

이소플라본 섭취수준이 성장기 암컷 쥐의 골대사지표 및 골대사관련호르몬에 미치는 영향*

최 미 자[§] · 정 윤 정

계명대학교 식품영양학과

The Effects of Isoflavones Intake Level on Bone Markers and Bone Related Hormones in Growing Female Rats*

Choi, Mi-Ja[§] · Jung, Yun-Jung

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

ABSTRACT

The overall purpose of this study was to investigate the effects of level of isoflavones supplementation on bone metabolism in growing female rats. Forty-five rats divided into three groups; Control, 1/2IF, and 1IF. Serum osteocalcin and alkaline phosphatase (ALP) activity, urinary deoxypyridinoline (DPD) crosslinks value were measured to monitor bone formation and resorption at the ninth week after feeding. Hormones related to bone metabolism were determined, included parathyroid hormone (PTH), calcitonin, estradiol, growth hormone and insulin-like growth factor I (IGF-I). The results of this study were as follows: the isoflavones intake level did not affect weight gain, mean food intake and food efficiency ratio. The serum concentration of osteocalcin and the activity of ALP were not significantly different by different levels of isoflavones supplementation. The urinary DPD crosslinks value was not significantly different by different levels of isoflavones supplementation. There were no significant differences in serum PTH, estradiol and IGF-I among all groups. However, calcitonin was shown significantly higher in the groups of 1IF and 1/2IF than control group. And growth hormone was shown significantly higher in the groups of 1IF than control group. (Korean J Nutr 2008; 41(3): 199~205)

KEY WORDS : growing female rats, isoflavones intake level, bone metabolism.

서 론

Phytoestrogen인 이소플라본은 에스트로젠 수용체- β 에 agonist로 작용하여 골용해를 저해하고 골밀도를 증진시키고, 에스트로젠 수용체- α 가 우세한 유방과 자궁에서는 antagonist 작용을 나타내어 유방암, 자궁내막암 같은 에스트로젠성 부작용이 없는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 또 이소플라본은 간에서 대사되어 신장을 통해 체외로 배출되므로 신체에 중독현상이 없어 안전한 호르몬 대체요법의 대안으

로 이소플라본이 사용될 수 있으리라 기대되고 있다.²⁾

골다공증의 발생은 지리적 위치에 따라 차이를 보여 콩 섭취가 많은 아시아 여성의 관절 골절 발생율이 서구의 여성보다 낮다고 보고되고 있는데³⁾ 이는 콩 이소플라본의 골보호효과 때문으로 보여진다. 서양인의 이소플라본 섭취량은 1일 5 mg 이하로 소량인데 반해 콩 섭취가 많은 아시아인의 경우 일상식사를 통한 이소플라본 섭취량은 1일 25~45 mg으로 동서양의 이소플라본 섭취량은 차이가 있는 것으로 보고되었다.⁴⁾ Kwon 등의 보고⁵⁾에서 우리나라의 일상식으로 하루에 약 25 g의 콩을 섭취하고 여기에 약 50 mg 정도의 이소플라본을 함유하는 것으로 보고하였으나, 청소년의 경우 이소플라본 섭취량은 평균 28.1 mg/day로 성인여성의 절반 정도를 섭취하는 것으로 나타났다.⁶⁾

골다공증 감소를 위한 이소플라본의 유효한 섭취량에 대한 연구에서 뼈에 영향을 주기 위해서는 역치수준의 이소플라본 섭취가 필요하다고 제시되고 있다.⁷⁾ 이소플라본의

접수일 : 2008년 3월 27일

채택일 : 2008년 4월 15일

*This work was supported by grant No (R05-2000-000-00212-0) from the Basic Research Program of the Korea Science and Engineering Foundation.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : choimj@kmu.ac.kr

생리적 활성수준에 관한 선행연구들을 살펴보면, *in vivo* 연구에서 이소플라본은 적정량으로 공급하였을 때 골 조직에 가장 유익한 효과를 보이며 이는 적정 공급수준 범위보다 더 낮거나 더 높을 때에는 유익한 효과가 감소하므로 적정량 섭취가 요구된다고 제시하였다.⁸⁾

그러나 이소플라본 섭취수준에 대한 타 연구에서 고농도 (90 mg/day)의 이소플라본을 섭취한 폐경 여성에서만 척추 골밀도가 유의적으로 증가하여 이소플라본의 섭취량에 대한 의존적 효과 (step-wise dose effect)를 제시하였다.⁹⁾

한편, 동물실험에서 난소절제쥐를 대상으로 이소플라본을 체중 kg당 20, 40, 80 mg을 91일간 공급하였을 때 이소플라본의 섭취수준에 관계없이 세 군 모두 대퇴 골밀도가 유의적으로 높게 나타난 것으로 보고하였다.¹⁰⁾ 반면, 난소절제 쥐를 대상으로 이소플라본 섭취수준이 골대사 지표에 미치는 영향을 분석한 다른 선행연구¹¹⁾에서는 혈중 osteocalcin과 요 중 DPD가 이소플라본 첨가 수준이 높은 군에서 (체중 당 40 mg과 80 mg군)만 유의적으로 낮게 나타난 것으로 보고하여 이소플라본 섭취수준에 따른 차이를 보고하였다.

성장기 쥐를 대상으로 이소플라본 섭취수준이 골밀도에 미치는 영향을 보고한 선행연구¹²⁾에서 단백질 급원으로 콩 단백질을 20% 수준으로 섭취할 때 첨가되는 이소플라본량인 체중 kg당 20, 40 mg 수준의 식이를 9주간 공급한 결과, 대퇴골밀도는 이소플라본 섭취수준이 낮은 경우 유의적 증가를 보이지 않았으나 척추 골밀도는 이소플라본을 첨가한 모든 군에서 유의적으로 높게 나타났고 20 mg과 40 mg군 간에는 차이가 없었다.

따라서 성장기와 난소절제쥐에서 동량의 이소플라본 20 mg이 골밀도에 미치는 효과가 다르게 나타나 생리주기에 따라 이소플라본이 골대사에 미치는 효과는 다르게 나타날 수 있음을 제시하고 있다.

골다공증 예방을 위하여 성장기에 골질량을 최고로 높여 주는 것이 가장 좋은 방법이나 성장기에 이소플라본 투여가 골대사에 미치는 연구는 많지 않고 이소플라본의 주 공급원식품인 콩류 섭취없이 일상적인 식사로 이소플라본을 다량 섭취하는 것은 어려우므로 골대사에 영향을 미치는 최소 이소플라본량을 알아보는 것은 매우 의미가 있다. 선행연구¹²⁾에서 이소플라본을 50% 수준으로 낮추어 섭취하게 한 결과 척추 골밀도는 대조군에 비하여 유의적인 증가를 보였다.

따라서 본 연구에서는 이소플라본의 섭취 수준이 성장기 암컷 쥐에서 골형성 및 골흡수 지표, 골대사 관련 호르몬에 어떤 차이를 주는지 알아보았다.

연구방법

실험동물 및 식이

Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐 (60 ± 5 g)를 난괴법을 이용하여 각 군당 15마리씩 나누어 9주간 실험 식이를 공급하였다. 실험동물은 cage에 한 마리씩 분리 사육하였으며, 사육실의 온도는 25 ± 2°C, 습도는 63 ± 5%로 유지하고 매일 광주기, 암주기를 12시간이 되도록 자동 조절하였다. 실험 기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취하게 하였다.

실험군은 대조군과 이소플라본 섭취군으로 구분하고 대조군 식이 단백질인 casein에 이소플라본을 첨가한 실험군은 이소플라본 첨가량에 따라 1/2IF군, 1IF군으로 분류하였다. 이소플라본 섭취 수준은 선행연구^{12,13)}에서 soy protein isolate (3.4 mg isoflavones/g protein) 식이에 공급한 량과 동일한 양의 이소플라본 (평균 이소플라본 섭취량 8~11 mg)을 casein 식이에 첨가한 경우 (3.4 mg isoflavones/g casein protein)를 1IF군으로 하였고, 그 양의 절반을 첨가한 경우 (1.7 mg isoflavones/g casein protein)를 1/2IF군으로 하였다. 실험 식이는 AIN-93G 정제식이¹⁴⁾를 기준으로 조제하였고 식이조성은 Table 1에 나타내었다.

실험분석

체중 및 식이 섭취량 측정

체중은 일주일 단위로 일정한 시간에 측정하였고, 식이섭취량은 이틀에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다. 식이효

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Control (n = 15)	1/2IF (n = 15)	1IF (n = 15)
Casein ¹⁾	200	200	200
Corn starch	529.5	528.5	527.6
Sucrose	100	100	100
Soybean oil	70	70	70
α-Cellulose	50	50	50
Min-mix ²⁾	35	35	35
Vit-mix ³⁾	10	10	10
L-cystine	3	3	3
Choline	2.5	2.5	2.5
Tert-butyl hydroquinone	0.014	0.014	0.014
Isovon ⁴⁾	-	0.965	1.93

1) Casein high protein (total protein 85%), Teklad Test Diets, Madison, Wisconsin, USA

2) AIN-93G-MX, Teklad Test Diets, Madison, Wisconsin, USA

3) AIN-93G-VM, Teklad Test Diets, Madison, Wisconsin, USA

4) Isovon: Isoflavones compound (total isoflavones 32%), Pacific Pharmaceuticals Co., Korea

율 (Food Efficiency Ratio: FER)은 실험기간 동안의 체중증가량을 총 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

시료 수집

골대사 관련 지표 측정을 위해 9주간 사육 후 24시간 요를 수집하였고 12시간동안 절식시킨 후 에테르 마취하여 복부를 절개하여 대동맥에서 혈액을 채취하였으며, 혈청을 분리하여 급속 냉동시킨 후 분석 시까지 -70℃에서 냉동 보관하였다.

생화학분석

Alkaline phosphatase (ALP)는 p-nitrophenyl phosphate (PNPP) 기질에 ALP가 함유된 시료를 첨가하여 PNPP를 p-nitrophenol로 분해시킨 후 p-nitrophenol의 발색 정도를 405 nm에서 비색량법으로 측정하였다.¹⁵⁾ 혈청 칼시토닌 (calcitonin)과 부갑상선 호르몬 (parathyroid hormone: PTH) 분석은 시험관에 부착된 항체와 I²⁵로 표식된 항체를 사용하여 항원과 항체간에 'sandwich'를 형성하게 하는 비경쟁 방사면역학적 분석법 (non-competitive radioimmunoassay)을 이용하였다.¹⁶⁾ 분석시 각각 DSL-7700 ACTIVE™ Calcitonin IRMA kit (Diagnostic System Laboratories, Inc., USA)와 DSL-8000 ACTIVE™ Intact PTH IRMA kit (Diagnostic System Laboratories, Inc., USA)를 이용하였다. 성장 호르몬 (growth hormone)은 hGH IRMA CT kit (Radim, Roma, Italia)를 이용하였고 인슐린유사 성장인자-I (IGF-I)은 DSL-2800 ACTIVE™ IGF-I IRMA kit (Diagnostic System Laboratories, Inc., USA)를 이용하여 비경쟁적 분석법 (non-competitive radioimmunoassay)으로 분석하였다.¹⁶⁾ Estradiol은 경쟁적 방사면역분석법 (competitive-radioimmunoassay)에 기초하여 Coat-A-Count Estradiol kit (Diagnostic System Laboratories Inc., USA)로 분석하였고¹⁷⁾ osteocalcin도 경쟁적 방사면역분석법으로 OSTEOCALCIN MARIA kit (Techno genetics, Italia)를 이용하여 분석하였다.¹⁸⁾ 요 중 deoxypyridinoline (DPD)와 creatinine의 측정은 collagen crosslinks™ Kit (Metra Biosystems Inc., USA)를 이용하여 ELISA (enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석한 후 crosslinks value를 구하였다.

통계분석

본 실험에서 얻은 결과는 SAS package (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 분석하였다. 각 실험군의 변수들은 평균과 표준편차를 구하여 나타내었으며 각 군의 비교는 ANOVA test를 하였고 군 간의 통계적 유의

성은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

결 과

체중과 식이섭취량 및 식이효율

체중 증가량과 평균 식이 섭취량 및 식이효율을 Table 2에 나타내었다. 각 실험군의 체중증가량, 평균 식이섭취량과 식이효율은 이소플라본 섭취수준에 따른 유의적인 차이가 없었다.

골형성 지표와 골흡수 지표

Table 3에 골형성지표인 혈청 ALP와 osteocalcin을 측정한 결과를 나타내었다. 혈청 ALP 활성은 대조군 64.4 U/l, 1/2IF군 65.2 U/l, 1IF군 69.1 U/l로 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 혈청 osteocalcin 농도는 대조군 3.09 ng/ml, 1/2IF군 2.68 ng/ml, 1IF군 3.67 ng/ml로 이소플라본 첨가량에 따른 유의적인 차이가 없었다.

골흡수 지표로 요 중 DPD, creatinine, crosslinks value를 분석하여 Table 4에 제시하였다. 요 중 DPD 농도는 대조군 563.4 nM, 1/2IF군 584.5 nM, 1IF군 478.2 nM로 실험군 간에 유의적인 차이가 없었고, crosslinks value는 대조군 162.5 nM/mM, 1/2IF군 169.8 nM/mM, 1IF군 141.6 nM/mM로 이소플라본 첨가량에 따른 유의적인 차이는 없었지만 1IF군이 낮은 경향을 나타내었다.

골대사 관련 호르몬

혈청 Estradiol

이소플라본은 약한 에스트로겐 기능을 가지고 있으므로

Table 2. Effects of isoflavones supplementation on weight gains, mean food intake and food intake efficiency ratio (FER) in growing female rats

Group	Weight gains (g)	Mean food intake (g/day)	FER
Control (n = 15)	164.9 ± 10.5 ¹⁾	14.1 ± 0.82	0.21 ± 0.01
1/2IF (n = 15)	165.8 ± 16.7	14.5 ± 0.59	0.20 ± 0.01
1IF (n = 15)	159.6 ± 13.1	13.9 ± 0.99	0.19 ± 0.01

1) Mean ± SD

Table 3. Effects of isoflavones supplementation on serum alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin in growing female rats

Group	ALP (U/l)	Osteocalcin (ng/ml)
Control (n = 15)	64.4 ± 10.0 ¹⁾	3.09 ± 0.45
1/2IF (n = 15)	65.2 ± 10.2	2.68 ± 0.49
1IF (n = 15)	69.1 ± 18.4	3.67 ± 0.89

1) Mean ± SD

Table 4. Effects of isoflavones supplementation on deoxypyridinoline (DPD), creatinine and crosslinks value in growing female rats

Group	DPD (nM)	Creatinine (mM)	Crosslink value (nM/mM)
Control (n = 15)	563.4 ± 82.2 ¹⁾	4.16 ± 1.65	162.5 ± 29.7
1/2IF (n = 15)	584.5 ± 117.6	4.35 ± 1.93	169.8 ± 47.5
1IF (n = 15)	478.2 ± 119.2	3.70 ± 1.38	141.6 ± 33.7

1) Mean ± SD

Table 5. Effects of isoflavones supplementation on serum estradiol, calcitonin and parathyroid hormone (PTH) in growing female rats

Group	Control (n = 15)	1/2IF (n = 15)	1IF (n = 15)
Estradiol (pg/ml)	233.4 ± 31.9 ¹⁾	247.3 ± 65.5	283.9 ± 61.0
Calcitonin (pg/ml)	1.57 ± 0.16 ^{ab2)}	1.82 ± 0.19 ^b	1.85 ± 0.40 ^b
PTH (pg/ml)	13.13 ± 2.98	14.77 ± 2.71	12.93 ± 4.93

1) Mean ± SD

2) Values with different superscripts within the row are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

Table 6. Effects of isoflavones supplementation on serum growth hormone and insulin-like growth factor I (IGF-I) in growing female rats

Group	Growth hormone (ng/ml)	IGF-I (ng/ml)
Control (n = 15)	0.180 ± 0.009 ^{1)ab2)}	2.204 ± 0.26
1/2IF (n = 15)	0.188 ± 0.003 ^{ab}	2.209 ± 0.16
1IF (n = 15)	0.196 ± 0.017 ^b	2.277 ± 0.12

1) Mean ± SD

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

이소플라본의 섭취수준에 따라 혈청 여성 호르몬의 농도에 영향을 미치는지 알아보았다 (Table 5). 실험결과, 혈청 estradiol의 농도는 대조군 233.4 pg/ml, 1/2IF군 247.3 pg/ml, 1IF군 283.9 pg/ml로 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

부갑상선 호르몬 (Parathyroid hormone, PTH) 과 칼시토닌 (calcitonin)

이소플라본 섭취수준에 따라 부갑상선 호르몬과 칼시토닌에 미치는 효과를 Table 5에 제시하였다. 혈중 부갑상선 호르몬은 각각 대조군 13.13 pg/ml, 1/2IF군 14.77 pg/ml, 1IF군 12.93 pg/ml로 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 칼시토닌 농도는 이소플라본 섭취수준이 높을수록 높게 나타나서 각각 대조군 1.57 pg/ml, 1/2IF군 1.82 pg/ml, 1IF군 1.85 pg/ml이었고 이소플라본을 첨가한 두 군 모두 대조군보다 유의적으로 높았고 이소플라본 섭취수준에 따른 유의적인 차이는 없었다.

성장호르몬과 인슐린유사 성장인자-I

혈중 성장호르몬과 인슐린유사 성장인자-I (IGF-I) 농도를 Table 6에 나타내었다. 성장호르몬 농도는 대조군 0.180 ng/ml, 1/2IF군 0.188 ng/ml, 1IF군 0.196 ng/ml로 대조군과 비교하여 1IF군이 유의적으로 높았다. IGF-I 농도는 대조군 2.204 ng/ml, 1/2IF군 2.209 ng/ml, 1IF군 2.277 ng/ml로 실험군간에 유의적인 차이는 없었다.

고 찰

이소플라본은 에스트로젠과 구조적으로 유사하여 난소 절제 쥐¹⁹⁾와 폐경 여성²⁰⁾의 골밀도에 효과적이거나 성장기에 이소플라본의 섭취가 골대사에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 그러나 최근 성장기 암컷 쥐에서 이소플라본 섭취수준이 다른 두 군의 척추 골밀도가 대조군보다 유의적으로 높게 나타났는데²⁾ 본 연구에서는 성장기 쥐의 척추 골밀도 증가에 유익한 이소플라본 섭취수준이 골대사에는 어떠한 효과를 나타내는지 알아보려고 성장기 암컷 쥐를 대상으로 이소플라본 섭취수준에 따라 골형성 및 골흡수 지표와 골대사 관련 호르몬을 분석하여 검증하고자 하였다.

이소플라본 섭취수준이 골형성지표에 미치는 영향을 살펴보면 ALP 활성과 osteocalcin 농도는 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 성장기 쥐¹³⁾와 난소절제 쥐를 대상으로 한 연구²¹⁾에서 casein 대신 콩 단백질로 대체하거나 이소플라본을 공급한 경우 혈중 ALP가 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다. 난소절제 쥐에서 이소플라본 섭취수준에 따른 혈중 osteocalcin 농도는 이소플라본을 첨가한 모든 군에서 유의적인 감소를 나타내었다.¹⁰⁾ 또 난소절제 쥐에게 daidzein을 공급하였을 때 혈중 osteocalcin 농도가 유의적으로 감소하였으나 genistein을 공급 받은 난소절제 군은 유의적인 차이를 보이지 않았다고 보고²²⁾ 하였는데 이는 daidzein이 genistein보다 장내 소화 효소에 의한 분해 내성이 높아 생리활성이 더 높았기 때문이며²³⁾ daidzein 보충은 난소절제에 의한 빠른 골교체를 완화시키는 것으로 보고하였다. 반면 폐경 전 여성들을 대상으로 이소플라본을 1일 8, 65, 130 mg으로 3개월간 섭취시킨 Wangen 등²⁴⁾의 연구결과 osteocalcin이 이소플라본 첨가량에 따라 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다. 성장기 암컷을 대상으로 한 연구^{13,25)}에서는 이소플라본이 혈청 osteocalcin 농도에 영향을 주지 않았으며 본 연구에서도 이소플라본 섭취수준은 혈청 osteocalcin 농도에 영향이 없었다.

이소플라본 섭취수준이 골흡수지표인 DPD crosslinks

value에 미치는 영향을 살펴보면 이소플라본 첨가량에 따라 실험군간에 유의적인 차이는 없었다. Picherit 등¹¹⁾은 난소절제 쥐를 대상으로 한 연구를 통하여 이소플라본의 첨가량이 적은 군 (체중당 20 mg)에서는 요중 DPD의 유의적인 감소가 나타나지 않았고 첨가 수준이 높은 군 (체중당 40, 80 mg)에서는 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하였다고 보고하여서 이소플라본의 첨가수준이 높은 두 수준에서만 골흡수를 감소시켰으므로 이소플라본에 의한 antiosteoclastic activity가 첨가량에 의존하는 방식으로 나타난다고 보고하였다. 그러나 폐경 전 여성에게 이소플라본을 1일 8, 65, 130 mg으로 3개월간 섭취시킨 결과 DPD가 증가하여 식이 이소플라본 섭취 자체가 골교체에 유익한 효과를 나타내는 것은 아니라고 하였으며²⁴⁾ 성장기 암컷 쥐를 대상으로 한 선행연구¹³⁾에서도 골대사 지표에서 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 본 연구에서도 이소플라본 수준에 따른 유의적인 감소는 나타나지 않았다.

본 연구에서는 또한 이소플라본 섭취수준이 골대사 관련 호르몬인 여성호르몬 (estradiol), 부갑상선 호르몬, 칼시토닌에 미치는 효과를 분석하였다. 성호르몬인 에스트로젠은 골격발달과 성인기 전반에 걸쳐 골 건강유지에 필수적인 호르몬이다.²⁶⁾ 에스트로젠의 기능은 골용해에 대한 부갑상선호르몬의 민감도를 낮추고, 영향력이 있는 골용해 인자인 interleukin-1의 분비를 저해하며, 직접적으로 조골세포의 활성을 조절하는 것으로 구분할 수 있다.²⁷⁾ 따라서 에스트로젠은 조골세포와 파골세포에 작용하여 골용해를 억제하고 소장내에서 칼슘의 흡수를 증가시키고 골밀도를 증가시켜 골절 위험을 감소시킨다. 폐경으로 인한 에스트로젠 감소는 칼슘의 이용을 저하시키고 부갑상선 호르몬에 의한 골격 칼슘의 재흡수를 증가시켜 골다공증을 유발하게 된다.²⁸⁾ Xu 등²⁹⁾은 폐경 전과 후 여성에게 3개월간 이소플라본을 섭취시킨 결과 내인성 에스트로젠의 합성이 감소되었다고 보고하였고 일본인을 대상으로 한 Nagata 등³⁰⁾은 대두식품 섭취와 혈청 estradiol 농도간에 유의적인 역의 상관성을 보고하면서 대두식품을 통한 이소플라본의 섭취는 내인성 호르몬 수준과의 관련성을 제안하였다. 반면 일부 연구에서는 이소플라본의 섭취에 의한 estradiol 농도에 유의적인 영향이 없었다고 보고하고 있는데 Won 등³¹⁾은 이소플라본 추출물을 폐경 후 여성에게 각각 100, 150, 200 mg을 섭취시킨 결과 estradiol의 변화가 없었다고 보고하였다. 성장기 암컷 쥐를 대상으로 한 연구에서 이소플라본에 의한 혈청 estradiol의 농도는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.¹³⁾ 본 연구에서도 성장기에 이소플라본의 섭취 수준에 따른 내인성 에스트로젠의 농도에는 영향을 미치지

않는 것으로 나타났다.

부갑상선 호르몬은 칼슘 조절 호르몬으로서 혈중 칼슘 수준이 저하할 때 부갑상선에서 분비되어 골격으로부터 칼슘 용해를 증가시키고 신장으로부터 칼슘 재흡수를 증가시키는 작용을 하며, 칼시토닌은 골흡수를 억제하는 호르몬으로 혈중 칼슘 수준이 증가할 때 갑상선에서 분비되어 골격에 칼슘의 침착을 증가시키고 신장의 칼슘 재흡수를 감소시키는 작용을 한다.³²⁾ 성장기 동물을 대상으로 이소플라본의 첨가수준이 골형성이나 골흡수를 조절하는 호르몬에 미치는 효과에 대한 연구는 거의 없는데 성장기 암컷 흰 쥐를 대상으로 한 연구¹³⁾에서 이소플라본 첨가에 따라 부갑상선 호르몬과 칼시토닌 농도에 유의적인 영향이 없었다고 하였다. 본 연구에서 부갑상선 호르몬은 이소플라본 섭취수준에 따라 유의적인 차이가 없었고 칼시토닌은 대조군과 비교하여 이소플라본 섭취수준에 따라 1IF는 17.8%, 1/2IF군은 15.9% 유의적으로 높게 나타났다. 칼시토닌은 파골세포에 직접 작용하여 파골세포에 의해 야기되는 골흡수를 저해하는 작용을 하고 폐경 후에는 에스트로젠 분비 부족으로 칼시토닌 분비가 감소하여 골 손실이 증가하게 된다. 이소플라본을 첨가한 두군 모두 칼시토닌 농도를 유의적으로 증가시켜 골대사에 유리하게 작용하는 것으로 생각된다.

최근 골격대사의 조절에 있어서 여러 성장인자들의 역할이 중시되고 있는데 이 중 인슐린 유사 성장인자 (insulin-like growth factor: IGF)가 주요 인자로 인정되고 있다. 설치류의 골세포에서는 성장호르몬 (growth hormone: GH), estradiol, 부갑상선 호르몬 (parathyroid hormone), calcitriol 등에 의하여 IGF-I 생성이 자극된다고 하였다.³³⁾ IGF는 다양한 조직의 각 성장단계에서 유사분열을 촉진하며 동화작용에 관여한다고 알려져 있는데 IGF-I은 골조직에서 osteocalcin을 증가시키고 교원질 합성을 증가시키는 점으로 보아 조골세포의 분화기능에 강력한 작용을 하여 골형성을 증가시키며 교원질 분해 효소 (collagenase) 발현을 억제함으로써 교원질 파괴, 즉 골기질의 파괴를 억제하고 골조직내 IGF-I의 양이 다른 성장인자들보다 20배 정도 높다는 것이 밝혀짐에 따라 IGF-I은 골량 유지에 중요한 역할을 하는 성장인자로 인정되고 있다.³⁴⁾

본 연구에서 이소플라본 섭취수준에 따라 IGF-I은 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 이소플라본 섭취량에 따라 IGF-I농도에 미치는 영향을 살펴본 선행연구 결과 폐경 전 여성과 폐경 후 여성 모두에서 고수준 (130 mg) 이소플라본군보다 저수준 (8 mg) 이소플라본군의 IGF-I이 유의적으로 높게 나타났다.²⁴⁾ Kurland 등³⁵⁾은 모든 연령군을

포함한 골다공증군에서 대조군보다 혈중 IGF-I 농도가 낮고 이는 요추 골밀도의 감소 및 골 표면의 침식과 상관관계가 있다고 보고함으로써 골밀도에 있어서 혈중 IGF-I의 중요성을 보고하였다.

또한 골격대사에서 성장호르몬의 역할을 보면 Kassem 등³⁶⁾은 성장호르몬이 직접 조골세포의 증식과 분화를 자극한다고 하였고 인체 조골세포 배양에 성장호르몬을 투여하면 ALP 생성과 osteocalcin 합성이 증가된다고 하였다. 그러나 성장기 쥐를 대상으로 성장인자에 대한 이소플라본의 영향을 보고한 연구가 거의 없다. 에스트로겐 대체요법 후 12개월까지 추적한 보고³⁷⁾에 의하면 에스트로겐이 혈중 성장호르몬을 증가시킨다고 하였다. 본 연구의 경우 1IF군의 성장호르몬 농도가 대조군보다 유의적으로 높게 나타났고 이소플라본 섭취수준이 높은 경우에만 성장호르몬의 농도가 증가하였다. 성장기 암컷 쥐를 대상으로 한 선행연구에서도 이소플라본을 첨가한 실험군이 대조군보다 성장호르몬이 유의적으로 증가한 것으로 나타나 본 연구 결과와 유사하였다.³⁸⁾

이소플라본이 성장기 암컷 쥐의 골대사 지표에 미치는 영향에 관한 선행연구가 거의 없어 연구결과를 비교하기가 어려운 실정이다. 또한, 선행연구의 대부분은 골교체율의 변화가 심한 난소 호르몬 결핍의 폐경 여성²⁰⁾이나 난소절제 동물을 대상⁹⁾으로 이소플라본의 효과를 제시하였다. 그러나 본 연구대상은 성장기 암컷 쥐를 대상으로 하였고 성장에 필요한 적합한 조성으로 이루어진 표준화된 정상 식이를 공급하였기 때문에 식이 중 이소플라본의 첨가 수준에 따라 골대사 지표에 미치는 영향은 난소절제시와 다르게 나타났다. 선행연구¹²⁾에서 성장기에 이소플라본 섭취수준을 달리하여 체중 kg당 20, 40 mg 수준의 이소플라본을 공급한 결과, 대퇴골밀도는 이소플라본 섭취수준이 낮은 경우 유의적 증가를 보이지 않았으나 척추 골밀도는 이소플라본을 첨가한 군 모두 유의적으로 높게 나타났고 이소플라본 섭취수준에 따라 각각 대조군보다 8.4%, 7.1% 높았다. 본 연구는 콩단백질을 정상식으로 섭취할 때 첨가되는 이소플라본 양의 50, 100% 수준의 식이를 공급한 결과 골대사지표는 이소플라본 섭취수준에 따라 유의적인 차이가 없었다. 그러나 골대사 관련 호르몬을 이소플라본 섭취수준에 따라 분석한 결과, 칼시토닌은 대조군과 비교하여 1IF는 17.8%, 1/2IF군은 15.9% 유의적으로 높게 나타났다. 또한 성장호르몬은 1IF군이 대조군보다 8.9% 유의적으로 높게 나타나 골밀도에 유의하게 작용하는 것으로 보여진다.

성장기 암컷 흰쥐에서 이소플라본의 섭취수준이 골대사에 미치는 영향을 살펴본 결과, 1/2IF군은 칼시토닌농도를

유의적으로 증가시켰고 1IF군은 칼시토닌과 성장호르몬의 분비를 유의적으로 증가시켰다. 여성호르몬이 정상적으로 분비되는 성장기 쥐의 경우, 1/2IF군보다 1IF군에 첨가한 이소플라본 섭취수준이 칼시토닌과 성장호르몬을 유의적으로 높여 골대사에 유리할 것으로 사료되나, 호르몬 증가에 따른 칼슘 흡수 및 재흡수에 미치는 영향에 대한 추후 검토가 요구되며 골대사에 유리한 이소플라본의 다양한 섭취수준에 대한 연구가 요망된다.

요 약

성장기 암컷 쥐를 대상으로 이소플라본 섭취수준에 따라 골대사 지표 및 골대사 관련 호르몬에 미치는 영향을 알아보기 위해 실시한 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 체중증가량과 식이섭취량, 식이효율은 이소플라본의 섭취수준에 따라 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.
- 2) 골형성 지표인 혈청 ALP, osteocalcin은 이소플라본 섭취수준에 따라 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.
- 3) 골흡수 지표인 DPD crosslink value도 이소플라본 섭취수준에 따라 실험군간에 유의적인 차이는 없었다.
- 4) 혈청 에스트로겐 농도, 부갑상선 호르몬과 인슐린 유사 성장인자-I 농도는 이소플라본 섭취수준에 따라 유의적인 차이가 없었다.
- 5) 칼시토닌농도는 1IF군과 1/2IF군 모두 대조군보다 유의적으로 높게 나타났다.
- 6) 성장 호르몬 농도는 이소플라본 섭취수준이 높은 IF군이 대조군보다 유의적으로 높게 나타났다.

이상의 결과에서 이소플라본 섭취수준에 따라서 1/2IF군보다 1IF군이 골형성과 골흡수에 유리한 경향을 나타내었고 칼시토닌과 성장호르몬이 유의적으로 증가하여 장기적으로는 골대사에 더 유리한 영향을 미칠 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, Saag PT, Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology* 1998; 139(10): 4252-4263
- 2) Messina ML. Soy foods and soybean isoflavone and menopausal health. *Nutr Clin Care* 2002; 5(6): 272-282
- 3) Messina M, Messina V. Soyfoods, soybean isoflavones, and health: a brief overview. *J Ren Nutr* 2000; 10(2): 63-68
- 4) Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 1993; 41: 1981-1987

- 5) Kwon TW, Song YS, Kim TS, Moon GS, Kim JI, Hong JH. Current research on the bioactive functions of soy foods in Korea. *Korea Soybean Digest* 1998; 15: 147-160
- 6) Lee MJ, Kim MJ, Min SH, Yoon S. A study on attitude of soy food and estimated dietary isoflavone intake among Korean adolescents. *Korean J Community Nutrition* 2004; 9(5): 606-614
- 7) Greendale GA, Fitzgerald G, Huang MH, Sternfeld B, Gold E, Seeman T, Sherman S, Sowers M. Dietary soy isoflavones and bone mineral density: Results from the study of women's health across the nation. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 746-754
- 8) Anderson JJB, Garner SC. The effects of phytoestrogens on bone. *Nutrition Research* 1997; 17(10): 1617-1632
- 9) Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JJW. Soy protein and isoflavones: Their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(suppl): 1375s-1379s
- 10) Picherit C, Chanteranne B, Pelissero CB, Davicco MJ, Lebecque P, Barlet JP, Coxam V. Dose-dependent bone-sparing effects of dietary isoflavones in the ovariectomized rats. *Br J Nutr* 2001; 85: 307-316
- 11) Picherit C, Bennetau-Pelissero C, Chanteranne B, Lebecque P, Davicco MJ, Barlet JP, Coxam V. Soybean isoflavones dose-dependently reduce bone turnover but do not reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. *J Nutr* 2001; 131: 723-728
- 12) Choi MJ, Jung YJ. The effects of level of isoflavones supplementation on bone mineral density in growing female rat. *Korean J Nutr* 2006; 39(4): 338-346
- 13) Choi MJ, Jo HJ. Effects of soy and isoflavones on bone metabolism in growing female rat. *Korean J Nutr* 2003; 36(6): 549-558
- 14) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents. *J Nutr* 1993; 123: 1939-1951
- 15) Tietz NW. Alkaline phosphatase study group, Committee on standards of the AACC, Subcommittee on enzymes. Progress in the development of a recommended method for alkaline phosphatase activity measurements. *Clin Chem* 1980; 26: 1023-1027
- 16) Nanda N, Joshi H, Subbarao SK, Sharma VP. Two-site immunoradiometric assay (IRMA): detection, efficiency, and procedural modifications. *J Am Mosq Control Assoc* 1994; 10: 225-227
- 17) King S, Cekan SZ, Dicalafusy U. Validation of radioimmunoassay for 17-estradiol isotope dilution-mass spectrometry and a test of radiochemical purity. *Clin Chem Acta* 1983; 135: 189-201
- 18) Guarnero P, Grimaux M, Seguin P, Delmas P. Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated in vivo and in vitro. *J Bone Min Res* 1994; 9: 692-698
- 19) Arjmandi BH, Birnbaum R, Goyal NV, Getlinger MJ, 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* 1998; 68(suppl): 1364s-1368s
- 20) Chen YM, Ho SC, Lam SSH, Ho SSS, Woo SLF. Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass: A double-blind, randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(10): 4740-4747
- 21) Arjmandi BA, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, and Kukreja SC. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 1996; 126: 161-167
- 22) Picherit C, Coxam V, Bennetau-Pelissero C, Kati-Coulibaly S, Davicco MJ, Lebecque P, Barlet JP. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr* 2000; 130: 1675-1681
- 23) King RA. Daidzein conjugates are more bioavailable than genistein conjugates in rat. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1496s-1499s
- 24) Wangen KE, Duncan AM, Merz-demlow BE, Xu X, Marcus R, Phipps WR, Kurzer MS. Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(9): 3043-3048
- 25) Jeon HS. Effects of soy protein and isoflavones on bone mineral content and bone mineral density in growing rats consuming a low calcium diet [MS Thesis]. Daegu: Keimyung University; 2003.
- 26) Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiol Rev* 2001; 81: 419-447
- 27) Kurzer MS, Xu X. Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr* 1997; 17: 353-381
- 28) Hedlund LR, Gallagher JC. The effect of age and menopause on bone mineral density of proximal femur. *J Bone Miner Res* 1989; 4(4): 639-642
- 29) Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Hendrich S. Neither background diet nor type of soy food affects short-term isoflavone bioavailability in women. *J Nutr* 2000; 130: 798-801
- 30) Nagata C, Inaba S, Kawakami N, Kakizoe T, Shimizu H. Inverse association of soy product intake with serum androgen and estrogen concentrations in Japanese men. *Nutr Cancer* 2000; 36(1): 14-18
- 31) Won HJ, Lee BS, Lee SK, Choi Y, Yoon S, Park KH. The effects of isoflavone on postmenopausal symptoms and hormonal changes in postmenopausal women. *Korean Society of Menopause* 2001; 7(1): 54-63
- 32) Gruber HF, Ivey JL, Baylink DJ. Long Term Calcitonin Therapy in postmenopausal osteoporosis. *Metabolism* 1984; 33: 295-303
- 33) Chenu D, Valentin-Opran A, Chavassieux P, Saez S, Meunier PJ, Delmas PD. Insulin like growth factor I hormonal regulation by growth hormone and by 1,24(OH)₂D₃ and activity on human osteoblast-like cells in short-term cultures. *Bone* 1990; 11(2): 81-86
- 34) Canalis E. Skeletal growth factors and aging. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(5): 1009-1010
- 35) Kurland ES, Rosen CJ, Cosman F, McMahon D, Chan F, Shane E, Lindsay R, Dempster D, Bilezikian JP. Insulin-like growth factor-I in men with idiopathic osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2799-2805
- 36) Kassem M, Blum W, Risteli J. Growth hormone stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 1993; 52: 222-226
- 37) Hartmann B, Kirchengast S, Albrecht A, Laml T, Bikas D, Huber J. Effects of hormone replacement therapy on growth hormone secretion patterns in correlation to somatometric parameters in healthy postmenopausal women. *Maturitas* 1995; 22: 239-246
- 38) Jo HJ. The effects of soy protein and soy isoflavones on bone and lipid metabolism in growing female rats [Dissertation]. Daegu: Keimyung University; 2002