대두의 파이토에스트로겐이 뼈에 미치는 영향

김 성 란
일반작물이용팀

이 논문은 이소플라본과 골조직의 관계에 대하여 발표된 역학조사, 사람과 동물을 대상으로한 실험, 조직세포연구, 세포배양에서의 연구들을 포괄하고 있다. 가장 중요한 결론은 적절한 양을 투여했을 때 이소플라본, 특히 제니스테인과 다이드제인은 골밀도 증진에 효과가 있다는 것이다. 쥐를 대상으로 한 실험에서 적정 골밀도 향상 효과를 나타내기 위한 이소플라본의 *in vivo* 투여량은 에스트라디올보다 보통 1000배가 높았다. 또한 적정 투여량보다 낮거나 높은 농도에서는 이소플라본은 뼈에 유익한 효과가 없었으며 그 때문에 이중적인 효과를 발휘한다. 유사 조골세포를 배양한 결과 중 *in vitro* 실험에서 제니스테인의 효과는 관찰되었으나 다이드제인의 효과는 나타나지 않았다. 일반적으로 대두와 대두제품에 존재하는 이소플라본은 동물이나 사람이 적정한 양으로 섭취하였을 때 약한 에스트로겐 효과를 발휘하지만 고농도에서는 오히려 해로운 효과가 관찰될 수도 있다. 제니스테인에 대한 세포수준의 연구에서는 고농도 투여시에는 정상적인 세포기능의 소실을 유도하기도 한다고 제안되었으며, 반면 다이드제인은 같은 농도에서 유사 조골세포에 유익한 효과를 발휘한다고 하였다. 사람이 식이로부터 섭취하는 양은 부작용을 초래할 정도가 되기는 힘들다. 따라서 이소플라본은 적정한 양으로 섭취했을 때 사람의 골질량을 유지하거나 골질량을 증가시키는 잠재적인 능력이 있음이 분명하다.

1. 서 론

지난 10여년 동안, 제 3의 영양학 혁명이 조용히 출현해왔다. 바로 비영양 식물체 성분의 과학적 탐구이며 이는 19세기의 에너지와 단백질 분야의 1차 혁명, 20세기초의 비타민과 미네랄에 대한 2차 혁명에 뒤이은 3차 혁명이다. 현재는 건강을 증진시키고 질병을 예방하기 위해 식물성 식품을 이용하는 영역을 확대시키고 있다. 지금 이 시기는 영양결핍에서 오는 질환에서 과잉섭취와 관련있는 만성질환으로 전환되는 시기이기 때문에 "Second Golden Age of Nutrition"이라고 불린다(1). 동시에, 약학분야는 다양한 식물체로부터 발견된 많은 분자들의 특성을 연구함으로서 새로운 의약의 개발로 발달시키고 있다. 전체적으로, 식물자원 유래 물질에 대한 관심은 영양학 분야에 폭 넓은 영향을 주었다. 식물에서 유래한 물질 분자들의 성질을 연구하는 것이 인류의 복지를 위한 커다란 잠재능력을 제공할 수 있기 때

문이다.

본 논문의 초점은 파이토에스트로겐(phytoestrogen)으로 알려진 식물 유래의 특정 물질분자에 관한 것이다. 파이토에스트로겐이라는 명칭은 이 물질들이 가지는 포유류의 에스트로겐 수용체에서의 부분적인 에스트로겐 효과(estrogen agonism)때문에 유래되었다. 파이토에스트로겐에는 이소플라본(isoflavones), 쿠메스탄(coumestans), 기타 여러 그룹이 존재하지만 여기에서는 몇몇 소수의 그룹만 다루었는데 실험동물 모델과 인체를 대상으로한 비스테로이드계 에스트로겐들이 골격에 미치는 효과 연구가 명확히 규명되지 않았기 때문이다. 사실 파이토에스트로겐과 골조직간의 관계는 지난 5년동안 연구되어 왔을 뿐이다. 그러므로 이들의 연관을 조사하고 골격조직을 유지하며 골다공증을 예방하거나 지연시키는 파이토에스트로겐의 효능을 연구하는 것은 이제 시작되었다고 볼 수 있을 것이다.

2. 역사적 연구배경

파이토에스트로겐이 포유류의 생식에 미치는 효과에 대해 호주에서 크로바를 먹인 양에게서 불임이 관찰된 것이 처음으로 보고되었다(2). 이 보고는 식물체에서 유래된 에스트로겐 유사활성 분자가 여성의 생식기능에 부정적인 효과를 초래할 것이라는 연구를 하게 하였다(3). 몇 건의 최근 논문에 의하면 파이토에스트로겐이 생식기능에 미치는 효과는 에스트로겐 수용체와 식물유래 분자의 상호작용이 중요하게 작용하며 이 효과는 다른 생체 기관에도 마찬가지라고 하였다(4-6).

파이토에스트로겐은 계속 진행중인 발견들을 통해 매우 다양하게 존재한다고 알려져 있다. 1954년에는 에스트로겐 활성을 가진 식물의 목록에 53종류가 포함되어 있었으나(7), 1975년에는 파이토에스트로겐을 포함하는 식물군은 300여 종류(category)이상으로 확대되었다(8). 현재의 주요 관심은 사람의 식이에 포함되는 파이토에스트로겐 급원으로 전환되었으며 가장 대표적인 것이 대두와 대두제품에 포함

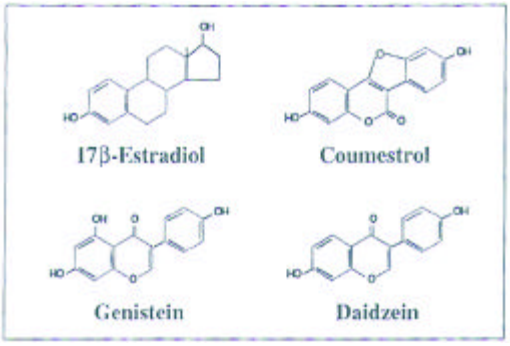

그림 1. 에스트로겐의 활성형인 17β-에스트라디올과 파이토에스트로겐의 분자구조 비교

된 파이토에스트로겐이다(4).

3. 역학적 연구배경

식이로서 섭취하는 파이토에스트로겐과 골 질량(bone mass) 또는 골절(fracture)간의 관계를 직접적으로 조사한 역학적인 연구는 보고되지 않았다. 그러나 간접적인 방법 즉, 이소플라본이나 이와 유사한 파이토에스트로겐이 풍부한 식이 섭취가 골격 관련 수치들에 미치는 영향을 조사하기 위한 연구는 진행되었다.

우유와 계란은 섭취하는 채식주의자(LOV)의 식이패턴이 팔의 전박골질량과 골밀도 측정치에 미치는 연구(9)에서, 일생을 이러한 식이패턴으로 생활해온 폐경 후 여성을 같은 연령의 비채식주의 여성(NV)과 비교했을 때 골격 건강에 유리한 점이 나타나지 않았다. LOV여성의 식이에는 NV여성의 식이에 비해 대두와 대두제품이 상당히 많았다. 그러나 평균연령 80세보다 약간 적은 노스캐롤라이나 여성에게서 특별히 골격 건강에 효과적인 특정 영양소는 찾아낼 수가 없었다. 비슷한 연구로 남부 캘리포니아와 플로리다에 거주하는 폐경 후 여성들을 조사한 다른 연구(10,11)가 보고되었다. 표 1은 위의 세 연구(9,10,11)에서 보고한 폐경 후 여성들의 평균 영양소 섭취량을 수록한 것이다. 이 보고들은 서로 매우 유사하게 LOV여성들이 NV여성들보다 전체적

표 1. 폐경 후 미국여성의 식이섭취 :우유와 계란은 섭취하는 채식주의자(lactovegetarians, LOVs)와 일반 비채식주의자(nonvegetarians, NVs)

식이	인원	평균연령	열량	단백질 g	열량 중 단백질 %	칼슘, mg	칼슘:단백질 비율	인, mg	칼슘:인 비율
				North Carolina					
LOV	88	73	1533	54.6	14.2	823	15.1	1112	0.74
NV	278	78	1633	69.9	17.1	902	12.9	1233	0.73
				Califonia					
LOV	144	66	1474	51.8	14.1	748	14.4	1050	0.71
NV	146	65	1563	63.2	16.2	772	12.2	1147	0.67
				Florida					
LOV	28	63	1652	62.6	15.2	821	13.1	1155	0.71
NV	28	63	1657	76.5	18.5	863	11.3	1250	0.69

인 영양소 섭취가 다소 우수하였고 대두 제품의 소비가 매우 높다는 점을 제시하였다. Reed 등에(12) 의해 수행된 노스캐롤라이나 여성들을 대상으로 한 5년간의 연속 조사연구에 따르면 LOV와 NV 여성들의 골격손실 속도는 두 그룹에서 거의 같았으며 평상시의 칼슘 섭취량과도 무관하였다고 밝혔다. 이들 여러 보고들로부터 도출된 결론은 칼슘 등 다른 영양소는 폐경 후 10년간 골격 건강 유지를 지원할 만한 충분한 양을 섭취한다고 추정하고, 미국의 LOV는 명백하게 골격 건강에 효과가 있을 정도로 충분하게 대두 제품(일일 10g)을 섭취하지 않는다는 것이었다.

한편, 아시아 국가에서 고령의 여성을 대상으로 한 연구에서는 일생동안 충분한 양의 대두제품을 섭취하는 것이 골격의 보유(bone retention) 및 골반 골절의 위험율을 줄이는데 효과적이라고 발표하였다(13). 예로, 대두 및 대두 제품은 일본인들이 섭취하는 총 칼슘의 15%를 제공하며(미국인의 경우 1%를 제공), 상당한 양의 이소플라본 또한 공급한다고 한다(14-15). 아시아 여성들을 대상으로 한 연구에 의하면 하루 40㎎의 이소플라본을 섭취하도록 하루 30g이상의 대두를 평균적으로 섭취함으로서 골격조직에 대두 섭취의 이로운 효과가 나타난다고 제안되었다. 일본 여성에게서 골반 골절의 발병율이 낮고(16) 일본인들의 대두 섭취량이 높은 것과 관련하여 대두 제품에서 공급하는 이소플라본을 충분량 섭취하는 것은 골격 골절, 특히 골반 골절에 예방효과가 있다고 할 수 있다. 골반 골절은 서구인보다 아시아인에게서 특히 발병율과 발생율이 낮다. 일반적으로 대두 이소플라본은 골격조직의 건강상태에 유익한 효과를 발휘한다고 할 수 있으며 골 질량과 골밀도에는 효과가 나타나지 않았는데, 골 질량과 골밀도는 서구인보다 아시아인에게서 낮게 나타난다.

4. 에스트로겐과 파이토에스트로겐의

표 2. 대두와 대두 제품 중의 이소플라본 함량

대두 제품	다이드제인 (mg/100g)*	제니스테인 (mg/100g)*
대두	84	111
볶은 대두	56	87
대두 분말	23	81
템페	27	32
두부	15	16

* 건물 중량당 함량

분자구조와 특성 비교

주요한 파이토에스트로겐인 이소플라본과 쿠메스탄의 분자구조를 자연적으로 존재하는 가장 강력한 에스트로겐인 17β-에스트라디올과 비교해 보면 그림 1과 같다. 파이토에스트로겐은 에스트로겐 수용체와의 결합이 충분하도록 17β-에스트라디올과 구조상의 유사점이 있다. 그러나 결합시간 및 수용체에 대한 친화력은 17β-에스트라디올과 비교하여 상당히 떨어진다(17). 제니스테인과 다이드제인은 A환의 OH기 유무만이 차이가 나는 구조인데, 나중에 서술하겠지만 이 구조 차이가 두 분자의 생리기능에 매우 큰 영향을 미친다. 쿠메스트롤의 환 구조는 이소플라본의 환 구조보다 실제 에스트로겐과의 유사성이 더 크다.

5. 식이 중의 파이토에스트로겐 주요 급원

대두는 사람의 식이 중에서 가장 대표적인 파이토에스트로겐 급원이다(4). 또한 대두 제품의 섭취는 이소플라본 섭취량과 매우 높은 상관관계가 있으며 이는 이소플라본이 단백질과 밀접하게 연결되어 있

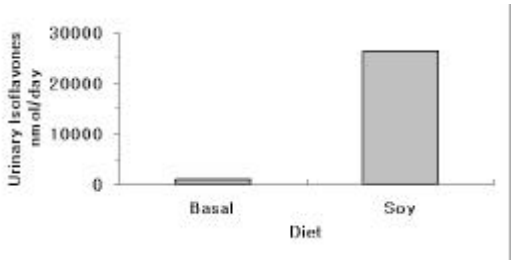

그림 2. 대조식이와 비교한 대두식이군 피험자의 소변 중 파이토에스트로겐 배설량

기 때문이다. 그러므로 이소플라본은 대두로부터 제조되는 다양한 대두 가공제품에서 단백질과 함께 존재한다. 표 2는 대두 가공제품 중의 파이토에스트로겐 함량을 나타낸 것이다(18). 위에서 말한 것처럼 아시아인은 전세계 어느 지역의 인종보다도 훨씬 많은 대두와 대두제품을 섭취하고 있으며, 일본인들이 가장 섭취량이 높다. 일본인들이 하루 30-50g의 대두 제품을 섭취하는 반면, 미국인들은 하루 평균 섭취량이 약 3g 정도이다. 그러므로 대부분의 미국인들은 실제로 대두의 섭취가 없다고 보아야 할 것이며 채식주의자 등 일부 사람들만이 하루 3g 이상의 대두를 섭취한다고 보아야 할 것이다. 이와 같이 미국과 일본 및 아시아국가들 간의 대두 섭취 차이는 막대한 차이이다.

Adlercreutz 등(14)은 전통적인 아시아 식이를 섭취하는 일본인 남성의 혈장 제니스테인 함량은 0.1-10mM이었으며 이는 서구의 폐경 전 여성의 혈장 17β-에스트라디올 최고 수치보다 1000배 더 높은 수치라고 보고하였다. Adlercreutz 등(15)의 또 다른 연구에 의하면 핀란드 여성의 소변 중 파이토에스트로겐 배설량은 일본 여성의 배설량보다 훨씬 낮은 양이라고 보고하였다. 미국인의 소변 중 파이토에스트로겐 배설을 대조 식이(basal diet)와 대두 식이(soy diet)로 구분하여 비교한 결과 그림 2와 같았다(19).

서구와 아시아인의 대두 섭취에서의 차이 때문에, 파이토에스트로겐에 의한 골격 건강상의 이점은 서구인에게서 보다는 일본 및 아시아인에게서 나타날

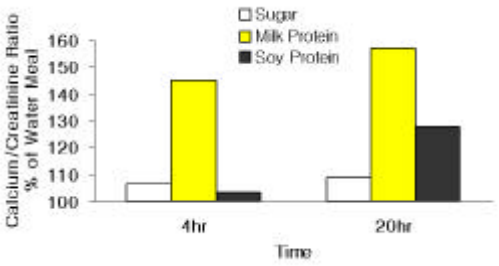

그림 3. 가향한 물 음료에 각각 설탕(sugar), 락트알부민(milk protein), 대두(soy)를 용해시킨 후 이를 섭취한 피험자의 4시간과 20시간 후 소변 중 칼슘 배설양, 대조군은 가향한 물 음료 섭취 군

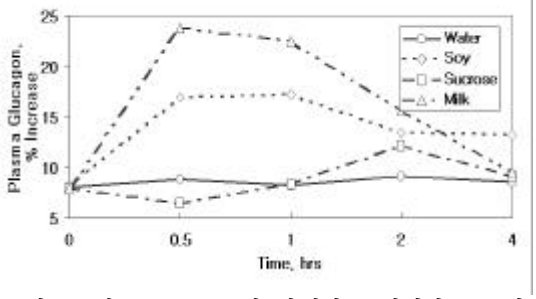

그림 4. 대두군은 동물성 단백질을 섭취한 군보다 식후 글루카곤 상승이 완만하였으며 설탕 섭취군은 글루카곤 상승이 거의 나타나지 않았다.

것이다. 이러한 가능성들이 골격 관련 수치 및 골절율에 대하여 아시아 결과를 조사한 골다공증 분야에서의 연구자들에게서는 언급되지 않았다(16, 20-21).

6. 대두 섭취가 칼슘대사에 미치는 영향

대두 및 대두 단백질(추출물이나 가수분해물)의 섭취는 골격 조직에 대한 효과 외에 칼슘대사에도 여러 면에 효과를 발휘한다. 그 효과 중의 하나로 대두단백추출물(ISP)은 이소플라본을 포함하고 있으며, 섭취시 식사 직후 및 24시간 동안 소변으로의 칼슘 배설을 어느 정도 증가시키기기는 하나 동물성 단백질인 락트알부민을 섭취했을 때 유발되는 소변으로의 칼슘 소실보다 훨씬 적은 량이 배설되었다(22). 식사 후 4시간째와 20시간째의 소변으로의 칼슘 배설량을 비교하면 그림 3과 같다. 그 외에도 대두 단백질을 동물성 단백질과 비교하면 식사 후에 상승되는 글루카곤의 자극정도가 대두단백질이 더 완만하였다(그림 4). 이 결과는 칼슘을 보유시키는 효과를 담당하는 것이 대두 단백질에 포함된 이소플라본 때문일 것으로 제안되고 있으나 이는 명쾌한 연구보고를 통해서는 확인되지 않은 상태이다.

7. 대두와 대두제품에 대한 인체 연구 사례

사람을 대상으로 하고 생리주기와 난소의 에스트로겐 생성을 고려하여 파이토에스트로겐이 풍부한 식이를 섭취했을 때 나타나는 생리적인 효과를 조사한 연구는 소수만이 보고되었다. Cassidy 등(23)의 보고에 의하면, 한달 동안 대두 조제품을 섭취시킨 젊은 여성은 여포기(follicular phase)가 길어져서 전체 생리주기가 길어졌다고 하였다. 이 결과와 다른 여러 보고(24-26)들은 대두를 섭취한 여성은 배란이 일어나는 일생동안 난소의 에스트로겐 생성이 유의적으로 감소된다고 제안하고 이는 채식주의자에게서 골 무기질 함량(BMC)와 골 무기질 밀도(BMD)가 낮은 것과도 부분적으로 관련이 있다고 하였다. 한달 간의 대두 섭취로 인한 효과를 확증하는 연구에 따르면 섭취된 이소플라본이 생리주기의 여포기 동안 난소 중의 에스트로겐 농도를 유의적으로 감소시킨고 하였으며 이에 따라 배란이 늦어지고 생리주기가 길어진다고 하였다(26). 이상과 같이 에스트로겐에 노출되는 기간이 짧아질수록 유방과 기타 생식기 암 발생에 대한 방어력도 더 커질 수 있다.

Potter 등(27)은 식이에 대두를 첨가하여 섭취시키고 실험 종료시기에 골 관련 수치를 측정하였다. 이 보고에 의하면 일일 56mg과 90mg의 이소플라본을 공급하도록 제니스테인과 다이드제인을 강화시킨 대두 단백 보충물(ISP56, ISP90)을 6개월간 섭취

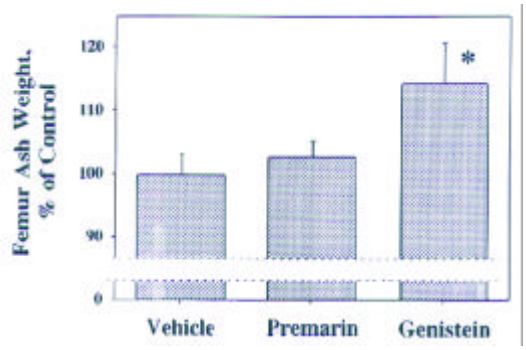

그림 5. 난소를 절제한 수유 중인 쥐에게 14일간 제니스테인 식이를 투여했을 때 골 질량에 미치는 효과(평균±SE); * Vehicle 군과 Genistein 군 간 유의차($p<0.05$). 제니스테인이 풍부한 식이가 합성 에스트로겐(Puremarin®) 보다 더 효과적임 (28-29)

시켰을 때, 66명의 폐경 후 여성에게서 이소플라본 함량이 높은 군(ISP90)이 이소플라본을 제거하고 대두단백질만을 섭취시켰을 때보다 요추의 BMD와 BMC에 유의적인 효과가 있었다($P<0.05$). 그러나 중앙 대퇴골에는 효과가 없었다. 이소플라본 함량이 낮은 군(ISP56)도 요추의 BMD와 BMC가 증가하기는 하였으나 통계적인 유의성은 없었다. 이들 결과는 파이토에스트로겐의 투여량에 따른 효과 뿐 만 아니라 골격 부위에 따라 다르게 반응하는 양상을 밝혔다. 파이토에스트로겐이 폐경 후 여성의 골 측정치에 미치는 효과를 조사하는 연구가 두 그룹에서 진행되고 있는데 Creighton University (Christopher G. 등)와 Bowman Gray Medical School of Wake Forest University(Thomas C. 등)이다. 젊은 여성을 대상으로 한 연구는 University of North Carolina(Anderson J. 등)에서 수행 중이다.

파이토에스트로겐 섭취가 골질량 보유에 지속된 효과를 줄 수 있다면 파이토에스트로겐은 폐경 후 여성에게서의 골다공증 예방뿐 만 아니라 젊은 성인의 골격 건강도 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다. 장기간의 섭취에 대한 실험 등을 포함한 여러 연구

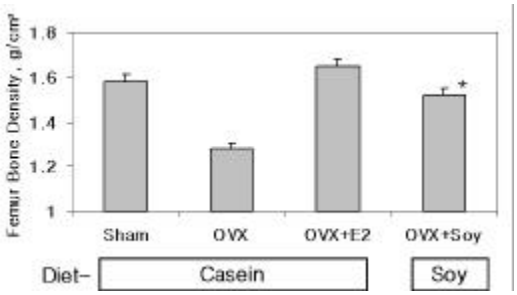

그림 6. 대두 식이가 난소를 절제한 쥐의 대퇴골 밀도에 미치는 영향; * OVX + soy군과 OVX + casein 군간 유의차($p<0.05$)(31).

결과가 이들 비스테로이드계 분자의 효과를 확증하기 위하여 필요하다.

8. 동물실험

쥐 실험 : 몇몇 동물실험 연구들이 실험 식이를 통해 대두를 섭취시킨 후 골 질량 등에 유의적인 증가가 나타났다는 증거들을 제시하고 있다. 동물모델에서 밝혀진 골 질량에 대한 결과는 골격보유에 대한 이소플라본의 효과가 저농도에서는 골격 보유를 증진시켰으나 반면 고농도에서는 유익한 효과가 없다고 하여 이중적인 효과를 뒷받침하고 있다(28-29). 그림 5는 14일간 제니스테인이 풍부한 식이를 난소를 절제한 수유 중인 쥐에게 공급하였을 때 골 질량에 미치는 상대적인 효과를 나타낸 것이다. 제니스테인이 풍부한 식이가 합성 에스트로겐(Puremarin®)의 투여시 보다 더 효과적인 것을 알 수 있다.

또 다른 동물실험에서도 대두 및 이소플라본 추출물이 골 질량을 증가시켰다고 보고하였다(30-32). Arjmandi의 결과(31)는 난소를 절제한 쥐(OVX)에서 대두 단백질 섭취군과 카제인을 섭취시킨 군을 비교한 골 밀도 결과로서 그림 6과 같다. Kalu 등(33)은 장기투여 실험을 통하여 대두를 단독 단백질 급원으로 투여했을 때 단백질 급원이 카제인인 군에

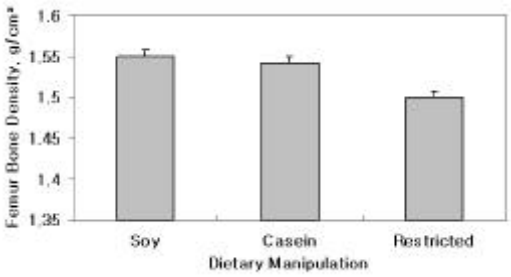

그림 7. 24개월 장기 투여실험에서 단독 단백질 급원으로 대두를 섭취하였을 때 카제인보다 대퇴골 밀도가 높음(33)

비해 24개월 후 골 밀도가 향상되었다고 보고하였다(그림 7).

난소절제 쥐를 모델로 한 본 연구진의 실험결과는 다른 연구에서와 마찬가지로 제니스테인이 강화된 대두조제물을 저농도로 투여한 군에서 골 유지 효과가 있었으며 반면 고농도 투여군에서는 효과가 거의 없었다. 이 동물 모델에서 제니스테인이 강화된 대두조제물 섭취로 인한 자궁무게 증가 등은 나타나지 않았다. 본 실험의 투여량에서 제니스테인 강화 대두조제물이 골격과 자궁에 미치는 효과가 서로 다른 것은 이소플라본이 자궁 및 기타 생식기관에는 약한 항에스트로겐 활성(antiestrogenic effect)을 발휘하기 때문인 것으로 사료되었다.

영장류 실험: 파이토에스트로겐이 강화된 대두 조제물을 한가지 농도로 투여하고 2년간의 영장류를 대상으로 한 실험에서는 이소플라본이 골격 측정치에 미치는 유익한 효과를 밝히지 못하였다. 이러한 결과들은 연구자들에게 큰 혼동을 초래하였으며 이에 따라 한 종류의 이소플라본 투여량으로는 골 질량과 골 밀도에 효과를 미치기에 충분하지 않은 것으로 결론지었다. 이들 결과로부터 이소플라본은 골조직에 대해 역치효과(threshold effect)를 가진다고 제안되었다.

결론 : 동물실험에서 나타난 결과에서 이소플라본이 골 질량과 골 밀도에 미치는 효과를 측정하기 전에 동물 모델의 종에 따라 한 달에서 몇 년까지 충분한 기간 동안 이소플라본 역치투여량을 섭취시킬 필요가 있다는 것이 밝혀졌다. 역치 이상의 투여량은 최소의 역치 투여량보다 효과가 더 크지 않았으며 다량의 투여는 오히려 효과가 더 적은 것으로 나타났다. 투여량이 너무 높다면 오히려 부정적인 효과가 나타날 수 도 있을 것이나 이러한 투여량은 식품으로 섭취할 때 거의 일어날 수 없는 상황이다. 그러나 이소플라본을 강화시킨 조제물로 제조된 식이나 강화식품을 섭취할 경우는 해로울 수 있을 것이다.

9. 조직배양 연구

닭의 9일된 태내 배아의 대퇴골에 대한 연구가 일본 연구진에서(34) 발표되었는데 쿠메스트롤은 뼈의 재흡수(resorption)를 억제하고 뼈의 무기질 축적을 촉진한다고 하였다. 쿠메스트롤과 17β-에스트라디올은 부갑상선 호르몬, 비타민 D의 호르몬형, 혹은 프로스타글란딘 E_2를 투약했을 때 유도되는 것과 비슷한 방식으로 뼈의 재흡수를 억제한다고 밝혀졌다. 또한 이 연구에서는 쿠메스트롤이 닭의 태내 배아의 대퇴골에서 뼈 무기질 침착을 초기 발생단계에서 촉진한다고 보고하였다. *in vitro*에서 이러한 효과를 위한 적정 농도는 10^{-5} M이었다.

10. 세포연구

세포배양 연구로부터는 흥미로운 발견들이 얻어졌다. 유사 조골세포(osteoblast-like cell)와 유사 파골세포(osteoclast-like cell) 모두 파이토에스트로겐에 반응하였으며 서로 다른 기작을 통하여 반응하였다.

유사 조골세포(ROS 17/2.8 과 ROS.SMER)를 배양한 연구는 *in vivo* 실험결과를 지지하는 것이지만 동물모델에서 관찰되었던 이중적인 효과, 즉 제니스테인과 에스트라디올이 고농도(10^{-4} M)에서 오히려 뼈에 해롭다는 결과를 잘 설명하게 해주었다. 낮은 농도에서 제니스테인과 에스트라디올은 *in*

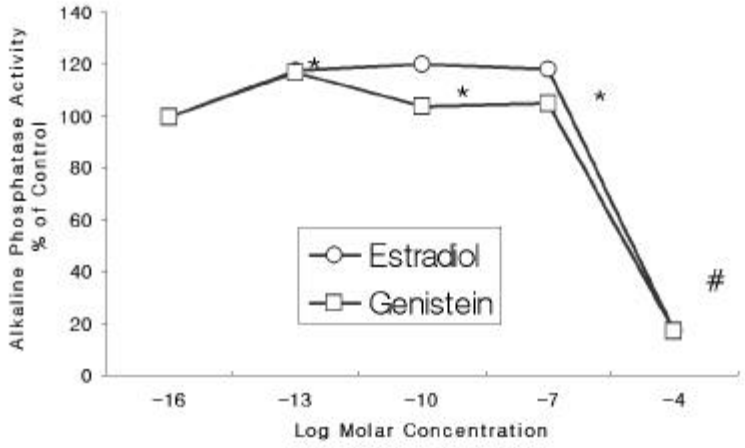

그림 8. 유사 골아세포(ROS.SMER) 배양시 제니스테인과 17β-에스트라디올을 처리하였을 때 투여량에 대한 세포반응; * 대조군에 대하여 $p<0.05$), # 대조군에 대하여 $p<0.01$(30)

vitro 유사 조골세포에 의한 뼈의 생체지표(bio-marker, alkaline phosphatase)의 생성을 증가시켰다.

그림 8은 제니스테인과 17β-에스트라디올 처리시 유사 조골세포(ROS.SMER)의 반응을 alkaline phosphatase 활성을 측정함으로서 투여량에 대한 반응 곡선으로 나타낸 것이다. 반응곡선의 모양으로부터 세포가 두 물질에 유사한 기작으로 반응한다는 것을 알 수 있다. 제니스테인과 17β-에스트라디올을 10^{-4} M의 고농도로 처리한 세포에서는 대부분의 세포들이 더 둥근 모양이었고 이웃한 다른 세포와 붙어 있었으며 배양 면적이 감소되었다.

이소플라본이 유사 파골세포(osteoclast-like cell)에 미치는 영향 연구에 의하면 식물성 분자들이 파골세포의 기능을 *in vitro*에서 억제하는데 효과적인 것으로 나타났으며 이는 에스트로겐 수용체 기작과는 다른 것이었다. 이소플라본은 특정한 효소체계(상피성장인자수용체 단백질의 tyrosine kinase 등)의 활성을 간섭하여 유사 파골세포의 작용을 억제하였다(35). 한편, 포유류의 파골세포는 에스트로겐 수용체가 발현되지 않는 것으로 알려져 있으나 최근 몇몇 연구자들에 의해 이들 세포에도 에스트로겐 수용체가 존재한다고 보고되었다.

결론적으로, 세포배양에 의한 연구는 이소플라본이 유사 조골세포와 유사 파골세포에 발휘하는 효과가 상반된 것이라고 밝혔다. 이들 결과로부터 파이토에스트로겐이 에스트로겐 수용체를 매개로 한 경로와 에스트로겐 수용체와 무관한 다른 경로(다음 단락에서 설명)로 작용한다는 것이 명확해졌다. 앞으로의 연구는 비스테로이드계 에스트로겐 유사물질들이 골세포에 미치는 효과가 대두유래의 이소플라본이 발휘하는 건강상의 유리한 효과를 확증하도록 진행되어야 할 것이다.

11. 파이토에스트로겐의 골세포에 대한 효과의 기작:에스트로겐 수용체와 에스트로겐 반응구조

에스트로겐수용체(ERs)는 핵을 가지고 있고 핵 DNA에 에스트로겐 반응물질이 있는 거의 모든 포유류의 세포에서 발견된다. 그러나 수용체의 수는 세포의 종류에 따라 매우 다르다. 예로, 생식기관은 골세포나 기타 다른 세포에 비하여 100-1000배나 많

은 수가 존재한다. 연구실에서 사용되는 반영구적인 증식활성의 유사 조골세포주의 경우 에스트로겐에 의해 야생형과 ER-도입세포 모두에서 에스트로겐 수용체의 발현이 자극된다(36).

파이토에스트로겐은 17β-에스트라디올보다는 낮은 친화력으로 에스트로겐 수용체에 결합한다. 표 3은 몇 종의 파이토에스트로겐의 에스트로겐 수용체에 대한 친화력을 17β-에스트라디올과 비교한 것이다(17).

대두 이소플라본이 골다공증을 예방하는데 효과를 발휘하도록 골 조직에 작용하는 기작에 대하여 몇가지 기작이 제시되었다. 조골세포와 파골세포 모두가 제니스테인과 다이드제인이 작용하는 표적 세포인 것으로 제안되었다. 유사 조골세포를 배양한 연구들은 제니스테인이 에스트로겐 수용체와의 반응을 통하여 효과를 나타낸다는 것을 뒷받침해 준다. 그러나 에스트로겐 수용체와 무관한 다른 세포내 기작도 작용하였다(30). 예로 일부 연구자들은 제니스테인이 topoisomerase II를 억제하여 세포의 증식 세포주기를 간섭한다고 하였으며, 반면 일부에서는 세포막에 결합되어 있는 펩다이드계 수용체가 제니스테인에 의하여 활성화 되어 세포로 하여금 비에스트로겐 효과를 진행하게 한다고 제안하기도 하였다.

제니스테인은 낮은 농도에서는 에스트로겐으로, 고농도에서는 에스트로겐 길항제로 작용할 수 있다. 제니스테인이 뼈를 보유시켜주는 효과는 조골세포와 그 전구세포의 에스트로겐 수용체에 직접 작용함으로서 생기는 결과이며(37), 또한 간접적인 방법으로 제니스테인은 조골세포에 의해 생성되는 싸이토키닌을 억제함으로써 파골세포가 일으키는 뼈 재흡수작용을 효과적으로 차단시킨다.

제니스테인과 기타 파이토에스트로겐들은 파골세포에도 직접 작용하여 뼈의 재흡수를 억제시키며 이에 따라 골격 보유에 효과를 발휘한다(35). 이러한 파골세포에서의 효과가 에스트로겐 수용체를 매개로 하는지 아닌지는 아직 명확하지 않다. 그러나 또 다른, 에스트로겐 수용체와 무관한 별도의 기작이 관계되어 있다.

표 3. 사람의 에스트로겐 수용체에 대한 17β-에스트라디올과 파이토에스트로겐들의 반응친화력(affinity)

성 분	상대적 친화력 (Relative Binding Affinity)
17β-에스트라디올	1.0
쿠메스트롤	0.13
제니스테인	0.0125
다이드제인	0.0010
바이오카닌 A	0.00005

12. 연구결과들에 대한 고찰

동물 모델과 인체를 대상으로 한 파이토에스트로겐이 골조직에 미치는 효과에 대한 연구는 소수만이 보고되었지만, 이들 실험보고들은 모두 명백히 파이토에스트로겐이 골격 건강에 유익한 효과가 있다고 밝히고 있다. 예외적으로 영장류를 대상으로 한 실험에서만 파이토에스트로겐이 골격 건강에 효과가 없다는 혼동되는 결과를 보고하고 있다. 파이토에스트로겐, 특히 많이 연구된 이소플라본이 동물모델에 효과가 있다면 폐경 후 여성에게 이소플라본 보충하여 비슷하게 유리한 결과를 얻을 수 있을 것이다. 인체실험으로는 6개월간의 시도로 척추의 뼈 무기질 함량과 뼈 무기질 밀도가 향상된 것이 보고되었다. 이에 대해 여러 생활주기를 대상으로 한 더 많은 인체연구가 필요하다.

파이토에스트로겐이 효과를 발휘하는 기작은 확실히 밝혀지지는 않았으나 이미 몇가지 가능성들이 제시되었다. 많은 연구자들이 여러 가지 종류의 세포를 이용하여 특히 남성과 여성의 생식기 세포를 대상으로 이 기작을 밝히려 연구하고 있다, 본 연구진은 *in vivo*와 *in vitro* 연구에서 제니스테인과 다이드제인의 작용기작은 서로 다르며 이는 다이드제인

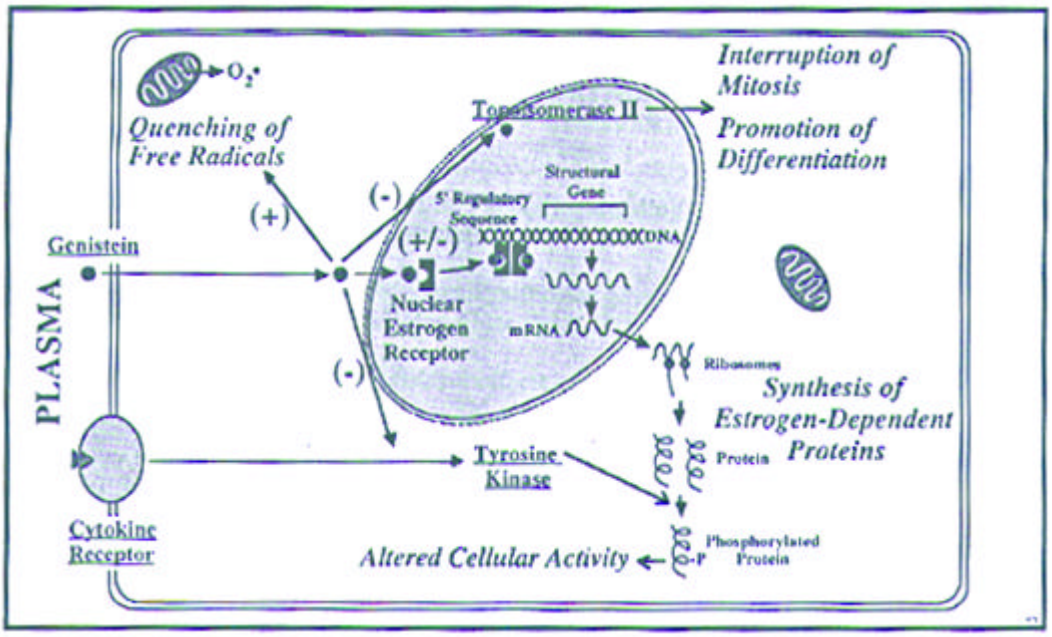

그림 9. 제니스테인 등 이소플라본(다이드제인등 제외)이 골세포에 작용하는 기작에 대한 도식. 토포아이소머레이즈 효소관련 효과는 핵 안에서 작용하는 반면, 이소플라본의 다른 효과들은 핵 바깥에서 진행됨.

의 A환에 OH기가 없기 때문이라는 결과를 얻었다.

제니스테인과 관련 파이토에스트로겐들이 골세포에 작용기작에 대한 도식도는 그림 9와 같으며, 다이드제인은 그림 9와는 관계가 없다. 이 도식은 추정이론으로서 첫 번째는 파이토에스트로겐이 에스트로겐 수용체에 약한 길항작용(antagonistic effect)을 발휘하고 이에 따른 일련의 세포 내 반응이 일어난다는 것이다. 이 반응들은 세포의 주기를 변화시키고 이는 세포의 분열과 증식을 감소시킬 뿐 만 아니라 세포의 분화를 촉진시킨다. 이러한 세포 주기 조절 활성으로 인하여 세포괴사-조절유전자(apoptosis-controlling genes)가 유지되고 이에 따라 암으로 변이되는 가능성이 줄어들게 된다. 이소플라본의 두 번째 작용은 세포막 수용체를 매개로 일어나는 tyrisine kinase의 억제효과로서 이는 정상적인 세포 기능을 도와주며, 세포분화를 촉진하지는 않는 것으로 보인다. 또 다른 작용으로는 항산화제로서 미토콘드리아 경로나 기타 세포 활성 중에 발생하는 래디칼을 소거하는 작용이다. 골세포도 다른 세포에서와 마찬가지 방식으로 반응하며 이러한 효과를 발휘하는 적정 투여량은 일반적으로 모든 세포 종류에서 (적어도 세포 배양에서는), 비슷한 수준(10^{-8} 10^{-9} M)으로 필요하다.

13. 결 론

골다공증을 예방하고 치료하기 위하여 파이토에스트로겐이 이용될 전망은 있으나 인체를 대상으로 파이토에스트로겐 제제의 효율성을 결론지어 말하기에는 더 많은 인체 연구가 필요하다. 에스트로겐 대체요법 등과 같은 약물치료에 반하여 대두와 대두제품을 이용하는 것은 서구 여러나라의 여성들에게 호감이 가는 시도이다. 대두 가공제품을 섭취한다는 것

은 동시에 이소플라본도 섭취한다는 것이다. 그러나 파이토에스트로겐의 뼈에 미치는 유익한 효과는 약하고 또 척추의 요추부분에만 제한되어 있기는 하다. 대두 제품의 섭취하는 것은 파이토에스트로겐을 섭취하는 것 외에도 칼슘과 마그네슘(두부 등에서), 비타민 K, 단백질 저해제 등 다른 영양요소도 섭취하는 영양학적인 이점이 있다. 파이토에스트로겐 강화 제제를 섭취하는 것은 과량 섭취가능성과 골 조직 및 기타 다른 조직의 세포에 부정적인 효과를 줄 수 있다는 것을 고려해야 한다

<출처: Nutrition Research, 17(10), 1617-1632, 1997>

14. 참고문헌

1. Messina M, Messina V. The second golden age of nutrition: phytochemicals and disease prevention. In: Huang M-T Osawa T, Ho C-H, Rosen RT, eds. Food phytochmicals for cancer prevention Ⅰ: Fruits and Vegetables. New Brunswick, NJ: Rutgers University Press, 1994, 382-387.
2. Bennetts HW, underwood EJ, Shier FL. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. Austr Vet J 1946;22:2-12.
3. Moule GR, Braden AWH, Lamond DR. The significance of oestrogens in pasture plants in relation to animal production. Anim Breed Abstr 1963;31:139-157.
4. Knight DC, Eden JA. A review of clinical effects of phytoestrogens. Obstet Gynecol 1996;87:897-904.
5. Clarkson TB, Antony MS, Hughes CL, Jr. Estrogenic soybean isoflavons and chronic disease; Risk and benefits. Trends Endocrinol Metab 1995;6:11-16.
6. Hughes CL. Phytochemical mimicry of reproductive hormones and modulation of herbivore fertility by phytoestrogens. Environ Health Perspect 1988;78:171-175.
7. Bradbury RB, White DE. Estrogens and related substances in plants. In: Harris RS, Marrian GF, Thimann KV, eds. Vitamins and Hormones, Vol.XII. New York: Academic Press, 1954, 207-230.
8. Farnsworth NR, Bingel AS, Cordell GS, Crane FA, Fond HHS. Potential value of plants as sources of new antifertility agents Ⅱ. J pharmacol Sci 1975;64:717-754.
9. Tylavsky FA, Anderson JJB. Dietary factors in bone health of elderly lactoovegetarian abd omnivorous women. Am J Clin Nutr 1988;48;842-849.
10. Hunt IF, Murphy NJ, Henderson C, Johnston PK. Bone mineral content in postmenopausal women: Comparison of omnivores and vegetarians. Am J Clin Nutr 1989;50:517-523.
11. Teasr R, Notelovitz M, Shim E, Kauwell G, Brown J. Axial and peropheral bone density and nutrient intakes of post-menopausal vegetarian and omnivorous women. Am J Clin Nutr 1992;56:699-704.
12. Reed JA, Anderson JJB, Tyavsky FA, Gallagher PN, Jr. COnparative changes in radial bone density of elderly female lactoovovegetarians and omnivores. Am J Clin Nutr 1994;59(suppl 1):197S-202S.
13. Lacey JM, Anderson JJB. Older women in Japan and the United States: Physical

and nutritional comparisons. In: Takashaki HE, ed. Bone Morphometry: Proceedings of the Fifth International Congress. Japan: Nishimura. 1991,562-565.

14. Adlercreutz H, Markkanen H, Watanabe S: Plasma concentrations of phytoestrogens in Japanese men. Lancet 1993;342:1209-1210.
15. Adlercreutz H Fotsis T, Bannwart C, Wahala K, Makela T, Brunow G, Hase T. Determination of Urinary lignans and phytiestrogen metabolites, potential anti-estrogens and anticarcinogens in urine of women on various habitual diets. J Steroid Biochem 1986;25:791-797.
16. Fujita T, Fukase M. Comparison of osteoporosis and calcium intake between Japan and the United States. Proc Soc Exp Biol Med 1992;200:149-152.
17. Miksicek RJ. Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with espressed recombinant human estrogen receptor. J Steroid Biochem Molec Biol 1994;49:153-160.
18. Wang H-j, Murphy PA. Isoflavone content in commercial soybean foods. J Agric Food Chem 1994;42:1666-1673.
19. Kirkman LM, Lampe JW, Cpmbell DR, Martini MC, Slavin JL. Urinary lignan and isiflavone excretion in men and women consuming vegetable and soy diets. Nutr Cancer 1995;24:1-12.
20. Lacey JM, Anderson JJB, Fujikta T, Yoshimoto Y, Fukase M, Tsuchie S, Koch GG. Correlates of cortical bone mass among premenopausal and post- menopausal Janpanese women. J bone Miner Res 1991;6:651-660.
21. Lau EMC, Cooper C. The epidemiology of osteoporosis. Clin Orthopaed Rel Res 1996;323:65-74.
22. Anderson JJB, Thomsen K, Christiansen C. High protein meals, insular hormones, and urianry colcium excretion in human subjects. In: Christiansen C, Johansen JS, Riis B, eds. Osteoporosis 1987. Copenhagen: Osteopress ApS, 1987:240-245.
23. Cassidy A, Bingham S, Setchell KDR. Biogical effects of a diet of soyprotein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. Am J Clin Nutr 1994;60:333-340.
24. Wilcox G, Wahlqvist ML, Burger HG, Medley G. Osteogenic effects of plant foods in postmenopausal women. BMJ 1990;301:905-906.
25. Baird DD, Umbach DM, Lansdell L, Hughes CL, Setchell KDR, Weinberg CR, Haney AF, Wilcox AJ, McLachlan JA. J Clin Endocrinol Metab 1995;80:1685-1690.
26. Lu L-JW, Anderson KE, Grady JJ, Nagawani M. Effects of soya consumption for one month on steroid hormones in premenopausal women: Implications for breast cancer risk reduction. Cancer Epid biomarkers Prev 1996;5:63-70.
27. Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Erdman, JW, Jr. Soy Protein and isoflavones: Their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 1998(in press).
28. Anderson JJ, Ambrose WW, and Garner SC. Orally dosed genistein from soy and

prevention of cancellous bone loss in two ovariectomized rat models. J Nutr 1995;125:779S.(Abstract)

29. Anderson JJB, Ambrose WW, Garner SC. Biphasic effects of genistein on bone tissue in the ovariectomized, lactating rat model. Proc Soc Exp Biol Med 1997(in Press).
30. Anderson JJB, Ambrose WW, Garner SC, Ohue T. Phytoestrogens and bone: Studies in rat models and bone cell lines. Am J Clin Nutr(in press).
31. Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuyntzakis M, Guo P, Kukreja SC. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. J Nutr 1996;126:161-167.
32. Blair HC, Jordan SE, Peterson TG, Barnes S. Variable effects of tyrosine kinase inhibitors on avian osteoclastic activity and reduction of bone loss in ovariectomized rats. J Cell Biochem 1996;61:629-637.
33. Kalu DN, Masoro EJ, Yu BP, Hardin RR, Hollis BW. Modulation of age- related hyperparathyroidism and senile bone loss in Fischer rats by soy protein abd food restriction. Endocrinology 1988 ;122:847-854.
34. Tsutsumi N, Effect of coumestrol on bone metabolism in organ culture. Biol Pharmaceut Bull 1995; 18:1012-1015.
35. Williams JP, Jordan SE, Barnes S, Blair HC. Tyrosine kinase inhibitor effects on osteoclastic acid transport. Am J Clin Nutr 1997(in press)
36. Migliaccio S, Davis VL, Gibson MK, Gray TK, Korach KS. Estrogens modulate the responsiveness of osteoblast-like cells (ROS 17/2.8) stably transfected with estrogen receptor. Endocrinology 1992;130:2617-2624.
37. Makela S, Davis VL, Tally WC, Korkman J, Salo L, Vihko R, Santti R, Korach K. Dietary estrogens act through estrogen receptor-mediated precesses and processes and show no antiestrogenicity in cultured breast cancer cells. Environ Health Perspect 1994;102:572-578.
38. Messina M, Messina V. The Dietitians Guide to Vegetarian Diets. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers, 1996;447-448.