

식이단백질과 칼슘 수준이 흰쥐의 칼슘대사에 미치는 영향

윤군애 · 황혜진[†]

동의대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Protein and Calcium Levels on Calcium Metabolism of the Rat

Gun Ae Yoon and Hye Jin Hwang[†]

Dept. of Food and Nutrition, Donggeui University, Busan 614-714, Korea

Abstract

This study was conducted to examine effect dietary protein and calcium levels on calcium metabolism of the rat. Weaned 6-week old male rats were divided into 4 groups and were fed experimental diets for six weeks. Experimental groups were HPNC group-high protein normal calcium (protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.5%), HPLC group-high protein low calcium (protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.1%), NPNC group-normal protein normal calcium (protein: 200 g/diet, calcium: 0.5%), NPLC group-normal protein low calcium (protein: 200 g/diet, calcium: 0.1%). The calcium excretion in urine was higher in high protein group than in normal protein group, and it was highest in HPLC group. The activation of alkaline phosphatase had a tendency to low in normal calcium group, and the concentration of parathyroid hormone (PTH) was the lowest in HPLC group. The deoxypyridinoline (DPD) concentration of urine was investigated as the highest in HPLC group and it was significantly lower in HPNC group that consumed normal calcium. The bone density of the femur was the highest in NPNC group and the lowest in NPLC group. As the results of this study, calcium excretion in urine and DPD density were the highest and the bone density was the lowest in HPLC group. It may suggest that the deficiency of calcium causes adversely effect in calcium metabolism upon consuming high protein diet. Therefore, it should be emphasized to consume enough calcium to prevent the hindrance of skeletal metabolism caused by deficiency of calcium upon consuming high protein diet.

Key words: high protein, calcium intake, calcium metabolism, bone density

서 론

현대사회에서 평균 수명이 연장됨에 따라 노년기 인구의 증가로 인한 골다공증의 유병률이 증가되고 있는 추세로 칼슘 영양의 중요성이 특별히 강조되고 있다(1). 인체의 칼슘 대사는 영양적, 환경적, 생리적인 요인에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있고 칼슘의 체내 이용성은 생리상태와 비타민 D, 인, 단백질 등 다른 식이요인에 의하여 달라지는 것으로 알려져 있다(2,3). 성장기동안 인의 과잉섭취는 칼슘의 흡수를 방해하고 부갑상선 호르몬(parathyroid hormone) 분비를 촉진시키고 골격의 재흡수를 증가시켜 점진적인 골손실을 초래하게 된다(4). 또한 식이요인 중 단백질섭취가 골격대사를 저해한다는 가설은 Wachman과 Bernstein(5)에 의하여 제기되어진 이래 많은 연구가 진행되고 있다. 성장기 동안 고단백식이 섭취시 노의 칼슘 배설이 증가되고 혈액내의 칼슘 수준을 일정하게 유지하기 위하여 골격으로부터 칼슘 재흡수를 증가시킨다는 것이 많은 동물실험(6,7)과 임상

실험(8)에서 보고되었다. 또한 고단백식은 노년백현상 등 신장기능의 퇴화를 촉진하였으며 이로 인해 노 칼슘 배설량의 증가, 칼슘 흡수율의 감소 등 칼슘균형의 악화를 유발시켰다고 한다(9). 고단백식이 요중 칼슘 배설량을 증가시키는 기전은 사구체여과율의 증가와 세뇨관에서의 칼슘 재흡수의 감소가 중요한 원인으로 알려져 있으며(10), 이에 반해식이 단백질의 증가가 골절 후 회복을 도와주고, 나이에 따른 골손실을 감소시킨다는 보고도 있다(11,12).

칼슘 영양상태는 골격질환을 유발하는 직접적인 원인이 되나 1998년도 국민건강조사에 의하면 한국인의 칼슘 섭취량은 권장량의 72.8% 수준이며, 권장량의 75%미만 섭취가 구 비율이 63.5%로 매우 저조한 것으로 조사되었다(13). 이러한 칼슘 섭취의 부족으로 인한 영양문제는 골격질환 뿐 아니라, 순환계질환 및 대장질환 등 각종 성인병과 관련되어 나타나고 있어 칼슘 영양의 중요성이 지적될 수 있겠다(6). 반면 단백질은 최근 경제발전과 식생활의 변화로 그 섭취량이 증가하는 실정이므로 본 연구에서는 흰쥐를 이용하여 고

[†]Corresponding author. E-mail: hhj2001@deu.ac.kr
Phone: 82-51-890-1594, Fax: 82-51-890-1579

수준의 단백질 섭취시 칼슘섭취수준이 골격대사에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

이유한 6주령의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 적응기를 거쳐 한 군당 8마리씩 4군으로 나누었다. 실험 식이 조성과 vitamin mixture, mineral mixture(Ca-P free)는 AIN-93G에 의거하여 배합하였다(Table 1). 실험군은 ① HPNC-고단백 적정칼슘군(protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.5%) ② HPLC-고단백 저칼슘군(protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.1%) ③ NPNC군-적정 단백질 적정 칼슘군 protein: 200 g/diet, calcium: 0.5%) ④ NPLC-적정단백 저칼슘군(protein: 200 g/diet, calcium: 0.1%)으로 구별하였다. 칼슘 급원으로는 인의 함량을 조절하기 위하여 CaCO₃와 CaHPO₄ · 2H₂O를 사용하였다. 실험식이와 이온교환수는 자유급식하였고, 사육에 필요한 기구는 0.4% EDTA로 씻은 후 증류수로 헹구어 사용하였다. 실험기간 동안 식이섭취량과 체중은 1주일에 각기 2회와 1회씩 정기적으로 측정하였다.

시료수집

실험기간 총 6주 후에 실험동물을 하룻밤 절식시킨 후 ethyl ether로 마취시킨 후 단두하여 희생하였다. 채취된 혈액을 3000 rpm에서 20분간 원심분리하여 분리된 혈청을 -50°C에서 냉동 보관하였다. 대퇴골을 적출하여 골격에 붙어 있는 근육, 인대, 지방 등을 제거하여 무게를 측정, 보관하였다. 요와 변은 실험 종료 전 대사장에서 적응시킨 후 24시간 동안 채취하여 요는 100 mL가 되도록 희석하였고, 변은 105±5°C 오븐에서 건조시켜 분말로 만들었다.

시료분석

골밀도 및 골 Ca함량 측정: 골밀도는 LUNAR사(Madison, WI, USA)의 양에너지 방사선 골밀도 측정기(dual energy x-ray absorptiometry, DEXA) 사용하여 측정하였다.

대퇴골은 105±5°C에서 건조하여 건조무게를 측정한 후 550~600°C의 회화로에서 6~8시간 회화하여 총 회분을 얻었다. 회화된 회분은 1 N HCl에 용해한 후 1% La₂O₃로 희석하여 원자흡광광도계(atomic absorption spectrometer, Perkin Elmer Co.)로 칼슘함량을 측정하였다. 변도 대퇴골과 같은 방법으로 처리하여 얻은 건조분말에서 칼슘함량을 측정하였다.

혈액 및 요의 생화학적 분석: 혈액과 요의 칼슘함량은 자동분석기(Hitachi 7600-110)를 이용하여 분석하였다. 혈액 중의 alkaline phosphatase(ALP)의 활성은 Kind King의 비색법을 토대로 하여 Daiichi 시약을 이용한 kit를 사용하여 측정하였다. Osteocalcin은 kit(Osteocalcin-IRMA, Biosource)를 사용하였고, parathyroid hormone(PTH)는 I¹²⁵를 이용한 RIA kit로 측정하였다. Deoxypyridinoline(DPD)의 함량은 화학발광면역분석법에 의한 competitive binding assay를 이용하여 측정하였다.

통계분석

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균±표준편차를 계산하였다. 실험 식이에 따른 체중변화, 식이효율, 칼슘섭취량과 배설량의 균형, 뇨와 혈청의 칼슘대사와 관련된 호르몬, 대퇴골의 무게, 골밀도 등의 측정치의 차이는 one way ANOVA를 사용하여 비교하였으며, Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다. 각 실험군간의 유의성은 α = 0.05 수준으로 하였다.

Table 1. Composition of the experimental diet

(g)

Composition	Groups ¹⁾			
	HPNC	HPLC	NPNC	NPLC
Casein	400.0	400.0	200.0	200.0
Cornstarch	272.4	278.56	472.4	478.56
Dextrinized cornstarch	132.0	132.0	132.0	132.0
Soybean oil	70.0	70.0	70.0	70.0
Fiber	50.0	50.0	50.0	50.0
Mineral mix ²⁾	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix ³⁾	10.0	10.0	10.0	10.0
CaCO ₃	5	1	5	1
CaHPO ₄ · 2H ₂ O	12.02	1.72	12.02	1.72
KH ₂ PO ₄	8.08	16.22	8.08	16.22
L-Cystine	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014

¹⁾HPNC group: High protein normal calcium (protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.5%), HPLC group: High protein low calcium (protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.1%), NPNC group: Normal protein normal calcium (protein: 200 g/diet, calcium: 0.5%), NPLC group: Normal protein low calcium (protein: 200 g/diet, calcium: 0.1%).

²⁾The composition of mineral mix was based on AIN-93G (Ca & P free).

³⁾Vitamin mix: AIN-93.

결과 및 고찰

체중변화와 식이섭취량

Table 2에는 실험동물의 체중증가와 식이섭취량을 제시하였다. 실험 종료까지의 체중은 적정 단백질-저칼슘군인 NPLC군에서 가장 많이 증가하였으나, 실험군간의 차이를 나타내지 않았고, 식이 섭취량도 실험군간에 차이를 보이지 않았다. Kim 등의 연구(9)에서는 식이 무게의 8%, 50%로 단백질 수준을 달리하여 섭취시켰을 때, 고단백식을 섭취한 군에서 체중증가량이 높은 경향을 보였다고 보고한 바 있으나, 본 연구에서는 식이 단백질과 칼슘수준에 따른 차이를 나타내지 않았다.

칼슘의 섭취량과 배설량의 균형

Table 3에는 식이섭취량으로부터 계산한 섭취량과 배설량을 통하여 칼슘 흡수율과 보유량을 계산하여 나타내었다.

Table 2. Body weight gain and food intake in the experimental groups

Groups ¹⁾	Initial BW (g)	Final BW (g)	Food intake (g/week)
HPNC	118.15±6.74 ^{2)NS3)}	345.18±23.80	158.10±7.36
HPLC	116.36±8.64	338.48±22.45	156.26±7.26
NPNC	118.26±5.47	331.75±24.84	151.65±8.37
NPLC	117.23±5.35	359.84±17.22	160.45±7.25

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Values are mean±SD.

³⁾Not significant.

Table 3. Calcium intake, calcium absorption rate and retention in the experimental groups

Groups ¹⁾	Ca intake (mg/day)	Fecal Ca excretion (mg/day)	Urinary Ca excretion (mg/day)	Ca absorption rate ²⁾ (%)	Ca retention ³⁾
HPNC	102.96±9.17 ^{4)ab5)}	40.13±15.12	5.87±0.62 ^{ab}	68.16±17.01	56.72±11.51
HPLC	85.16±5.15 ^b	34.02±19.53	7.12±1.70 ^a	60.72±15.13	44.31±12.42
NPNC	105.25±7.45 ^a	47.12±15.43	5.02±0.73 ^b	55.23±16.12	52.72±13.52
NPLC	84.19±4.16 ^b	36.12±14.12	4.98±0.21 ^b	57.14±14.51	43.15±10.41

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Ca absorption rate (%) = (Ca intake - fecal Ca excretion) / Ca intake × 100.

³⁾Ca retention (mg/day) = (Ca intake - fecal Ca excretion - urinary Ca excretion).

⁴⁾Values are mean±SD.

⁵⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at $\alpha < 0.05$.

Table 4. Calcium biochemical parameters in serum and urine in the experimental group

Groups ¹⁾	Serum			Urine
	ALP (IU/L)	Osteocalcin (ng/mL)	PTH (pg/mL)	Deoxy pyridinoline (DPD) (nM/mM creatinine)
HPNC	208.13±94.10 ²⁾³⁾	1.26±0.24 ^{NS4)}	222.00±38.84 ^{ab}	334.53±57.34 ^b
HPLC	242.50±67.21 ^{ab}	1.07±0.10	192.47±20.21 ^b	485.70±55.80 ^a
NPNC	282.12±90.68 ^{ab}	1.14±0.12	244.83±24.69 ^a	391.27±83.06 ^{ab}
NPLC	315.25±72.59 ^a	1.11±0.18	237.11±24.80 ^a	501.71±33.99 ^a

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Values are mean±SD.

³⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at $\alpha < 0.05$.

⁴⁾Not significant.

칼슘 섭취량은 저칼슘을 섭취한 HPLC군과 NPLC군에서 유의적으로 낮았으며, 노 칼슘배설량은 고단백 저칼슘식이 섭취한 HPLC군에서 가장 높은 값을 보여 고단백군에서 저단백군보다 높은 경향을 나타내었다. 칼슘보유량은 칼슘섭취량에서 변화 노의 칼슘 배설량을 감한 값으로 계산되었는데, HPLC군에서 노 칼슘 배설량은 유의적으로 많았지만 변 칼슘 배설량이 비교적 적은 수치를 나타내어 보유량은 실험군간의 차이를 보이지 않았다. 고단백식이 요중 칼슘 배설에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 진행되고 있는데, Chung과 Choi의 연구(14)에서는 식이 무게당 casein 함량을 달리하여 5%와 40%로 사육하였을 때 고단백 섭취군에서 요중 칼슘 배설량이 높고, 그 이유는 동물성 단백질에 함유된 함황 아미노산이 체내에서 대사되어 이를 중화시키기 위해서 뼈에서 칼슘이 유리되어 나오기 때문이라고 보고되었다(15). 또한 Kerstetter 등의 연구(16)는 고단백식이 섭취가 요중 칼슘 배설을 증가시키고, 골 재흡수를 증가시킨다고 한 반면, Shapses 등의 연구(17)에서는 단백질 섭취의 증가가 골 재흡수 지표에는 아무런 영향을 주지 않았다고 보고된 바 있다.

혈청과 소변의 골격대사 관련 지표

Table 4에는 혈청과 소변의 골격대사와 관련된 지표를 나타내었다. 뼈형성의 biomarker인 ALP의 활성은 골생성이 왕성할 때 증가되는데 성인에 비해 소아에서 정상치가 높고, 골절 후 혈중 활성도가 증가된다고 보고되고 있다(19). 본 연구에서 ALP의 활성은 칼슘섭취량에 따라 영향을 받는 것

Table 5. Wet weight and dry weight of femur in the experimental group

Groups ¹⁾	Wet weight		Dry weight	
	g	g/100 g BW	g	g/100 g BW
HPNC	0.898±0.05 ^{2)a3)}	0.260±0.01 ^a	0.588±0.03 ^a	0.177±0.01 ^a
HPLC	0.787±0.06 ^a	0.235±0.03 ^a	0.523±0.05 ^a	0.156±0.01 ^a
NPNC	0.857±0.09 ^a	0.258±0.02 ^a	0.578±0.05 ^a	0.166±0.01 ^a
NPLC	0.618±0.05 ^b	0.193±0.02 ^b	0.432±0.01 ^b	0.135±0.01 ^b

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Values are mean±SD.

³⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at $\alpha < 0.05$.

으로 나타나, 고단백 적정칼슘을 섭취한 HPNC군에서 고단백 저칼슘식이군인 HPLC군보다 유의적이지는 않지만 감소되는 경향을 보였고, 적정단백을 섭취한 군에서도 NPLC군보다 NPNC군에서 감소경향을 보여 적정칼슘 섭취시 ALP 활성이 감소되는 경향을 관찰할 수 있었다. Osteocalcin은 조골세포에서 생성되어 뼈의 세포와 기질에 축적되는데, 새로 합성된 것 중 약 30%가 혈중으로 방출되므로 골형성의 정도를 예측할 수 있는 생화학지표로 사용되고 있는데(19) 본 연구에서는 실험군간에 차이를 보이지 않았다. PTH는 신체의 칼슘의 항상성을 유지시키는 중심적인 역할을 하는 호르몬으로(20), HPLC군에서 가장 낮고 NPNC군에서 가장 높아 적정단백질과 칼슘을 섭취시켰을 때 증가되어 나타났다. 소변의 deoxypyridinoline(DPD)은 collagen과 link하여 뼈에 존재하는 물질로서 뼈의 용출이 일어날 경우 뼈에서 유리되어 요를 통해 배설되므로 뼈의 흡수지표로 사용되고 있다(21). 본 연구에서 DPD 농도는 저칼슘군인 HPLC군과 NPLC군에서 높은 수치를 나타내었고, 칼슘을 증등도로 섭취시킨 HPNC군에서는 유의적으로 낮아졌으며, 적정단백질을 섭취한 군에서도 칼슘을 적정량 섭취시킨 NPNC군에서 NPLC군보다 유의적인 차이는 아니지만 감소경향을 나타내었다.

대퇴골의 회분과 칼슘함량 및 골밀도

Table 5에는 대퇴골의 건조 전과 후의 무게를 나타내었다. 건조전의 습윤무게는 NPLC군에서 제일 유의적으로 낮았으며, 체중 100 g당의 무게로 환산한 수치 또한 NPLC군에서 가장 낮았다. 건조 후의 대퇴골의 무게 역시 다른 군에 비해 NPLC군에서 가장 낮았고 다른 실험군 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 대퇴골의 회분 함량은 실험군간의 큰

차이를 나타내지 않았고, 칼슘 함량은 NPLC군과 HPLC군에서 유의하게 낮았고 대퇴골의 골밀도는 NPNC군에서 가장 높게 나타났으며, NPLC군에서 가장 낮았다(Table 6). NPLC군에서는 ALP 활성이 가장 높게 나타났는데(Table 4), Aloia 등(19)의 연구에서도 ALP 활성도는 골질량과 음의 상관관계를 나타내었다고 보고된 바 있다.

식이 단백질 섭취수준에 따른 칼슘의 섭취 수준이 골격대사에 있어 다르게 영향을 미친다는 연구 결과가 많이 보고되고 있다. Dawson-Hughes와 Harris의 연구(22)에서는 단백질을 20% 섭취 증가시 저칼슘 식이는 칼슘 흡수를 23% 감소시켰으나, 칼슘 섭취를 늘렸을 때 고단백 식이는 칼슘 흡수에 영향을 주지 않았다고 보고하였다. 또한 Meyer 등의 연구(23)에서는 대부분의 여성들에게서 단백질 섭취수준이 골격대사에는 큰 상관 없이 없었으나, 저칼슘 섭취시(400 mg/d) 고단백 식이는 엉덩이 골질의 위험을 증가시켰다고 보고하였고, Heaney의 연구(25)에서는 칼슘과 단백질은 식이중 적절히 함유되어 있으면 골격에 유익한 영향을 하지만, 칼슘함량이 저조할 때에는 골격을 약화시킬 수 있다고 하였으며, 연령이 높은 사람들에게 있어 적절한 칼슘 섭취가 필요하다고 강조한 바 있다. 연구결과 칼슘 섭취가 낮을 경우 고단백 식이는 요중 칼슘 농도의 증가, DPD 농도의 증가, 골밀도의 감소결과를 나타내어 골격대사를 저해할 수 있음을 알 수 있었다. 또한 칼슘을 적정량 섭취했을 때에는 고단백 섭취시에도 요중 칼슘농도가 유의적인 수준은 아니지만 감소 경향을 보였고, 골밀도도 증가경향을 나타내는 것으로 나타나, 성장기에 있어 적절한 단백질 섭취와 함께 충분한 칼슘 섭취의 필요성을 지적할 수 있겠다.

요 약

흰쥐를 대상으로 하여 식이 단백질 수준에 따라 칼슘 수준을 달리하여 식이를 공급하여 칼슘 식이효율, 칼슘대사와 관련된 호르몬, 대퇴골의 무게 및 칼슘 함량, 골밀도를 측정하였다. 실험식이의 구성은 ① HPNC군-고단백 적정칼슘군(protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.5%) ② HPLC군-고단백 저칼슘군(protein: 400 g/kg diet, calcium: 0.1%) ③ NPNC군-적정 단백질 적정 칼슘군 protein: 200 g/kg diet, calcium: 0.5%) ④ NPLC군-적정단백 저칼슘군(protein: 200 g/kg

Table 6. Ash and calcium content and BMD of femur in the experimental group

Groups ¹⁾	Ash (mg)	Ca (mg)	BMD (g/cm ²)
HPNC	331.21±10.59 ²⁾	138.75±9.27 ^{a3)}	0.163±0.012 ^{ab}
HPLC	322.84±17.88	119.15±11.97 ^b	0.155±0.006 ^b
NPNC	330.15±14.11	128.46±10.93 ^a	0.183±0.012 ^a
NPLC	328.74±11.87	117.351±8.24 ^b	0.148±0.003 ^c

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Values are mean±SD.

³⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at $\alpha < 0.05$.

diet, calcium: 0.1%)으로 구별하였다. 실험 종료까지의 체중은 NPLC군에서 가장 많이 증가하였으나, 실험군간의 차이를 나타내지 않았고, 식이 섭취량도 실험군간에 차이를 보이지 않았다. 뇨 칼슘배설량은 고단백군이 적정단백군보다 높은 경향을 나타내었고, HPLC군에서 유의적으로 높은 값을 보였으며 체내 칼슘보유량과 흡수율은 실험군에 따른 차이가 없었다. 뼈형성의 biomarker인 ALP의 활성은 저칼슘식이군인 NPLC군에서 유의하게 높았고, 고단백 적정칼슘을 섭취한 HPNC군에서 유의적으로 낮았다. 혈액의 PTH 농도는 HPLC군에서 가장 낮게 나타났으며, 소변의 DPD농도는 저칼슘식이군인 HPLC군과 NPLC군에서 높은 수치로 관찰되었고, HPNC군에서는 유의적으로 낮아졌다. 대퇴골의 건조 전의 습윤무게는 중 100 g당의 무게로 환산했을 때 NPLC군에서 가장 낮았으며 건조 후의 대퇴골의 무게 역시 다른 군에 비해 NPLC군에서 가장 낮았다. 대퇴골의 회분 함량은 실험군간의 큰 차이를 나타내지 않았고, 칼슘 함량은 NPLC군과 HPLC군에서 유의하게 낮았다. 대퇴골의 골밀도는 NPNC군에서 가장 높게 나타났으며, NPLC군은 가장 낮게 나타났었다. 본 연구결과 고단백 저칼슘 식이 섭취시 요중 칼슘 배설량이 가장 많았고, DPD 농도가 다른 군에 비하여 유의적으로 높았으며, 골밀도도 가장 낮게 조사되어 고단백식이 섭취시 칼슘섭취 부족은 칼슘대사에 좋지 못한 결과를 나타낼 수 있었다. 이로 볼 때 적절한 단백질과 칼슘 섭취가 골격의 건강을 유지하고 노령화에 따른 골격질환을 예방할 수 있고, 특히 고단백 섭취시에는 칼슘영양이 부족할 경우 골격대사를 저해할 수 있으므로 충분한 칼슘 섭취가 무엇보다도 중요하다고 본다.

문 헌

- Lawrence GR, Smith JA. 1989. Pathogenesis, prevention and treatment of osteoporosis. *Ann Rev Med* 40: 251-267.
- Heaney RP. 1993. Nutritional factors in osteoporosis. *Ann Rev Nutr* 13: 287-316.
- Smith DM, Nance WE, Kang KW, Christiansen JC, Johnston SS Jr. 1973. Genetic factors in determining bone loss. *J Clin Invest* 52: 2800-2808.
- Calvo MS. 1993. Dietary phosphorus, calcium metabolism and bone. *J Nutr* 123: 1627-1633.
- Wachman A, Bernstein DS. 1968. Diet and osteoporosis. *Lancet* 1: 958-959.
- Allen LH, Eood RJ. 1994. Calcium and phosphorus. In *Modern Nutrition in Health and Disease*. 8th ed. Shills ME, Olson JA, Shike M, eds. Lea & Febiger, Philadelphia. p 144-163.
- Healney RP, Weaver CM, Fitzsimmons ML. 1990. The influence of calcium load on absorption fraction. *J Bone Miner Res* 11: 1135-1143.
- Ira W, Taylor N, Dorothy J, Sara B. 1994. Calcium nutrition in the elderly. In *Handbook of nutrition in the aged*. 2nd ed. Ronald RW, ed. CRC Press, New York. p 355-363.
- Kim WY, Moon KW, Kim JH. 1995. A study on the long-term effects of dietary level on Ca and skeletal metabolism in ovariectomized rats. *Korean J Nutr* 27: 415-425.
- Linkswiler HM, Zemel MB, Hegsted M, Schuette S. 1981. Protein-induced hypercalciuria. *Fed Proc* 40: 2429-2433.
- Delmi M, Rapin CH, Bengoa JM, Delmas PD, Vasey H, Bonjour JP. 1990. Dietary supplementation in elderly patients with fractured neck of the femur. *Lancet* 335: 1013-1016.
- Schurch MA, Rizzoli R, Slosman D, Vadas L, Vergnaud P, Bonjour JP. 1998. Protein supplements increase serum insulin-like growth factor-I levels and attenuate proximal femur bone loss in patients with recent hip fracture. *Ann Intern Med* 128: 801-809.
- Ministry of Health and Welfare. 1999. '98 National Nutrition Survey Report'
- Chung SH, Choi MJ. 1995. Effect of dietary protein level on Ca efficiency in bone mineral density in growing rats. *Korean J Nutr* 28: 817-824.
- Barzel US, Massey LK. 1998. Excess dietary protein can adversely affect bone. *J Nutr* 128: 1051-1053.
- Kerstetter JE, Mitnick ME, Gundberg CM, Caseria DM, Ellison AF, Carpenter TO, Insogna KL. 1999. Changes in bone turnover in young women consuming different levels of dietary protein. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 1052-1055.
- Shapses SA, Robins SP, Schwartz EI, Chowdhury H. 1995. Short-term changes in calcium but not protein intake alter the rate of bone resorption in healthy subjects as assessed by urinary pyridinium cross-link excretion. *J Nutr* 125: 2814-2821.
- Lee CK, Choi JS, Jeon YJ, Byun HG, Kim SK. 1997. The properties of natural hydroxyapatite isolated from tuna bone. *Bull Korean Fish Soc* 30: 652-659.
- Aloia JF, Cohr SH, Vaswani A, Yeh JK, Yuen K, Ellis K. 1985. Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *Am J Med* 78: 95-100.
- Price PA, Pathermore JG, Doftos LJ. 1980. New biochemical marker for bone metabolism. *J Clin Invest* 66: 878-883.
- Delmas PD, Hardy P, Garnero P, Dain M. 2000. Monitoring individual response to hormone replacement therapy with bone marker. *Bone* 26: 553-560.
- Dawson-Hughes B, Harris SS. 2002. Calcium intake influences the association of protein intake with rates of bone loss in elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 75: 773-779.
- Meyer HE, Pedersen JI, Loken EB, Tverdal A. 1997. Dietary factors and the incidence of hip fracture in middle-aged Norwegians. *Am J Epidemiol* 145: 117-123.
- Heaney RP. 2002. Protein and calcium: antagonists or synergists? *Am J Clin Nutr* 75: 609-610.

(2004년 12월 20일 접수; 2005년 1월 31일 채택)