

성장기 수컷 흰쥐에서 Isoflavones의 첨가가 골밀도 및 골함량에 미치는 영향

최 미 자[§] · 채 지 현

계명대학교 식품영양학과

The Effect of Isoflavone Supplementation on Bone Mineral Density and Bone Mineral Content in Growing Male Rats

Choi, Mi-Ja[§] · Chae, Ji-Hyun

Department of Food and Nutrition, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

ABSTRACT

This study was performed to determine the effect of isoflavone on bone mineral density and bone mineral content in growing male rats. Twenty male, Sprague-Dawley rats were assigned to groups, that underwent 9 weeks of experimental treatment. Animals were assigned to one of two diet groups (casein group or casein supplemented with isoflavones). During 9 week of the study, food consumption was determined every other day through the measurement of total food given subtracting the food uneaten from original amount given. Rats in two experimental groups had similar initial body weights. At the end of experiment, however, the casein group had significantly greater body weights compared to casein supplemented with isoflavones group. It was also observed that the casein group had greater food intake compared to casein supplemented with isoflavones group. The difference in the final body weights of the groups was therefore due to difference in amount of food ingested, but could be due to the effect of isoflavones. Total BMD, spine BMD, and spine BMC per weight and femoral BMD per weight were significantly greater in casein supplemented with isoflavones group than casein group. ALP and osteocalcin were significantly greater in the casein-fed group. Crosslink value was significantly lower in the casein supplemented with isoflavones group. All other variables were statistically similar between two groups. Overall, it can be concluded that casein supplemented with isoflavones beneficial for acquisition of bone mineral density and content on growing male rats. (*Korean J Nutrition* 38(5): 373~379, 2005)

KEY WORDS : isoflavones, bone mineral density, growing male rats.

서 론

우리나라는 2001년 평균수명이 남자 72.8세, 여자 80.0세로 추정되고,¹⁾ 2004년 65세 이상 인구는 4,171천명으로 전체인구 중 8.7%를 차지하고 있으며 남자인구 중 65세 이상 인구는 6.8%, 여자인구 중 65세 이상 인구는 10.5%를 차지하고 있다. 따라서 노인인구의 증가에 따라 노인성 질병에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 특히 골다공증의 예방 및 치료에 대한 관심이 높아지고 있다. 골다공증은 칼슘대사의 변화로 인해 골격의 무기질 양이 감소되고

골격의 절대량이 줄어 쉽게 골절을 일으키게 되는 질병으로 골격의 성장과정 및 여러 인자들에 의해 영향을 받는다.²⁻⁴⁾

골격은 1년에 4~5%가 새로 바뀌면서 재생되어 골질량은 골의 형성과 용해량의 균형에 의해 결정 된다.⁵⁾ 혈중 칼슘 농도를 정상으로 유지하는 것, 즉 혈중 칼슘의 항상성 유지는 정상적인 골대사와 골질량 유지에 중요하다. 음식물로 부터 섭취한 칼슘은 위에서 대부분 가용화 되어 소장으로 이동하여 흡수되며, 이 칼슘은 혈액으로 방출되고 체내 각 조직에서 중요한 역할을 수행하며, 혈액과 골격 사이에 동적 평형을 이루면서 대부분은 골격에 부착 또는 골격으로부터 용출된다.⁶⁾ 이러한 혈중 칼슘 농도의 항상성 유지는 골의 동적 저장고 역할을 한다. 요 중 칼슘 배설은 칼슘과 골대사에 있어서 식이 칼슘 효과를 보여주는 칼슘 균형의 한 형태로 Welch 등은 92%의 요 중 칼슘배설은 식이 칼슘 섭취보다 골대사에 더욱 반영하여, 요 중 칼슘 배설이 최

접수일 : 2005년 4월 6일

채택일 : 2005년 6월 16일

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : choimj@kmu.ac.kr

대 골증가에 있어서 식이 설계의 중요한 요소라고 보고하였다.⁷⁾

식이성 인자로는 칼슘, 단백질, 비타민 D 등이 가장 많이 알려져 있는데, 최근에는 콩 단백질의 성분 중에 isoflavones (genistein and daidzein)이 약한 에스트로젠 성질은 나타내어 난소호르몬 결핍 상태에서 estrogen의 부족 현상을 채움으로서 호르몬 결핍으로 일어나는 골흡수를 낮추어 골 감소를 방지하는 효과가 있다고 보고 되었다.^{8,9)} 그리고 사람을 대상으로 폐경 여성에서 대퇴경부 골밀도는 총 이소플라본, 다이드제인, 제니스테인의 섭취량과 유의적인 양의 상관성을 보였다고 보고하였고¹⁰⁾ 그리고 폐경 여성에서 콩의 섭취빈도와 골밀도는 양의 상관관계를 나타내었다고 보고 하였다.¹¹⁾ 또한 폐경 여성이나 난소 절제된 쥐를 대상으로 연구한 결과 식물성 단백질 중 콩 단백질은 골 소실을 지연시킨다고 보고했다.^{12,13)} 따라서 isoflavones는 약한 여성호르몬의 기능을 할 수 있다는 것 때문에 주로 폐경여성이나 난소절제쥐를 대상으로 연구가 활발히 진행되었다. 그러나 Kaul 등¹⁴⁾은 casein 대신에 soy protein을 먹었을 때 나이 든 수컷 흰쥐에서 노화로 인한 골 감소를 저하시켰다고 보고하여 이소플라본이 에스트로젠의 결핍상태가 아닌 경우에도 유익한 효과를 보고하였다. 또한 성호르몬의 분비가 있는 폐경 전 여성에서 isoflavones나 콩단백질의 섭취가 골대사에 유리하다고 보고¹⁵⁾ 하였으나, 콩단백질이나 isoflavones가 성장기의 섭취 시에 골대사에 미치는 연구는 아직 매우 적다. 최근 성장기 암컷 쥐에서 casein에 isoflavones만 보충하여 섭취시킨 경우나 동량의 isoflavones를 포함하는 콩단백질을 casein 대신에 대치시켜 섭취 시킨 경우 둘 다 골형성에 유익하였으나, 순수 isoflavones만 casein에 첨가하여 섭취하는 경우 보다 동량의 isoflavones를 포함하는 콩단백질을 casein에 대치하여 섭취한 경우가 더 유리한 것으로 보고하였다.¹⁶⁾ 따라서 콩단백질은 isoflavones 외에 다른 성분도 골형성에 유리한 것으로 추론할 수 있으며 더 많은 연구가 요망된다. 또한 같은 성장기라도 성호르몬의 분비가 다른 성장기 수컷을 대상으로 isoflavones가 풍부한 콩단백질과 isoflavones가 거의 없는 콩단백질을 casein 대신에 대치하였을 때 콩단백질의 섭취는 casein에 비하여 골함량과 골밀도에 유리한 것으로 나타났고, 콩단백질 중에서는 isoflavones가 풍부한 경우가 더 유리하다고 하였다.¹⁷⁾ 따라서 콩 제품은 우리나라 국민들이 즐겨 먹는 식품으로 콩 단백질이 골 대사에 유익하다는 보고가 모든 연령층에서 유익하다면 콩 식품의 섭취를 늘리는 것은 골 건강을 위하여 좋은 방법이라고 생각한다. 우리나라 중·고등학생들의 이소플라본 섭취수준은 하루 평균 28.1 mg였고,

이중 제니스테인의 평균 섭취수준은 16.3 mg, 다이드제인은 12.0 mg이었다.¹⁸⁾ 이 결과는 우리나라 성인을 대상으로 한 연구에서 중년여성의 하루 평균 이소플라본의 섭취가 24.4 mg으로 보고¹⁹⁾ 한 것과, 농촌지역의 폐경기 여성의 이소플라본의 섭취가 27.27 mg으로 보고²⁰⁾ 한 것에 비하면 낮지 않다.

성장기 암컷 쥐에서 콩단백질에서 추출한 isoflavones를 동물성 단백질인 casein에 첨가하여 섭취한 경우보다 casein 대신에 isoflavones를 동량으로 함유한 콩단백질로 대치한 경우가 유리하였다는 하였는데,¹⁶⁾ 생리상태가 다른 수컷에서도 같은 효과를 나타내는지 검증이 필요하다. 따라서 성장기 수컷 쥐에서 isoflavones가 풍부한 콩단백질의 섭취는 골 형성에 유리하다고 보고하였으므로,¹⁷⁾ 성장기 수컷 쥐에서 isoflavones만 casein에 첨가하여 섭취시켰을 때 골밀도와 골함량에 미치는 효과를 알아보고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

1) 실험동물

평균 체중이 약 50 g인 Sprague-Dawley 수컷 쥐 20마리를 대한실험동물센터로 구입하여 실험 식이를 시작하기 전까지 고형사료 (rat chow, 삼양사)를 주어 환경에 적응시킨 후, 난괴법 (completely randomized design)에 의한 군당 10마리씩 2군 (casein군, isoflavones 첨가군)으로 나누어 순수한 성분으로 조제한 실험식으로 9주간 사육하였다.

실험 기간 동안 사육실의 온도는 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 $65 \pm 5\%$ 로 유지하였고, 광주기와 암주기를 12시간이 되도록 조정한다. 동물은 stainless-steel cage에서 한 마리씩 분리 사육하였고, 물과 식이는 일정한 시간에 공급하였으며, 자유 섭취방법 (ad libitum)으로 급여하였다.

2) 실험식이

실험 식이는 casein군과 isoflavones 첨가군으로 나누었고, 실험식의 구성성분은 Choi 등¹⁶⁾과 식이의 성분을 같이 하기 위하여 AIN-76에 준하여 제조하였다 (Table 1).

2. 실험분석

1) 식이섭취량 및 체중측정

실험기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였고, 물은 모두 2차 이온교환수를 사용하였다. 실험기간 동안 식이 섭취량은 이틀에 한번, 체중은 1주일에 한번 일정시간에

Table 1. Composition of experimental diet (g/100 g diet)

Ingredients	Control diet ¹⁾	Experimental ²⁾
Corn starch ³⁾	66.5	65.9
Casein ⁴⁾	20.0	20.0
Corn oil ⁵⁾	5.0	5.0
α -Cellulose ⁶⁾	3.8	3.8
Mineral mixtire ⁷⁾	3.5	3.5
Vitamin mixture ⁸⁾	1.0	1.0
Choline ⁹⁾	0.2	0.2
Isoflavones ¹⁰⁾	-	0.6
Total	100.0	100.0

- 1) Control diet: AIN 76 diet
- 2) 0.6% isoflavone supplementation diet
- 3) Corn starch, Doosan Co. 237 - 17 Maam-Ri, Bubal-Eup, In-chon-City, Kyunggi-Do.
- 4) Casein, High Progein, supplied by U.S. CORNING Laboratory Services company, Teklad test diets, Madison, Wisconsin, Biological test material No. 160030.
- 5) Corn oil, Shindong-bang oil Co. 4 - 2 YangPyung-Dong, Yougdingpo-Gu Seoul: KSH 2102.
- 6) Cellulose, supplied by SIGMA Chemical company. No. C8002.
- 7) Mineral Mixture, supplied by U.S. CORNING Laboratory Services Company, TAKLAD TEST DIETS, Madison, Wisconsin, Biological Test Material No. 170915.
- 8) Vitamin Mixture, supplied by U.S. CORNING Laboratory Services Company, TAKLAD TEST DIETS, Madison, Wisconsin, Biological Test Material No. 40077.
- 9) Choline Bitartrate, Supplied U.S. CORNING Laboratory Services Company, TEKLAD TEST DIETS, Madison, Wisconsin, Biological test Material No. 30190.
- 10) Isoflavones, Pacific Pharmaceuticals Co. Sungwon Building 175-2, Hangangro 2 ga, Yongsangu, Seoul.

측정하였다.

2) 골밀도 측정

실험 9주 째에 LUNAR사의 양에너지 방사선 골밀도측정기 (dual energy x-ray absorptiometry, DEXA)를 이용하여 small animal software로 총 골밀도 (total body bone mineral density : TBMD), 총 골무기질함량 (total body bone mineral content : TBMC), 총 골칼슘 함량 (total bone calcium content), 척추 (spine), 대퇴골 (femur)의 골밀도 (bone mineral density)와 골무기질 함량 (bone mineral content)을 측정하였다. 골밀도 측정시 각 실험동물에게 마취제 ketamine hydrochloride (유한양행, 50 mg/ml)를 사용하여 체중 1 kg당 75 mg의 용량으로 근육 주사한 후 골밀도를 측정하였다.

3) 요 분석

실험 9주 째에 각각 대사장에 옮겨 24시간 동안의 요를 채취하였고 분석할 때까지 -25℃에서 냉동 보관하였다. 요를 채취할 때 식이에 의해 시료가 오염되는 것을 막기 위해 대사 cage 내에서 물만 공급하고 절식시켰으며, 시료채취에 사용되는 모든 기구는 2차 이온교환수로 행구어 사용하였다. 채취한 요로 칼슘, 인을 측정하였으며 요 중 Deoxy-

Table 2. The effect of diets on body weight and weight gain in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Initial weight (g)	81.93 ± 2.86 ¹⁾	78.67 ± 4.89	NS ²⁾
Final weight (g)	436.21 ± 25.22	361.92 ± 23.26	* ³⁾
Weight gain (g)	354.29 ± 25.59	283.25 ± 22.71	*

1) Mean ± SD

2) NS: Not significantly different at p < 0.05

3) *: Significantly different at p < 0.05

pyridinoline, creatinine을 측정은 Collagen crosslinks™ Kit (Metra Biosystems Inc., USA)를 이용하여 ELISA (enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석하여 crosslinks value를 구하였다.²¹⁾ 요 중 칼슘과 인의 측정은 TECHNICON CHEM™ SYSTM을 이용하여 자동분석기로 측정하였다.

4) 혈액재취 및 분석

실험기간 9주 째에 공복시 혈액을 채혈하였다. 채취한 혈액은 상온에서 30분간 방치한 후 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 원심분리 후 얻어진 혈청은 분석 할 때까지 -25℃에서 냉동 보관하였다. 혈청내의 칼슘과 인은 요 중 칼슘과 인을 측정된 방법과 동일한 방법으로 측정하였다. Alkaline phosphatase의 측정은 TECHNICON CHEM™ SYSTM을 이용하여 효소법에 의해 405 nm에서 비색정량하여 자동분석기로 측정하였다.

혈청 내 osteocalcin은 Osteocalcin Kit (Nichols Institute, IMMUTOPICS, INC, USA)을 이용하여 Gamma counter로 radioactivity를 측정하였다.

3) 자료처리 및 분석

실험분석 결과의 통계처리는 SAS package를 이용하여 각 변인마다 평균과 표준편차를 구하였고, casein군과 isoflavone's t-test를 이용하여 분석하였다.

실험결과 및 고찰

체 중

Table 2에는 실험기간 동안의 casein군과 isoflavones 첨가군 간의 체중의 차이를 나타내었다. 실험 시작 시에는 대조군 (casein군)과 실험군 (isoflavones 첨가군) 간에 체중은 유의적인 차이는 없었다. 그러나 체중의 증가는 두 그룹 간에 유의적인 차이를 나타내었다. 체중의 증가량에서 casein의 경우 Choi¹⁷⁾의 수컷 쥐의 증가량이 366.0 ± 13.2 g로 보고한 것과 유사한 354.2 ± 25.59 g 결과를 나타내었다. 그러나 Choi¹⁷⁾의 연구에서 본 연구에서 사용한 동량의 iso-

flavones를 함유하는 콩단백질을 섭취한 경우 316.8 ± 12.3 g이었으나, 본 연구에서 casein에 isoflavones을 첨가하여 섭취시킨 경우에 283.2 ± 22.7 g으로 더 낮은 경향을 보였다. 이것은 Choi¹⁷⁾의 성장기 수컷 쥐에서 isoflavones가 풍부한 콩단백질의 섭취 시 식이섭취량이 21.36 ± 0.88 g이었으나 본 연구에서 isoflavones 만 첨가한 경우 19.15 ± 0.80 g으로 섭취량이 낮았기 때문으로 사료된다.

2. 식이섭취량과 식이효율 (FER)

실험기간 9주 동안의 평균식이 섭취량, 식이효율을 Table 3에 나타내었다. Casein군과 isoflavones 첨가군의 평균 식이섭취량이 각각 21.93 ± 1.6 g, 19.15 ± 0.9 g 나타났고, 또한 식이효율이 각각 16.12 ± 1.2 g, 14.77 ± 0.6 g으로 나타나 isoflavones 첨가군보다 casein군에서 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 Kim²²⁾의 연구 결과 식이 섭취량과 식이 효율이 isoflavone에 의해 영향을 받지 않았다고 하여 본 실험과는 다른 결과를 보였다. 그러나 성장기 수컷에서 isoflavones가 풍부한 콩단백질의 섭취 시 식이섭취량이 21.36 ± 0.88 g, PER이 14.8 ± 0.8 g이었는데,¹⁷⁾ 본 연구에서는 식이섭취량은 19.15 ± 0.8 g로 낮았으나 FER은 14.7 ± 0.6 g로 비슷한 결과를 보였다

3. 혈청 분석지

1) 혈청 칼슘 및 인 함량

혈청 내 칼슘과 인 함량을 Table 4에 나타내었다. Casein 군과 isoflavones 첨가군 간의 혈청 내 칼슘과 인의 함량은 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이 결과는 Choi¹⁷⁾와 일치하였다. 혈청 칼슘의 농도는 비타민 D, 부갑상선호르몬과 calcitonin 등의 작용으로 항상 일정하게 유지된다. 혈장 칼슘의 농도가 정상 수준 이하로 낮아지면 부갑상선호르몬이 분비되어 $1,25-(OH)_2$ -비타민 D의 생성을 자극하여 뼈로부터 칼슘 용해를 증가시키고, 또 신장과 소장에서는 칼슘

Table 3. The effect of diets on food intake and food efficiency ratio (FER) in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Food intake (g/d)	$21.93 \pm 1.60^{1)}$	19.15 ± 0.90	* ²⁾
FER	16.12 ± 1.21	14.77 ± 0.63	*

1) Mean \pm SD
2) *: Significantly different at $p < 0.05$

Table 4. The effect of diets on serum Ca and P in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Ca (mg/dl)	$9.80 \pm 0.47^{1)}$	9.78 ± 0.15	NS ²⁾
P (mg/dl)	7.34 ± 0.23	6.98 ± 0.40	NS

1) Mean \pm SD
2) NS : Not significantly different at $p < 0.05$

흡수를 촉진시켜 혈장의 칼슘을 높인다. 혈장 칼슘의 농도가 정상 수준 이상으로 높아지면 calcitonin이 분비되어 칼슘을 뼈에 축적시킴으로써 혈청 칼슘을 정상수준으로 내린다.²³⁾

2) 혈청 Alkaline Phosphatase (ALP)와 osteocalcin의 함량

혈청 alkaline phosphatase (ALP)와 osteocalcin은 골형성 지표로서 골 대사회전이 활발할 때 즉, 골 재형성시 조골세포의 활동이 증가되어 골 교체율이 빠를 때 혈청 내 농도가 증가 된다.²¹⁾ 조현주 90번 대치 그리고 Bone gla-protein이라고도 불려지는 osteocalcin은 골에 매우 특이한 단백질로서 골에서 콜라겐 다음으로 많은 단백질로 조골세포에서 형성된 후에 상당부분이 골기질속에 침착되며 새로이 형성되는 것의 일부는 혈액 내로 유리되므로 조골세포의 활동성을 평가하고 골형성 정도를 조사하는데 특이적이라고 인정하여 최근에 많이 이용되고 있다.²⁴⁾ 혈청 osteocalcin치는 사춘기에 골의 성장과 유의한 상관성을 갖고 증가되며, 또한 폐경 후에 증가되고 여성 호르몬 치료 후에는 감소된다고 알려져 있다.²¹⁾ 혈청 ALP와 osteocalcin의 측정결과를 Table 5에 나타내었다. 혈청 ALP와 혈청 osteocalcin의 농도는 casein군과 isoflavones 첨가군 간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이것은 성장기 isoflavones의 섭취량이 본 연구와 같은 양으로 암컷 쥐를 대상으로 isoflavones가 풍부한 콩단백질의 섭취시나,¹⁶⁾ 난소절제 쥐에서 isoflavones를 첨가한 경우²⁵⁾나 모두 골형성 지표에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

4. 요의 분석지

1) 요의 칼슘 및 인 배설량

실험기간 동안 요 중으로 배설되는 칼슘 및 인의 양은 Table 6에 나타나 있다. 요 중의 하루 평균 칼슘 배설량은

Table 5. The effects of diets on values of serum alkaline phosphatase (ALP) in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
ALP (u/l)	$74.80 \pm 8.12^{1)}$	68.00 ± 10.52	NS ²⁾
Osteocalcin (ng/ml)	5.41 ± 0.93	4.97 ± 0.93	NS

1) Mean \pm SD
2) NS: Not significantly different at $p < 0.05$

Table 6. The effect of diets on urine Ca and P in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Ca(mg/dl)	$0.64 \pm 0.23^{1)}$	0.32 ± 0.09	* ²⁾
P(mg/dl)	32.52 ± 11.21	27.14 ± 5.18	NS

1) Mean \pm SD
2) *: Significantly different at $p < 0.05$
3) NS: not Significantly different at $p < 0.05$

isoflavones 첨가군이 0.32 mg으로서 casein군의 casein의 0.64 mg 보다 유의적으로 낮게 나타났다. 이결과는 성장기 암컷 쥐에서도 같은 결과를 나타내었다.¹⁶⁾ 그리고 Choi¹⁷⁾에서 소변 중 칼슘 배설량이 성장기 수컷에서 isoflavones가 풍부한 콩단백질의 섭취 시도 낮은 경향을 보여 일치하였다.

2) 요중 Deoxy pyridinoline, creatinine과 crosslink value

골 흡수에 대한 생화학적 지표로서 Deoxy pyridinoline은 주로 골과 연골부위에서 발견되며, 소변 내의 Deoxy pyridinoline은 골흡수 지표로 아주 민감하다고 인정 되고 있다.^{26,27)} Deoxy pyridinoline의 Crosslink들은 파골세포에 의하여 골이 흡수될 때에 유리되고 신장을 통하여 배설된다. 더욱이 골흡수의 지표로서 우수한 점은 체내에서 더 이상 대사되지 않으며, 소변 내에 포함된 Crosslink의 양은 식이에 전혀 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ 요 중 Crosslinks value는 요 중 Creatinine에 대한 Deoxy pyridinoline의 비로 나타낸다. Table 7에 Deoxy pyridinoline과 Creatinine, Crosslinks value를 나타내었다. 요 중 Crosslinks value에서 isoflavones을 첨가한 군이 casein군 보다 유의적으로 낮게 나타나 성장기 수컷 쥐에서 isoflavones의 첨가는 골흡수에 유리한 것으로 사료된다. 그러나 성장기 암컷 쥐에서 동량의 이소플라본을 포함하는 콩단백질을 섭취시킨 경우¹⁶⁾ Crosslinks value는 casein군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 이 결과의 차이가 성별의 차이인지 이소플라본 외에 단백질 성분의 차이인지 더 많은 연구가 요망된다.

5. 골밀도

1) 총 골밀도 (Total body mineral density)와 총 골무기질 함량 (total body bone mineral content)

골 조직에 대한 isoflavones의 효과는 급원, 급여수준, 실험동물에 따라 차이를 보인다. 본 실험에서 흰쥐에게 isoflavones을 첨가하여 총 골밀도, 총 골무기질 함량 및 체중 당 총 골밀도를 측정 한 결과를 Table 8에 나타내었다. 총

골밀도는 casein군과 isoflavones 첨가군 간에 차이가 없었으나, 체중 당 총 골밀도는 각각 0.66 ± 0.07 g과 0.79 ± 0.05 g으로 isoflavones 첨가군이 유의적으로 높게 나타났다.

2) 총 골칼슘 함량 (Total body bone Ca content)

총 골무기질 함량과 체중당 총 골무기질 함량에 대한 측정 결과를 Table 9에 나타내었다. 총 골무기질 함량은 casein군과 isoflavones 첨가군 간에 차이가 없었으나, 체중당 총 골무기질 함량은 casein군이 7.09 ± 0.64 g, isoflavones 첨가군이 8.50 ± 0.62 g으로 casein군보다 isoflavones 첨가군의 체중 당 총 골무기질 함량이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

3) 척추 골밀도 (Spine BMD)와 척추 골무기질 함량 (spine BMC)

척추 골밀도와 체중당 척추 골밀도 및 척추 골무기질 함량과 체중 당 척추 골무기질 함량을 Table 10에 나타내었다. 척추 골밀도는 casein군과 isoflavones 첨가군 간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 체중 당 척추 골

Table 8. The effect of diets on total body bone mineral density (BMD) and total bone mineral content (BMC) per weight in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
TBMD (g/cm ²)	0.29 ± 0.01 ¹⁾	0.29 ± 0.01	NS ²⁾
TBMD (g/cm ²)/Wt (g)	0.66 ± 0.07	0.79 ± 0.05	* ³⁾
TBMC (g)	8.09 ± 0.70	8.08 ± 0.67	*
TBMC (g)/Wt (g)	18.64 ± 1.69	22.35 ± 1.65	*

1) Mean ± SD
2) NS: Not significantly different at p < 0.05
3) *: Significantly different at p < 0.05

Table 9. The effect of diets on total body bone Ca content (TBCa), TBCa per weight in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Total body Ca (g)	3.08 ± 0.26 ¹⁾	3.07 ± 0.25	NS ²⁾
TBCa (g)/Wt (g)	7.09 ± 0.64	8.50 ± 0.62	* ³⁾

1) Mean ± SD
2) NS: Not significantly different at p < 0.05
3) *: Significantly different at p < 0.05

Table 7. The effects of diets on urine deoxy pyridinoline, creatinine and crosslink value in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Deoxy pyridinoline (nM)	514.80 ± 59.45 ¹⁾	535.58 ± 59.12	NS ²⁾
Creatinine (mM)	4.06 ± 1.45	6.68 ± 1.87	NS
Crosslink value (nM/mM)	138.19 ± 43.51	83.23 ± 15.10	* ³⁾

1) Mean ± SD
2) NS: Not significantly different at p < 0.05
3) *: Significantly different at p < 0.05

Table 10. The effect of diets on spine BMD and BMC, and spine BMD per weight and BMC per weight in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Spine BMD (g/cm ²)	0.15 ± 0.01 ¹⁾	0.14 ± 0.01	NS ²⁾
Spine BMD/Wt (g)	0.35 ± 0.05	0.39 ± 0.03	* ³⁾
Spine BMC (g/cm ²)	0.54 ± 0.05	0.48 ± 0.02	NS
Spine BMC/Wt (g)	1.21 ± 0.12	1.36 ± 0.04	*

1) Mean ± SD
2) NS: Not significantly different at p < 0.05
3) *: Significantly different at p < 0.05

Table 11. The effect of diets on femur BMD and BMC, and femur BMD per weight and BMC per weight in rats

Variables	Casein	Isoflavones	P
Femur BMD (g/cm ²)	0.23 ± 0.02 ¹⁾	0.23 ± 0.01	NS ²⁾
Femur BMD/Wt (g)	0.52 ± 0.06	0.63 ± 0.03	* ³⁾
Femur BMC (g/cm ²)	0.51 ± 0.04 ¹⁾	0.47 ± 0.01	NS
Femur BMC/Wt (g)	1.17 ± 0.14	1.28 ± 0.06	NS

1) Mean ± SD

2) NS: Not significantly different at p < 0.05

3) *: Significantly different at p < 0.05

밀도는 0.35 ± 0.05 g인 casein군에 비하여 0.39 ± 0.03 g인 isoflavones 첨가군이 유의적으로 높게 나타났다. 이것은 수컷에 콩단백질에 포함된 형태로 isoflavones를 첨가한 경우¹⁷⁾도 유의적인 증가를 보였는데 (7.7%) 본 결과에서도 유의적인 증가를 나타내었다 (11.4%).

한편 척추 골무기질 함량은 casein군이 isoflavones 첨가군보다 유의적으로 높게 나타났으나, 체중 당 척추 골무기질 함량은 isoflavones 첨가군이 casein군보다 유의적으로 높게 나타났다. 이 결과는 콩단백질을 섭취시킨 경우 척추 체중 당 골함량이 콩단백질군이 유의적으로 높았다고 한 Choi¹⁷⁾와 같은 결과를 나타내었다.

4) 대퇴 골밀도 (Femur BMD)와 대퇴 골무기질 함량 (femur BMC)

대퇴 골밀도와 체중당 대퇴 골밀도 및 대퇴 골무기질 함량과 체중당 대퇴 골무기질 함량을 Table 11에 나타내었다. 대퇴 골밀도는 casein군과 isoflavones 첨가군간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 체중 당 대퇴 골밀도는 0.52 ± 0.06 g인 casein군에 비하여 0.63 ± 0.03 g인 isoflavones 첨가군이 유의적으로 높게 나타났다. 한편 대퇴 골무기질 함량과 체중 당 대퇴 골무기질 함량은 casein군과 isoflavones 첨가군 간에 유의적인 차이는 없었으나, 체중 당 대퇴 골무기질 함량은 casein에 isoflavones 첨가군이 높게 나타났다. 이 결과는 isoflavones를 포함하는 콩단백질의 섭취 시¹⁷⁾와 비교하여 유사한 결과를 나타내어 isoflavones의 형태로 섭취하여도 콩단백질의 섭취 시와 같은 유리한 효과를 볼 수 있었다.

요약 및 결론

성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 isoflavones의 첨가가 골밀도 및 골함량에 미치는 효과를 알아본 결과는 다음과 같다.

- 1) 체중 증가량은 isoflavones 첨가한 군에 비하여 casein군이 유의적으로 높았다.
- 2) 혈중 Ca과 P의 함량은 casein군과 isoflavones 첨

가군 사이에 유의적인 차이가 없었다.

3) 뇨 중 칼슘 농도는 casein군보다 isoflavone 첨가군이 유의적으로 낮았다.

4) 혈중 골형성 지표인 ALP와 osteocalcin 농도는 casein군과 isoflavones 첨가군 사이에 유의적인 차이는 없었다.

5) 골흡수 지표인 crosslink value는 casein군보다 isoflavones 첨가군이 유의적으로 낮았다.

6) 체중 당 총 골밀도와 총 골무기질 함량은 casein군에 비해 isoflavones 첨가군이 유의적으로 높게 나타났다.

7) 체중 당 척추 골밀도 및 골무기질 함량은 casein군에 비하여 isoflavones 첨가군이 유의적으로 높게 나타났다.

8) 체중 당 대퇴부 골밀도 및 골무기질 함량은 casein군에 비하여 isoflavones 첨가군이 유의적으로 높게 나타났다.

결론적으로 isoflavones 첨가군이 요 중 칼슘배설과 골흡수 지표가 유의적으로 낮았고, 체중 당 총 골함량이나 칼슘 함량, 체중 당 총 골밀도와 척추 골밀도 및 대퇴부의 골밀도가 유의적으로 높게 나타나서 성장기 수컷 쥐에서 isoflavones의 섭취는 골형성에 유리한 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Korea National Statistical Office. Complete life Tables, 2004
- 2) Spencer H, Kramer L. NIH Consensus conference: Osteoporosis factors contributing to osteoporosis. *J Nutr* 116: 316-319, 1986
- 3) Riggs BL, Melton LJ. Medical progress: Involutional Osteoporosis. *N Eng J Med* 314: 1676-1686, 1986
- 4) Consensus Conference: osteoporosis. *JAMA* 252: 799, 1984
- 5) Wasnich RD. Bone mass measurements in diagnosis and assessment of therapy. *Am J Med* 91 (suppl 5): 54s-58s, 1991
- 6) Min HK. Osteoporosis. *J Korean Soc Internal Medicine* 34: 442-445, 1976
- 7) Welch TR, Abrams SA, Shoemaker L, Yergey AL, Vieira N, Stuff JE. Precise determination of the absorptive component of urinary calcium excretion using stable isotopes. *Pediatr Nephrol* 9: 295-297, 1995
- 8) Fanti P, Monier-Faugere MC, Geng Z, Schmidt J, Morris PE, Cohen D, Malluche HH. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short-term ovariectomized rats. *Osteoporosis Int* 8: 274-281, 1988
- 9) Isida H, Uesugi T, Hirai K, Toda T, Nukaya H, Yokotsuka K, Tsuji K. Preventive effects of the plant isoflavone, daidzein and genistein on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. *Bilo Pharm Bull* 21: 62-66, 1998
- 10) Lee MH, Choi MK, Sung CJ. The study of phytoestrogen intake and bone mineral density of vegetarian and nonvegetarian postmenopausal women. *Korean J Community Nutrition* 9 (1): 66-72, 2004
- 11) Lee EJ, Son SM. Dietary risk factors related to bone mineral

- density in the postmenopausal women with low bone mineral density. *Korean J Community Nutrition* 9 (5): 644-653, 2004
- 12) Arjmandi BH, Birnbaum R, Goyal NV, Getlinger M, Juma S, Alekel L, Hasler CM, Drum ML, Hollis BW, Kukreja SC. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian hormone-deficient rats is related to its isoflavone content. *Am J Clin Nutr* 68 (Suppl): 1364S-1368S, 1998
 - 13) Erdman JW JR, Stillman RJ, Lee KF, Potter SM. Short-term effects of soybean isoflavone on bone in postmenopausal women, second international symposium on the role of soy in preventing and treating. *Chronic Disease* (Abst.) p219, 1996
 - 14) Kaul DN, Masoro EJ, Byung P, Hardin RR, Hollis BW. Modulation of age-related hyperparathyroidism and senile bone loss in Fisher rats by soy protein and food restriction. *Endocrinol* 122: 1847-1854, 1988
 - 15) Alekel DL, Germain AS, Hanson K. Soy protein isolate with isoflavone prevents loss of lumbar spine bone mineral density in perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 71: 649-656, 1999
 - 16) Choi MJ, Jo HJ. Effects of soy protein and isoflavones on bone mineral density in growing female rat. *Korean J Nutrition* 36: 359-367, 2003
 - 17) Choi MJ. Effects of soy protein on bone mineral content and bone mineral density in growing male rats. *Korean J Nutrition* 35 (4): 409-413, 2002
 - 18) Lee MJ, Kim MJ, Min SH, Yoon S. A study on the attitude of soy food and estimated dietary isoflavone intake among Korean adolescents. *Korean J Community Nutrition* 9 (5): 606-614, 2004
 - 19) Lee SK, Lee MJ, Yoon S, Kwon DJ. Estimated isoflavone intake from soy products in Korean middle-aged women. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29 (5): 948-956, 2000
 - 20) Sung CJ, Choi SH, Kim MH, Park MH, Kim HK. A study on dietary isoflavone intake from soy food and urinary isoflavone excretion and menopausal symptoms in Korean women in rural areas. *Korean J Community Nutrition* 5 (1): 120-129, 2000
 - 21) Gallagher SK. Biochemical markers of bone metabolism as they relate to osteoporosis. *Medical Lab Observer* 29: 50-56, 1997
 - 22) Kim JS. Current research trends on bioactive function of soybean. *Korea Soybean Digest* 13 (2): 17-24, 1996
 - 23) Carmiña L Vargas Zapata, Carmen M Donangelo, Leslie R Woodhouse, Steven A Abrams, E Martin Spencer, and Janet C King. Calcium homeostasis during pregnancy and lactation in Brazilian women with low calcium intakes: a longitudinal study. *Am J Clinical Nutrition* 80: 417-422, 2004
 - 24) Delmas PD, Stenner D, Wahner HW, Mann KG, Riggs BL. Increase in serum bone gamma-carboxyglutamic acid protein with aging in women. Implications for the mechanism of age-related bone loss. *J Clin Invest* 71: 1316-1321, 1993
 - 25) Kang YJ. Effects of isoflavones on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized rats. MS Thesis. Keimyung University, Daegu, 2004
 - 26) Lee BK, Chang YK, Cho SH. Effect of environmental and physiological factors on bone mineral density in postmenopausal women. *Korean J Nutrition* 25 (7): 656-667, 1992
 - 27) Lim SK. Clinical Review: Vitamin D receptor polymorphism and genotype hypothesis of osteoporosis. *Kor J Endocrinology* 10 (3): 183-187, 1995