

난소절제 흰쥐에서 대두 이소플라본의 섭취수준에 따른 Ca과 P의 평형 연구*

장문정 · 권경진 · 김선희[§]

국민대학교 자연과학대학 식품영양학과

Calcium and Phosphorus Balance Study by Soy Isoflavone Intake in Ovariectomized Rats*

Chang, Moon-Jeong · Kwon, Kyung-Jin · Kim, Sun-Hee[§]

Department of Foods & Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

ABSTRACT

This study was performed to determine the effect of three different concentrations of soy-isoflavones on calcium and phosphorus balance in either sham-operated or ovariectomized female rats. Seventy-two 16-week old Sprague-Dawley rats underwent sham operation or bilateral ovariectomy. They were provided diets containing different levels of soy isoflavones for 6 weeks: 50 ppm (low isoflavone intake; LI), 250 ppm (medium isoflavone intake; MI) and 500 ppm (high isoflavone intake; HI). The subsequent fecal and urinary excretions of calcium and phosphorus were then measured. In the sham-operated rats, body weight gains and food efficiency ratio of the MI and HI groups were significantly lower than the control group while food intake was not different. However, there was no significant difference in the ovariectomized rats. The fecal excretion of calcium was significantly lower in the LI, MI and HI groups than the control group in sham operated rats, and significantly lower in the HI group than the control group in ovariectomized rats. Also, apparent absorption rate of calcium and phosphorus did not show any significant difference among groups. Urinary excretion of calcium and phosphorus was significantly lower in the HI group than the LI group in the sham-operated rats. Urinary excretion of calcium was significantly higher in the control ovariectomized rats than in the control sham-operated rats. Retention of calcium and phosphorus did not show any significant difference in both groups. From the above result, we see that isoflavone intake increases calcium retention through an increase in calcium absorption and also suppresses the increase of calcium excretion in urine in ovariectomy. Therefore, it is suggested that isoflavone intake is recommended for menopausal women who experience sharp bone loss due to the decrease in estrogen hormone. (*Korean J Nutrition* 38(1) : 40~47, 2005)

KEY WORDS : isoflavone, balance study, Ca, P, apparent absorption rate.

서 론

식물계에 광범위하게 존재하는 이소플라본은 내인성 생식 호르몬인 에스트로젠과 그 구조와 분자량이 유사하며, 실제로 상당한 에스트로젠 유사활성을 나타내기 때문에 phytoestrogen의 일종으로 폐경기 여성에게 에스트로젠 호르

몬의 대체효능을 발휘한다.¹⁻⁵⁾

이소플라본의 골다공증에 대한 예방효과는 골다공증 치료제로 이용되는 ipriflavone과의 구조적 유사성,⁶⁾ 그리고 대두 식품 섭취량이 많은 아시아 국가들에서 골반 골절의 예가 비교적 드문 경우들⁷⁾에서 추정할 수 있다. 이소플라본은 폐경기 이전의 여성에게는 에스트로젠 길항제의 효과를 나타내며, 에스트로젠 분비가 적은 폐경 후 여성에게는 에스트로젠 효과를 나타내어 골손실을 억제시키며, 골다공증 예방에 효과가 있다고 보고하고 있다.⁸⁻¹⁰⁾

미국에서 폐경 후 여성에게 하루에 90 mg의 이소플라본을 24주간 섭취시켰더니 요추의 골밀도가 보충 전보다 유의하게 증가되었으며,¹¹⁾ 폐경이 진행 중인 여성들에게 하루

접수일 : 2004년 12월 31일

채택일 : 2005년 1월 18일

*This research was supported by the grant No. R04-2002-000-20095-0 from the Korea Science & Engineering Foundation.

[§]To whom correspondence should be addressed.

에 80.4 mg의 이소플라본을 보충시킨 결과 요추의 골손실을 감소시켰다는 보고¹²⁾가 있다. 폐경 초기의 여성에게 3개월간 대두를 제공하였더니 골질량이 실험 전보다 5% 증가됨을 보고한 연구¹³⁾도 있어 대두 이소플라본의 섭취는 폐경으로 인한 골질량 감소를 방지할 수 있음을 알 수 있다.

동물 실험에서는 이소플라본의 보충이 난소절제한 쥐의 대퇴부와 요추의 골손실을 줄이거나 노화와 연관된 골손실의 개시를 늦추었다고 한다.^{14,15)} 이러한 결과들로 미루어 보면 이소플라본을 함유한 대두 식품이 골다공증의 위험을 줄이고 골대사에 유용한 역할을 함을 알 수 있다. Arjmandi 등¹⁶⁾의 연구에 의하면 95일된 SD종 흰 쥐를 20% 카제인 식이를 제공한 sham 수술군과 난소절제군, 17β-estradiol (10 μl/kg b.w./d)을 공급한 난소절제군, 카제인 대신 20% 대두 단백질을 공급한 난소절제군 등 4군으로 나누어 30일간 사육한 결과 난소절제군이 sham 수술에 비해 오른쪽 대퇴부와 4번 요추골의 밀도가 유의적으로 낮았으나 17β-estradiol를 첨가한 군과 대두 단백질을 첨가한 군에서는 골밀도가 감소되지 않았다. 또한 난소절제는 뼈의 대사율을 증가시키고 estradiol을 억제시킴을 알 수 있었고, 대두 섭취군의 골 대사율은 높지만 대퇴골과 요추의 골밀도가 높으므로 뼈의 생성이 용출보다 많음을 알 수 있었다.

대두에 존재하는 이소플라본 중 특히 genistein은 골대사에 유용한 역할을 할 뿐만 아니라 골손실과 관련된 질병에서 주목받고 있는 생리활성 물질이다.¹⁷⁾ Ishimi 등¹⁸⁾의 연구에서 보면 난소절제 한 쥐에게 하루에 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 mg의 genistein을 제공하거나 0.1 μg의 17β-estradiol을 공급하여 4주간 사육한 결과 대퇴부의 소주뼈에서의 골밀도가 모의수술 대조군에 비해 난소절제군에서 현저히 감소하였으나, 0.7 mg의 genistein을 섭취한 난소절제군에서 골밀도가 전과 같은 수준으로 정상화 되었다고 한다. 따라서 genistein은 폐경 후 여성에게 에스트로겐 결핍에 의해 발생하는 골손실을 억제함을 알 수 있었다. 또 다른 동물 실험에서는 2달된 암컷 흰 쥐를 sham 수술군 또는 난소절제 수술을 시행하고 난소절제 흰 쥐에게 genistein을 체중 g당 1, 5, 25 μg을 공급하여 사육한 결과 1 μg 투여군은 골밀도 저하 억제효과가 없었으나, 5 μg 투여군의 골밀도는 192 mg/cm²로 난소절제 대조군의 189 mg/cm²보다 유의적으로 높아 genistein이 골밀도 저하를 억제함을 알 수 있었다.¹⁹⁾

인체 내의 칼슘의 99%, 그리고 인 함유량 중 90%는 뼈에 존재하므로 칼슘과 인은 골격조직의 발달과 유지에 있어서 중요하다. 칼슘은 골을 형성하는 중요한 성분으로서

골 무기질 침착에 직접적인 영향을 줄 수 있다. 폐경이 되면 폐경 전에 비해 칼슘의 흡수가 저하되므로 골다공증의 가능성이 커진다.²⁰⁾ Recker 등²¹⁾은 폐경 후 여성에게 2년간 탄산칼슘이나 estrogen을 투여한 결과 대조군은 4.06%, 탄산칼슘 섭취군은 1.05%, estrogen 투여군은 0.88%로 골손실이 감소되는 결과를 보였다고 보고하였다. 따라서 칼슘섭취는 골손실을 억제함을 알 수 있었다.

그러므로 본 연구에서는 16주령의 암컷 흰쥐를 대상으로 대두 이소플라본의 첨가수준이 다른 식이를 6주간 공급한 후 이소플라본이 칼슘과 인의 체내보유에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 또한 난소절제 모델에서 칼슘과 인의 대사가 어떠한 차이가 있는지도 살펴보고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

실험동물은 16주령 Sprague-Dawley종 암컷 흰 쥐를 72마리 구입하여 온도 23 ± 1°C, 상대습도 65 ± 5%, 12시간의 낮·밤 주기로 조절된 환경에서 물과 실험식이를 자유급식으로 공급하면서 1주간 적응시켰다. 적응기간 후 sham 수술과 난소절제의 2군으로 나누어서 수술을 시행하고 2주간의 회복기간 후 각 수술군에서 난괴법에 의해 9마리씩 4군으로 나누어서 물과 실험식이를 마음껏 먹도록 공급하면서 6주간 사육하였다. 실험 5주째에는 대사장에 1마리씩 옮겨 24시간의 섭취량을 측정하고 대변과 소변을 채취하여 실험에 사용하였다.

2. 실험동물의 수술

실험동물은 sham 수술과 난소절제로 나누어서 12시간 절식시킨 다음 마취제 (ketamin 50 mg/ml, 유한양행)를 사용하여 복강 마취시켜 수술하였다. Sham 수술은 복막 절개까지만 난소절제와 동일한 방법으로 시행하고 난소를 적출하지 않은 채로 다시 봉합하였으며 난소절제군은 난소를 적출 후 봉합하였다.

3. 실험식이

실험식은 Table 1에서와 같이 American Institute of Nutrition (AIN-93G)²²⁾ 식이를 기준으로 이소플라본을 실험군에 따라 각기 0 ppm (control), 50 ppm (low isoflavone intake), 250 ppm (medium isoflavone intake), 500 ppm (high isoflavone intake)로 첨가하였다. 이소플라본의 첨가량은 미국의 식품의약청 (Food and Drug Administration)이 권장하는 1일 25 g의 대두 단백질을 근거로 하여 산출한 50 mg의 이소플라본 함량과 한국인의 일상적

섭취수준인 30 mg을 근거로 하여 미국인과 한국인의 표준 체중을 고려하여 체중 kg당 환산하였고, 이를 실험동물의 체중 및 식이 섭취량을 고려하고 사용한 이소플라본 제품의 순수 이소플라본 함유율을 고려하여, 한국인의 일상적 섭취 수준에 근접한 이소플라본을 50 ppm 첨가로 결정하였다. 그리고 그 양의 5배 및 10배를 첨가한 실험식이를 사용하였다. 실험 식이에 사용한 이소플라본 powder는 대두배아에

서 추출한 것으로 aglycone type으로 이소플라본이 32.18% (genistein 3.76%, daidzein 19.33%, glycitein 9.09%) 함유된 분말형태를 신동방 주식회사 (Ansan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 vitamin mixture와 mineral mixture는 Harlan Teklad (Madison, USA) 제품을, cellulose, DL-methionine choline chloride는 sigma (St. Louis, USA), casein은 Junsei Chemical (Tokyo, Japan) 제품이며, 옥수수 전분은 대상 주식회사 (Seoul, Korea), 설당은 CJ 주식회사 (Inchon, Korea), 옥수수유는 대상 주식회사 (Seoul, Korea) 등에서 구입하고 반죽기를 이용하여 혼합하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

| Ingredients (g/kg diet) | Control | LI ¹⁾ | MI | HI |
|---|---------|------------------|---------|---------|
| Corn starch | 529.486 | 529.336 | 528.736 | 527.986 |
| Sucrose | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Cellulose | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Casein | 200 | 200 | 200 | 200 |
| L-cystine | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Corn oil | 70 | 70 | 70 | 70 |
| Mineral mixture ²⁾ (AIN-93G) | 35 | 35 | 35 | 35 |
| Vitamin mixture ³⁾ (AIN-93VX) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Choline bitartrate | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Tert-butylhydroquinone | 0.014 | 0.014 | 0.014 | 0.014 |
| Isoflavone powder | 0 | 0.15 | 0.75 | 1.5 |
| Total | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |

1) LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake

2) Mineral mixture provides calcium carbonate, 12.5 g; sodium chloride, 2.59 g; potassium citrate, 2.48 g; potassium phosphate, 6.86 g; potassium sulfate, 1.63 g; magnesium oxide, 0.85 g; manganese carbonate 0.02 g; ferric citrate, 0.21 g; zinc carbonate, 0.06 g; cupric carbonate, 0.01 g; potassium iodate, 0.00035 g; sodium selenite, 0.00036 g; chromium potassium sulfate, 0.01 g; ammonium paramolybdate, 0.0003 g; sodium meta-silicate, 0.05 g; lithium chloride, 0.0006 g; boric acid, 0.003 g; sodium fluoride, 0.002 g; nickel carbonate, 0.001 g; ammonium vanadate, 0.0002 g; sucrose finely powdered, 7.73 g

3) Vitamin mixture provides thiamin HCl, 0.006 g; riboflavin, 0.006 g; pyridoxine HCl, 0.007 g; niacin, 0.03 g; calcium pantothenate, 0.016 g; folic acid, 0.002 g; biotin, 0.0002 g; vitamin B₁₂, 0.00001 g; dry vitamin A palmitate, 4.000 U; dry vitamin E acetate, 50 U; vitamin D₃ trituration, 1.000 U; menadione sodium bisulfite complex, 0.00005 g; sucrose finely powdered, 9.81 g

식이섭취량은 2~3일에 한번씩 측정하였으며, 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다. 체중은 식이 섭취에서 오는 갑작스러운 체중의 변화를 막기 위해 밥그릇을 빼고 2시간 후에 측정하였다.

4. 시료수집 및 분석

소변과 대변은 실험식이 급여 5주째에 실험동물들을 대사장에 1마리씩 옮겨 2~3일간 대사장에 적응시킨 다음 24시간 수집하였다. 24시간 수집한 소변은 cage에 묻은 시료를 증류수로 씻고 총 부피 30 ml로 희석한 후 -50°C에서 냉동 보관하여 분석하였고, 대변은 털과 이물질을 제거한 후 무게를 측정하고 분석 전까지 냉동 보관하였다.

시료의 분석에 사용한 모든 기구는 산 용액에 담근 후 이온제거수로 행귀 무기질 오염을 최대한 방지하였다.

대변에 함유되어있는 칼슘과 인의 분석은 대변을 건조시켜 600°C의 furnace에서 12시간 회화시킨 다음 3M HCl을 첨가하여 12시간 용해시킨 다음 여과시켜 Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS, Model #7500a, Agilent Technology, Palo Alto, Ca)를 사용하여 분석하였다. 실험식이도 대변과 마찬가지로 칼슘과 인을 분석하였다.

Table 2. Total food intake, body weight gain and food efficiency ratio (FER) in sham-operated and ovariectomized rats

| Group | Food intake (g) | Final body weight (g) | Body weight gain (g) | FER | |
|-------|------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|
| Sham | Control | 542 ± 16 ¹⁾ | 319 ± 7 ^a | 26.4 ± 4.6 ^a | 0.05 ± 0.01 ^a |
| | LI ²⁾ | 549 ± 20 | 303 ± 6 ^{ab} | 15.4 ± 1.8 ^{ab} | 0.03 ± 0.00 ^{ab} |
| | MI | 505 ± 17 | 300 ± 8 ^{ab} | 12.0 ± 3.2 ^b | 0.02 ± 0.01 ^b |
| | HI | 520 ± 17 | 293 ± 6 ^b | 4.8 ± 5.1 ^b | 0.01 ± 0.01 ^b |
| OVX | Control | 547 ± 33 | 305 ± 12 | 32.7 ± 8.5 | 0.06 ± 0.01 |
| | LI | 536 ± 17 | 295 ± 5 | 23.2 ± 3.6 | 0.04 ± 0.01 |
| | MI | 552 ± 24 | 298 ± 7 | 25.3 ± 3.9 | 0.05 ± 0.01 |
| | HI | 524 ± 16 | 294 ± 8 | 21.7 ± 7.8 | 0.04 ± 0.01 |

1) Values are means ± SEM (n = 9). Values in a column with different superscripts in the same operation are significantly different (p < 0.05) as assessed by Duncan's multiple range test

2) LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake, OVX: ovariectomy

소변에 함유된 칼슘과 인의 분석은 냉동 보관된 소변을 상온에서 녹인 후, 2000 rpm에서 15분간 원심분리하여 0.01N HCl에 희석시켜 ICP-MS에서 분석하였다.

5. 자료의 통계처리

식이효율 (Food efficiency ratio: FER)은 일정기간의

체중증가량을 동일 기간 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였으며, 체내 보유량은 각 대사 실험기간 중 측정된 칼슘과 인의 섭취량에서 대변과 소변 중 배설량을 뺀 양으로 계산하였고, 외견적 흡수율은 섭취량에서 변 중 배설량을 뺀 양이 흡수되어진 양으로 생각되어 섭취량을 흡수량으로 나누어 백분율을 계산하였다.

통계처리는 SPSS 10.0을 이용하여 실험군별 평균과 표준오차를 계산하였으며, 이소플라본 섭취수준에 따른 영향은 ANOVA로 분석한 후 실험군 간의 유의성은 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다. 난소 절제의 유무에 따른 비교는 student t-test에 의해 $p < 0.01$ 와 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

연구결과 및 고찰

1. 식이 섭취량과 체중증가량

실험동물의 6주간 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율은 Table 2에 제시하였으며 난소절제 유무에 따른 실험군 간의 통계적 비교는 Fig. 1에 제시하였다. 식이 섭취량은 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 실험군 간에 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 난소절제에 따른 유의적인 차이도 없었다.

체중은 실험 마지막 주에 sham 수술의 경우에서 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 최종 체중이 감소하는 경향을 보였고 이소플라본의 첨가수준이 높은 HI군이 대조군에 비하여 유의적으로 체중이 낮았으며, 난소절제 시 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다. 실험 6주간의 체중 증가량은 sham 수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 체중 증가량이 감소하여 MI, HI군에서 대조군에 비해 유의적으로 적었다. 그러나 난소절제 시에는 실험군간 차이가 없었다. Fig. 1에서 보면 sham 수술에 비해 난소절제에서 체중 증가량은 높은 경향을 보였으며, MI군

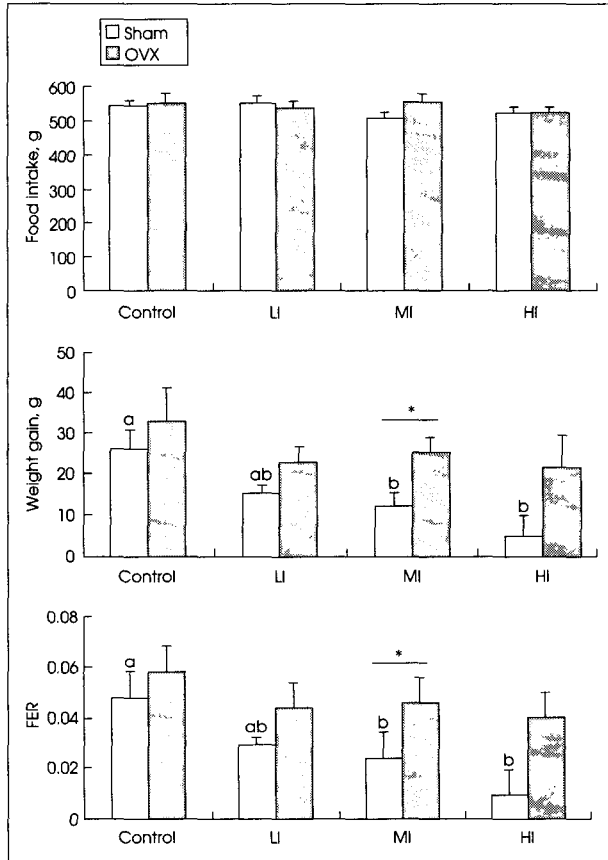


Fig. 1. Total food intake, body weight gain and food efficiency ratio (FER) in sham-operated and ovariectomized rats. Bars represent means \pm SEM (n = 9). Values with different alphabets in the same operation are significantly different ($p < 0.05$) as assessed by Duncan's multiple range test. * $p < 0.05$, differ significantly between sham-operated and ovariectomized rats.

Table 3. Calcium balance and apparent absorption rate in sham-operated and ovariectomized rats

| Group | Dietary intake (mg/d) | Excretion (mg/day) | | Retention (mg/d) | Apparent absorption rate (%) | |
|-------|-----------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------|
| | | Fecal Ca | Urinary Ca | | | |
| Sham | Control | 82.6 \pm 4.4 ^{1)a} | 31.8 \pm 1.1 ^a | 3.4 \pm 0.2 ^{ab} | 47.4 \pm 3.7 | 61.0 \pm 1.6 |
| | LI ²⁾ | 76.4 \pm 4.4 ^{ab} | 27.8 \pm 1.5 ^b | 3.8 \pm 0.2 ^a | 44.6 \pm 4.0 | 62.9 \pm 2.7 |
| | MI | 68.0 \pm 5.9 ^b | 26.4 \pm 1.1 ^b | 3.7 \pm 0.2 ^{ab} | 37.9 \pm 5.7 | 59.6 \pm 3.0 |
| | HI | 63.2 \pm 3.9 ^b | 26.9 \pm 0.7 ^b | 3.3 \pm 0.1 ^b | 38.1 \pm 1.1 | 56.6 \pm 2.3 |
| OVX | Control | 76.8 \pm 2.5 ^a | 27.2 \pm 1.1 ^a | 3.9 \pm 0.1 | 45.7 \pm 3.1 | 64.1 \pm 2.3 |
| | LI | 74.6 \pm 3.7 ^{ab} | 23.3 \pm 1.5 ^{ab} | 3.9 \pm 0.1 | 47.4 \pm 2.5 | 68.9 \pm 1.2 |
| | MI | 73.5 \pm 3.8 ^{ab} | 24.2 \pm 1.2 ^{ab} | 4.0 \pm 0.2 | 45.3 \pm 3.8 | 66.5 \pm 2.3 |
| | HI | 63.1 \pm 4.9 ^b | 21.6 \pm 1.5 ^b | 3.9 \pm 0.2 | 41.7 \pm 2.3 | 63.7 \pm 4.6 |

1) Values are means \pm SEM (n = 9). Values in a column with different superscripts in the same operation are significantly different ($p < 0.05$) as assessed by Duncan's multiple range test

2) LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake, OVX: ovariectomy

에서 난소절제가 sham 수술보다 유의적으로 더 높았다. 이러한 본 연구 결과는 폐경 이후 여성에서 체중이 증가한다는 보고²³⁾와 sham 수술과 난소절제 시 식이 섭취량이 비슷하였음에도 불구하고 체중의 증가는 난소절제의 경우가 더 높았다는 결과²⁴⁾와 마찬가지로 본 실험의 체중 증가량에서 도 같은 경향을 보였다.

식이효율은 sham 수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 감소하는 경향을 보였으며 MI와 HI군에서 대조군에 비해 식이효율이 유의적으로 적었으며 난소절제 시에는 실험군간 차이가 없었다. Fig. 1에서 난소절제 시 식이 효율은 sham 수술에 비해 높은 경향을 보였으며 MI군에서 난소절제 시 sham 수술보다 유의적으로 높음으로 체중 증가량과 같은 경향을 보였다.

2. 칼슘 평형

실험군별 칼슘의 섭취량, 변 중 배설량과 외견적 흡수율, 뇨 중 배설량 그리고 체내 보유량에 대한 칼슘 평형의 결과를 Table 3에 제시하였으며 난소절제 유무에 따른 실험군간의 통계적 비교는 Fig. 2에 제시하였다.

칼슘 섭취량은 sham 수술의 경우에서 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 식이섭취량이 적어져서 낮아지는 경향을 보였으며 MI와 HI군은 대조군에 비해 유의적으로 적었다.

대변 중 칼슘 배설량은 sham수술의 경우에서 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 LI, MI, HI군 모두 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며 난소절제 시에는 HI군이 대조군에 비해 유의적으로 낮음을 볼 수 있었다. Fig. 2에서 난소절제 유무에 따른 차이를 보면 대조군과 LI, HI군이 난소절제의 경우가 sham 수술에 비해 변 중 배설량이 매우 유의적으로 낮음을 볼 수 있었다. LI군에서도 난소절제의 경우가 sham 수술의 경우보다 대변 중 칼슘 배설량이 유의적으로 낮음을 볼 수 있었다. 하지만 외견적 흡수율에서는 비교적 유사하여 이소플라본의 첨가수준과 난소절제에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 이소플라본의 섭취수준이 높을수록 증가하는 경향을 보였다.

소변을 통한 칼슘 배설량은 sham수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 감소하는 경향을 나타내었으며 HI군은 LI군에 비해 유의적으로 적었다. 그러나 난소절제 시에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 난소절제 유무에 따른 차이를 보면 대조군에서 난소절제의 경우가 sham 수술에 비해서 뇨 중 칼슘 배설량이 매우 유의적으로 높아서 난소절제 시에는 뇨 중 칼슘 배설이 증가함을 알 수 있었다. HI군에서도 난소절제의 경우가 sham 수술에 비

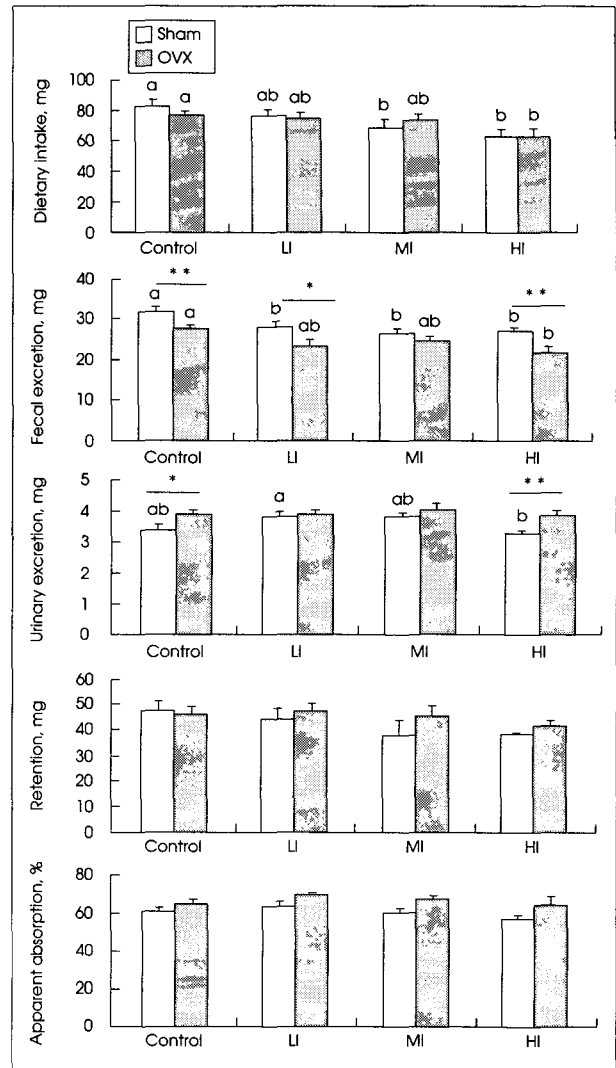


Fig. 2. Calcium balance and apparent absorption rate in sham-operated and ovariectomized rats. Bars represent means ± SEM (n = 9). Values with different alphabets in the same operation are significantly different (p < 0.05) as assessed by Duncan's multiple range test. *p < 0.05, differ significantly between sham-operated and ovariectomized rats. **p < 0.01, differ significantly between sham-operated and ovariectomized rats.

해서 유의적으로 뇨 중 배설량이 많았다. 난소절제에 의한 소변 칼슘 배설량이 증가하는 현상은 에스트로겐 호르몬의 분비 부족으로 인해 신장 기능이 변화하기 때문이라고 하는 보고^{25,26)}가 있으며, 에스트로겐은 칼슘의 세뇨관에서의 재흡수를 증가시켜 폐경으로 인한 과칼슘뇨증 (hypercalciuria)을 완화 시킨다고 알려져 있으므로²⁷⁾ 이소플라본이 난소절제한 쥐에서 에스트로겐과 같은 작용을 할 것으로 짐작된다.

폐경 전 후 여성을 대상으로 한 연구²⁸⁾에서 보면 폐경 후 여성이 폐경 전 소변의 칼슘 배설량이 유의하게 높았다는 결과를 보였는데, 이러한 결과는 본 실험에서 난소절제 군

Table 4. Phosphorus balance and apparent absorption rate in sham-operated and ovariectomized rats

| Group | Dietary intake (mg/d) | Excretion (mg/day) | | Retention (mg/d) | Apparent absorption (%) | |
|-------|-----------------------|--------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|------------|
| | | Fecal P | Urinary P | | | |
| Sham | Control | 25.8 ± 4.1 ^{1a} | 4.1 ± 0.6 | 7.1 ± 0.3 ^a | 14.6 ± 0.9 | 84.5 ± 1.5 |
| | LI ²⁾ | 23.8 ± 1.4 ^{ab} | 3.0 ± 0.5 | 6.4 ± 0.4 ^{ab} | 14.4 ± 1.2 | 87.6 ± 2.1 |
| | MI | 21.2 ± 1.8 ^b | 2.9 ± 0.4 | 5.7 ± 0.4 ^{bc} | 12.6 ± 1.7 | 86.0 ± 2.0 |
| | HI | 19.7 ± 1.2 ^b | 3.2 ± 0.4 | 5.4 ± 0.3 ^c | 11.2 ± 1.3 | 83.8 ± 1.9 |
| OVX | Control | 23.9 ± 0.8 ^a | 3.2 ± 0.3 | 6.4 ± 0.5 | 14.4 ± 0.7 | 86.8 ± 1.3 |
| | LI | 23.3 ± 1.1 ^{ab} | 3.6 ± 0.4 | 5.9 ± 0.4 | 13.8 ± 1.0 | 85.0 ± 1.3 |
| | MI | 22.9 ± 1.2 ^{ab} | 3.0 ± 0.3 | 5.6 ± 0.6 | 14.4 ± 1.2 | 86.7 ± 1.4 |
| | HI | 19.7 ± 1.5 ^b | 2.9 ± 0.4 | 5.9 ± 0.3 | 12.3 ± 0.9 | 83.9 ± 3.6 |

1) Values are means ± SEM (n = 9). Values in a column with different superscripts in the same operation are significantly different (p < 0.05) as assessed by Duncan's multiple range test

2) LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake, OVX: ovariectomy

에서 소변을 통한 칼슘 배설량이 sham 수술군보다 유의적으로 높은 결과와 부합한다. Christman 등²⁹⁾의 연구에 의하면 65세 이상의 폐경 여성 53명을 대상으로 6개월간 호르몬 요법을 처방하였더니 실험전보다 소변의 칼슘 배설량이 감소하였다고 보고하였다. Heaney 등³⁰⁾은 35~45세의 폐경 전 여성 207명과 호르몬 치료를 받지 않은 폐경 후 여성 41명을 대상으로 하여 5년간의 대사 변화를 관찰한 결과 칼슘 섭취량이 630~660 mg 정도일 때 1일 평균 소변 중 칼슘 배설량이 폐경 전 여성은 120 mg, 폐경 후 여성은 131.6 mg으로 폐경 후에 칼슘 배설량이 높은 경향이 있었으나 두 군 간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다고 하였다. 한편 Cecchetti 등³¹⁾의 연구에서는 이탈리아의 폐경 후 여성을 대상으로 이소플라본의 유도체인 ipriflavone을 매일 200 mg씩 12개월 동안 투여했을 때 대조군에 비하여 소변에서의 칼슘 배설량이 유의적으로 낮아졌다고 보고하였다. 또한 한국 농촌여성 10명을 대상으로 한 연구³²⁾에서 보면 폐경 5년 이내의 여성은 노 중 하루 배설량이 87.5 mg이었는데 폐경 후 5년 이상의 여성은 293.3 mg으로 유의적으로 많았다. 이러한 결과와 본 연구의 결과를 종합해 보면 에스트로겐 호르몬의 분비가 매우 적은 폐경 후에는 칼슘의 노 중 배설이 증가함을 알 수 있었다.

칼슘의 체내 보유량은 이소플라본의 첨가수준과 난소절제에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 섭취량에 대한 보유비율로 볼 때 이소플라본의 섭취는 보유를 증가시키는 경향을 보였다.

3. 인 평형

실험군별 인의 섭취량, 변 중 배설량과 외견적 흡수율, 노 중 배설량 그리고 체내 보유량에 대한 평형의 결과를 Table 4에 제시하였으며 난소절제 유무에 따른 실험군 간의 통계적 비교는 Fig. 3에 제시하였다.

인 섭취량은 칼슘 섭취의 경우와 마찬가지로 이소플라본

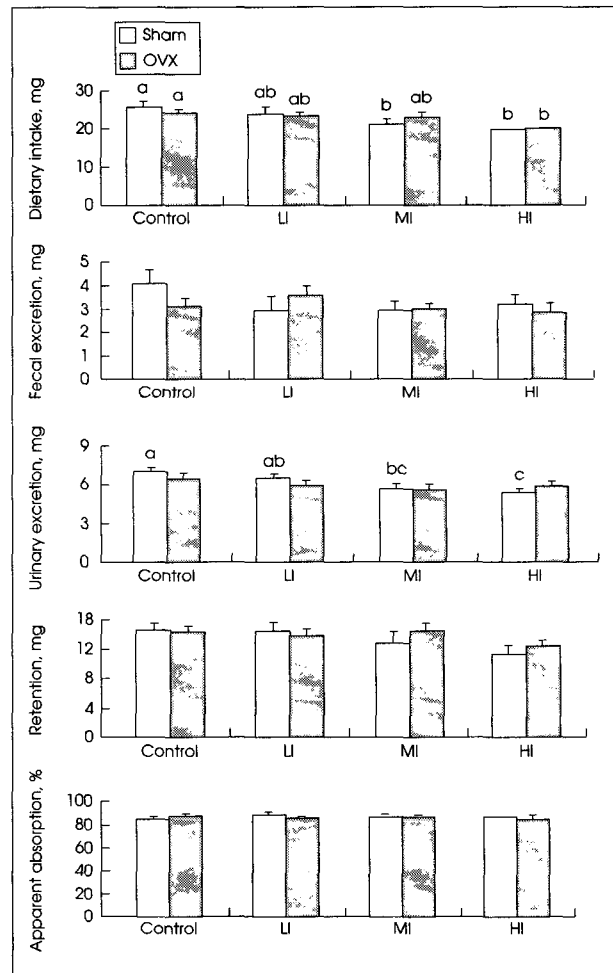


Fig. 3. Phosphorus balance and apparent absorption rate in sham-operated and ovariectomized rats. Bars represent means ± SEM (n = 9). Values with different alphabets in the same operation are significantly different (p < 0.05) as assessed by Duncan's multiple range test.

첨가수준이 높을수록 섭취량이 감소하는 경향이다.

대변을 통한 인 배설량은 비교적 유사하여 sham 수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가수준에 따른 실험군 간에

유의적 차이는 나타나지 않았으며, 난소절제 시에는 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 낮아지는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 난소절제여부에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

소변을 통한 인 배설량은 sham 수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 소변 중 인 배설량이 MI 군과 HI군에서 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며 난소절제 유무에 따른 유의적인 차이도 볼 수 없었다. 한국 농촌 지역의 폐경 후 여성을 대상으로 한 연구³¹⁾에서 인의 배설량은 폐경 후 5년 이내의 여성은 542.5 mg였으나 폐경 후 5년 이상의 대상은 620.0 mg으로 유의적인 차이가 없었으나 그 대상은 칼슘에서는 폐경 후 5년 이상의 대상에서 5년 이내의 대상에 비해 3배 이상 배설량이 많았다. 한편 한국 여성을 11명을 대상으로 한 연구³³⁾에서 보면 폐경 전 여성의 뇨 중 인 배설량은 576.6 mg이었고, 폐경 후 여성의 712.4 mg보다 유의적으로 낮았다. 따라서 연구결과간의 차이가 있기는 하지만 폐경 후에는 칼슘과 인의 배설이 증가함을 알 수 있다. 즉, 폐경 후에는 인의 뇨 중 배설이 증가함을 보였으나 본 연구에서는 난소절제 여부에 따른 차이가 나타나지 않았다.

인의 체내 보유량은 sham군에서 이소플라본의 첨가수준이 높을수록 낮아지는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 난소절제 시에서도 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 난소절제에 따른 유의적인 차이도 나타나지 않았다.

결론

본 연구에서는 16주령의 암컷 흰쥐를 대상으로 대두 이소플라본의 첨가수준이 다른 식이를 6주간 공급한 후 이소플라본이 칼슘과 인의 평형에 미치는 영향을 살펴보았으며 난소절제 모델에서 칼슘과 인의 평형이 어떠한지도 알아보고자 하였다.

식이 섭취량은 식이 내 이소플라본의 첨가량과 난소절제 수술 여부에 따른 유의적인 차이가 없었으므로 본 실험에서 사용한 수준의 이소플라본을 6주간 섭취하면 난소절제를 한 경우에서 하지 않은 경우와 식이 섭취량은 차이가 나지 않음을 알 수 있었다. 그러나 체중 증가량은 sham 수술의 경우 이소플라본의 첨가량이 많을수록 유의적으로 감소하였으며 난소절제의 경우에서도 감소하는 경향을 나타내어 이소플라본은 식이효율을 감소시켜서 체중 증가량을 감소시킴을 알 수 있었다.

칼슘 평형을 보면, 섭취량은 식이 이소플라본의 첨가수준

이 높을수록 낮아져서 sham 수술의 MI와 HI군은 대조군에 비해 유의적으로 적었으며 난소절제의 HI군도 대조군에 비해 유의적으로 적었다. 변 중 배설량은 sham 수술에서 이소플라본의 첨가식이군이 대조군에 비해 유의적으로 적었고 난소절제에서는 HI군이 대조군에 비해 유의적으로 적었으나 외견적 흡수율은 이소플라본의 첨가와 난소절제에 따른 유의적인 차이가 없었다. 따라서 변 중 배설량은 식이를 통한 칼슘 섭취량과 비슷하게 실험군간 유의성이 나타났다. 그러나 sham 수술의 LI군이 식이섭취량은 대조군과 유의한 차이가 없었으나 변 중 배설량은 유의적으로 감소하였으므로 이소플라본의 섭취는 변 중 칼슘의 배설을 억제하는 효과가 있음을 짐작하게 한다. 뇨를 통한 배설량은 sham 수술의 경우에서 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 낮은 경향을 보이고 HI군이 LI군에 비해 유의적으로 낮았으므로 뇨 중 배설량을 억제함을 나타내었고 난소절제 시에는 이러한 영향은 없음을 알 수 있었다.

인 평형을 보면, 변 중 배설량은 식이 이소플라본 첨가수준과 난소절제 여부에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 외견적 흡수율에서도 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 뇨 중 배설량은 sham 수술의 경우에서 이소플라본의 첨가량이 많을수록 유의적으로 감소하였으며 난소절제의 경우에서는 이소플라본 첨가식이군이 대조군에 비해 배설량이 적었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 따라서 이소플라본의 섭취는 칼슘과 마찬가지로 뇨 중 배설을 억제함을 알 수 있었다.

그러므로 이소플라본 섭취는 칼슘의 흡수를 증가시켜 체내 보유를 증가시키며 난소절제 시 나타나는 칼슘의 뇨 중 배설량의 증가를 억제함을 알 수 있었다. 따라서 에스트로겐 호르몬의 분비 감소로 인해 급격한 골격손실이 나타나는 폐경 후 여성에게 이소플라본의 섭취를 권장할 필요가 있다고 제안한다.

Literature cited

- 1) Setchell KDR, Borriello SP, Hulme P, Kirk DN, Axelson M. Non-steroidal estrogens of dietary origin: Possible roles in hormone dependent disease. *Am J Clin Nutr* 40: 569-578, 1984
- 2) Tang BY, Adams NR. Effects of equol on estrogen receptors and on synthesis of DNA and protein in the immature rat uterus. *J Endocrinol* 85: 291-297, 1980
- 3) Anderson JJ, Garner SC. Phytoestrogens and human function. *Nutr Today* 83: 232-239, 1997
- 4) Arjmandi BH. The role of phytoestrogens in the prevention and treatment of osteoporosis in ovarian hormone deficiency. *J Am Coll Nutr* 20: 398-402, 2001

- 5) Ewies AA. Phytoestrogens in the management of the menopause: up-to-date. *Obstet Gynecol Surv* 57: 306-313, 2002
- 6) Toesca A, Pagnotta A, Specchia N. Evidence of type II estrogen receptor in human osteoblast-like cells. *Cell Biol Inter* 24: 303-309, 2000
- 7) Adlercreuta H. Western diet and western disease: some hormonal and biochemical mechanism and associations. *Scand J Clin Lab Invet* 50(Suppl) 210: 3-23, 1990
- 8) Messina MJ. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr* 70: 439-450, 1999
- 9) Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 87: 897-904, 1996
- 10) Messina M. Modern applications for an ancient bean: soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J Nutr* 125: 567S-569S, 1995
- 11) Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay F, Erdman Jr JE. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 68: 1375S-1379S, 1998
- 12) Alekel DL, Germain A, Peterson CT, Hanson HB, Stewart JW, Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 72: 844-852, 2000
- 13) Dalais FS, Rice GE, Bell RJ. Dietary soy supplementation increases vaginal cytology maturation index and bone mineral contents in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 68: 1518(abstr), 1998
- 14) Picherit C, Coxam V, Bennetau-pelissero C, Kati CS, Davicco MJ, Lebecque P, Barlet JP. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone in rats. *J Nutr* 130: 1675-1681, 2000
- 15) Omi N, Aoi S, Murata K, Ezawa I. Evaluation of the effect of soybean milk and soybean milk peptide on bone metabolism in the rat model with ovariectomized osteoporosis. *J Nutr Sci Vitaminol* 40: 201-211, 1994
- 16) Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, Kukreja SC. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 126: 161-167, 1996
- 17) Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens receptor β . *Endocrinol* 139: 4252-4263, 1998
- 18) Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y, Sato T, Uchiyama Y, Ito M, Wang X, Suda T, Lkegami S. Selective effects of genistein a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinol* 140: 1893-1900, 1999
- 19) 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. *Osteoporos Int* 8: 274-281, 1998
- 20) Allen LH. Calcium bioavailability and absorption: a review. *Am J Clin Nutr* 35: 783-808, 1982
- 21) Recker RR, Saville PD, Heaney RP. Effect of estrogens and calcium carbonate on bone loss in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 87: 649-655, 1977
- 22) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of american institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1993
- 23) Chung LW, Gleave ME, Hsi JT, Hong SJ, Zhou HE. Reciprocal mesenchymal-epithelial interaction affecting prostate tumor growth and hormonal responsiveness. *Cancer Surv* 11: 91-121, 1991
- 24) Kalu DN, Lin CC, Salerno E, Hollis B, Echon R, Ray M. Skeletal response of ovariectomized rats to low and high doses of 17β -estradiol. *Bone Miner* 14: 175-187, 1991
- 25) Riggs BL, Melton LJ. Involutional osteoporosis. *N Engl J Med* 314: 1676-1686, 1986
- 26) Riggs BL, Seeman E, Hodgson SF, Taves DR, O'Fallon WM. Effect of the fluoride/calcium regimen on vertebral fracture occurrence in postmenopausal osteoporosis: Comparison with conventional therapy. *N Engl J Med* 306: 446-450, 1982
- 27) Yendt ER, Cohamin JS. Reduced glomerular filtration and a renal tubular calcium leak in woman with primary osteoporosis. *J Bone Mineral Res* 4: 253-261, 1989
- 28) Nordin BE, Need AG, Morris HA, Horowitz M, Robertson WG. Evidence for a renal calcium leak in postmenopausal women. *J Clin Endo Metab* 72: 401-407, 1991
- 29) Christmas C, O'Connor KG, Harman SM, Tobin JD, Munzer T, Bellantoni MF, Clair CS, Pabst KM, Sorkin JD, Blackman MR. Growth hormone and sex steroid effects on bone metabolism and bone mineral density in healthy aged women and men. *J Gerontol Biol Sci Med Sci* 57: 12-18, 2002
- 30) Heaney RP, Recker RR, Saville PD. Menopausal changes in calcium balance performance. *J Lab Clin Med* 92: 953-963, 1987
- 31) Cecchetti M, Bellometti S, Cremonesi G, Solimeno LP, Torri G. Metabolic and bone effects after administration of ipriflavone and salmon calcitonin in postmenopausal osteoporosis. *Biomed Pharm* 49: 465-468, 1995
- 32) Choi EJ, Lee HO. Influencing factors in the bone status of rural menopausal women. *Kor J Nutr* 29: 1013-1020, 1996
- 33) Lee HJ, Lee HO. Calcium metabolism of menopausal women. *Bulletin Home Culture* 10: 145-160, 1997