

# 골다공증 모델 흰쥐에서 칼슘과 철 보충제의 과다섭취가 골격손실과 신석회침착 및 신장기능에 미치는 영향\*

이 종 현<sup>§</sup> · 이 연 숙\*\*

등남보건대학 식품영양과, 서울대학교 식품영양학과,\*\*

## Effect of Excess Calcium and Iron Supplement on Bone Loss, Nephrocalcinosis and Renal Function in Osteoporotic Model Rats\*

Lee, Jong Hyun<sup>§</sup> · Lee, Yeon Sook\*\*

Department of Food and Nutrition, DongNam Health College, Suwon 440-714, Korea  
Department of Food and Nutrition,\*\* Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

### ABSTRACT

This study examined the effects of excess intake of calcium (Ca) and iron (Fe) supplement on bone loss, nephrocalcinosis and renal function in osteoporotic model rats. Seven-week-old female rats were first fed a Ca-deficient diet for four weeks after ovariectomy operation, and then fed one of nine experimental diets for additional eight weeks, containing three levels of Ca, normal (0.5%) or high (1.5%) or excess (2.5%) and three levels of Fe, normal (35ppm) or high (210ppm) or excess (350ppm). The osteoporotic model rats showed a remarkable increase in body weight, serum alkaline phosphatase (ALP) and decrease in breaking force, Ca, P, Mg contents of femur. Serum Ca concentration was not significantly affected by dietary Ca and Fe levels. Liver Ca content increased in rats fed a high- and excess-Ca diet. Kidney Ca content and microscopic Ca deposition remarkably increased in osteoporotic model rats compared to control group, and showed a tendency to decrease in rats fed a excess-Ca diet. Breaking force of femur increased with increasing dietary Ca levels, but Ca, P contents of femur and serum ALP were not significantly affected by dietary Ca and Fe levels. Serum total protein decreased in rats fed a excess-Ca diet, BUN increased in rats fed a excess-Ca diet, while serum uric acid and creatinine were not significantly affected by dietary Ca levels. Urinary creatinine, GFR increased in rats fed a high- and excess-Ca diet, and GFR was highest in rats fed a excess-Ca/excess-Fe diet. These results suggest that excess intake of Ca may increase breaking force of femur, but not increase mineral contents of femur, and decrease kidney function. Furthermore, excess intake of Fe and Ca concurrently may aggravate kidney function leading to potential health problems in ovariectomized osteoporotic model rats. (*Korean J Nutrition* 33(2) : 147~157, 2000)

**KEY WORDS:** osteoporosis, excess Ca, excess Fe, bone loss, nephrocalcinosis, renal function.

### 서 론

폐경후 여성에 있어서의 칼슘섭취의 증가는 골손실 및 골절위험을 감소시키는 것으로 보고되고 있다.<sup>1)2)</sup> 폐경후 여성에게 칼슘보충시 칼슘보충을 하지 않은 여성보다 골손실이 40% 감소되고,<sup>3)</sup> 고관절(hip)과 전박 forearm)에서 골질량이 가장 많이 유지된<sup>4)</sup> 것으로 나타났으며, 또한 칼슘보충제의 섭취시 중후성 골절과 척추골절 발생율이 각각

채택일 : 2000년 3월 2일  
\*The authors wish to acknowledge the financial support of the Korea Research Foundation made in the program year of 1997.

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

70%,<sup>5)</sup> 28%<sup>6)</sup> 감소한 것으로 나타났다. NIH<sup>7)</sup>는 폐경후 여성에 있어서 호르몬 대체요법을 실시하는 경우에는 1일 1000mg의 칼슘을, 호르몬 대체요법을 실시하지 않는 경우는 1일 1500mg의 칼슘을 섭취할 것을 권장하였으며, 이는 현재 우리나라 폐경후 여성에서의 칼슘권장량인 700mg보다 훨씬 많은 양이다.

동물을 대상으로 한 칼슘보충 효과를 살펴보면 성장기의 골다공증 실험모델<sup>8)</sup> 및 난소절제 흰쥐<sup>9)</sup>에게 정상수준 이상의 칼슘보충시 뼈의 강도 및 무기질 함량이 정상으로 회복하였으며 칼슘보충 수준에 따른 차이는 없는 것으로 나타난 반면, 노령기의 난소절제 흰쥐에게 정상칼슘을 급여한 경우<sup>10)</sup> 대퇴골의 무게 및 무기질 함량이 정상으로 회복되지 않은 것으로 나타나 칼슘보충효과에 차이를 보이고 있다.

칼슘이 골다공증 뿐만 아니라 고혈압, 고지혈증, 당뇨 및 대장암 등의 발병위험을 감소시키는 효과적인 요인으로 보고<sup>11)</sup>되면서 이의 예방 및 치료를 위한 칼슘보충이 권장되고 있으나, 이 경우 장기간 복용시의 안전성 문제가 고려되어야 한다.<sup>12)</sup> 34~69세의 여성을 대상으로 한 단기간(14일)의 칼슘 보충실험결과<sup>13)</sup> 고칼슘뇨증(250mg/d)이 나타났는데 지속적인 고칼슘뇨는 신석회침착과 관련되어 있고,<sup>14)</sup> 이는 신장기능을 저하시킬 수 있다. 또한 난소절제는 신장기능에 영향을 미쳐 신세뇨관에서의 칼슘 재흡수를 감소시킴으로써 고칼슘뇨증을 유발함이 보고<sup>15)</sup>되어 있으며, 따라서 폐경 후 골다공증 모델에 있어서의 과다한 칼슘보충이 신장기능에 영향을 미칠 수 있을 것으로 예상할 수 있다.

철보충제의 과다섭취 문제와 관련하여 식이 철수준이 골격대사에 미치는 영향을 보고한 문헌은 많지 않으나, 39~73세의 여성을 대상으로 조사한 결과<sup>16)</sup> 식이 철수준의 증가 시 고관절 골절위험이 증가하며, 특히 고수준의 칼슘과 고수준의 철을 동시에 섭취한 군에서 골절위험이 더 높은 것으로 나타났고, 닭에게 5000mg/kg(normal: 40mg/kg)의 철을 2주간 급여시<sup>17)</sup> 체중증가가 감소하고 골회분함량이 감소한 것으로 나타나 과다한 철섭취가 골격대사에 영향을 미칠 수 있음이 제시되고 있다. 또한 과다한 철은 급성 또는 만성적인 신장손상의 원인으로 작용할 수 있음이 보고<sup>18)</sup>되어 있으나 그 정확한 기작은 아직 확실하지 않으며, 철이 신장기능에 미치는 영향은 단백질 또는 만성적인 신장기능 저하시 나타나는 것으로 제시되고 있다.<sup>19)</sup>

이상에서 살펴본 바와 같이 골다공증과 관련하여 칼슘의 양적, 질적 섭취방법에 대해 많은 연구가 수행되어 왔으나, 칼슘과 철의 동시과다섭취 및 이에 따른 무기질의 양적 불균형과 생리기능에 미치는 영향 등에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 특히 최근 국내외적으로 여러 종류의 칼슘 및 철 보충제가 개발, 시판되고 있을 뿐만 아니라<sup>20,21)</sup> 여러 가공식품의 생산과정에서 이들 무기질의 강화가 두드러지게 나타나고 있어,<sup>22)</sup> 여기에 평상시의 칼슘과 철의 섭취량까지 고려하면 이들 무기질의 과다섭취가 심각한 영양문제로 대두될 수 있다. 이러한 관점에서 칼슘의 요구도가 높은 폐경 후 골다공증 모델에 있어 칼슘과 철의 적정 섭취량과 섭취비 및 과다섭취시의 영양문제 등에 대한 연구가 필요한 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 난소절제 골다공증 모델 흰쥐를 대상으로 칼슘과 철의 과다섭취와 섭취량의 불균형이 골격손실과 신석회침착 및 신장기능에 어떤 영향을 미치는지를 검토함으로써 무기질 권장량 책정 또는 무기질 보충제 급여와 식품강화시 영양교육의 기초자료로 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험설계 및 실험동물

실험동물은 체중 약 210g의 7주령 Sprague Dawley종 암컷 흰쥐(서울대학교 실험동물 사육장에서 구입)를 이용하였다. 실험동물을 10군으로 나누어 난소절제후 칼슘 결핍식이(식이내 칼슘함량 분석치: 4.35mg%)를 4주간 급여함으로써 골다공증 실험모델을 설정한 후,<sup>23,28)</sup> 1군은 희생시켜 실험식이 급여전 기본군으로 하고, 나머지 9군에게는 칼슘과 철의 섭취수준을 각각 정상, 고, 과다의 3수준으로 조합한 실험식이를 8주간 더 급여하였다. 별도의 실험군에 sham 수술 후 정상Ca/정상Fe 식이를 4주, 12주간 각각 급여하여 정상대조군(control)으로 하였다.

실험동물은 한 군에 6마리씩 완전 임의배치하였으며, 실험식이와 3차 탈이온수는 자유 급식방법(ad libitum)으로 급여하였다. 대사 cage와 사육에 사용된 모든 기구는 무기질 오염방지를 위해 0.4% EDTA(ethylene diamine tetraacetic acid)로 씻은 후 3차 탈이온수로 3회 이상 헹구어 사용하였으며, 초자기구는 10% 염산용액에 24시간 이상 담갔다가 3차 탈이온수로 헹구어 사용하였다. 실험동물들은 Shoe-box cage에서 한 마리씩 분리사육하였으며, 실험동물 사육실 환경은 온도 22 ± 2°C, 상대습도 65 ± 5%로 유지하였고, 명암은 12시간 주기(light: 6 : 00 a.m. ~ 6 : 00 p.m.)로 조절하였다.

### 2. 실험식이

실험식은 정제식이(semipurified diet)로서 조성은 기본적으로 AIN-93 패턴<sup>24)</sup>을 따랐으며, 골다공증 모델 흰쥐에게 식이내 칼슘과 철의 섭취수준을 각각 정상(normal), 고(high), 과다(excess)의 3수준 [Ca: N(0.5%), H(1.5%), X(2.5%); Fe: N(35ppm), H(210ppm), X(350ppm)]으로 조합하여 칼슘과 철의 섭취비를 달리한 9종의 실험식이를 8주간 급여하였다(Table 1). NRC<sup>25)</sup>는 건강한 성인에게 있어 1일 Ca 2500mg 및 Fe 25~75mg을 섭취하는 경우 인체에 부정적인 효과가 없음을 제시한 바 있으며, 이 수준은 칼슘과 철에 있어 각각 성인 권장량의 최대 약 3배 및 6배에 해당된다. 따라서 본 실험에서는 NRC가 보고한 수준을 섭취허용량으로 간주하여 고수준(H)으로 설정하였으며, 과다수준(X)은 Ca의 경우 필요량의 5배, Fe는 필요량의 10배로 설정하였다.

칼슘의 급원으로는 보충제로서 널리 이용되고 있는 CaCO<sub>3</sub>를, 철의 급원으로는 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O를 사용하였다. 식이내

인의 함량은 칼슘함량에 맞추어 조정하였으며 0.5% Ca(정상) 식이에서는 P 0.3%(Ca: P = 1.67 : 1), 1.5% Ca에서는 P 0.6%(Ca: P = 2.5 : 1), 2.5% Ca 식이에서는 p 0.60% (Ca: P = 4.2 : 1)을 함유하도록 하였다. 칼슘 결핍식이에서의 인 함량은 0.38%였다.

3. 시료수집 및 분석방법

1) 시료수집

실험 최종일에 실험동물을 14시간 절식시킨 후 sodium pentobarbital(Pitman-Moore, Inc., USA)을 체중 100g 당 5mg씩 복강내 주사하여 마취시킨 뒤 시료를 채취하였다. 경동맥에서 채취한 혈액은 24시간 동안 4℃에 보관하였다가 혈청을 분리(3000rpm에서 20분간 원심분리; Sorvall, GLC-2B)하여 분석할 때까지 -70℃에서 냉동보관하였다. 혈액채취 후 간과 양쪽 신장을 적출하여 장기에 부착되어 있는 지방이나 근육을 깨끗이 제거한 후 냉장 생리식염수 (0.9% NaCl 용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음 여과지로 물기를 닦고 생조직의 무게를 측정하였다. 양쪽 대퇴골은 적출한 후 부착되어 있는 근육, 지방, 인대 등 부착물을 전부 제거한 다음 무게와 길이를 측정하였다. 실험 종료전 4일간 매일 동일한 시간에 24시간 동안의 뇨를 수거하였으며, 부피를 측정하고 35% HCl(부피의 약 3%)로 처리하였다. 모든 시료는 분석할 때까지 -70℃에서 보관하였다.

2) 시료분석

혈청 칼슘은 혈액자동분석기(Spotchem, KDK Corporation, Japan)를 이용하여 측정하였다. 간과 신장 및 대퇴골의 칼슘함량은 각 조직을 냉동건조후 550~600℃의 회

화로에서 약 2시간 동안 회화시킨 다음, 식혀서 질산용액을 시료가 촉촉히 젖을 정도로 떨어뜨린 후, 다시 약 4~6시간 동안 회화하여 얻은 회분을 6N HCl 용액으로 용해한 다음, 0.2% LaCl<sub>3</sub> · 7H<sub>2</sub>O로 희석하여 원자흡광광도계로 422.7 nm에서 측정하였다. 대퇴골의 마그네슘 함량은 칼슘과 동일한 과정을 거쳐 원자흡광광도계로 285nm에서 측정하였으며, 인의 전처리 는 칼슘의 경우와 동일하지만 희석을 증류수로 하여 Fisk-Subbarow 방법<sup>26)</sup>으로 비색정량하였다.

소변의 칼슘함량은 냉동보관한 시료를 꺼내어 녹인 후 3000rpm에서 20분간 원심분리(Ultracentrifuge, Beckman, USA)시킨 다음 0.2% LaCl<sub>3</sub> · 7H<sub>2</sub>O로 희석하여 원자흡광광도계로 측정하였다.

혈청 alkaline phosphatase(ALP) 활성은 Kind-King법을 이용한 kit(아산제약)을 사용하여 측정하였으며, 뇨 중 hydroxyproline은 Bergman과 Loxley의 방법<sup>27)</sup>으로 비색정량하였다. 대퇴골의 파단력은 Instron(Instron Universal Testing Instrument, Model 1000)을 이용하여 측정하였으며 사용한 추는 5kg, scale range는 50/10이었다.

혈청 총단백질, albumin, creatinine, urea N, uric acid 함량은 혈액자동분석기를 이용하여 측정하였다. 뇨 중 creatinine은 Jaffe반응을 이용한 kit(아산제약)을 이용하여 측정하였으며, 사구체여과율(GFR)은 혈액과 뇨 중의 creatinine 함량 및 뇨량으로부터 계산하였다.

3) 신장의 병리학적 검사

병리조직학적 검사를 위하여 신장의 일부를 10% 중성완충 포르말린에 3일간 충분히 고정시킨 다음, 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매기(Reichert-Jung)를 이용

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

Ca levels	NCa			HCa			XCa		
	NFe	HFe	XFe	NFe	HFe	XFe	NFe	HFe	XFe
Casein	200	200	200	200	200	200	200	200	200
DL-methionine	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Starch	681.5	676.5	672.5	643.4	638.4	634.4	618.4	613.4	609.4
Fiber	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Corn oil	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Mineral mix <sup>2)</sup> (Ca & Fe free)	35	35	35	35	35	35	35	35	35
Vitamim mix <sup>3)</sup>	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2	2	2	2	2
CaCO <sub>3</sub>	12.49	12.49	12.49	37.46	37.46	37.46	62.44	62.44	62.44
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0	0	0	13.18	13.18	13.18	13.18	13.18	13.18
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(premix) <sup>4)</sup>	1	6	10	1	6	10	1	6	10

<sup>1)</sup>Mineral mix(Ca & Fe free)(g/kg mix) : Potassium phosphate, monobasic 196 ; Potassium citrate, tripotassium, monohydrate 70.78 ; Sodium chloride 74.0 ; Potassium sulfate 46.6 ; Magnesium oxide 24.0 ; Zinc carbonate 1.65 ; Manganous carbonate 0.63 ; Cupric carbonate 0.30 ; Potassium iodate 0.01 ; Sodium selenate, anhydrous 0.01025 ; Ammonium paramolybdate, 4 hydrate 0.00795 ; Chromium potassium sulfate, 12 hydrate 0.275 ; Starch 585.735

<sup>4)</sup>AIN-76

<sup>3)</sup>The premixture consisted of 174.2g of FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O mixed with 825.8g of starch

하여 포매하였다. 포매된 조직을 마이크로톰으로 4 $\mu$ m로 박 절한 후 Hematoxylin & Eosin(H & E) 염색을 실시하여 광학현미경하에서 병리조직학적 변화를 관찰하였다.

#### 4. 통계분석

실험결과는 SAS program을 이용하여 평균과 표준오차(mean  $\pm$  SE)로 제시하였다. 각 처리별 유의성 및 칼슘과 철의 과다섭취 영향은 ANOVA후 Duncan's multiple range test로 검증하였으며, 여러 측정치간의 상관관계는 Pearson's correlation coefficient를 이용하여 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 골다공증 모델 설정

폐경후 골격손실을 나타내는 동물모델로서는 골격성장이 둔화되는 약 3개월령의 성숙한 흰쥐를 이용한 난소절제 동물모델이 제시되어 있으며, 현재까지 완벽한 폐경후 골다공증 동물모델은 제시되어 있지 않은 실정이다.<sup>28)</sup> 본 실험에서는 Ezawa<sup>29)</sup>가 개발한 난소절제와 칼슘 결핍식이의 급여에 의한 골다공증 실험모델에 근거하여, 성숙기의 7주령된 암컷 흰쥐(평균체중 약 210g)에게 난소절제와 칼슘 결핍 식이를 4주간 급여함으로써 골다공증 모델을 설정하였으며, 그 결과를 Table 2에 제시하였다.

체중증가량 및 식이섭취량은 골다공증 모델이 대조군보다 각각 85% 및 16% 높게(p < 0.01 ; p : 0.05) 나타났다. 이러한 결과가 나타난 이유는 난소를 절제한 흰쥐가 체중을

**Table 2.** Characteristics of normal and osteoporotic model rats

	Normal <sup>1</sup>	Osteoporotic <sup>2</sup>
Weight gain(g/d)	2.00 $\pm$ 0.19	3.70 $\pm$ 0.27**
Food intake(g/d)	15.4 $\pm$ 0.7	17.9 $\pm$ 0.6*
Serum Ca(mg/dl)	9.62 $\pm$ 0.39	9.76 $\pm$ 0.14
Serum P(mg/dl)	4.88 $\pm$ 0.22	5.73 $\pm$ 0.24*
Serum ALP(K-A) <sup>3</sup>	30.7 $\pm$ 3.0	58.5 $\pm$ 6.8**
Urinary OHPr(mg/d)	0.12 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.02
Femur		
Wt(g/100g BW)	0.62 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.04**
Length(cm)	3.29 $\pm$ 0.02	3.35 $\pm$ 0.02
Breaking force(kg/g)	6.86 $\pm$ 0.30	5.61 $\pm$ 0.49*
Ca(mg/g dry wt)	220 $\pm$ 13	200 $\pm$ 3**
P(mg/g dry wt)	110.3 $\pm$ 1.6	95.8 $\pm$ 1.6***
Mg(mg/g dry wt)	4.26 $\pm$ 0.09	3.51 $\pm$ 0.11**

Values are mean  $\pm$  SE of 6 rats per group

Differences evaluated by the Dunan's test between sham and OVX are significant as follows: \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001

<sup>1</sup>Normal(Sham-NCa): Sham operation & normal Ca diet for 4 weeks

<sup>2</sup>Osteoporotic(OVX-LCa): Ovariectomized & low Ca diet for 4 weeks

<sup>3</sup>ALP(K-A): alkaline phosphatase(king-amstrong unit)

증가시킴으로써 체중지탱능력을 키우고, 에스트로젠 생성이 가능한 체지방을 증가시키려는 기전으로 생각된다.<sup>28)</sup> 지방 조직은 androgen에서 estrogen이 생성되는 장소로서, androstene-dione은 estrone으로 전환되며 이어 estradiol로 전환된다. 따라서 지방조직량이 많을수록 estrogen 생성이 증가하며, 특히 폐경에 따른 estrogen의 부족을 보완함으로써 골밀도를 유지하는데 도움이 될 수 있다.<sup>30)</sup>

혈청 칼슘함량은 대조군과 차이가 없었으며, 혈청 인함량은 골다공증 모델에서 17% 증가(p < 0.05)하였다. 혈청 alkaline phosphatase(ALP) 활성은 골다공증 모델에서 약 2배로 증가(p < 0.01)하였고, 뇨 중 hydroxyproline(OHPPr) 배설량도 골다공증 모델에서 증가하는 경향을 보였는데, 그 이유는 난소절제로 인한 estrogen 결핍이 bone turnover의 증가를 초래했기 때문으로 생각된다.<sup>31)</sup>

대조군과 비교시 골다공증 모델의 대퇴골 중량은 23%, 강도는 18%, 칼슘과 인 및 마그네슘 함량은 각각 9%, 13% 및 18% 감소하였다. 선행연구 결과<sup>32)</sup> 폐경후 골다공증 모델 흰쥐에서 혈 중 칼슘 농도, 뼈의 강도 및 뼈의 칼슘과 인함량이 유의적으로 감소한 것으로 나타났으며, Aloia 등<sup>33)</sup>은 뼈의 총 무기질 함량이 연령이 같은 정상인보다 골다공증 환자군에서 16% 더 낮음을 보고하였다. 이상과 같은 골다공증의 특징적인 변화들은 본 연구에서 사용된 골다공증 실험모델 설정이 적합하였음을 의미한다.

### 2. 체중 및 식이섭취량

체중 및 식이섭취량은 Table 3에 제시하였다. 골다공증 모델 흰쥐에게 칼슘과 철수준을 달리한 9종의 실험식이를 8주간 급여한 결과 체중증가량은 모든 실험군에서 정상대조군(control)에 비해 높은 경향을 나타냈으며, 식이 칼슘과 철수준의 상호작용 효과가 나타났다. 정상철(NFe) 섭취군에서는 식이 칼슘이 고수준(HCa) 및 과다수준(XCa)인 경우 체중증가량이 감소하는 경향을 보였으며, 과다철(XFe) 섭취군에서는 식이칼슘이 과다수준(XCa)인 경우 정상수준(NCa)에 비해 유의적으로(p < 0.05) 체중증가량이 감소하였다.

식이섭취량은 정상대조군과 비교시 유의적인 차이가 없었으며, 식이 칼슘수준의 영향을 받아(p < 0.05) 정상(NFe) 및 고수준(HFe)의 철섭취군에서는 식이칼슘이 고수준(HCa)과 과다수준(XCa)인 경우 식이섭취량이 증가하는 경향을 보였다. 식이 철수준은 식이섭취량에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 식이효율(FER)은 식이 칼슘 및 철수준의 영향을 받지 않는 것으로 나타났으나, 과다철(XFe) 섭취군에서는 식이 칼슘수준이 증가할수록 식이효율이 감소하여 과다

**Table 3.** Body weight, weight gain, food intake and FER in osteoporotic rats fed experimental diets for 8 weeks

	Final BW (g)	Wt gain (g/d)	Food Intake (g/d)	FER†
Control*	320±15 <sup>b</sup>	0.61±0.20 <sup>c</sup>	15.4±0.8 <sup>abc</sup>	38±0.012 <sup>b</sup>
NCa				
NFe	391±11 <sup>a</sup>	0.94±0.05 <sup>abc</sup>	14.4±0.4 <sup>c</sup>	64±1 <sup>ab</sup>
HFe	377±16 <sup>a</sup>	0.84±0.07 <sup>bc</sup>	15.1±0.4 <sup>bc</sup>	55±7 <sup>ab</sup>
XFe	397±16 <sup>a</sup>	1.21±0.13 <sup>a</sup>	15.8±0.6 <sup>abc</sup>	75±10 <sup>a</sup>
HCa				
NFe	381±11 <sup>a</sup>	0.83±0.11 <sup>bc</sup>	15.4±0.6 <sup>abc</sup>	52±7 <sup>ab</sup>
HFe	392±8 <sup>a</sup>	1.01±0.11 <sup>ab</sup>	17.2±0.9 <sup>a</sup>	57±6 <sup>ab</sup>
XFe	378±10 <sup>a</sup>	0.96±0.09 <sup>ab</sup>	15.6±0.5 <sup>abc</sup>	60±9 <sup>ab</sup>
XCa				
NFe	382±12 <sup>a</sup>	0.83±0.07 <sup>bc</sup>	16.1±0.3 <sup>abc</sup>	52±4 <sup>ab</sup>
HFe	395±10 <sup>ab</sup>	0.98±0.11 <sup>ab</sup>	16.7±0.5 <sup>ab</sup>	60±11 <sup>ab</sup>
XFe	378±18 <sup>a</sup>	0.73±0.10 <sup>bc</sup>	16.8±0.7 <sup>ab</sup>	47±7 <sup>b</sup>
ANOVA	NS	Ca*Fe*	Ca*	NS

Values are mean ± SE of 6 rats per group  
 Values within the same column with different superscripts are significantly different at p < 0.05  
 ANOVA ; Ca: Effect of dietary Ca level, Fe: Effect of dietary Fe level, Ca\*Fe: interaction between Ca and Fe(\*, \*\*, \*\*\*: significant at p < 0.05, 0.01, 0.001 respectively) NS: not significantly different among groups  
 †FER(Food efficiency ratio): weight gain(g)/ food intake(kg)  
 \*Control: Sham operation and normal Ca/Fe diet for 12 weeks

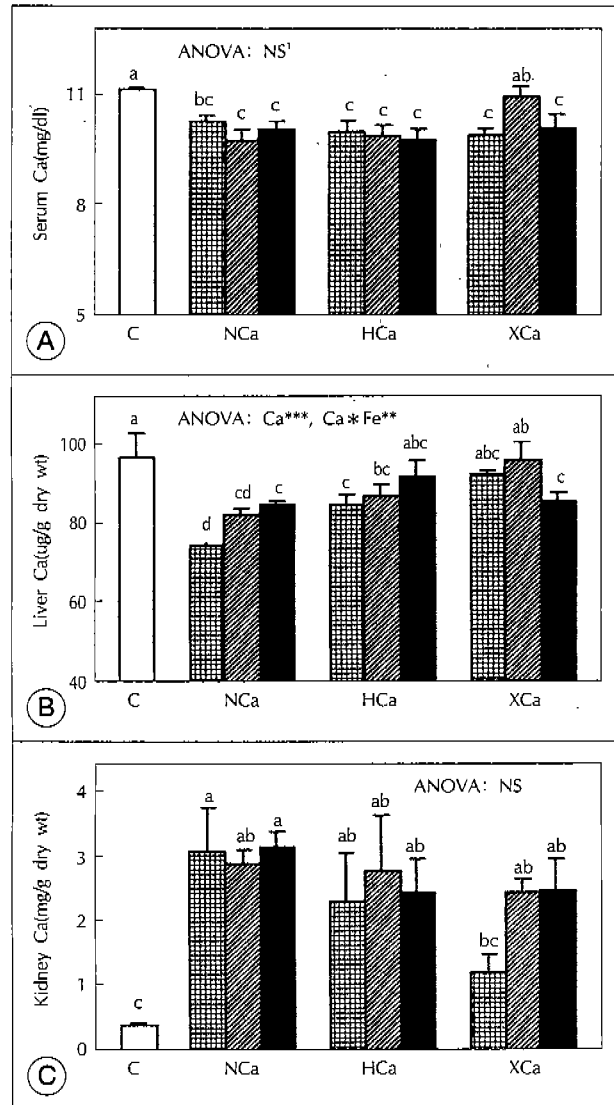
칼슘(XCa) 섭취시 낮게(p < 0.05) 나타났다.

**3. 혈청과 조직 중 칼슘함량**

혈청, 간 및 신장에서의 칼슘 함량은 Fig. 1에 제시하였다. 골다공증 모델에게 실험식을 급여한 결과, 혈청 칼슘 함량은 한 군(과다Ca/고Fe군)을 제외한 모든 군에서 정상대조군에 비해 유의적으로 낮았으나 모두 정상범위(7.2~13.9mg/dl)<sup>33)</sup>를 나타냈다. 식이 칼슘 및 철수준 증가에 따른 혈청 칼슘농도의 유의적인 차이는 없었다. 난소절제후 식이 칼슘수준을 달리하여 급여한 경우 혈청 칼슘함량에 차이가 없음은 다른 논문<sup>9)34)</sup>에서도 보고되어 있으며, 이는 칼슘의 항상성이 호르몬 분비에 의해서 조절, 유지되기 때문으로 생각된다.

간의 칼슘함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받아(p < 0.001) 정상수준(NFe)의 철섭취군에서는 식이칼슘이 고수준(HCa) 및 과다수준(XCa)인 경우 증가하였으며, 고수준(HFe)의 철섭취군에서는 식이칼슘이 과다수준(XCa)인 경우 간의 칼슘함량이 증가하였다. 식이 철수준은 간의 칼슘함량에 영향을 미치지 않았다.

신장의 칼슘함량은 거의 모든 실험군에서 정상대조군의 2.9~7.8배로 높게(p < 0.05) 나타났다. 식이 칼슘과 철 수



**Fig. 1.** Calcium concentration in serum(A), liver(B) and kidney(C) in osteoporotic rats fed experimental diets for 8 weeks(■ normal Fe, ▨ high Fe, ■ excess Fe) ANOVA: see Table 3.

준에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 정상철(NFe) 섭취군에서는 식이칼슘이 과다수준(XCa)인 경우 정상수준(NCa)에 비해 오히려 신장의 칼슘함량이 감소(p < 0.05)한 것으로 나타났다. 정상 쥐에게 stock diet 급여시 관찰되는 신장 칼슘함량의 상한선(upper limit)이 0.5mg/g dry wt<sup>35)</sup>임을 고려할 때, 본 실험결과 정상대조군은 0.41mg/g dry wt로 정상범위내에 있었으나 골다공증 모델 흰쥐에게 실험식을 급여한 경우에는 정상보다 훨씬 높은 칼슘침착(1.19~3.11mg/g dry wt)을 나타냈다.

신장조직을 광학현미경으로 관찰한 결과(Fig. 2), 한 군(과다Ca/고Fe군)을 제외한 모든 식이군에서 mild(score 1)~severe(score 3)에 해당하는 다양한 석회침착이 관찰

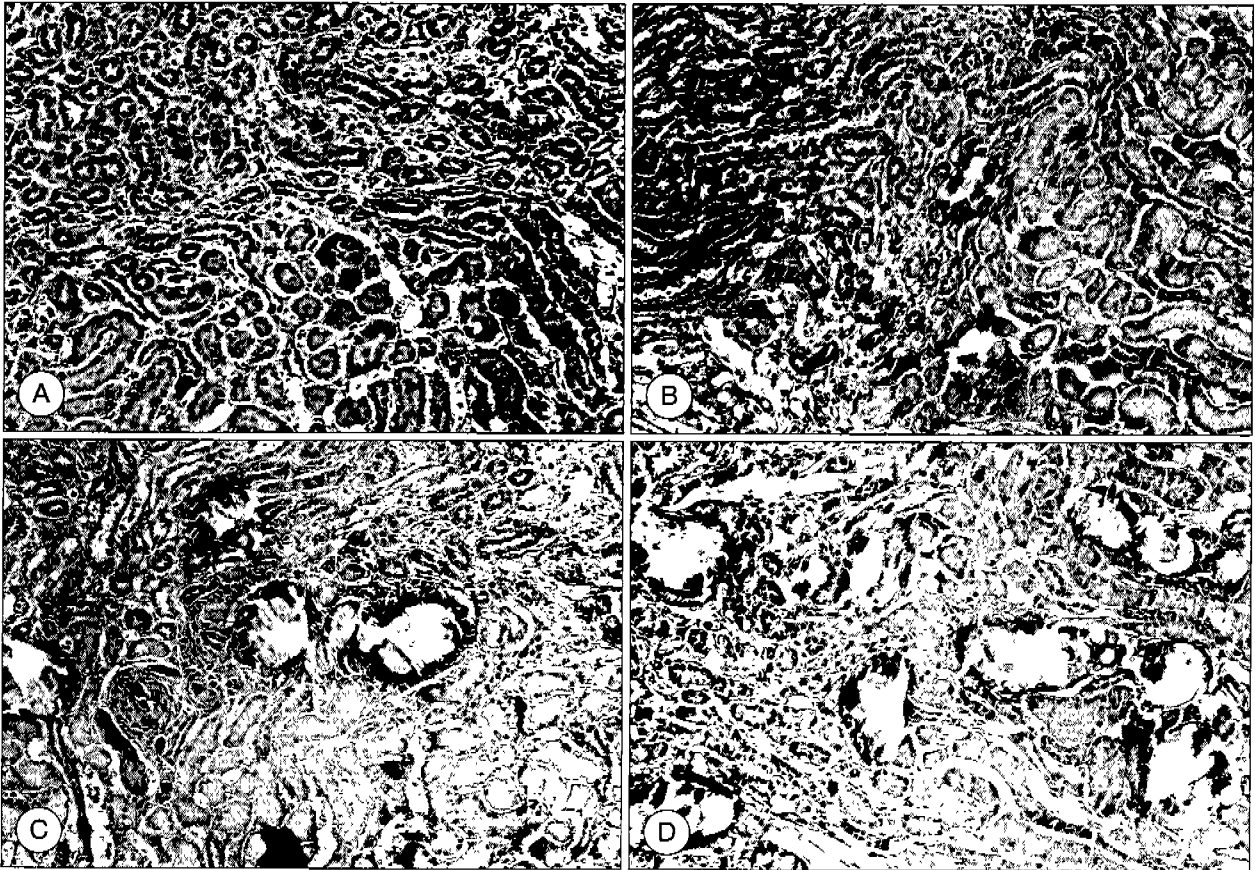


Fig. 2. Calcium deposition in kidney of osteoporotic rats fed experimental diets for 8 weeks H & E, X100 (A: control, B: mild, C: moderate, D: severe).

되었으며, 석회침착 빈도 및 정도는 실험군별로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 석회침착은 주로 피질과 수질 경계 부위의 신세뇨관 기저막과 주위 결합조직에서 관찰되었고, 심한 경우에는 피질의 일부에도 존재하였다. 석회침착이 아주 심한 몇 예에서는 석회침착이 일어난 주위에 한계가 명료하게 염증세포의 침윤 및 섬유화도 관찰되었다. 그러나 정상대조군에 있어서는 특징적인 조직학적 변화를 관찰할 수 없었다. 신장에서의 석회침착 점수(조직학적 검사결과)와 신장 칼슘함량(화학적 분석결과)는 양의 상관관계( $r = 0.5411, p < 0.001$ )를 나타냈다.

신장에서의 석회침착을 초래하는 요인과 관련하여 식이내 칼슘자체의 함량보다는 칼슘과 인의 비율이 중요함이 보고되어 있으며, 특히 고P식이<sup>36)37)</sup> 및 저Ca-고P 식이(Ca:P ratio가 1미만)<sup>38)</sup>는 신장내 이들 무기질의 농도를 크게 증가시킨다. 고칼슘 식이에 따른 신장 칼슘농도의 변화에 대한 연구에서 Shackelford 등<sup>39)</sup>은 신장의 무기질화가 0.75% Ca수준에서 감소함을 보고하였고, Hoek 등<sup>38)</sup>은 0.75% Ca수준(Ca:P = 0.75 : 0.4)에서는 무기질화가 근본적으로 발생하지 않았으나 0.5% Ca수준(Ca:P = 0.50 :

0.4)에서는 발생함을 보고하였다. 이와 같이 칼슘수준에 따른 신장 칼슘 농도의 차이가 큰 이유는 식이내 칼슘과 인의 비율이 각각 달랐기 때문인 것으로 생각된다.

본 실험에서는 식이내 인의 함량을 칼슘함량에 맞추어 조정하였다(Ca: p = NCa 1.67 : 1, HCa 2.5 : 1, XCa 4.2 : 1). 따라서 골다공증 모델에서 나타난 비정상적인 신장 칼슘침착은 식이내 인함량과 칼슘과의 비율변동에 따른 영향을 배제할 수는 없으나, 본 실험에서는 주로 난소절제에 기인한 것으로 사료되었으며, 이는 골다공증 모델 설정을 위해 난소절제후 칼슘결핍 식이를 4주간 급여시의 신장칼슘함량이 대조군에 비해 높게(4.7배) 나타난 결과(자료 미제시)로 지지되었다.

#### 4. 대퇴골의 무기질 함량과 골격대사

대퇴골의 중량, 길이 및 강도는 Table 4에 제시하였다. 골다공증 모델 흰쥐에게 실험식이를 급여한 결과 단위체중당 대퇴골 중량은 모든 실험군에서 정상대조군에 비해 약 22% 감소( $p < 0.05$ )하였으며, 대퇴골의 길이는 유의적이지는 않으나 정상대조군에 비해 약간 높은 경향을 나타냈

다. 대퇴골의 중량과 길이는 식이 칼슘 및 철수준에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다. 파단력으로 측정된 뼈의 강도는 실험식이군간 유의적인 차이는 없었으나, 식이 칼슘수준이 증가할수록 뼈의 강도가 증가하여 정상칼슘(NCa)군에 비해 과다칼슘(XCa)군에서 높게( $p < 0.05$ ) 나타났다.

대퇴골의 칼슘, 인 및 마그네슘 함량은 Table 4에 제시한 바와 같이 모든 실험군에서 정상대조군과 비교시 유의적으로( $p < 0.05$ ) 낮게 나타났다. 대퇴골의 칼슘함량은 식이 칼슘 및 철수준에 따른 차이를 보이지 않았다. 인함량의 경우 정상철(NFe) 섭취군에서는 고칼슘(HCa) 및 과다칼슘(XCa) 섭취시 유의적으로 증가한 것으로 나타났으며, 과다철(XFe) 섭취군에서도 고칼슘(HCa) 및 과다칼슘(XCa) 섭취시 유의적이지 않으나 증가하는 경향을 보였다. 그러나 고수준의 철섭취(HFe)군에서는 식이 칼슘수준이 증가함에 따라 오히려 인함량이 감소하여 과다칼슘(XCa) 섭취시 낮게( $p < 0.05$ ) 나타났다. 마그네슘 함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받아( $p < 0.01$ ) 고수준(HFe)의 철섭취군에서는 식이칼슘이 과다수준(XCa)인 경우 정상수준(NCa)에서보다 낮게 나타났으며, 과다철(XFe) 섭취군에서도 식이 칼슘수준이 증가할수록 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 과다칼슘 섭취로 인한 마그네슘의 흡수저해 효과<sup>40)</sup>인 것으로 추정되나 본 연구에서는 확인되지 않았다.

혈청 ALP 활성은 Table 4에 제시한 바와 같이 거의 모든 실험군에서 정상대조군과 비교시 유의적으로( $p < 0.05$ ) 높게(약 47%) 나타났으며, 식이 칼슘과 철수준은 ALP 활성에 영향을 미치지 않았다.

폐경후 여성에 있어서의 칼슘섭취의 증가는 골손실 및 골

절위험을 감소시키는 것으로 보고되고 있다.<sup>12)</sup> 폐경후 초기 여성에게 칼슘보충시 골손실이 0.8%/y로 나타나 칼슘보충을 하지 않은 여성에서의 골손실 2%보다 골손실을 40% 감소시킨 것<sup>3)</sup>으로 나타났으며, Dawson-T Hughes<sup>41)</sup>는 칼슘보충시 고관절(hip)과 전박(forearm)에서 골질량이 가장 많이 유지됨을 보고하였다. 또한 칼슘보충은 폐경후 여성의 골절위험을 낮추는 효과를 나타내어, Reid 등<sup>3)</sup>은 4년간 1000mg/d의 칼슘보충제를 섭취(총 칼슘섭취량: 1700mg/d)한 여성에서 증후성 골절(symptomatic fracture: 주로 손목과 손)이 70% 감소함을 보고하였고, Recker 등<sup>6)</sup>도 4년간 1200mg/d의 칼슘보충제를 섭취(총 칼슘섭취량: 1600mg/d)한 여성에서 척추골절(vertebral fracture)이 28% 감소함을 보고하였다.

칼슘 보충은 antiresorptive therapy(estrogen, calcitonin 등)보다 그 효과가 유의적으로 낮아서 이들의 역할을 대신할 수는 없다고 한다.<sup>3)</sup> 그러나 antiresorptive therapy와 칼슘보충을 함께 병행하는 경우 상승효과를 나타내어, 모든 골격에서의 골질량에 대한 estrogen의 효과 및 척추에서의 골질량에 대한 calcitonin의 효과를 더욱 증대시키며, 이러한 효과를 나타낼 수 있는 적정 칼슘섭취량은 약 1200mg/d로 제시되었다.<sup>41)</sup>

본 실험결과 골다공증 모델에서 식이 칼슘수준을 증가시킨 경우 대퇴골의 강도는 유의적으로( $p < 0.05$ ) 증가하였으나 대퇴골의 중량, 칼슘 함량 및 ALP 활성은 영향을 받지 않았고, 이들 측정치가 모든 실험군에서 정상대조군보다 유의적으로 낮게 나타났다. 이로부터 폐경후 골다공증 모델에게 estrogen의 투여 없이 칼슘만을 보충하는 경우 대퇴

**Table 4.** Weight, length, breaking force, Ca, P, Mg contents of femur and serum ALP in osteoporotic rats fed experimental diets for 8 weeks

	Wet wt/BW (g/100g BW)	Length (cm)	Breaking force (kg/g)	Ca (mg/dry wt)	P (mg/dry wt)	Mg (mg/dry wt)	Serum ALP (K-A)
Control†	0.64±0.04 <sup>a</sup>	3.51±0.04 <sup>NS</sup>	8.11±0.38 <sup>NS</sup>	243.1±2.0 <sup>a</sup>	112.0±1.0 <sup>a</sup>	4.06±0.12 <sup>a</sup>	21.6±1.5 <sup>b</sup>
NCa							
NFe	0.50±0.02 <sup>b</sup>	3.61±0.03	7.55±0.28	223.2±2.1 <sup>b</sup>	98.2±1.1 <sup>d</sup>	3.31±0.05 <sup>bcd</sup>	35.4±3.7 <sup>a</sup>
HFe	0.50±0.02 <sup>b</sup>	3.54±0.02	7.55±0.11	227.3±5.0 <sup>b</sup>	104.1±2.1 <sup>b</sup>	3.59±0.08 <sup>b</sup>	26.3±1.2 <sup>ab</sup>
XFe	0.46±0.02 <sup>b</sup>	3.54±0.03	7.77±0.33	219.2±5.0 <sup>b</sup>	98.3±2.4 <sup>d</sup>	3.31±0.10 <sup>bcd</sup>	32.4±2.2 <sup>a</sup>
HCa							
NFe	0.52±0.01 <sup>b</sup>	3.61±0.04	8.26±0.36	226.3±4.1 <sup>b</sup>	103.2±1.0 <sup>bc</sup>	3.40±0.06 <sup>bc</sup>	28.4±2.4 <sup>ab</sup>
HFe	0.47±0.01 <sup>b</sup>	3.60±0.04	7.67±0.10	221.4±3.0 <sup>b</sup>	101.3±1.4 <sup>bcd</sup>	3.33±0.08 <sup>bd</sup>	32.8±3.4 <sup>a</sup>
XFe	0.51±0.01 <sup>b</sup>	3.61±0.03	7.90±0.45	225.2±3.2 <sup>b</sup>	102.0±1.4 <sup>bcd</sup>	3.13±0.08 <sup>cde</sup>	33.6±3.3 <sup>a</sup>
XCa							
NFe	0.52±0.01 <sup>b</sup>	3.60±0.06	8.36±0.25	225.3±2.0 <sup>b</sup>	104.2±1.4 <sup>b</sup>	3.21±0.09 <sup>cik</sup>	32.6±2.6 <sup>a</sup>
HFe	0.50±0.01 <sup>b</sup>	3.59±0.02	8.11±0.30	218.4±2.3 <sup>b</sup>	99.1±1.5 <sup>cd</sup>	2.98±0.09 <sup>e</sup>	33.8±3.5 <sup>a</sup>
XFe	0.53±0.02 <sup>b</sup>	3.64±0.02	8.30±0.20	224.2±1.2 <sup>b</sup>	102.2±1.4 <sup>bcd</sup>	3.02±0.18 <sup>de</sup>	31.0±3.7 <sup>a</sup>
ANOVA	NS	NS	Ca*	NS	Ca*Fe*	Ca**	NS

See Table 3

골의 무기질 함량을 정상수준까지 개선시킬 수 없으며, 칼슘 보충수준이 정상수준 이상인 경우에는 식이 칼슘수준을 증가시켜도 뼈의 무기질 함량이 유의적으로 증가되지 않음이 제시되었다. 노령기의 난소절제 흰쥐(55주령)에게 정상 칼슘을 18주간 급여한 경우<sup>10)</sup> 체중, 혈청 ALP, 혈청 인 및 노로의 칼슘 배설량은 대조군과 비교시 차이가 없었으나 골 밀도, 대퇴골의 무게와 회분함량, 칼슘, 인 및 마그네슘 함량은 대조군에 비해 유의적으로 감소하여 본 실험결과와 유사한 경향을 나타내었다. 반면 성장기의 골다공증 모델 흰쥐에게 식이 칼슘수준(저 0.06% ; 중 0.53% ; 고 1.06%)을 달리하여 4주간 급여한 결과,<sup>6)</sup> 정상수준 이상의 칼슘보충군에서는 뼈강도 및 뼈무기질 함량이 정상으로 회복하였으며, 칼슘보충 수준에 따른 차이는 없음이 보고되어 있다. 또한 선행연구 결과<sup>9)</sup> 갓 이유한 3주령 암컷 흰쥐에게 8주동안 저칼슘식이(0.1%)를 섭취시킨 후 난소절제하여 식이 칼슘수준(저 0.1% ; 중 0.5% ; 고 1.5%)을 달리하여 8주간 급여한 결과, 성장기의 저칼슘섭취로 골질량이 낮아진 경우에도 이후의 칼슘보충에 따라 뼈의 성장이나 무기질 함량이 증가하였고, 정상이상의 칼슘보충시에는 차이가 없었으며 난소절제에 따른 차이가 없는 것으로 나타났다.

식이 철수준이 골격대사에 미치는 영향과 관련하여 보고된 문헌은 많지 않으나 Michaëlsson 등<sup>16)</sup>이 39~73세의 여성을 대상으로 조사한 결과 식이 철수준의 증가시 고관절 골절위험이 증가한 것으로 나타났으며, 특히 고수준의 칼슘과 고수준의 철을 동시에 섭취한 군에서 골절위험이 더 높음을 보고하였다. 또한 Baker와 Halpin<sup>17)</sup>은 닭에게 5000 mg/kg(normal: 40mg/kg)의 철을 2주간 급여시 체중증가가 감소하고 골회분함량이 감소하였음을 보고하였다. 본 실험결과 식이 철수준은 대퇴골의 무기질 함량 및 골격대사에 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

5. 신장기능

1) 혈청 총단백질, 알부민, 요산 및 요소질소

혈청 총단백질, 알부민, 요산 및 요소질소(BUN) 함량은 Table 5에 제시하였다. 골다공증 모델 흰쥐에게 실험식을 급여한 결과 정상대조군에 비해 전반적으로 혈청 총단백질과 알부민 함량이 낮은 경향을 보였으며, 요산 및 BUN 함량은 정상대조군에 비해 높은 경향을 나타내어 난소절제로 인한 신장기능의 저하<sup>15)</sup> 가능성을 제시하였다. 혈청 총단백질 함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받아(p < 0.05) 과다철(XFe) 섭취군에서는 식이칼슘이 과다수준(XCa)인 경우 정상수준(NCa)에 비해 낮게 나타났으며, 고수준(HFe)의 철섭취군에서도 식이칼슘이 고수준(HCa) 및 과다수준

Table 5. Serum protein, albumin, uric acid, urea N, creatinine and urinary protein, urea N, creatinine, GFR in oosteorotic rats fed experimental diets for 8 weeks

	Serum					Urine			GFR (ml/min)
	Protein(g/dl)	Albumin(g/dl)	Uric acid(mg/dl)	Urea N(mg/dl)	Creatinine(mg/dl)	Total protein(mg/d)	Urea N(mg/d)	Creatinine(mg/d)	
Control†	7.68±0.31 <sup>a</sup>	4.38±0.28 <sup>a</sup>	1.68±0.09 <sup>c</sup>	13.2±1.2 <sup>b</sup>	1.07±0.06 <sup>NS</sup>	38.1±4.0 <sup>NS</sup>	279±9 <sup>NS</sup>	19.87±1.83 <sup>NS</sup>	1.28±0.06 <sup>bc</sup>
NCa									
NFe	6.90±0.17 <sup>abc</sup>	3.72±0.07 <sup>b</sup>	2.40±0.15 <sup>ab</sup>	17.2±1.3 <sup>a</sup>	0.96±0.02	45.6±2.2	264±17	13.88±0.66 <sup>c</sup>	0.99±0.03 <sup>c</sup>
HFe	6.97±0.31 <sup>abc</sup>	3.83±0.28 <sup>ab</sup>	2.13±0.18 <sup>bc</sup>	15.0±0.9 <sup>ab</sup>	0.87±0.02	45.2±2.9	273±13	13.62±0.66 <sup>c</sup>	1.11±0.04 <sup>c</sup>
XFe	7.17±0.30 <sup>ab</sup>	3.85±0.21 <sup>ab</sup>	2.28±0.12 <sup>ab</sup>	15.2±0.3 <sup>ab</sup>	0.90±0.03	43.0±4.6	264±29	11.59±1.23 <sup>c</sup>	0.88±0.11 <sup>c</sup>
HCa									
NFe	7.08±0.35 <sup>abc</sup>	3.80±0.25 <sup>ab</sup>	2.66±0.15 <sup>a</sup>	17.3±1.0 <sup>a</sup>	0.97±0.03	51.1±3.5	294±23	23.76±5.30 <sup>ab</sup>	2.04±0.37 <sup>ab</sup>
HFe	6.75±0.11 <sup>bc</sup>	3.62±0.09 <sup>b</sup>	2.18±0.14 <sup>ab</sup>	16.5±1.3 <sup>ab</sup>	0.90±0.03	55.6±1.9	265±15	17.97±3.59 <sup>bc</sup>	1.44±0.31 <sup>bc</sup>
XFe	6.55±0.25 <sup>bc</sup>	3.38±0.10 <sup>b</sup>	2.32±0.15 <sup>ab</sup>	18.3±0.6 <sup>a</sup>	0.95±0.06	51.3±3.3	266±23	19.70±2.13 <sup>bc</sup>	1.46±0.14 <sup>bc</sup>
XCa									
NFe	6.62±0.21 <sup>bc</sup>	3.58±0.20 <sup>b</sup>	2.38±0.18 <sup>ab</sup>	18.3±1.7 <sup>a</sup>	0.92±0.06	50.5±4.7	223±35	21.83±1.92 <sup>bc</sup>	1.57±0.14 <sup>bc</sup>
HFe	6.60±0.08 <sup>bc</sup>	3.52±0.05 <sup>b</sup>	2.45±0.27 <sup>ab</sup>	18.0±0.9 <sup>a</sup>	0.98±0.09	48.2±8.7	256±36	27.17±6.30 <sup>ab</sup>	1.93±0.43 <sup>ab</sup>
XFe	6.27±0.28 <sup>c</sup>	3.28±0.20 <sup>b</sup>	2.14±0.07 <sup>bc</sup>	18.7±1.4 <sup>a</sup>	0.93±0.05	48.4±3.5	243±32	32.61±4.06 <sup>a</sup>	2.45±0.27 <sup>a</sup>
ANOVA	Ca*	NS	NS	Ca*	NS	NS	NS	Ca***	Ca***

See Table 3



(XCa)인 경우 총단백질 함량이 감소하는 경향을 보였다. 혈청 알부민 함량은 식이 칼슘수준에 따른 유의적인 영향을 받지 않았으나 고수준(HFe) 및 과다수준(XFe)의 철섭취군에서는 식이칼슘이 고수준(HCa) 및 과다수준(XCa)인 경우 정상수준(NCa)에 비해 낮은 경향을 보였다. 요산 함량은 식이 칼슘수준 증가에 따른 유의적인 영향을 받지 않았다. BUN은 실험군간 유의적인 차이는 없었으나 식이 칼슘수준의 영향을 받아( $p < 0.05$ ), 고수준(HFe) 및 과다수준(XFe)의 철섭취군에서는 식이칼슘이 과다수준(XCa)인 경우 정상수준(NCa)에 비해 높은 경향을 나타냈다.

한편, 식이 철수준은 혈청 총단백질, 알부민, 요산 및 BUN 함량에 유의적인 영향을 미치지 않았으나, 고칼슘(HCa)군에서 식이철을 고수준(HFe) 및 과다수준(XFe)으로 증가시 총단백질과 알부민 함량이 감소하는 경향이었으며, 과다칼슘(XCa)군에서는 식이철을 과다수준(XFe)으로 증가시 총단백질 함량이 감소하는 경향을 나타냈다.

**2) 뇨 단백질, 혈청과 뇨 중 creatinine 및 사구체 여과율**

뇨 중 총단백질 배설량, 뇨 urea N, 혈청 creatinine, 뇨 creatinine 및 사구체 여과율(GFR)은 Table 5에 제시하였다. 뇨로의 단백질 배설량은 정상대조군과 비교시 골다공증 모델의 모든 실험군에서 유의적이지는 않으나 증가하는 경향을 보였다. 뇨 중 단백질과 urea N 함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받지 않았다. 혈청 creatinine은 식이 칼슘수준에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 뇨 중 creatinine 및 GFR은 식이 칼슘수준의 영향을 받아 정상칼슘(NCa)군에 비해 고칼슘(HCa)과 과다칼슘(XCa)군에서 각각 약 57%, 109% 및 66%, 100% 증가( $p < 0.001$ )하였다. 또한 식이 철수준은 뇨 중 총단백질과 urea N함량에 영향을 미치지 않았으나, 뇨 creatinine 및 GFR은 과다칼슘(XCa)군에서 식이 철수준이 증가함에 따라 증가하여 정상철 섭취(NFe)군에 비해 과다철(XFe) 섭취군에서 높게( $p < 0.05$ ) 나타났다.

이상과 같이 골다공증 모델에게 실험식이를 급여한 결과 혈청 총단백질과 BUN은 식이 칼슘수준의 증가에 따라 유의적인 차이를 보였으며, 또한 뇨 중 creatinine 및 GFR이 고칼슘(HCa) 및 과다칼슘(XCa)군에서 증가한 것으로 나타나 칼슘 섭취수준 증가에 따른 신장기능의 저하 가능성을 제시하였다. 식이 칼슘수준과 뇨 중 칼슘 배설량 사이에는 유의한 양의 상관관계( $r = 0.7545$ ,  $p < 0.001$ )가 나타났는데, Denke<sup>12)</sup>는 2200mg/d의 칼슘을 10일 동안 보충한 경우 13명의 남자 중 2명에서 뇨로의 칼슘배설량이 300mg 이상으로 나타나서 신결석 위험이 증가하였음을 보고하

였으며, Storney 등<sup>13)</sup>은 260명의 34~69세의 여성을 대상으로 단기간 동안(14일) 칼슘 보충제 1000mg/d를 섭취시킨 경우, 8%의 여성에서 칼슘보충으로 인한 고칼슘뇨증(250mg/d)이 나타났음을 보고하였다. 고칼슘뇨증은 일반적으로 신결석과 관련된 요인 중의 하나이며, 지속적인 고칼슘뇨는 신석회침착과 관련되어 있다.<sup>14)</sup>

신석회침착에서는 혈청 urea 농도<sup>27)</sup> 및 뇨로의 알부민 배설<sup>36)</sup>이 증가하며, 이들 함량과 신장 칼슘농도 사이에는 양의 상관관계가 있음이 보고되어 있고, 이는 신석회침착이 신장기능을 저하시킬 수 있음을 제시한다. 그러나 다른 연구에서는 석회침착 흰쥐에서 혈청 urea 농도와 뇨로의 단백질 배설이 영향을 받지 않은 것으로 나타났다.<sup>42)43)</sup> 본 실험결과 골다공증 모델에서의 신장 칼슘함량은 혈청 단백질, 알부민, 뇨단백 및 GFR 등과 유의적인 상관관계를 보이지 않음으로써, 골다공증 모델에서 유의적으로 증가한 것으로 나타난 신장의 칼슘함량과 신장기능은 큰 관련이 없는 것으로 나타났다. 신장의 칼슘함량에 의해 전체적인 신장기능이 크게 영향을 받지 않은 이유는 신장의 예비능력(reserve capacity)이 크기 때문<sup>44)</sup>으로 생각된다.

과다한 철은 급성 또는 만성적인 신장손상의 원인으로 작용할 수 있음이 제시되어 있으며<sup>18)45)</sup> 그 정확한 기작은 아직 확실하지 않다. 철이 신장기능에 미치는 영향은 단백뇨 또는 만성적인 신장기능 저하시 나타나며, 이 경우 뇨로의 철배설량이 과다하게 증가한다.<sup>19)</sup> 단백뇨 상태에서는 transferrin이 사구체에서 누출되어 나오며, 철은 transferrin으로부터 유리되어 신세뇨관 상피세포에 축적된다.<sup>19)</sup> 이러한 절촉적이 단백뇨에서 나타날 수 있는 급성 신세뇨관 세포손상 및 신세뇨관 간질 손상의 주요요인으로 작용할 수 있다.<sup>18)</sup>

본 실험결과 고칼슘(HCa)과 과다칼슘(XCa)을 섭취한 군에 있어 식이철을 과다수준(XFe)으로 증가시킨 경우 혈청 총단백질이 감소하는 경향을 나타냈으며, 또한 과다칼슘(XCa)과 함께 과다수준(XFe)의 철섭취시 GFR이 증가한 것으로 나타났다. 이로부터 과다철의 신장기능 저하효과는 이미 신장기능이 저하되어 있는 상태에서 과다수준의 철과 칼슘을 함께 섭취하는 경우에 나타날 수 있는 것으로 제시되었으며, 따라서 폐경후 골다공증 모델에서 칼슘과 철보충제의 동시과다섭취는 신장기능을 더욱 악화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

**요약 및 결론**

골다공증 모델 흰쥐에서 칼슘과 철 보충제의 과다섭취가 골격손실과 신석회침착 및 신장기능에 미치는 영향을 검토

하고자, 7주령된 암컷 흰쥐를 이용하여 난소절제와 칼슘결핍식이 4주간 급여하여 골다공증 모델을 설정한 후, 칼슘과 철의 섭취수준을 각각 정상(N), 고(H), 과다(X)의 3수준(Ca<sup>-</sup> N(0.5%), H(1.5%), X(2.5%); Fe N(35ppm), H(210ppm), X(350ppm))으로 조합한 9종의 실험식을 8주간 급여하고 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 식이 칼슘수준 증가에 따른 혈청 칼슘농도의 유의적인 차이는 없었으며, 간의 칼슘함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받아 고칼슘(HCa) 및 과다칼슘(XCa)군에서 증가하는 경향을 보였다. 신장의 칼슘함량은 거의 모든 실험군에서 정상대조군의 2.9~7.8배로 높게 나타났으며, 식이 칼슘수준에 따른 통계적 유의차는 없었다. 신장조직을 광학현미경으로 관찰한 결과 거의 모든 실험군에서 mild~severe에 해당하는 다양한 석회침착이 관찰되었다. 또한 식이 철수준은 혈청, 간 및 신장의 칼슘함량에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

2) 골다공증 모델의 특징으로 대퇴골의 중량, 칼슘, 인 및 마그네슘 함량이 정상대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 혈청 ALP 활성은 높게 나타났다. 식이 칼슘수준이 증가할수록 대퇴골의 강도는 증가하였으나, 대퇴골의 칼슘과 인 함량 및 혈청 ALP 활성은 식이 칼슘수준의 증가에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 대퇴골의 마그네슘 함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받아 정상칼슘(NCa) 및 고칼슘(HCa)군에 비해 과다칼슘(XCa)을 섭취한 군에서 낮은 경향을 나타냈다. 식이 철수준은 골격대사에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

3) 혈청 총단백질 함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받아 과다칼슘(XCa)군에서 낮은 경향을 나타냈으며, BUN도 식이 칼슘수준의 영향을 받아 과다칼슘군에서 높은 경향을 보였다. 혈청 요산 및 creatinine함량은 식이 칼슘수준 증가에 따른 유의적인 영향을 받지 않았다. 뇨 중 단백질과 urea N 함량은 식이 칼슘수준의 영향을 받지 않았으나, 뇨 중 creatinine 및 GFR은 고칼슘(HCa) 및 과다칼슘(XCa)군에서 증가하여 칼슘 섭취수준 증가에 따른 신장기능의 저하 가능성을 제시하였다. 또한 과다Ca/과다Fe군에서 뇨 중 creatinine과 GFR이 증가한 것으로 나타나, 과다철의 신장기능 저하효과는 이미 신장기능이 저하되어 있는 폐경후 골다공증 모델에서 과다수준의 철과 칼슘을 함께 섭취하는 경우에 나타날 수 있는 것으로 제시되었다.

이상의 결과로부터 성숙기의 암컷 골다공증 모델 흰쥐에서 권장량 이상의 칼슘보충은 대퇴골의 무기질 함량을 정상수준까지 회복시키지는 못했으나, 대퇴골의 강도를 증가시켰고, 과다수준의 칼슘보충은 신장기능을 저하시킬 수 있는

것으로 나타났다. 또한 충분한 철을 섭취하고 있는 폐경후 골다공증 모델에서 철의 보충섭취는 골격대사에 영향을 미치지 않으나, 철과 칼슘을 동시에 과다수준으로 섭취하는 경우 신장기능을 더욱 저하시킬 수 있는 것으로 나타나 장기간의 칼슘과 철 보충시의 영양문제를 제시한 것으로 사료된다.

#### Literature cited

- 1) Dawson-Hughes B. Osteoporosis treatment and the calcium requirement. *Am J Clin Nutr* 67: 5-6, 1998
- 2) Cumming RG, Nevitt MC. Calcium for prevention of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 12: 1321-1329, 1997
- 3) Cumming RG. Calcium intake and bone mass: a quantitative review of the evidence. *Calcif Tissue Int* 47: 194-201, 1990
- 4) Dawson-Hughes B. Calcium supplementation and bone loss: a review of controlled clinical trials. *Am J Clin Nutr* 54: 274S-80S, 1991
- 5) Reid IR, Ames RW, Evans MC, Gamble GD, Sharpe SJ. Long-term effects of calcium supplementation on bone loss and fractures in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Am J Med* 98: 331-335, 1995
- 6) Recker R, Hinders S, Davies KM, Heaney RP, Stegman MR, Lappe JM, Kimmel DB. Correcting calcium nutritional deficiency prevents spine fractures in elderly women. *J Bone Miner Res* 11: 1961-1966, 1996
- 7) NIH Consensus Statement: Optimal calcium intake. *J Am Med Assoc* 272: 1942-1948, 1994
- 8) O JH, Lee YS. Effects of dietary calcium levels on the reduction of calcium availability in ovariectomized osteoporosis model rats. *Korean J Nutr* 26(3): 277-285, 1993
- 9) Lee YS, Kim EM. Effect of ovariectomy and dietary calcium levels on bone metabolism in rats fed low calcium diet during growing period. *Korean J Nutr* 31(3): 279-288, 1998
- 10) Tsuchita H, Goto T, Shimizu T, Yonehara Y, Kuwata T. Dietary casein phosphopeptides prevent bone loss in aged ovariectomized rats. *J Nutr* 126: 86-93, 1996
- 11) Levenson DI, Bockman RS. A review of calcium preparations. *Nutr Rev* 52: 221-232, 1994
- 12) Denke MA, Fow MM, Schulte MC. Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men. *J Nutr* 123: 1047-1053, 1993
- 13) Storney ML, Greger JL, Kiratli BJ, Smith EL. Urinary calcium and magnesium excretion by women in response to short-term calcium supplementation. *Nutr Res* 8: 617-624, 1988
- 14) Coe FL, Parks JH. Recurrent renal calculi. Causes and prevention. *Hosp Prac* 30: 21(3A): 49-57, 1986
- 15) Yendt ER, Cohan M, Jarzyllo S. Reduced glomerular filtration and a renal tubular Ca leak in women with primary osteoporosis. *J Bone Miner Res* 4(s): 253, 1989
- 16) Michalsson K, Holmberg L, Mallmin H, Srensen S, Wolk A, Bergström R, Ljunghall S. Diet and hip fracture risk: a case-control study. *Int J Epidemiol* 24: 771-782, 1995
- 17) Baker DH, Halpin KM. Manganese and iron interrelationship in the chick. *Poult Sci* 70: 146-152, 1991
- 18) Sponsel HT, Alfrey AC, Hammond WS, Durr JA, Ray C, Anderson RJ. Effect of iron on renal tubular epithelial cells. *Kidney Intern* 50: 436-444, 1996

- 19) Alfrey AC, Hammond WS: Renal iron handling in the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 37: 1409-1413, 1990
- 20) KIMS: Medimedia Korea Ltd, 1998
- 21) Physicians GenRx: The complete drug reference. *Mosby*, 1996
- 22) Gibson RS: Technological approaches to combatting iron deficiency. *Eur J Clin Nutr* 51: S25-S27, 1997
- 23) Ezawa I: Studies on calcium metabolism. *J Japanese Home Economics Assoc* 38: 695-703, 1987
- 24) American Institute of Nutrition: AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A Rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1993
- 25) National Research Council: Recommended dietary allowances. 10th ed, pp.174-203, *National Academy Press*, Washington DC, 1989
- 26) Fisk CH, Subbarow Y: The coloric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66: 375-400, 1925
- 27) Bergman I, Loxley R: Two improved and simplified methods for the spectrometric determination of hydroxyproline. *Anal Chem* 35: 1961-1965, 1963
- 28) Kalu DN: The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral* 15: 175-19, 1991
- 29) Wronski L. Response of femoral neck to estrogen depletion and parathyroid hormone in aged rats. *Bone* 16: 551-557, 1995
- 30) Gordin JM, Siitari PK, McDonald PC: Source of estrogen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 207-218, 1993
- 31) Raisz LG: Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N Eng J Med* 318: 818-828, 1988
- 32) Aloia JF, Vaswani A, Yeh JK. Calcium supplementation with and without hormone replacement therapy to prevent postmenopausal bone loss. *Ann Intern Med* 130: 97-103, 1994
- 33) Mitruka BM, Rawnsley HM: Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans. 2ed, *Masson*, New York, pp.160, 1987
- 34) Hietala EL: The effect of ovariectomy on periosteal bone formation and bone resorption in adult rats. *Bone Miner* 20: 57-6, 1993
- 35) Shah BC, Belonje B: Prevention of nephrocalcinosis in male and female rats by providing fluoride and additional magnesium in the diet. *Nutr Res* 3: 749-760, 1983
- 36) Matsuzaki H, Uehara M, Suzuki K, Sato S, Kanke Y, Goto S: Improvement effect of switching to a diet of lower phosphorus content in rats with high phosphorus diet-induced nephrocalcinosis and depression of proximal tubular function. *Nutr Res* 18: 1287-1296, 1998
- 37) Matsuzaki H, Uehara M, Suzuki K, Liu QL, Sato S, Kanke Y, Goto S: Increased intake of phosphorus induces depression of proximal tubular function in young rats. *Nutr Res* 17: 831-845, 1997
- 38) Hoek AC, Lemmens AG, Mullink JWMA, Beynen AC: Influence of dietary calcium: phosphorous ratio on mineral excretion and nephrocalcinosis in female rats. *J Nutr* 118: 1210-1216, 1988
- 39) Shackelford ME, Collins TFX, Black TN, Ames MJ, Sheikh DNS, Chir K, O'Donnell MW: Mineral interactions in rats fed AIN-76A diets with excess calcium. *Food Chem Toxic* 32(3): 285-263, 1994
- 40) Bogden JD, Gertner SB, Christakos S, Kemp FW, Yang Z, Katz SR, Chu C: Dietary calcium modifies concentrations of lead and other metals and renal calbindin in rats. *J Nutr* 122: 1351-1360, 1992
- 41) Nieves JW, Komar L, Cosman F, Lindsay R: Calcium potentiates the effect of estrogen and calcitonin on bone mass: review and analysis. *Am J Clin Nutr* 67: 18-24, 1998
- 42) Stonard MD, Samuels DM, Lock EA: The pathogenesis and effect on renal function of nephrocalcinosis induced by different diets in female rats. *Food Chem Toxic* 22: 139-146, 1984
- 43) Schoenmakers ACM, Ritskes-Hoitinga J, Lemmens AG, Beynen AC: Influence of dietary phosphorus restriction on calcium and phosphorus metabolism in rats. *Int J Vit Nutr Res* 59: 200-206, 1989
- 44) Al-Modhefer AKJ, Atherton JC, Garland HO, Singh HJ, Walker J: Kidney function in rats with corticomedullary nephrocalcinosis effects of alterations in dietary calcium and magnesium. *J Physiol* 380: 405-414, 1986
- 45) Zager RA, Schimpf BA, Bredl CR, Gmur DJ: Inorganic iron on in vitro hypoxic proximal renal tubular cell injury. *J Clin Invest* 91: 702-708, 1993