

난소절제 흰쥐의 골격대사에 대한 식이 칼슘과 대두 이소플라본의 섭취효과

김민선 · 이연숙[†]

서울대학교 식품영양학과 · 생활과학연구소

Effects of Dietary Calcium and Soy Isoflavones Supplementation on Bone Metabolism in the Ovariectomized Rats

Min-Sun Kim and Yeon-Sook Lee[†]

Dept. of Food and Nutrition, and Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract

This study was conducted to demonstrate whether dietary Ca and the soy isoflavones supplementation could reduce the bone loss associated with estrogen deficiency. Nine week-old female rats (SD) were ovariectomized and then fed on diet of low (0.1%) or normal (0.5%) Ca supplemented with soy isoflavones (80 and 160 ppm) for 6 weeks. The ovariectomized and sham-operated rats showed normal serum Ca and P levels, and dietary Ca and soy isoflavones did not changed them. The serum alkaline phosphatase activity was increased in all ovariectomized rats, especially in the rats fed low Ca diet regardless of isoflavone supplementation. The serum tartrate-resistance acid phosphatase was not significantly different among the ovariectomized rats and were not changed by dietary Ca and isoflavones. Breaking force of femur was higher in the rats fed the normal Ca diets and not statistically changed by soy isoflavone supplementation. Femoral and lumbar Ca and P contents decreased in the ovariectomized rats and the soy isoflavones-80 ppm supplementation significantly enhanced bone minerals, but the soy isoflavones-160 ppm supplementation did not. Dietary Ca increased lumbar Ca and P contents. The results of this study have suggested that the soy isoflavones 80 ppm supplementation could be sufficient to prevent bone loss in ovariectomized rats and normal Ca supplementation could enhance the effect of soy isoflavones on bone protection.

Key words: soy isoflavones, dietary calcium, bone mineral, ovariectomy

서 론

이소플라본은 heterocyclic phenol로서 식물계에 널리 존재하는 천연 화합물이며 특히 곡류와 대두에 많이 함유되어 있다. 대두에는 12가지의 isoflavones 이성체가 존재하는데 이중 genistein, daidzein, glycitein이 주류를 이룬다(1).

이소플라본의 생리적 또는 호르몬 효과는 성별에 따라 다르고 여성에 있어서는 연령에 따라 다르다. 이소플라본은 에스트로젠과 구조가 비슷하기 때문에 estrogen receptor에 결합하고 따라서 수가 제한된 estrogen receptor를 두고 내인성 에스트로젠과 경쟁하므로 내인성 에스트로젠의 기능은 그 만큼 제한을 받는다(2). 한편 이소플라본은 내인성 에스트로젠보다 결합활성이 더 낮기 때문에 이소플라본이 결합하면 내인성 에스트로젠이 결합할 때보다 그 효과가 감소한다(3). 그러므로 혈액에 에스트로젠 농도가 높은 폐경기 이전 여성에서 이소플라본은 항에스트로젠으로서 작용한다. 폐경기 이후의 여성에서 혈중 에스트로젠 농도는 폐경기

이전에 비해 약 60%가 감소하므로 에스트로젠과 결합하지 못한 receptor가 많이 존재한다. 섭취한 이소플라본이 이 receptor를 채우므로 이용 가능한 에스트로젠이 증가하고 따라서 이소플라본은 약한 에스트로젠 효과를 보인다(4).

대두 이소플라본이 골다공증 치료약물인 ipriflavone과 구조적으로 유사하고 약한 에스트로젠의 활성을 갖는 성질, 그리고 대두의 소비가 많은 아시아에서 관절골절 발생률이 낮은 점 때문에 폐경기 이후 골손실 및 골다공증의 위험을 줄여 줄 수 있는 천연물질로서 관심의 대상이 되고 있다(5). 최근 난소절제한 동물 및 사람을 대상으로 한 연구(6,7)에서 이소플라본의 섭취가 골손실을 막는데 유효했으며, 세포배양실험에서도 파골세포의 기능을 억제하였음을 보였다. 또한 우리나라의 연구(8)에서도 폐경기 이후 여성에게 이소플라본을 매일 90 mg씩 12주간 급여했을 때 골용해를 낮추고 뼈내 무기질 함량을 보존하였다고 보고하였다.

그러나 대두 이소플라본의 뼈 보호효과에 대한 연구는 일관성 있는 결과를 보이지는 않는다. Jayo 등(9)과 Lees와

[†]Corresponding author. E-mail: lysook@snu.ac.kr
Phone: 82-2-880-6832, Fax: 82-2-884-0305

Ginn(10)은 이소플라본의 효과에 관한 연구에서 난소절제 한 원숭이에게 이소플라본이 풍부한 대두단백질을 급여했을 때 골손실을 지연시키지 못한 반면에 에스트로젠은 효과가 있었다고 하였다. 폐경기 여성을 대상으로 한 Dalais 등(11)의 연구에서는 12주동안 52 mg의 이소플라본의 섭취가 골무기질 함량을 변화시키지 않았으나 Alekel 등(12)과 Erdman 등(7)의 연구에서는 폐경기 여성에게 하루에 각각 80 mg과 90 mg의 이소플라본을 6개월간 섭취하게 하였을 때 요추에서만 골손실을 예방할 수 있었다. 난소절제한 흰쥐를 이용한 Anderson 등(13)의 연구에서는 저 수준의 genistein은 골손실 예방 효과가 있었으나 고 수준의 genistein은 오히려 역효과를 보였다.

한편, 우리 나라 사람들의 칼슘의 섭취량은 매우 낮은 편으로 권장량인 700 mg보다 훨씬 적은 약 500 mg 정도 수준이다. 칼슘 섭취는 골질량에 영향을 미치며, 특히 폐경기 여성에서 칼슘 섭취의 부족은 골손실을 증가시켜 골다공증의 원인이 된다. 따라서 칼슘섭취 수준에 따라 대두 이소플라본의 섭취 효과가 다르게 나타날 가능성과 대두 이소플라본과 식이 칼슘과의 상호보완효과의 가능성도 있을 것으로 사료된다.

그러므로 본 연구에서는 난소절제 수술을 시행하여 폐경기 여성과 생리적 특성을 유사하게 유도한 흰쥐에게 식이 칼슘과 대두 이소플라본의 수준을 달리하여 첨가했을 때 뼈의 무기질 함량에 미치는 영향을 조사하고, 건강기능성 식품 개발에 있어서 칼슘제제에 첨가되는 대두 이소플라본의 적정 섭취량을 제시하고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

난소가 성숙되어 임신이 가능한 8주령의 흰쥐 암컷(Spra-

gue-Dawley)을 서울대학교 실험동물 사육장에서 구입하여 일반 배합사료로 1주간 사육한 뒤, sodium pentobarbital로 마취하여 양쪽 난소절제 수술을 실시하였다. 실험군은 식이 내 칼슘함량에 따라 두 군으로 나누고 또 이들을 대두 이소플라본 첨가수준에 따라 세군으로 나누어 총 6군으로 하였다. 즉 실험군을 저 칼슘 이소플라본 무첨가군(Low Ca-IF0), 저 칼슘 이소플라본 80 ppm 첨가군(Low Ca-IF80), 저 칼슘 이소플라본 160 ppm 첨가군(Low Ca-IF160), 정상 칼슘 이소플라본 무첨가군(Normal Ca-IF0), 정상 칼슘 이소플라본 80 ppm 첨가군(Normal Ca-IF80), 정상 칼슘 이소플라본 160 ppm 첨가군(Normal Ca-IF160)으로 나누었다. 실험동물은 각 실험군당 6~8마리씩 배정하였다.

실험식은 정제식이로서 기본적으로 AIN-93M pattern을 따르고 지방 공급원으로 우지 15%와 cholesterol 1%를 첨가하였고 대두 이소플라본은 실험군에 따라 첨가수준을 달리하였다(Table 1). 대두 이소플라본의 첨가수준은 genistein 1.0 mg/day을 급여시켰을 때 골손실의 감소가 일어났다는 Anderson 등(14)의 연구와 대두추출물 65 ppm을 급여시켰을 때 혈청지질 저하가 일어났음을 보고한 Balmir 등(15)의 연구를 참고하여 결정하였다.

정상 대조군은 난소절제 수술군과 동일한 스트레스를 주기 위하여 난소절제를 하지 않는 sham수술을 실시하였고 식이는 정상 칼슘 이소플라본 무첨가 식이를 급여하였다. 실험식은 분말형태로 만들었으며 실험기간 중에는 냉장고에 보관하면서 쥐에게 급여하였다. 실험에 사용한 vitamin mixture는 AIN-93-VX로서 ICN Biochemicals(USA)에서 구입하였고, mineral mixture는 칼슘을 제외한 AIN-93M-MX pattern과 같게 조제하여 사용하였으며, 칼슘은 CaCO₃를 사용하여 0.1%수준(저칼슘군)과 0.5%수준(정상칼슘군)으로 첨가하였다. 이소플라본은 알콜 추출물로서 Archer Da-

Table 1. Composition of experimental diets containing isoflavones

(g/kg diet)

Ca level	Low Ca			Normal Ca		
Isoflavone level ¹⁾	IF0	IF80	IF160	IF0	IF80	IF160
Cornstarch	598.2	598.0	597.8	588.2	588.0	587.8
Casein	140.0	140.0	140.0	140.0	140.0	140.0
Beef tallow	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0
Fiber	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Min. mix. ²⁾ (Ca free)	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0
Vit. mix. ³⁾	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
L-Cystine	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Cholesterol	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Isoflavone compound ⁴⁾	-	0.2	0.4	-	0.2	0.4
CaCO ₃	2.5	2.5	2.5	12.5	12.5	12.5

¹⁾IF0: diet with isoflavone 0 ppm.

IF80: diet with isoflavone 80 ppm.

IF160: diet with isoflavone 160 ppm.

²⁾AIN-93M-MX.

³⁾AIN-93-VX.

⁴⁾Novasoy Isoflavone Compound 152-400, Archer Daniels Midland Co., Decatur, Illinois, USA.

It contains total isoflavone 40% (genistein : daidzain : glyceitin = 1.3 : 1 : 0.3), other natural soy phytochemicals 42%, protein 9%, ash 3% and moisture 6%.

niels Midland Co.(USA)의 Novasoy Isoflavone Compound 152-400을 P사로부터 제공받아 사용하였다.

실험동물은 서울대학교 실험동물사육장 내에 있는 사육실에서 6주간 사육하였으며 사육실 환경온도는 22±2°C, 상대습도 65±5%를 유지하였고 명암은 12시간 주기(light 7:00 am~7:00 pm)로 조절하였다. 식수로 탈이온수를 이용하였고 실험 식이와 식수는 ad-libitum으로 급여하였으며 실험 기간동안 체중과 식이섭취량을 매주 측정하였다.

시료수집

실험 종료일에 실험동물을 12~14시간 절식시킨 후 ether로 마취하여 시료를 채취하였다. 혈액은 경동맥에서 채취하여 냉장고에서 3~4시간 동안 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며 분석 전까지 냉동보관(-80°C)하였다. 뼈조직으로는 대퇴골과 요추골(L1~L4)을 적출하여 근육, 지방, 인대, 척수 등을 모두 제거한 후 습중량과 길이를 측정하고 분석 전까지 냉동보관(-80°C)하였다.

혈청, 골조직의 칼슘과 인 분석

혈청중의 칼슘농도는 혈액자동분석기(Spotchem, KDK Co., Japan)을 이용하여 측정하였다. 요추골과 대퇴골은 550~600°C 회화로에서 24시간정도 회화하여 얻은 회분을 6 N HCl용액으로 용해한 후 LaCl₂로 희석하여 원자흡광광도계(atomic absorption spectrophotometer, GBC HG3000, GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Australia)로 칼슘함량을 측정하였다.

혈청의 인농도는 인산몰리브덴산을 이용한 영동제약 kit을 이용하여 비색법(spectrophotometer, Beckman DU-650, USA)으로 측정하였다. 요추골과 대퇴골에서 인의 함량은 골조직을 회화시켜 용해한 용액을 탈이온수로 희석하여 Fisk

와 Subbarow(16) 방법을 이용하여 비색법(spectrophotometer, Beckman DU-650, USA)으로 측정하였다.

혈청의 alkaline phosphatase 및 tartrate-resistant acid phosphatase 활성 분석

혈청의 alkaline phosphatase 및 tartrate-resistant acid phosphatase 활성은 Kind-King법을 이용한 kit(영동제약)을 사용하여 비색법(spectrophotometer, Beckman DU-650, USA)으로 측정하였다.

대퇴골의 파단력(breaking force) 측정

대퇴골의 파단력은 Instron(Tensilon/UTM-4-100, TOYO BALDWIN Co. Ltd.)을 이용하여 crosshead speed 10 mm/min, loadcell 100 kg 조건에서 길이의 중심부위에서 일정하게 측정하였다.

통계분석

실험결과는 평균과 표준오차로 나타내었으며, SAS program을 이용하여 정상 대조군 및 실험군간의 유의성을 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test로 검증하였으며, 식이 칼슘과 isoflavone의 수준에 따른 상호작용을 조사하기 위해 2-way ANOVA를 이용하였다.

결과 및 고찰

체중증가량, 식이섭취량

난소절제 수술 후 저 및 정상 칼슘 식이에 대두 이소플라본의 첨가수준을 달리하여 급여한 흰쥐의 체중증가량 및 식이섭취량을 Table 2에 제시하였다. 실험시작시의 체중은 정상 대조군 및 실험군간에 차이가 없었으나 종료시의 체중

Table 2. The effect of dietary Ca and isoflavones on body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER)*

Group ¹⁾	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/d)	Food intake (g/d)
Control	238.8±7.3 ^{2)NS3)}	260.3±16.3 ^{b4)}	0.78±0.19 ^b	13.9±1.1 ^{NS}
Low Ca				
IF0	234.1±8.5	299.9±11.5 ^{ab}	1.61±0.24 ^a	14.7±1.0
IF80	231.6±9.5	300.4±11.9 ^{ab}	1.69±0.24 ^a	14.9±0.6
IF160	232.8±7.0	305.7±7.1 ^a	1.80±0.17 ^a	15.7±0.6
Normal Ca				
IF0	222.9±12.7	286.5±12.4 ^{ab}	1.56±0.10 ^a	15.4±0.4
IF80	223.9±11.5	284.0±14.4 ^{ab}	1.47±0.13 ^a	15.5±0.6
IF160	221.2±9.7	307.1±17.4 ^a	2.10±0.25 ^a	16.4±1.0
S · F ⁵⁾	NS	NS	NS	NS

*Rats were sham-operated or ovariectomized and fed normal or low Ca diets containing isoflavone 0, 80 or 160 ppm immediately after ovariectomy or sham operation for 6 weeks.

¹⁾Control: sham operation, fed NCaIF0.

Experimental groups: ovariectomy operation.

Low Ca: low (0.1%) calcium diet, Normal Ca: normal (0.5%) calcium diet.

IF0: isoflavone 0 ppm added, IF80: isoflavone 80 ppm added, IF160: isoflavone 160 ppm added.

²⁾Mean±SE of 6~8 rats a group.

³⁾NS: not significantly different.

⁴⁾Values with different superscript within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

⁵⁾Significant factor from 2-way ANOVA at p<0.05.

및 체중증가량은 난소절제에 의해 증가하였으며 식이 칼슘 및 대두 이소플라본 수준에 따른 차이는 없었다. 그러나 식이 섭취량은 난소절제에 의한 차이를 보이지 않았고 식이 칼슘 및 대두 이소플라본의 수준에 의해서도 영향을 받지 않았다. 이런 결과는 Wronski 등(17)의 연구결과와 일치하였는데, 이들은 난소절제 시 체중 증가는 피하지방을 증가시켜 지방조직으로부터 에스트로젠 분비를 증가시킴으로써 혈중 에스트로젠 농도를 증가시키려는 적응기전이며 외인성 에스트로젠을 투여함으로써 막을 수 있었다고 설명하였다. 그러나 대두단백질을 난소절제한 흰쥐에 pair-feeding으로 급여한 Arjmandi 등(6)과 genistein을 난소절제한 mice에 피하주사한 Ishimi 등(18)의 연구에서 체중증가가 완화되었다고 하여 본 연구와는 다른 결과를 보였는데, 이는 식이 또는 isoflavone의 투여방법에 기인하는 것으로 사료된다.

혈중 칼슘, 인 농도 및 alkaline phosphatase와 tartrate-resistant acid phosphatase 활성

혈청의 칼슘, 인 농도 및 ALP와 TrACP활성을 Table 3에 제시하였다. 혈청 칼슘농도는 난소절제에 의해 변화되지 않았고 식이 칼슘과 대두 이소플라본의 수준에 따른 차이가 나타나지 않았다. 혈청 인의 농도는 정상 대조군에 비해 정상 칼슘 식이군에서 유의적으로 낮았고 저 칼슘 식이군은 정상 대조군과 차이가 없었다. 혈청 칼슘과 인의 수치는 모두 정상 수준인 것으로 나타났고 대두 이소플라본 첨가에 따른 변화는 나타나지 않았다.

혈청 ALP활성은 난소절제에 의해 증가하였는데, 저 칼슘 식이군에서 유의적으로 높았고 정상 칼슘 식이군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. ALP활성은 대두 이소플라본 첨가에 의해 변화되지 않았고 식이 칼슘의 영향을 받아 저 칼슘 식이군에 비해 정상 칼슘 식이군에서 감소하였으나 식

이 칼슘과 대두 이소플라본간의 상호작용은 없었다. 혈청 TrACP 활성은 난소절제에 의한 차이를 보이지 않았고 식이 칼슘 및 대두 이소플라본에 의해 영향을 받지 않았다. 난소절제 시 ALP 활성의 증가는 에스트로젠 결핍으로 bone turnover가 증가되었기 때문이며(19), Wronski 등(17)은 이런 ALP활성의 증가가 에스트로젠 주사에 의해 감소될 수 있다고 보고하였다. 그러나 Arjmandi 등(6)은 난소절제한 흰쥐에게 각각 대두단백질과 이소플라본을 급여했을 때 혈청 ALP와 TrACP활성이 감소되지 않았다고 보고하였다. 이런 결과는 난소절제에 의한 혈청 ALP활성의 증가가 식이에 의해 변화되지 않았음을 보이는 것이며 이는 본 실험의 결과와 일치하였다.

대퇴골 및 요추골의 무기질 함량

대퇴골의 무게, 길이 및 파단력 그리고 요추골의 무게를 Table 4에 제시하였다. 대퇴골 및 요추골의 건중량은 난소절제에 의해 감소하였고, 식이 칼슘 및 대두 이소플라본에 의해 변화되지 않았다. 대퇴골의 길이는 난소절제에 의한 차이가 없었고 식이 칼슘 및 대두 이소플라본의 영향이 나타나지 않았다. 대퇴골의 파단력은 난소절제에 의해 변화되지 않았으나 식이 칼슘의 영향을 받아 정상 칼슘 식이군이 저 칼슘 식이군에 비해 높았고 대두 이소플라본에 의해 영향을 받지 않았다.

대퇴골 및 요추골의 칼슘의 함량을 Fig. 1에 제시하였는데, 대퇴골의 칼슘함량은 난소절제에 의해 감소하였고, 식이 칼슘 수준에 따른 차이는 없었다. 대두 이소플라본은 대퇴골 칼슘함량에 영향을 미치는 것으로 나타났는데, 대두 이소플라본 80 ppm을 첨가했을 때 증가되었으나 대두 이소플라본 160 ppm의 첨가는 저 및 정상 칼슘 식이에서 모두 대퇴골의 칼슘함량을 변화시키지 못했다. 요추골의 칼슘함량은 식이 칼슘의 영향을 받아 난소절제를 하고 저 칼슘 식이를 급여했

Table 3. The effect of dietary Ca and isoflavones on serum Ca and P concentration and alkaline phosphatase (ALP) and tartrate-resistant acid phosphatase (TrACP) activity*

Group ¹⁾	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	ALP (KA unit)	TrACP (KA unit)
Control	12.28 ± 0.41 ^{2)NS3)}	6.46 ± 0.39 ⁴⁾	14.96 ± 3.08 ^c	8.01 ± 0.04 ^{NS}
Low Ca				
IF0	12.60 ± 0.16	6.27 ± 0.28 ^a	36.79 ± 5.36 ^a	8.02 ± 0.64
IF80	13.05 ± 0.13	5.68 ± 0.23 ^a	33.88 ± 3.96 ^{ab}	7.98 ± 0.72
IF160	12.48 ± 0.30	6.34 ± 0.35 ^a	32.99 ± 2.01 ^{ab}	7.36 ± 0.25
Normal Ca				
IF0	12.40 ± 0.26	4.58 ± 0.32 ^b	24.77 ± 3.02 ^{bc}	9.32 ± 1.74
IF80	12.32 ± 0.13	4.48 ± 0.22 ^b	24.66 ± 3.20 ^{bc}	8.55 ± 0.91
IF160	11.88 ± 0.16	4.42 ± 0.20 ^b	23.57 ± 1.91 ^{bc}	6.79 ± 0.98
S · F ⁵⁾	NS	Ca	Ca	NS

*Rats were sham-operated or ovariectomized and fed normal or low Ca diets containing isoflavone 0, 80 or 160 ppm immediately after ovariectomy or sham operation for 6 weeks.

¹⁾Groups are the same as Table 2.

²⁾Mean ± SE of 6~8 rats a group.

³⁾NS: not significantly different.

⁴⁾Values with different superscript within a column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

⁵⁾Significant factor from 2-way ANOVA at p < 0.05, Ca: Main effect of Ca levels.

Table 4. The effect of dietary Ca and isoflavones on wet weight, dry weight, length and breaking force in femur and lumbar*

Group ¹⁾	Femur			Lumbar
	Dry weight (g)	Length (mm)	Breaking force (kg)	Dry weight (g)
Control	0.53±0.03 ^{2)ab3)}	35.00±0.47 ^{NS4)}	7.13±0.02 ^{ab}	0.67±0.03 ^a
Low Ca				
IF0	0.46±0.02 ^b	34.18±0.50	7.03±0.12 ^b	0.56±0.02 ^b
IF80	0.49±0.02 ^{ab}	34.67±0.33	7.04±0.26 ^{ab}	0.61±0.04 ^{ab}
IF160	0.47±0.01 ^b	34.91±0.25	7.22±0.14 ^{ab}	0.58±0.02 ^{ab}
Normal Ca				
IF0	0.46±0.04 ^b	35.09±0.55	7.44±0.01 ^a	0.58±0.04 ^{ab}
IF80	0.47±0.03 ^b	35.02±0.56	7.51±0.02 ^a	0.61±0.04 ^{ab}
IF160	0.47±0.02 ^b	35.28±0.30	7.51±0.02 ^a	0.60±0.04 ^{ab}
S · F ⁵⁾	NS	NS	Ca	NS

*Rats were sham-operated or ovariectomized and fed normal or low Ca diets containing isoflavone 0, 80 or 160 ppm immediately after ovariectomy or sham operation for 6 weeks.

¹⁾Groups are the same as Table 2.

²⁾Mean±SE of 6~8 rats a group.

³⁾Values with different superscript within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

⁴⁾NS: not significantly different.

⁵⁾Significant factor from 2-way ANOVA at p<0.05, Ca: Main effect of Ca levels.

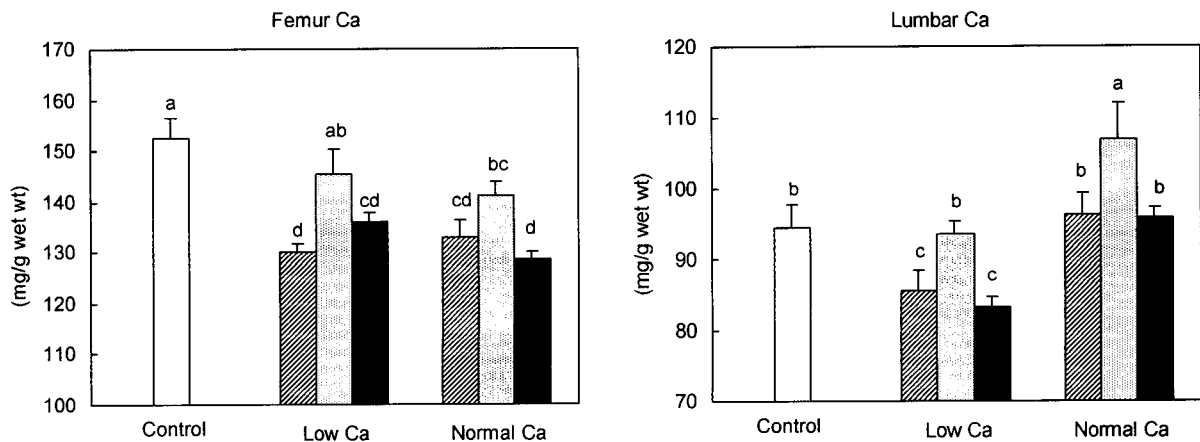


Fig. 1. The effect of dietary isoflavone on Ca in femur and lumbar*.

Rats were sham-operated or ovariectomized and fed normal or low Ca diets containing isoflavone 0, 80 or 160 ppm immediately after ovariectomy or sham operation for 6 weeks. □ Control: sham operation & normal Ca diet with isoflavone 0 ppm, ▨ IF0: ovariectomy operation & diet with isoflavone 0 ppm, ▩ IF80: ovariectomy operation & diet with isoflavone 80 ppm, ■ IF160: ovariectomy operation & diet with isoflavone 160 ppm. a~d: Bars with different letters are significantly different at p<0.05.

을 때보다 정상 칼슘 식이를 급여했을 때 증가하였다. 대두 이소플라본 첨가에 따른 효과도 나타나 저 및 정상 칼슘 식이에 대두 이소플라본 80 ppm을 첨가함으로써 요추골의 칼슘함량을 증가시켰다. 그러나 대두 이소플라본 160 ppm의 첨가는 요추골의 칼슘함량을 증가시키지 못한 것으로 나타났다. 식이 칼슘과 대두 이소플라본의 상호작용은 없었다.

대퇴골과 요추골의 인의 함량은 Fig. 2에 표시하였다. 대퇴골의 인의 함량은 난소절제에 의해 감소되었으며 식이 칼슘과 대두 이소플라본에 의해 증가되지 않았다. 요추골의 인 함량은 난소절제에 의해 감소하였고 식이 칼슘의 영향으로 그 정도가 저 칼슘 식이군에서 더 큰 것으로 나타났다. 대두 이소플라본은 요추골의 인 함량을 증가시켰는데, 특히 80 ppm을 정상 칼슘 식이에 첨가했을 때 그 효과가 두드러지게 나타났으며, 식이 칼슘과 이소플라본의 상호작용이 있

는 것으로 나타났다. 대두 이소플라본 160 ppm 첨가는 인의 함량을 증가시키지 않는 것으로 나타났다.

이런 결과로부터 대퇴골 및 요추골의 칼슘과 인 함량은 난소절제에 의해 감소되었으며, 저 및 정상 칼슘 식이에 대두 이소플라본 80 ppm 첨가는 대퇴골 및 요추골의 칼슘 및 인 함량을 증가시키며, 그 효과는 정상 칼슘 식이에서 더 두드러지게 나타났으며, 대두 이소플라본 160 ppm 첨가는 이와 같은 효과가 없는 것으로 나타났다.

Fanti 등(20)은 난소절제된 흰쥐에게 genistein을 주사했을 때 osteoblast의 수와 혈청 osteocalcin수준을 증가시켰으나 osteoclast의 수와 pyridinum cross-link수준을 감소시키지 못하여 genistein은 골흡수를 억제하기보다 골형성을 자극하는 기전을 통해 골손실을 억제하며 이런 기전은 에스트로젠의 효과와는 다른 방식임을 제시하였다. 골조직에 대한

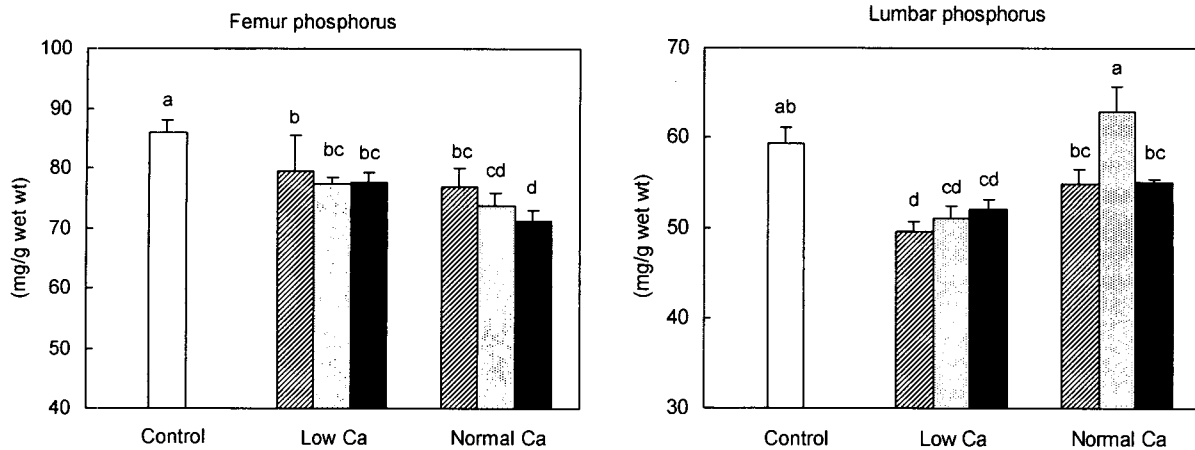


Fig. 2. The effect of dietary isoflavone on P contents in femur and lumbar*.

Rats were sham-operated or ovariectomized and fed normal or low Ca diets containing isoflavone 0, 80 or 160 ppm immediately after ovariectomy or sham operation for 6 weeks. □ Control: sham operation & normal Ca diet with isoflavone 0 ppm, ▨ IF0: ovariectomy operation & diet with isoflavone 0 ppm, ▩ IF80: ovariectomy operation & diet with isoflavone 80 ppm, ■ IF160: ovariectomy operation & diet with isoflavone 160 ppm. a~d: Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

isoflavone의 효과는 급원, 급여수준, 실험동물에 따라 차이를 보인다. Draper 등(21)은 red clover에서 유래한 이소플라본이 몸 전체, 척추, 대퇴골에서 골밀도를 유지하는데 효과가 없다고 하였으며, Anderson 등(13)은 골조직에 대한 genistein의 biphasic effect를 관찰하였는데 저수준(0.5 mg/d)의 genistein은 골손실을 감소시키는데 conjugated estrogen만큼 효과적이거나 이보다 높은 수준은 효과가 없다고 하였다. 난소절제한 원숭이를 이용한 실험은 이소플라본의 효과를 보여주는데 실패하였다. Jayo 등(9)과 Lees와 Ginn(10)은 난소절제한 원숭이에게 이소플라본이 풍부한 대두단백질을 급여했을 때 난소절제에 의해 대퇴골 및 요추골에서 칼슘과 인의 손실이 일어났으며 정상 칼슘 식이에 비해 저 칼슘 식이를 급여했을 때 골손실을 지연시키지 못하였으나 premarin이나 estradiol은 골손실을 예방하였다고 하였다.

본 연구의 결과에서도 대퇴골의 칼슘함량이 대두 이소플라본 80 ppm 첨가에 의해 증가된 반면 대두 이소플라본 160 ppm 첨가는 칼슘함량을 증가시키지 못하였다. 그러나 Jeffery 등(22)은 대두 및 카제인 식이에 이소플라본을 고 수준으로 첨가했을 때 대퇴골 및 요추골의 bone mineral density를 증가시켰으나 저 수준의 이소플라본과 대두단백질은 그런 효과를 보이지 않았다고 하였다. 사람을 대상으로 한 double-blind study에서 52와 96 mg의 isoflavone의 보충공급은 폐경기 이후 골손실을 예방하는데 효과가 없음을 보고한 연구(23)도 있다.

Alekel 등(24)은 폐경 초기 여성에게 이소플라본이 풍부한 대두분리 단백질의 공급은 요추골의 bone mineral density를 증가시켰으며 골격 대사 지표를 조사한 결과 혈청 bone-specific alkaline phosphatase와 뇨중 N-telopeptides가 이소플라본섭취에 의해 감소되지 않았으며 이런 결과는 이소플라본이 에스트로젠이나 다른 anti-resorptive agent와는

다른 기전으로 골손실을 예방함을 제시하였다. Arjmandi 등(6)도 대두단백질의 골손실 보호효과는 골분해를 저해시키기보다는 골형성을 촉진시킴으로써 일어난다고 하였다. 본 연구의 결과도 대두 이소플라본의 첨가가 대퇴골 및 요추골의 칼슘과 인의 손실을 감소시키나 혈청 ALP와 TrACP활성을 감소시키지 않은 것으로 나타나 에스트로젠과는 다른 기전으로 골손실을 막은 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 난소절제 흰쥐를 이용하여 저(0.1%) 및 정상(0.5%) 칼슘 식이에 대두 이소플라본 첨가수준을 달리하여 급여했을 때 뼈 무기질 함량에 미치는 영향을 조사했으며 그 결과는 다음과 같다. 체중은 난소절제에 의해 증가하였고 식이 칼슘 및 대두 이소플라본의 첨가에 따른 효과는 없었다. 혈청 칼슘 농도는 난소절제, 식이 칼슘 및 대두 이소플라본에 의해 변화되지 않았으며 혈청 인의 농도는 정상 칼슘 식이 급여시 감소하였으나 정상 범위였고, 대두 이소플라본은 이에 영향을 미치지 않았다. 혈청 ALP 활성은 난소절제에 의해 증가하였는데, 그 정도는 저 칼슘 식이군에서 더 높았고 대두 이소플라본은 이를 변화시키지 못하였다. 혈청 TrACP활성은 난소절제, 식이 칼슘 및 대두 이소플라본에 따른 차이를 나타내지 않았다. 대퇴골 및 요추골의 무게 및 크기는 난소절제, 식이 칼슘, 대두 이소플라본에 의해 영향을 받지 않았다. 대퇴골의 파단력은 난소절제에 의해 변화되지 않았으나 식이 칼슘은 이를 증가시켰다. 대퇴골 및 요추골의 칼슘과 인의 함량은 난소절제에 의해 감소하였고 대두 이소플라본 80 ppm 첨가는 이를 증가시켰다. 식이 칼슘의 영향은 요추골에서 나타나 정상 칼슘식이를 급여했을 때 요추골의 칼슘과 인의 함량을 증가시켰다. 대두 이소플라본

160 ppm 첨가는 뼈의 칼슘과 인의 함량을 증가시키지 않았다. 이상의 결과로부터 난소절제된 흰쥐에서 대두 이소플라본 80 ppm을 첨가한 식이를 급여하면 뼈의 무기질 함량을 증가시킬 수 있으며 이런 효과는 식이 칼슘이 정상일 때 더 높은 것으로 나타났다. 본 연구의 결과는 대두 이소플라본의 첨가는 폐경성 골다공증을 예방하는데 유효하며 섭취하는 칼슘이 결핍되지 않을 때 그 효과가 더 높을 가능성을 제시하였다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원(02-PJ1-PG3-22003-0007)에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Wang H, Murphy PA. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42: 1666-1673.
2. Shutt DA, Cox RI. 1972. Steroid and phytoestrogen binding to sheep uterine receptors *in vitro*. *J Endocrin* 52: 299-310.
3. Martin PM, Horwitz KB, Ryan DS, McGuire WL. 1978. Phytoestrogen interaction with estrogen receptors in human breast cancer cells. *Endocrinology* 198: 1860-1867.
4. Knight DC, Eden JA. 1996. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obst Gynecol* 87: 897-904.
5. Messina M. 1998. Soyfoods, soybean isoflavones and bone health. *Korea Soybean Digest* 15: 122-136.
6. Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, Kukreja SC. 1996. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 126: 161-167.
7. Erdman JW Jr, Stillman RJ, Lee KF, Potter SM. 2003. Short-term effects of soybean isoflavone on bone in postmenopausal women. Abstract printed at Second International Symposium on the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease. p 219.
8. Lee D, Sung C. 2003 Effect of soy isoflavone supplementation on bone metabolism marker and urinary mineral excretion in postmenopausal women. *Korean J Nutr* 36: 476-482.
9. Jayo MJ, Anthony MS, Register TC, Rankin SE, Vest T, Clarkson TB. 1996. Dietary soy isoflavones and bone loss: A study in ovariectomized monkeys. *J Bone Mineral Res* 11: S228 (abs S555).
10. Lees CJ, Ginn TA. 1998. Soy protein isolate diet does not prevent increased cortical bone turnover in ovariectomized macaques. *Calcif Tissue Int* 62: 557-558.
11. Dalais FS, Rice GE, Wahlquist ML, Grehan M, Murkies AL, Medley G, Ayton R, Strauss BJG. 1998. Effects of dietary phytoestrogens in postmenopausal women. *Climacteric* 1: 124-129.
12. Alekel L, Germain A, Hanson K. 1998. Soy protein isolate with isoflavone prevents loss of lumbar spine bone mineral density in perimenopausal women. Abstract printed at Consortium on human health and soybeans. July 13-14, Lisle, Illinois.
13. Anderson JJ, Ambrose WW, Garner SC. 1998. Biphasic effects of genistein on bone tissue in the ovariectomized, lactating rat model. *PSEBM* 217: 345-350.
14. Anderson JJ, Ambrose WW, Garner SC. 1995. Orally dosed genistein from soy and prevention cancellous bone loss in two ovariectomized rat models. *J Nutr* 125 (Suppl.): 799S (abs.).
15. Balmir F, Staack R, Jeffrey E, Jimenez MDB, Wang L, Potter SM. 1996. An extract of soy flour influences serum cholesterol and thyroid hormones in rats and hamsters. *J Nutr* 126: 3046-3053.
16. Fisk CH, Subbarow Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66: 375-400.
17. Wronski TJ, Cinton M, Doherty AL, Donn LM. 1988. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinol* 123: 681-688.
18. Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y, Sato T, Uchiyama Y, Ito M, Wang X, Suda T, Ikegami S. 1999. Selective effects of genistein a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrin* 140: 1893-1900.
19. Raisz LG. 1988. Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N Engl J Med* 318: 818-828.
20. Fanti O, Faugere MC, Gang Z, Schmidt J, Cohen D, Malluche HH. 1998. Systematic administration of genistein partially prevents bone loss in ovariectomized rats in a nonestrogen-like mechanism. *Am J Clin Nutr* 68 (suppl.): 1517s-1518s.
21. Draper CR, Edell MJ, Dick IM, Randell AG, Martin GB, Price RL. 1997. Phytoestrogens reduce bone loss and bone resorption in ovariectomized rats. *J Nutr* 127: 1795-1799.
22. Jeffery EH, Walsh J, Rivera A, Jarrell V, Black M, Evans R, Tunner R, Bahr J. 2000. Soy isoflavones may enhance bone density in ovariectomized rats. *J Nutr* 130: 667S.
23. Gallagher JC, Rafferty K, Haynatzka V, Wilson M. 2000. Effect of soy protein on bone metabolism. *J Nutr* 130: 667S-668S.
24. Alekel L, Germain A, Peterson CT, Hanson K, Stewart JW, Toda T. 2000. Isoflavone-rich soy protein isolate exerts significant bone-sparing in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 72: 844-852.

(2005년 2월 22일 접수; 2005년 4월 25일 채택)