

## Enhancement of Parathyroid Hormone in Postmenopausal Women by Chlorella Dietary Supplementation

Dong-Uk Kim<sup>1</sup>, Hee-Kyung Seong<sup>2</sup>, Jung-Min Hwang<sup>3</sup>, Ae-Ran Jeon<sup>3</sup>,  
Ji-Young Yun<sup>3</sup> and Yong-Ho Kim<sup>†</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Pusan Paik Hospital, Inje University, Pusan 633-165,

<sup>2</sup>Department of Clinical Pathology, Sangge Paik Hospital, Seoul 139-707,

<sup>3†</sup>Department of Biomedical Laboratory Science Inje University, Kimhae 621-749

Parathyroid hormone has clearly emerged as the most promising new anabolic treatment for osteoporosis by increasing the activation of osteoblast. It is known that chlorella increases both bone mineral density (BMD) and the rate of bone formation.

The purpose of the present study was to determine whether the chlorella dietary supplementation could effect the thyroid or parathyroid hormones associated with increased BMD and bone formation. Twenty-two postmenopausal woman were treated for four month with 4 gm of chlorella dietary supplementation per day, then assessed serum calcium, 25 OH vitamin D<sub>3</sub>, thyroid hormone and parathyroid hormone before and after treatment. The mean 25 OH vitamin D<sub>3</sub> and parathyroid hormone were shown to marked increases by 193% and 265% respectively, in contrast to decreases by 9.4%, 37%, 33% and 14% in serum calcium, triiodo-thyroxine, free thyroxine and thyroxine stimulation hormone. In conclusion, treatment of postmenopausal women with chlorella dietary supplementation resulted in an increase in BMD and bone formation through enhancement of parathyroid hormone and 25 OH vitamin D<sub>3</sub>, and a decrease in thyroid hormones.

**Key Words:** Chlorella, Parathyroid hormone, Osteoporosis, Anabolic treatment, Serum calcium, 25 OH vitamin D<sub>3</sub>

### 서 론

폐경후 많은 여성들은 골다공증을 겪게 되지만, 아직 이에 대한 만족할 만한 치료 방법은 없고, 운동, 호르몬 대체, 칼슘공급, 영양공급, 부갑상선 호르몬 및 비타민 D 요법 등의 대중요법들이 이용되고 있다<sup>4,13,16,20</sup>.

특히 부갑상선 호르몬요법은 Insulin-like Growth Factor I, II (IGF-I, II) 및 성장인자의 생성 증가를 통하여 조골세포의 활성을 높이는 것으로 연구 보고되어 새로운 골형성 치료제로 관심의 대상이 되고 있다<sup>17,20</sup>.

그러나 합성 부갑상선 호르몬의 직접 투여에는 호르몬 자체가 가지는 치료상의 주의, 많은 임상 경험의 필요 등 아직도 해결해야 할 많은 과제가 있다<sup>19</sup>.

한편, 클로렐라는 천연물을 이용한 건강보조식품으로 이미 수십년 동안 고영양 보조식품으로 알려지고 이용되어져 왔으며 최근의 연구 결과에 의하면 폐경후 여성들의 골밀도를 증가시키고, 골형성률을 증가시킨다는 보고가 있었다<sup>29,10</sup> 이외에도 생체내에서 cytokine 형성을 증가시키거나 식물 호르몬으로서의 작용 및 식물체내 호르몬 합성조절작용이 알려져 있다<sup>37</sup>.

본 연구는 클로렐라 투여에 의한 골밀도, 골형성률의 증가가 생체내 골대사, 칼슘대사를 조절하는 중요한 두 기관인 갑상선, 부갑상선의 호르몬 대사에는 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 폐경후 여성들을 대상으로 실시되었다.

### 재료 및 방법

#### 1. 클로렐라의 복용지침

(주) 대상에서 암소 배양시켜 건강보조식품으로 제조한 정체를 공급받아 1일 4 gm을 2회에 나누어 복용시켰다.

\*논문 접수: 2003년 1월 20일

수정재접수: 2003년 2월 4일

<sup>†</sup>별책 요청 저자: 김용호, (우) 621-749 경남 김해시 어방동 607번지, 인제대학교 임상병리과

Tel: 055-320-3481, Fax: 055-334-3426

e-mail: mlskimyh@ijnrc.inje.ac.kr

**Table 1.** Means (SD) in thyroid and parathyroid hormones in postmenopausal women in relation to treatment with chlorella

Variables	Control (n=22)	Subject (n=22) <sup>a</sup>
T. calcium (mg/dl)	9.2±0.2	9.1±0.3 (P=0.142)
T <sub>3</sub> (ng/ml)	180.9±41.2	115.5±20.0 (P=0.000)
FT <sub>4</sub> (ng/dl)	1.2±0.2	0.9±0.2 (P=0.000)
TSH (μIU/ml)	2.1±1.2	1.8±0.9 (P=0.067)
PTH (pg/ml)	11.9±7.8	22.5±5.7 (P=0.000)
25 OH D <sub>3</sub> (ng/ml)	27.89±11.60	58.05±27.51 (P=0.000)

T<sub>3</sub> (Triiodothyroxine), FT<sub>4</sub> (Free thyroxine), TSH (Thyroxine stimulation hormone), PTH (Parathyroid hormone), 25 OH D<sub>3</sub> (25-Dihydroxy vitamin D<sub>3</sub>), <sup>a</sup> (Subject VS Control)

## 2. 연구 대상

### 1) 대조군

클로렐라를 이전에 전혀 복용한 경험이 없는 폐경후 여성 22명을 선정하였다. 선정조건은 실험성적의 신뢰성을 높이기 위하여 실험 기간 중 매일 4시간 이상의 규칙적인 육체적 활동을 하고, 하루 한끼 이상의 동일한 식단에 의한 식사, 하루 중 8시간 이상은 동일한 환경조건에서 생활하며 임상적인 진단 결과 정상인을 대조군으로 하였다.

### 2) 실험군

대조군으로 선정된 동일한 집단의 대상자에게 대조 실험성적으로 요구되는 혈액, 뇨 등을 분석한 후 클로렐라 복용 시대로 4개월 동안 클로렐라를 복용시키면서 주기적 임상진찰을 실시하였으며 실험 기간 동안에는 특별한 칼슘제, 골다공증 치료제를 복용하지 못하도록 지도하였다.

### 3. 혈청 칼슘의 분석

대조, 실험군에 대한 혈청 칼슘의 분석은 Olympus AU5200 (Olympus, Japan) 자동분석장비와 Asan calcium Kit을 이용하여 분석하였다.

### 4. 25 OH Vitamin D<sub>3</sub> 분석

25 OH Vit D<sub>3</sub>-BP <sup>125</sup>I Kit (Medgenix, Belgium)을 이용하여 동위원소분석법으로 분석하였다.

표준, 대조 및 혈청 각 100 μl씩을 시험관에 취하고 추출액 200 μl, 용매혼합액 1.0 ml을 가한 다음 잘 혼합시켜 실온에서 5분 동안 방치 후 실온, 1,500 g에서 30분 동안 원심시켰다. 원심 후 각 시험관으로부터 상층액 100 μl를 다른 시험관에 옮긴 다음 55°C에서 60분 동안 휘발, 건조시켰다. 50 μl의 동위원소용액을 가하여 5초 동안 혼합시킨 다음 Total count를 하였다. 1.0 ml의 Binding Protein (DBP) 용액은 Total count 시험관을 제외하고 모두 가한 다음 5초 동안 혼합 후 4°C에서

**Table 2.** Change rate of percent from control baseline in thyroid, parathyroid and 25 OH vita D<sub>3</sub> in subject who completed 4 months of chlorella supplement

Variables	Means±SD, n=22
T. calcium (%)	90.62±3.23
T <sub>3</sub> (%)	63.22±16.68
FT <sub>4</sub> (%)	67.35±24.82
TSH (%)	85.66±75.50
PTH (%)	264.79±192.70
25 OH D <sub>3</sub> (%)	195.51±43.27

T<sub>3</sub> (Triiodothyroxine), FT<sub>4</sub> (Free thyroxine), TSH (Thyroxine stimulation hormone), PTH (Parathyroid hormone), 25 OH D<sub>3</sub> (25-Dihydroxy vitamin D<sub>3</sub>)

90분 동안 반응시켰다. Total count를 제외한 모든 시험관에 Anti-DBP 0.1 ml, 1.0 ml의 DA-PEG를 넣은 후 5초 동안 혼합하고 20분 동안 실온 방치 후 1,500 g에서 10분 동안 원심침전 후 상층액을 counting tube에 넣어 gamma counter에서 60초 동안 count하였다.

### 5. 갑상선, 부갑상선 호르몬 측정

부갑상선 호르몬 측정은 1 N TACT PTH (Nichols I D, Deutschland), 갑상선 호르몬은 Spectria T<sub>3</sub> <sup>125</sup>I (Orion Diagnostica, Finland), hTSH (CIS bio international, France) 및 RIA-gnost<sup>®</sup> FT<sub>4</sub> (Orion Diagnostica, Finland) Kit을 이용하여 각각 대조, 실험군의 혈청 시료와 방사성 동위원소법으로 gamma counter를 이용하여 분석하였다.

### 6. 통계 처리

모든 분석 결과는 mean±SD값으로 나타내었으며, 결과 비교는 t-test로 하였으며 허용오차범위는 5% 이내로 하였다.

## 결 과

대조군, 실험군의 평균 연령은 62±4세이었고 평균 폐경후 기간은 6년이었으며, 하루 4시간 이상의 육체적인 노동을 하는 동일한 직장의 일용직으로 구성되었다. 골다공증과 관련된 생활양식에 대한 설문조사에서는 햇볕을 자주 쬐이지 못함 (90%)과 40%가 음주를 조금씩 하는 것 이외에는 모든 골다공증의 위험인자와 관련된 식사, 운동 및 기호품의 섭취 등에 있어서는 양호하였다.

### 1. 혈액 중의 총 칼슘량의 측정

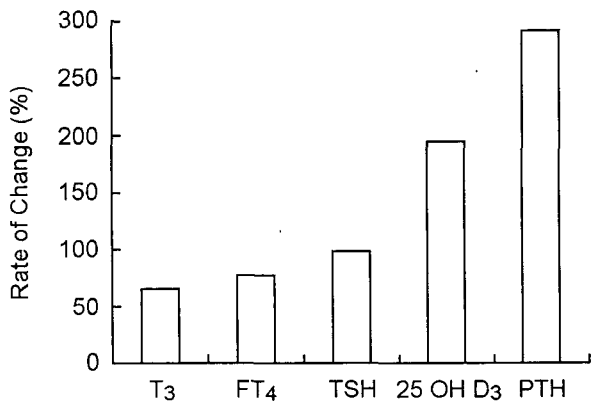
혈청 중의 총 칼슘량은 클로렐라 복용 전의 대조군에서는 9.2±0.2 mg/dl이었으며, 4개월 동안 클로렐라를 복용한 실험

군을 대상으로 측정된 평균값은  $9.1 \pm 0.3$  mg/dl로서 9.4% 감소되었으나 통계적인 의미는 없었다 ( $P=0.142$ , Table 1).

## 2. 혈액 중의 25 OH Vit D<sub>3</sub> 측정

골흡수 억제작용을 가진 25-Dihydroxy Vitamin D<sub>3</sub> (25 OH D<sub>3</sub>)는 골전환 조절에 중요하다. 연구 대상 중 대조군의 측정 평균값은  $27.8 \pm 11.60$  ng/dl이었으며 이는 Haddad와 Chyu가 미국인을 대상으로 조사 보고한 평균 측정값 27.0 ng/dl에 유사하였다<sup>9)</sup>.

다시 클로렐라를 4개월 동안 복용시킨 실험군에 대한 평균 측정값은  $58.05 \pm 27.51$  ng/dl로서 대조군에 비하여 평균 196%



**Fig. 1.** The rate of percent change for the hormonal markers, related to calcium metabolism between control and subject. T<sub>3</sub> (Triiodothyroxine), FT<sub>4</sub> (Free thyroxine), TSH (Thyroxine stimulation hormone), PTH (Parathyroid hormone), 25 OH D<sub>3</sub> (25-Dihydroxy vitamin D<sub>3</sub>)

의 급격한 증가를 보였다 (Table 1, 2).

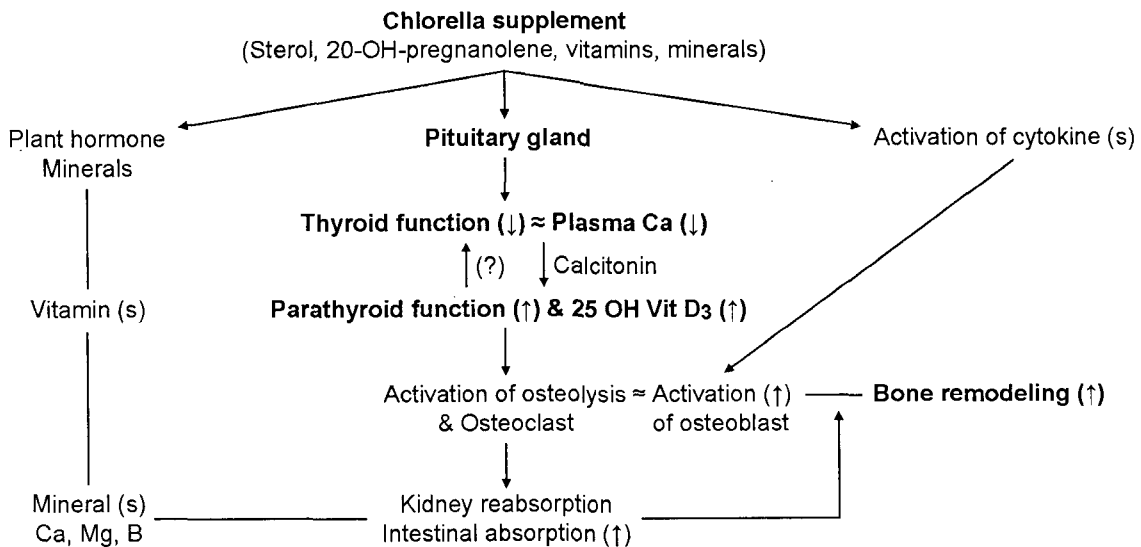
## 3. 혈액 중의 갑상선, 부갑상선 호르몬 측정

인체의 골대사와 관련된 내분비 호르몬인 갑상선, 부갑상선 호르몬을 측정된 결과 갑상선 호르몬인 Triiodothyroxine (T<sub>3</sub>)  $180.9 \pm 41.2$  ng/dl, Free thyroxine (FT<sub>4</sub>)  $1.2 \pm 0.2$  ng/dl 및 Thyroxine stimulation hormone (TSH)  $2.1 \pm 1.2$   $\mu$ IU/ml로서 모든 측정값은 정상범위에 속하여, 갑상선 기능은 임상적인 진단 결과와 함께 혈액 중 갑상선 호르몬 분석에서도 정상값을 보였다. 클로렐라를 4개월 동안 복용시킨 후 측정된 실험군의 평균 측정값은 대조군에 비하여 T<sub>3</sub>: 37%, FT<sub>4</sub>: 33%, TSH: 14%가 감소되어 호르몬 종류 사이의 차이는 다소 보이고 있지만 갑상선 호르몬은 모두 저하되었다 (Table 1, 2).

이에 비하여 부갑상선 호르몬인 parathyroid hormone (PTH)는 대조군에서  $11.9 \pm 7.8$  pg/ml을 보여 정상인의 비교적 낮은 측정값에 속하였으나 4개월 동안 클로렐라 복용 후  $22.5 \pm 5.7$  pg/ml로 증가되어 대조군에 비하여 265%가 급격하게 증가하였다 (Fig. 1).

## 고찰

골이나 치아의 형성 및 골대사와 관련된 칼슘, 인 및 비타민 D의 대사 기능은 모두 부갑상선 호르몬과 calcitonin에 의하여 조절된다<sup>9)</sup>. 이러한 부갑상선 호르몬과 calcitonin은 인공적으로 합성되거나 천연물에서 추출 가공되어 새로운 골다공증 치료제로 이용되고 있다<sup>1,14)</sup>. 골다공증 치료제는 현재까지도 만족할 만한 치료 방법이 없기 때문에 Fluoride, Growth



**Fig. 2.** Suggestion of activation model of bone remodelling with chlorella supplement through activation of parathyroid hormone and 25 OH Vitamin D<sub>3</sub>.

hormone, Insulin-like growth factor-1, Strontium과 같은 새로운 anabolic 치료법이 관심을 받고 있지만 그 중에서도 PTH가 가장 희망적인 치료제로 떠오르고 있다<sup>6)</sup>. 지금까지 밝혀진 연구 결과에 의하면 PTH가 골대사에 미치는 작용기전은 성장호르몬 자극, Osteoblast apoptosis<sup>8)</sup>, 핵인자  $\kappa\text{B}$  리간드 수용체 증가 및 동물 실험 결과 cortical wall 두께 향상<sup>11)</sup> 등의 기전을 통하여 골대사에 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 한편, 클로렐라 투여는 이미 골밀도 증가<sup>9)</sup>, 생화학적 골 표식자 측정값을 이용한 골형성력을 증가시킨다는 연구 보고가 있었다. 이러한 골밀도 증가 및 골형성력 증가는 갑상선, 부갑상선 호르몬에 의한 영향에 의한 것인가를 알아보기 위하여 실험한 결과는 다음과 같다. 실험군의 혈청 총칼슘 및 갑상선 기능에 관련된 호르몬은 변동의 차이는 있지만 모두 대조군에 비하여 감소되었다. 갑상선 C세포에서 분비되는 Calcitonin은 골세포 용해, 파골세포의 골흡수 활성을 저하시키거나 장기적으로는 파골세포 형성 자체를 저하시키는 효과가 있다<sup>3)</sup>. 일반적으로 노인들에서는 갑상선 호르몬 활성이 높지만 본 실험 결과 대조군의 갑상선 호르몬 측정 결과는 비록 정상범위내에 속하였지만 클로렐라를 4개월 동안 복용한 다음 측정된 결과는 갑상선 호르몬의 차이는 있지만 평균 14~37%까지 활성 저하를 나타내어 파골세포 대사와 Calcitonin의 활성 저하도 예측되며, 이러한 Calcitonin 활성 저하는 혈중 칼슘량의 저하를 초래할 수 있으며 본 연구 결과에서 보여준 실험 결과 갑상선 호르몬의 활성 저하와 혈청 칼슘의 저하는 상호 관련성이 있음을 알 수 있다. 이러한 혈중 칼슘 저하는 즉시 부갑상선 호르몬에 영향을 미치게 되며<sup>9)</sup>, 본 연구에서도 클로렐라 복용군에서 부갑상선 호르몬 활성이 264.8% 증가되어 위와 같은 사실을 뒷받침하고 있다. 또한 비타민 D 활성 골대사의 기능 저하를 초래할 뿐만 아니라 부갑상선 호르몬 활성에 절대 필요하다.

25 OH D<sub>3</sub><sup>18)</sup>는 클로렐라 복용 후 대조군에 비하여 195.5%가 증가되었으며, 이러한 25 OH D<sub>3</sub> 증가는 부갑상선 호르몬 증가와 동반 상승되어 골대사에 필요한 신장, 장을 통한 칼슘, 마그네슘 등과 같은 미네랄의 흡수를 촉진하고 골세포 분해, 파골세포 활성을 증가시키며 이들은 결국에는 조골세포 활성을 높여 골변환율을 높이게 된다<sup>9)</sup>. 이러한 결과는 이미 클로렐라 투여를 통한 골밀도 증가, 골형성력 증가의 연구에서 증명된 바 있다<sup>9,10)</sup>. 따라서 미네랄, 비타민, 20-OH-Pregnanolone과 같은 스테롤<sup>12)</sup> 등이 포함된 클로렐라의 투여는 뇌하수체, 갑상선, 부갑상선의 기능에 영향을 미치게 되며, 신장에서의 25 OH D<sub>3</sub> 합성을 증가시키게 되고 칼슘, 마그네슘 등 미네랄 재흡수를 촉진하며, 장관에서의 미네랄 흡수 증가를 통하여 골전환율 및 골생성력을 높이는 것으로 생각된다 (Fig. 2).

결론적으로 골대사에 관여하고 있는 칼슘대사 제어에 가

장 중요한 부갑상선 호르몬, 25 OH D<sub>3</sub>의 인공적 합성물을 이용한 치료는 호르몬, 인공합성물이 야기시킬 수 있는 여러 가지 문제를 고려해야 하나, 클로렐라는 천연물을 건강보조 식품으로 가공한 것이기 때문에 매우 안전할 뿐만 아니라 본 연구 결과에서 보여준 것과 같이 갑상선 기능을 낮추고, 부갑상선, 25 OH D<sub>3</sub>의 현저한 활성 증가가 초래되어 인위적인 부갑상선 호르몬, 25 OH D<sub>3</sub>의 인위적 투여와 같은 효과를 자연적으로 생체내에서 유도하였다. 따라서 클로렐라 투여로 활발해진 골대사를 보완할 수 있는 칼슘이 풍부한 식품 칼슘제 등을 클로렐라와 함께 병용 투여함으로써 폐경후 여성의 골다공증 예방, 치료에 긍정적인 결과를 기대할 수 있을 것으로 본다.

## 참 고 문 헌

- 1) Adami S, Passeri M, Ortolani S, Broggin M, Carratelli L, Caruso I, Gandolini G, Gnassi L, Laurenzi M and Lombardi A (1995): Effects of oral alendronate and intranasal salmon calcitonin on bone mass and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with osteoporosis. *Bone*, **17(4)**: 383-390.
- 2) Casey RT, Lubitez JA, Weissmen RJ and Chau J (1963): Mass culture of chlorella. *Food Technology*, **17**: 85-89.
- 3) Chlorella strain research team (2001): Application of chlorella to agricultural field. *ORB*, **9**: 18-22.
- 4) Cooper C, Campion G and Melton III LJ (1992): Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporosis Int*, **2**: 285-289.
- 5) Guyton AC and Hall JE (1996): Parathyroid hormone, calcitonin, calcium and phosphate metabolism, vitamin D, bone and teeth. 985-1002, "Text book of Medical physiology", 9th, Saunders.
- 6) Haddad JG and Chyu KJ (1971): Competitive protein binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol. *J Clin Endocrinol Metab*, **33(6)**: 992-995.
- 7) Hasegawa T, Kimura Y, Hironatsu K, Kobayashi N, Yamada A, Makino M, Okuda M, Sano T, Nomato K and Yoshikai Y (1997): Effect of hot water extract of *Chlorella vulgaris* on cytokine expression patterns in mice with murine acquired immunodeficiency syndrome after infection with *listeria monocytogenes*. *Immunopharmacology*, **35**: 273-282.
- 8) Jilka RL, Weinstein RS and Bellido T (1999): Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. *J Clin Invest*, **104(4)**: 439-446.
- 9) Kim YH, Hwang YK, Ko SM, Hwang JM, Lee YW, Seong

- HK and Kim DU (2002): An Effect of Dietary chlorella on bone mineral density in postmenopausal women. *J Biomed Lab Sci*, **8(4)**: 229-234.
- 10) Yong-HoKim, Yoo-Kyeong Hwang, Su-Mi Ko, Jung-Min Hwang, Yong-Woo Lee, Hee-Kyung Seong and Dong-Uk kim (2003): An Effect of Dietary Chlorella on Bone Mineral Density in Postmenopausal Women. *J Biomed Lab Sci*, **8(4)**: 217-221.
- 11) Kneissel M, Boyde A and Gasser JA (2001): Bone tissue and its mineralization in aged estrogen-depleted rats after long-term intermittent treatment with parathyroid hormone (PTH) analog SDZ PTS 893 or human PTH (1-34). *Bone*, **28(3)**: 237-250.
- 12) Lee YR (1998): Constituents and sterol of chlorella with organic culture. Department of chemistry, Graduated school Pusan National University.
- 13) Lin JT and Lane JM (2002): Nonmedical management of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol*, **14(4)**: 441-446.
- 14) Lindsay R, Hodsman AB and Genant HK (1998): A randomized controlled multicenter study of 1-84h PTH for treatment of postmenopausal osteoporosis. *Bone*, **23 (Suppl 1)**: S175.
- 15) Locklin RM, Khosla S and Riggs BL (2001): Mechanisms of biphasic anabolic and catabolic effects of parathyroid hormone (PTH) on bone cells. *Bone*, **28 (Suppl)**: S80.
- 16) Mishaela RR and John PB (2002): New anabolic therapies in osteoporosis. *Rheumatol*, **14**: 435-440.
- 17) Morley P, Whitfield JF and Willick GF (1997): Anabolic effects of PTH on bone. *Trends Endocrinal Metab*, **8**: 225-231.
- 18) Munro P, Guangda L, Mark C, Ronald M and Walter A (2000): Effect of calcium or 25 OH Vitamin D3 dietary supplementation on bone loss at the hip in men and women over the age of 60. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **85(9)**: 3011-3019.
- 19) Roger S, Rittmaster, Michael, Bolognese and Mark P (2000): Enhancement of bone mass in osteoporotic women with parathyroid hormone followed by alendronate. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **85(6)**: 2129-2134.
- 20) Watson P, Lazowski D, Han V, Fraher L, Steer B and Hodsman A (1995): PTH restores bone mass and enhances osteoblast IGF-1 gene expression ovariectomized rats. *Bone*, **16(3)**: 357-365.
-