Korea

**Lab. of Clinical Research, Korea Cancer Center Hospital, KAERI, Seoul 139-240, Korea

Abstract

This study has dealt the effect of Ca-regulating hormones and dietary Ca levels on Ca metabolism. Animals(BALB/c mice) were divided into three dietary groups(high and medium Ca and Ca-free) and hormones including parathyroid hormone(PTH), calcitonin(CT), cholecalciferol(Vit D) were i.p. injected. After feeding experimental diets for five weeks, mice were anaesthetized and sacrificed by heart puncture. We found that femur growth of mouse was slightly increased by high dietary Ca without showing statistical significance comparing to low dietary Ca group. The combination of PTH and CT showed the same effect when dietary Ca was high. At the same time, total mineral retention in bone was most affected by dietary Ca. In general, high Ca diet elevated Ca level in the serum. When dietary Ca was low, PTH stimulated Ca release from the bone into the serum, which was shown to be inhibited by CT treatment. Comparing to the control, PTH, Vit D and CT together tended to inhibit serum Ca level at high and medium dietary Ca. PTH and Vit D inhibited Ca reserve in the liver at all dietary levels of Ca. Both PTH and Vit D stimulated bone Ca retention when dietary Ca was low, but this effect was reversed when dietary Ca was high. When PTH, Vit D and CT were administered together, bone Ca level was greatly enhanced at low dietary Ca than at high dietary Ca, which suggests that these hormonal cooperation is needed for proper bone density maintenance especially when dietary minerals are not sufficient.

Key words: calcium, bone, serum, liver, parathyroid hormone, Vit D

서 론

골격을 구성하는 최다량 무기질인 Ca은 섭취량, 성장, 기타 무기물 섭취량, 질병상태 등에 따라 호르몬이 그 대사활동을 조절함으로써 인체내 균형을 유지해 주고 있으나, Ca 저장기 빈약한 뼈는 골절이 쉽게 나타난다. Ca phosphate가 뼈로부터 제거되면 남은 뼈조직은 연골처럼 유연성을 지니게 된다. 골다공증의 발전과정은 크게 2가지로 요약되는데 뼈흡수의 증가 혹은 새로운 뼈형성 속도의 감소 또는 이 두가지의 복합과정에

기인하고 있다. 골격내의 무기질 이동의 조절기능은 PTH와 1,25(OH)₂D₃가 뼈의 흡수 기능(1,2)을 그리고 calcitonin이 흡수 억제 기능을 함으로써 상호조절되고 있다고 알려져 있다.

그러나, 새로운 뼈 단백질의 생성(3-7), DNA의 생성 증가 촉진(4), 골밀도의 증가(8), 골격대사관련 효소의 활성화에 관여하는 점(9,10) 등은 PTH가 뼈의 생성 및 기타 제반 조절 작용에도 관여하는 증거가 된다.

연령이 증가함에 따라 뼈의 손실이 증가하는데 대한 이유에 관해서는 아직 많이 연구되어 있지 않다. 최근,

[†]To whom all correspondence should be addressed

PTH는 연령이 증가됨에 따라 혈액내의 양이 증가되며 (11-16) 이러한 증가는 생화학적인 뼈의 순환적 노화작용에 기인하는 것으로 알려지고 있다. 장에서의 Ca흡수 또한 연령증가에 따라 대부분의 사람에게서는 감소하는 경향이 높다(17-21). 이러한 감소 현상은 그 원인이 확실히 규명되지 않고 있으나 혈청내의 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 의 농도가 연령증가에 따라 감소하며 신장에서의 1α -hydroxylase효소의 활성의 감소현상을 실험동물(22)과 노년기 여성에게서(23) 고찰한 바 있다. 골밀도 감소에 의한 골다공증은 대퇴부와 손, 발목, 등뼈 등의 골질을 증가시키며 이러한 현상은 크게 식이적인 Ca 부족에 의해 야기되고 있다(24-28). 미국에서는 300만명 이상의 여성이 현재 골다공증 환자로 알려져 있으며, 칼슘섭취가 낮은 지역 여성들의 대퇴부 골질은 칼슘섭취가 높은 지역과 비교하여 약 50% 더 높은 것으로 보고되고 있다(29).

본 연구에서는 식이적 Ca 섭취수준과 호르몬이 생체내 각 조직의 Ca대사에 미치는 영향을 실험동물을 이용하여 고찰하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이조성

생후 3개월 된 BALB/C mouse 를 자동 항은 항습이 유지된 사육실에서 5주간 사육하였다. 실험개시 전까지는 사판 고형사료를 급여하였고 실험개시 후의 식이 조성은 high, medium 그리고 low Ca 등의 3가지 식이군으로 분류하였고 medium Ca군 식이조성은 Casein (purified high nitrogen casein, ICN) 14%, corn oil 5%, corn starch 70.82%, DL-methionine 0.18 %, fiber(Alphacel, non-nutritive bulk, ICN) 5%, vitamin mixture (AIN-76, ICN) 1%, mineral mixture(AIN-76, ICN) 4%로 구성하였고 high Ca군은 CaCO_3 0.5%를 추가하는 대신 corn starch를 70.32%를 사용하였으며, low Ca군은 calcium-free mineral mixture를 사용하였다.

실험군의 분류 및 호르몬 투여

실험군은 모두 18 group으로 1 group당 7~8마리씩 배분하였다. 식이군은 high, medium, low Ca으로 분류하였다. 실험식이를 투여한지 1주일 후부터 호르몬을 I. p. injection하였다. 사용한 호르몬은 bovine PTH (Sigma, from bovine parathyroid glands), thyrocalcitonin(Sigma, from salmon), cholecalciferol(Sigma, Vit D₃)으로 PTH와 thyrocalcitonin은 생리식염수에, cholecalciferol은 75% ethyl alcohol로 녹여 각각 0.833

$\mu\text{g/ml}$, $41.67\mu\text{g/ml}$, 83mg/ml 의 농도로 만들어 최적의 생리 효과를 나타내는 양(10)을 투여하였다. Cholecalciferol은 ethylalcohol의 일시적인 과다 투여를 피하기 위하여 2차례로 나누어 각각 실험 식이 시작후 1주와 2주째 투여하였으며 기타 호르몬은 실험식이 투여후 1주일째 1회 복강 투여하였다.

조직의 처리 및 시료의 준비

동물 사육 기간은 총 5주간이었고 실험 시작 후의 체중과 회생시키기 직전의 체중을 측정하였다. 희생전 12시간 동안은 절식을 시켰고 ether에 약간 마취시킨 상태에서 심장박동을 유지하면서 혈액을 cardiac puncture를 통해 채취하였다. 혈액은 2000 RPM(Microspin 24S, Sorvall instruments)에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻고, 간은 생리식염수로 혈액을 제거한 뒤 전체 중량을 칭량 후 1g을 sucrose buffer를 이용하여 Wheaton glass homogenizer로 균질화한 후 2,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 얻고 -70°C 에 냉동 분주보관후 추후 실험에 사용하였다.

Femur의 길이 측정

Femur의 길이 측정을 위하여 메스로 femur부위를 절단한후 근육살(muscle flesh) 부분을 핀셋으로 제거하고 caliper를 사용하여 해당부위의 길이를 측정하였다.

간 및 혈청 무기질의 분석

간을 균질화시킨 후 원심분리를 하지 않은 것을 1ml 취하여 vial에 옮기고 질산(conc-nitric acid) 2ml를 첨가하여 overnight 방치하였다. 이것을 100°C 에서 10분간 가열하여 완전히 용해시켜 냉각한 후 여과지(Whatman No.41, 7cm)로 여과하고 1ml의 demineralized distilled water(DDW)로 vial과 여과지를 행구었다. Ca 측정을 위해 50배로 희석하였는데 이때 희석액은 인산염의 방해막기 위해 lanthanum chloride(LaCl_3)를 10 mg/ml로 만들어 사용하였다. Ca양의 계산은 시료의 희석배수를 곱하여 Ca mg/g tissue로 나타내었다. 혈청 Ca 측정시의 경우에도 LaCl_3 로 희석하였는데 Ca를 측정하기 위해 간과 동일하게 50배로 희석하였다. 혈청 Ca양의 계산은 희석배수를 곱하여 Ca mg/ml serum으로 나타내었다.

뼈의 중량측정 및 무기질의 분석

뼈의 Ca 측정을 위하여 쥐의 앞다리와 뒷다리의 근육을 완전히 제거한 뒤 습중량(wet weight)을 측정하

고 2시간 동안 ether에 담가서 지방을 추출하였다. 2시간이 경과한 후 도가니에 넣어 105°C dry oven에서 24시간 동안 건조시켜 건중량(dry weight)을 측정하고 다시 600°C 전기 회화로에서 12시간 동안 회화시켰다. 12시간이 지난 뒤 데시케이터에 30분 방냉하였다가 회분량(ash weight)을 측정하였다. 회화 후 얻은 회분에 6N HCl 1ml과 conc-nitric acid 0.5ml을 첨가하고 70~80°C에서 10분간 중탕으로 가열하여 남은 유기물을 완전히 분해하였다. 여기에 3ml의 DDW를 가하여 vial에 옮기고 다시 3ml의 DDW로 도가니와 도가니 덮개를 잘 씻어내어 최종 부피를 7.5ml로 하였다. 모든 과정에서 사용된 초자는 0.1 N HCl에 하루 동안 담겼다. DDW로 3차례 이상 행군 후 사용하였다. 뼈의 경우에도 마찬가지로 LaCl₃를 사용하여 Ca측정시 2500배로 희석하였다. Ca양의 계산은 희석배수를 곱하여 Ca mg/g tissue로 나타내었다.

측정시 표준용액은 시판 1000ppm standard 용액을 1, 3, 5 ppm으로 희석하여 사용하였고 측정은 atomic absorption spectrophotometer(PERKIN-ELMER model 2380, USA)로 하였고 423.1nm에서 측정하였다.

통계처리

통계처리는 SAS(Statistic Analysis System)의 GLM (General Linear Model)을 이용하여 식이 Ca의 작용, 투여한 호르몬의 작용, 식이 Ca과 투여한 호르몬의 교호 작용에 의한 유의성을 전반적으로 검증하였고 그룹간의 각각의 식이 효과와 호르몬의 효과를 확인하기 위하여 각각의 결과들을 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

체중 및 간과 신장의 무게

희생 직전 쥐의 체중과 희생후 간 및 신장의 무게를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 전반적으로 쥐의 체중과 각 장기의 무게는 거의 유사하여 group 별로 유의적 차이가 나타나지 않았고 단지 PTH 처리군과 Vit.D₃+CT 처리군간의 체중이 유의적인 차이를 보였다(p<0.05).

식이 Ca 수준에 따른 femur의 무게 비교

Mouse의 femur 부분을 취하여 그대로 무게를 측정

Table 1. Body, liver and kidney weight of mice fed different levels of Ca with various hormone injections

		(unit: g)			
	Hormones	High Ca	Medium Ca	Low Ca	Average
Total body weight	Control	26.85±0.599 ¹⁾	26.64±0.638	25.86±0.663 ^{abc2)}	26.48 ^{ab}
	PTH	27.00±1.179	26.74±0.668	27.63±0.664 ^{ab}	27.10 ^a
	VD ₃	24.23±1.068 ^{*3)}	26.58±0.732	28.23±0.610 ^{**a}	26.54 ^{ab}
	PTH+CT	26.85±1.350	25.80±0.744	27.63±0.664 ^{abc}	26.36 ^{ab}
	VD ₃ +CT	26.25±0.249	25.38±1.020	25.00±0.794 ^b	25.44 ^b
	PTH+VD ₃ +CT	27.90±0.664	27.63±0.536	25.75±1.250 ^{bc}	27.05 ^a
	Average		26.41	26.35	26.70
Liver weight	Control	1.374±0.053 ¹⁾	1.346±0.074	1.347±0.063	1.356
	PTH	1.327±0.056	1.397±0.028	1.503±0.064	1.408
	VD ₃	1.291±0.098	1.240±0.027	1.490±0.104	1.345
	PTH+CT	1.374±0.126	1.273±0.035	1.400±0.056	1.338
	VD ₃ +CT	1.389±0.069	1.396±0.057	1.284±0.070	1.361
	PTH+VD ₃ +CT	1.580±0.066 [*]	1.351±0.033	1.311±0.077 ^{**}	1.372
	Average		1.363	1.339	1.399
Kidney weight	Control	0.414±0.008 ¹⁾	0.401±0.030	0.405±0.014	0.407
	PTH	0.378±0.014	0.392±0.020	0.416±0.020	0.395
	VD ₃	0.383±0.016	0.433±0.024	0.423±0.027	0.416
	PTH+CT	0.406±0.007	0.345±0.032	0.435±0.028	0.388
	VD ₃ +CT	0.389±0.009	0.366±0.028	0.378±0.016	0.374
	PTH+VD ₃ +CT	0.426±0.016	0.404±0.025	0.393±0.034	0.404
	Average		0.398	0.390	0.410

¹⁾Mean ± S.E.M.(Standard error of mean)

²⁾Values within the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

³⁾Values within the same row with different asterisk are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

한 습중량(wet weight) 수치를 비교한 결과 식이에 따라 통계적으로 유의한 차이를 보였는데 wet weight는 Ca의 섭취량이 높을 수록 높게 나타났다(Table 2). 이러한 결과는 다리의 무게는 건중량(dry weight) 회분량(ash weight)에서도 마찬가지로 나타났는데 모두 Ca의 섭취량이 높을 수록 높은 수치를 보였다. Chapuy 등(30)에 의한 보고에서도 유사한 결과를 관찰할 수 있는데 이 보고에서도 식이 중의 Ca 농도가 높아질수록 대퇴부의 무게가 증가하며 골절이 방지된다고 하였다. 또한 SD rat에서도 Ca의 섭취량이 높을수록 뼈질량(bone mass)이 증가하고 나이와 관련된 뼈의 손실이 저해된다는 연구결과도 발표된 바 있다(31). 결과적으로 Ca 섭취는 투여된 호르몬에 관계없이 뼈의 흡수를 억제하고 뼈의 형성과 무기질화를 증가시킴을 추정할 수 있었다. 다리의 습중량은 호르몬이나 호르몬과 식이 Ca수준의 상호작용에 대해서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았고 이러한 결과는 수분을 제거하고 측정한 건중량에서도 마찬가지로 나타났다. 유의적 차이는 나타나지 않았으나 PTH군과 PTH+CT군의 습중량, 건중량 무게가 Vit.D₃나 대조군에 비해 더 높은 수치를 보였다.

다리의 회분함량을 비교한 결과에서는 대조군에 비해 PTH처리군이 유의적으로 높은 수치를 나타냈다(p<0.05). SD계의 성장기 rat를 이용한 연구에서는 1,25(OH)₂D₃ 단독 혹은 PTH와 동시 투여시 뼈질량이 증가하지 않았다고 하였는데(32), mouse를 이용한 본 연구에서는 cholecalciferol을 투여한 결과 대조군에 비해 뼈의 무게가 약간 증가하기는 하였으나 그 차이가 적고 통계적 유의성도 보이지 않았다.

Femur의 성장율

Table 3에서 보는 바와 같이 femur의 길이 성장율은 low Ca군보다는 medium 또는 high Ca군이 높았다. 호르몬 군에서는 PTH+CT군의 femur 성장율의 평균치가 가장 높았다. PTH+CT군의 경우 식이 Ca의 증가에 따라 femur의 성장율이 증가하는 경향을 보였다. 중국의 어린이를 대상으로 하루 300mg의 Ca을 투여했을 때 골밀도 등은 증가하였으나 신장에는 별다른 효과를 미치지 못했다는 보고(33)가 있으나 장기적인 측면에서 골밀도의 증가가 신장증가에 기여하는지에 대한 구체적인 연구가 필요하다고 사료된다. 위에서 관찰된 결과

Table 2. Femur weight(wet, dry, & ash) of mouse

(unit: g)

Groups	High Ca	Medium Ca	Low Ca	Average	
Wet weight	Control	0.195±0.004 ^{1)ab3)}	0.186±0.008 ²⁾	0.161±0.007**	0.180
	PTH	0.186±0.004 ^b	0.196±0.007	0.174±0.011	0.184
	VD ₃	0.188±0.009 ^b	0.188±0.004	0.174±0.004	0.182
	PTH+CT	0.205±0.004 ^a	0.178±0.005**	0.175±0.004**	0.186
	VD ₃ +CT	0.200±0.004 ^{ab}	0.195±0.010	0.176±0.005**	0.190
	PTH+VD ₃ +CT	0.204±0.005 ^a	0.190±0.007	0.172±0.002**	0.190
	Average	0.196*	0.189*	0.172**	
Dry weight	Control	0.121±0.002 ^{1)a}	0.118±0.007*	0.098±0.002 ^{ab}	0.112
	PTH	0.120±0.003	0.123±0.006	0.110±0.004 ^a	0.117
	VD ₃	0.118±0.002*	0.118±0.001*	0.106±0.002 ^{ab}	0.113
	PTH+CT	0.128±0.002*	0.113±0.004**	0.111±0.003 ^a	0.117
	VD ₃ +CT	0.120±0.004*	0.119±0.005*	0.104±0.004 ^{ab}	0.115
	PTH+VD ₃ +CT	0.124±0.005*	0.117±0.004	0.106±0.005 ^{ab}	0.116
	Average	0.122*	0.118*	0.106**	
Ash weight	Control	0.073±0.001 ^{1)a}	0.071±0.003*	0.055±0.002 ^{ab}	0.066 ^b
	PTH	0.075±0.005	0.072±0.003	0.067±0.004 ^a	0.072 ^a
	VD ₃	0.074±0.001*	0.070±0.001**	0.060±0.001 ^{ab}	0.067 ^{ab}
	PTH+CT	0.081±0.002*	0.067±0.003**	0.066±0.003 ^a	0.071 ^a
	VD ₃ +CT	0.079±0.003*	0.068±0.003**	0.064±0.002 ^a	0.071 ^{ab}
	PTH+VD ₃ +CT	0.080±0.004*	0.069±0.002	0.060±0.004 ^{ab}	0.070 ^{ab}
	Average	0.077*	0.069**	0.062***	

¹⁾Mean±S.E.M.(Standard error of mean)

²⁾Values within the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

³⁾Values within the same row with different asterisk are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

Table 3. Femur length of mouse

(unit: cm)

Hormone	High Ca	Medium Ca	Low Ca	Average
Control	1.940±0.025 ¹⁾	1.938±0.032	1.870±0.034	1.914
PTH	1.900±0.035	1.925±0.060	1.960±0.029	1.929
VD ₃	1.938±0.024	1.975±0.048	1.900±0.022	1.932
PTH+CT	1.960±0.029	1.950±0.032	1.930±0.026	1.947
VD ₃ +CT	1.950±0.016	1.920±0.046	1.930±0.026	1.933
PTH+VD ₃ +CT	1.950±0.020	1.925±0.015	1.900±0.029	1.927
Average	1.940	1.939	1.915	

¹⁾Mean±S.E.M.(Standard error of mean)

는 생합성된 PTH(1-34)나 PTH(1-84) 투여시에 femur의 길이는 대조군과 차이가 없었으나 bending strength나 stiffness는 호르몬 투여량에 따라 증가했다는 보고(34)와도 연관이 있다.

간조직내의 Ca 함량

본 연구 결과, 간조직내의 Ca 함량을 비교해 봤을 때 식이내의 Ca 함량에 따라 유의적 차이를 보이지 않았고(Table 4) 이러한 결과는 rat을 이용한 연구에서도 Ca의 섭취량에 따른 간 중의 Ca 함량은 유의적으로 차이가 없었다는 보고와 일치한다(35). 투여된 호르몬에 따라서도 유의한 차이를 나타내지는 않았으나 대조군에 비해 PTH나 Vit.D₃ 투여군에서 간의 Ca량은 더 낮은 경향을 보였고 CT은 이런 PTH나 Vit.D₃의 경향을 억제하는 작용을 보였다. 호르몬과 식이 Ca수준과의 교호작용은 나타나지 않았다.

혈청내의 Ca 함량

혈청 중의 Ca 함량은 식이로 섭취한 Ca의 함량에 따라 통계적 유의성이 나타났다(Table 5). 투여한 호르몬에 따라서도 유의한 차이를 나타냈는데 대조군이 전반적으로 가장 높은 수치의 Ca 함량을 보였다. PTH군은 대조군과 유사한 수치의 Ca 함량을 나타냈으나 low Ca 섭취시 대조군보다 높은 수치를 보임으로써 섭취하는 Ca의 양이 매우 적을 때 혈청 Ca을 증가시키는 PTH의

작용이 두드러짐을 알 수 있다. PTH의 투여시 예상되는 고칼슘혈증은 발생하지 않았다. 3개월된 rat에 PTH를 간헐적으로 투여했을 때 혈청 Ca이 다소 증가했다는 보고(36)와는 상반되지만 이 보고에서도 증가한 혈청 Ca이 정상범위를 벗어나지 않았다고 하였다. Vit.D₃의 경우 대조군에 비해 혈청 Ca이 낮아지는 경향은 있으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 1,25(OH)₂D₃의 투여량과 혈장 Ca²⁺, total Ca은 서로 상관관계가 없음이 SD rat에서도 보고된 바 있다(37). 최근에 pig를 이용한 연구에서도 혈장의 25-hydroxycholecalciferol 농도와 혈장 Ca 및 Mg 농도사이에는 상관관계가 없음이 밝혀졌고(38) 이는 본 연구 결과와 일치한다. CT 투여의 경우, PTH나 Vit.D₃를 단독으로 투여했을 때보다 혈청 Ca이 낮아졌다. 따라서 혈청 Ca 수준을 낮추는 CT의 작용은 Vit.D₃와 함께 투여되었을 때 더 효과가 있는 것으로 보인다.

뼈의 Ca 함량

뼈 내의 Ca 함량은 호르몬이나 식이 Ca 수준, 그리고 이들의 교호작용에 의해서 영향을 받지않았다(Table 6). 유의적인 차이는 없었으나 PTH, Vit.D₃를 각각 투여한 군과 PTH+CT+Vit.D₃를 함께 투여했을 때 대조군에 비해 뼈 내의 Ca 수준은 다소 낮아졌다. 또한 high Ca을 섭취했을 경우가 medium이나 low Ca을 섭취했을 경우보다 뼈 중의 Ca 함량이 훨씬 높았다. 이로 미루

Table 4. Ca contents in mouse liver

Hormone	High Ca	Medium Ca	Low Ca	Average
Control	0.520±0.065 ¹⁾	0.504±0.043	0.501±0.034	0.508
PTH	0.478±0.034	0.416±0.068	0.390±0.029	0.429
VD ₃	0.459±0.036	0.487±0.062	0.484±0.043	0.476
PTH+CT	0.390±0.034	0.547±0.072	0.460±0.107	0.458
VD ₃ +CT	0.503±0.016	0.515±0.162	0.483±0.048	0.499
PTH+VD ₃ +CT	0.463±0.031	0.479±0.156	0.461±0.039	0.468
Average	0.471	0.489	0.463	

¹⁾Mean±S.E.M.(Standard error of mean)

Table 5. Ca contents in mouse serum

	Hormones	High Ca	Medium Ca	Low Ca	Average
Serum (mg/ml serum)	Control	0.085±0.004 ^{1)*3)}	0.078±0.001 ^{*a2)}	0.069±0.002 ^{**}	0.077 ^a
	PTH	0.082±0.003	0.074±0.002 ^{ab}	0.072±0.005	0.076 ^a
	VD ₃	0.083±0.003 [*]	0.072±0.002 ^{**b}	0.069±0.003 ^{**}	0.074 ^a
	PTH+CT	0.076±0.004	0.072±0.001 ^b	0.069±0.004	0.072 ^{ab}
	VD ₃ +CT	0.073±0.004	0.068±0.002 ^b	0.067±0.002	0.069 ^b
	PTH+VD ₃ +CT	0.078±0.002	0.072±0.001 ^b	0.069±0.006	0.073 ^{ab}
Average		0.079 [*]	0.073 ^{**}	0.069 ^{**}	

¹⁾Mean±S.E.M.(Standard error of mean)

²⁾Values within the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

³⁾Values within the same row with different asterisk are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

어 Ca의 섭취가 월등히 높을 때 뼈에 Ca의 축적이 증가하지만, Ca의 섭취가 낮아져도 어느 정도 체내에서 항상성을 유지해 줄 수 있음을 추정할 수 있다.

섭취한 Ca의 수준에 따라서 골밀도는 통계적으로 유의성 있는 차이를 보였으며, 섭취한 Ca의 양이 많을수록 부위에 관계없이 더 높은 골밀도 값을 나타낸 보고서와 그 결과가 유사하다(8). 이러한 결과는 calcium chloride와 calcium carbonate 등을 첨가한 high calcium의 실험에서 대퇴부의 골밀도가 대조군에 비해 높았다는 최근의 보고(39)와도 유사하며, Ca 섭취량과 골밀도간의 양의 상관관계에 관한 보고는 동물 및 인체 실험에서도 입증된 바 있다(33,40).

또한, 본 연구의 결과에서 high Ca을 투여한 mouse가 정상 식이를 투여한 mouse보다 높은 수치의 골밀도를 보이고 있긴 하지만 low Ca을 투여했을 때보다 유의적인 차이를 나타내고 있지 않은 점으로 미루어 식이중의 phosphorus 함량을 고려하지 않고 Ca의 함유량만을 높였을 때에는 Ca의 양에 따라 골밀도가 증가 하는 데에는 한계가 있을 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 생체내에서 Ca대사에 미치는 칼슘조절 호르몬과 식이 Ca 수준의 영향을 조사하였다. BALB/c 생쥐를 high Ca, Medium Ca, 그리고 low Ca군으로 나누고 PTH, CT, Vit D 등의 호르몬을 i.p. injection하여 투여하였다. 5주간의 사육후 생쥐는 에테르 마취후 heart puncture에 의해 희생하였다. Femur의 성장율은 low Ca 군보다는 high Ca군에서 약간 높게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다. PTH+CT군에서는 평균 femur 성장율이 가장 높았으며, 식이적인 Ca 공급이 충분할수록 성장률이 높은 경향을 보였다. 식이 Ca 수준은 뼈조직내의 무기물 보유에 가장 큰 영향을 끼쳤다. 전반적으로 모든군에서 high Ca은 혈청 Ca 수준을 상승시켰다. 식이 Ca 수준이 낮은 경우 PTH는 뼈로부터 Ca유출을 증가시켜 혈청 Ca 수준을 높여주는 것으로 나타났고, 이러한 작용은 CT에 의해 억제되는 것으로 보였다. 대조군에 비해 모든 호르몬을 투여한 군에서는 medium 또는 high Ca 공급시 혈청 Ca 증가가 억제되었다. PTH

Table 6. Ca contents in mouse bone

	Hormone	High Ca	Medium Ca	Low Ca	Average
Bone (g/g ash)	Control	0.386±0.016 ^{1)a2)}	0.369±0.037	0.312±0.023	0.356
	PTH	0.346±0.006 ^{ab}	0.330±0.011	0.337±0.015	0.338
	VD ₃	0.314±0.016 ^b	0.309±0.027	0.344±0.013	0.322
	PTH+CT	0.376±0.009 ^{*a}	0.326±0.022 ^{**3)}	0.330±0.009 ^{**}	0.347
	VD ₃ +CT	0.357±0.012 ^a	0.326±0.001 [*]	0.360±0.006 ^{**}	0.350
	PTH+VD ₃ +CT	0.316±0.014 ^b	0.315±0.025	0.356±0.038	0.327
Average		0.350	0.331	0.338	

¹⁾Mean±S.E.M.(Standard error of mean)

²⁾Values within the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

³⁾Values within the same row with different asterisk are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test.

와 Vit D는 식이 Ca 수준에 관계없이 간의 Ca 저장을 억제시켰으나, 식이 Ca 공급이 적을 경우 뼈에서의 Ca 보유를 촉진시키는 것으로 나타났다. 그러나 식이 Ca 공급이 충분시는 반대의 효과를 나타냈다. 식이 Ca 공급이 높을 때보다 식이 Ca 공급이 낮을 때 PTH, Vit D 및 CT이 공동으로 투여되었을 경우는 뼈의 Ca수준이 크게 증가되었다. 이것은 식이적인 Ca 공급이 부적절한 경우에는 적절한 골밀도를 유지하기 위해 생체내에서 이들 호르몬들이 공동으로 협력하는 작용이 존재한다는 것을 시사한다.

문 헌

1. Raisz, L. G. : Bone resorption in tissue culture: Factors influencing the response to parathyroid hormone. *J. Clin. Invest.*, **44**, 102-115(1965)
2. Chambers, T. J. : The cellular basis of bone resorption. *Clin. Orthop.*, **151**, 283-288(1980)
3. Chung, C. K. : *In vitro* stimulation of bone formation and protein synthesis by parathyroid hormone in cultured neonatal mouse calvarial tissue. *Hallym Univ. J. (Natural Sciences & Medicine)*, **5**, 115-126 (1987)
4. Chung, C. K. : Parathyroid hormonal effect on bone formation and resorption in cultured mouse calvarial tissues. *Kor. J. Endocrinology*, **4**, 126-131(1989)
5. Chung, C. K. : Effect of parathyroid hormone and calcitonin on the enzyme and mineral metabolism of bone cells and phosphorylation. *Kor. J. Nutr.*, **28**, 737-748(1995)
6. Weir, E. C., Terwilliger, G., Sartori, L. and Insogna, K. L. : Synthetic parathyroid hormone-like protein(1-74) is anabolic for bone *in vivo*. *Calcif. Tissue Int.*, **51**, 30-34(1992)
7. Wallach, S., Carstens, J. H., Avioli, L. V. and Feinblatt, J. D. : Physical and biochemical factors in bone metabolism. *Calcified Tissue Int.*, **50**, 1-4(1990)
8. Chung, C. K., Ha, K. S., Kim, H. S., Kang, I. W. and Bae, B. S. : Effects of dietary Ca level and hormones on bone density of mouse. *Kor. J. Nutr.*, **29**, 943-949 (1996)
9. Chung, C. K., Ha, K. S. and Sohn, J. I. : Effect of dietary minerals and Ca-regulating hormones on bone enzyme, alkaline phosphatase activity. *J. Food Sci. Nutr.*, **1**, 80-86(1996)
10. Ha, K. S., Yook, H. S., Kang, I. L., Han, E. K., Kim, H. S. and Chung, C. K. : High calcium in the diet and vitamin D inhibit a bone matrix degrading enzyme β -glucuronidase activity. *J. Food Sci. Nutr.*, **2**, 55-60 (1997)
11. Wiske, P. S., Epstein, S., Bell, N. H., Queener, S. F., Edmondson, J. and Johnston, C. C. : Increases in immunoreactive parathyroid hormone with age. *N. Engl. J. Med.*, **300**, 1419-1421(1979)
12. Gallagher, J. C., Riggs, B. L., Jernbak, C. M. and Arnaud,

- C. D. : The effect of age on serum immunoreactive parathyroid hormone in normal and osteoporotic women. *J. Lab. Clin. Med.*, **95**, 373-385(1980)
13. Insogna, K. L., Lewis, A. M., Lipinski, B. A., Bryant, C. and Baran, D. T. : Effect of age on serum immunoreactive parathyroid hormone and its biological effects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **53**, 1072-1075(1981)
14. Delmas, P. D., Stenner, D., Wahner, H., Mann, K. G. and Riggs, B. L. : Increase in serum bone-carboxyglutamic acid protein with aging in women. *J. Clin. Invest.*, **71**, 1316-1321(1983)
15. Marcus, R., Madvig, P. and Young, G. : Age-related changes in parathyroid hormone and parathyroid hormone action in normol humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **58**, 223-230(1984)
16. Eastell, R., Yergoy, A. L., Vieira, N. E., Cedel, S. L., Kumar, R. and Riggs, B. L. : Interrelationship among vitamin D metabolism, true calcium absorption, parathyroid function, and age in women: evidence of an age-related intestinal resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D action. *J. Bone Mineral Res.*, **6**, 125-132 (1991)
17. Alevizaki, C. C., Ikkos, D. G. and Singhelakis, P. : Progressive decrease of true intestinal calcium absorption with age in normal man. *J. Nucl. Med.*, **14**, 760-762 (1965)
18. Avioli, L. V., McDonald, J. E. and Lee, S. W. : The influence of age on the intestinal absorption of ^{47}Ca in women and its relation to ^{47}Ca absorption in postmenopausal osteoporosis. *J. Clin. Invest.*, **44**, 1960-1967 (1965)
19. Bullamore, J. R., Gallagher, J. C., Wilkinson, R., Nordin, B. E. C. and Marshall, D. H. : Effect of age on calcium absorption. *Lancet*, **2**, 535-537(1970)
20. Gallagher, J. C., Riggs, B. L., Eisman, J., Hamstra, A., Arnaud, S. B. and DeLuca, H. F. : Intestinal calcium absorption and serum vitamin D metabolites in normal subjects and osteoporotic patients. *J. Clin. Invest.*, **64**, 729-736(1979)
21. Nordin, B. E. C., Wilkinson, R., Marshall, D. H., Gallagher, J. C., Williams, A. and Feacock, M. : Calcium absorption in the elderly. *Calcif. Tissue Res.*, **21**(suppl.), 442-451(1976)
22. Horst, R. L., Goff, J. P. and Reinhardt, T. A. : Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinology*, **126**, 1053-1057(1990)
23. Tsai, K. S., Heath, HIII., Kurmar, R. and Riggs, B. L. : Impaired vitamin D metabolism with aging in women. Possible role in pathogenesis of senile osteoporoses. *J. Clin. Invest.*, **73**, 1668-1672(1984)
24. Paulsen, N. V. : Calcium and phosphorus intake in senile osteoporosis. *Geriatrics*, **8**, 76-82(1953)
25. Wardlaw, G. : The effect of diet and life style on bone mass in women. *JADA*, **88**, 17-25(1988)
26. Alan, D. and Martin, C. : Osteoporosis: calcium and physical activity. *CMAJ*, **136**, 587-591(1987)
27. Kim, H. K. and Yoon, J. S. : Factors influencing the bone status of Korean elderly women. *Kor. J. Nutr.*,

- 24, 30-39(1991)
28. Hong, H. O. and Yu, C. H. : The effect of Ca and vitamin D supplementation on bone metabolism in postmenopausal women. *Kor. J. Nutr.*, **27**, 1025-1036(1994)
 29. Matokovic, V., Kostial, K., Simonovic, I., Buzin, R., Brodarec, A. and Nordin, B. E. C. : Bone status and fracture rates in two regions of Yugoslavia. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 540-549(1979)
 30. Chapuy, M. C., Arlot, M. E., Duboeuf, F., Brun, J., Crouzet, B., Arnaud, S., Delmas, P. D. and Meunier, P. J. : Vitamin D₃ and calcium to prevent hip fractures in elderly women. *N. Engl. J. Med.*, **327**, 1637(1992)
 31. Schapira, D., Linn, S., Sarid, M., Mokadi, S., Kabala, A. and Sibermann, M. : Calcium and vitamin D enriched diets increase and preserve vertebral mineral content in aging laboratory rats. *Bone*, **16**, 575-582(1995)
 32. Hey, M. G., Gera, I., Fonseca, J. and Raisz, L. G. : 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ alone or in combination with parathyroid hormone does not increase bone mass in young rats. *Cal. Tissue Int.*, **43**, 284-288(1988)
 33. Lee, W. T. K., Leung, S. S. F., Wang, S. H., Xu, T. C., Zeng, W. P., Lau, J., Oppenheimer, S. J. and Cheng, J. C. Y. : Double-blind, controlled calcium supplementation and bone mineral accretion in children accustomed to a low-calcium diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, **60**, 744-750(1994)
 34. Ejersted, C., Andreassen, T. T., Oxlund, H., Jorgensen, P. H., Bak, B., Haggblad, J., Torring, O. and Nilsson, M. H. : Human parathyroid hormone(1-34) and (1-84) increase the mechanical strength and thickness of cortical bone in the rats. *J. Bone Miner. Res.*, **8**, 1097-1101(1993)
 35. Sung, C. J. : Effects of calcium intake on calcium, sodium and potassium metabolism in young and adult female rats. *Kor. J. Nutr.*, **28**, 309-320(1995)
 36. Mitlak, B. H., Williams, D. C., Bryant, H. U., Paul, D. C. and Neer, R. M. : Intermittent administration of bovine PTH(1-34) increase serum 1,25-dihydroxyvitamin D₃ concentrations and spine bone density in senile rats. *J. Bone Miner. Res.*, **7**, 479-484(1992)
 37. Fox, J. and Kollenkirchen, W. : Normal plasma calcium, phosphate and parathyroid hormone levels during 1,25(OH)₂D₃ infusions in rats. *Am. J. Physiol.*, **262**, E126-129(1992)
 38. Pointillart, A., Denis, I. and Colin, C. : Effects of dietary vitamin D on magnesium absorption and bone mineral contents in pigs on normal magnesium intakes. *Manes. Res.*, **8**, 19-26(1995)
 39. Pastoor, F. J. H., Opitz, R., Klooster, A. T. H. and Beynen, A. C. : Dietary calcium chloride vs. calcium carbonate reduces urinary pH and phosphorus concentration, improves bone mineralization and depress kidney calcium level in cats. *J. Nutr.*, **124**, 2212-2222(1994)
 40. Chan, G. M. : Dietary calcium and bone mineral status of children and adolescents. *Am. J. Dis. Child.*, **145**, 631-634(1991)

(1998년 9월 21일 접수)