흰쥐의 조직 중 무기질 함량과 골밀도 분석

김명희[1] · 김무경[1] · 이종완[2] · 김미현[3] · 강명화[4] · 최미경[1,†]

[1]공주대학교 식품영양학과, [2]동물자원학과, [3]강원대학교 식품영양학과, [4]호서대학교 식품영양학과

Analysis of Mineral Contents in Tissues and Bone Mineral Density of Rats

Myung-Hee Kim[1], Moo-Kyung Kim[1], Jong-Wan Lee[2], Mi-Hyun Kim[3], Myung-Hwa Kang[4] and Mi-Kyeong Choi[1,†]

[1]Dept. of Food and Nutrition and [2]Dept. of Animal Resources Science, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea

[3]Dept. of Food and Nutrition, Kangwon National University, Samcheok 245-907, Korea

[4]Dept. of Food Science and Nutrition, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

ABSTRACT

The purpose of present study was to analyze mineral contents in various tissues and investigate theirs relation with bone mineral density (BMD) in rats. Fifteen Sprague-Dawley rats were fed standard diet for 4 weeks. Body weight gain, feed intake, and feed efficiency ratio were 41.00 g/week, 171.15 g/week, and 0.24 respectively. Among 12 minerals in serum, Ca is the highest with 6.86 mg/dl. Serum Mg, Se, and Cu were 2.52 mg/dl, 0.23 mg/dl and 0.22 mg/dl respectively. Mg contents in liver, spleen, and kidney were 246.36 μg/g, 105.01 μg/g, and 273.38 μg/g respectively. Tibia contents of Ca, Mg, Zn, Fe and V were 194.91 mg/g, 23.10 mg/g, 0.60 mg/g, 0.35 mg/g and 0.14 mg/g respectively. BMDs of right tibia and spine were 122.04 mg/cm^2 and 153.61 mg/cm^2. There were significantly positive correlations between tibia BMD and Se (p<0.05), tibia BMD and V (p<0.01), spinal BMD and V(p<0.05), respectively. It's expected that these results are used as a reference data in following study to elucidate physiological function of minerals.

(Key words : Minerals, Tissues, Bone mineral density, Rats)

서 론

생체에 있어서 무기질은 에너지원은 아니지만, 생물체를 구성하는 성분이며, 비타민과 같이 생명에 관계되는 여러 생리작용에 관여하므로 생존하는데 절대적으로 필요한 영양소이다. 현대 영양학에 의하면 이미 알고 있는 생체 필수적인 무기질은 20여 종이 있는데, 체중의 4~5 %를 차지한다.

생체내의 무기질은 칼슘(Ca), 인(P), 마그네슘(Mg), 칼륨(K), 나트륨(Na), 염소(Cl), 황(S), 요오드(I), 철(Fe), 구리(Cu), 아연(Zn), 셀레늄(Se), 불소(F), 코발트(Co), 크롬(Cr), 망간(Mn), 몰리브덴(Mo), 니켈(Ni), 바나듐(V), 주석(Sn), 규소(Si) 등이다. 이중 칼슘, 인, 마그네슘, 칼륨, 나트륨, 염소, 황 등 7종의 함량이 비교적 많은데, 매일 음식에서 인체에 공급되어야 할 양은 100 mg 이상으로써 다량 무기질이라고 부른다. 이 7종 이외에 요오드, 철, 구리, 아연, 셀레늄, 불소, 코발트, 크롬, 망간, 몰리브덴 등도 인체 필수 무기질로써 매일 요구량이 100 mg 이하로 극히 미량이지만 그 생리적 기능이 중요하기 때문에 필수 미량 무기질이라고 한다(Underwood, 1976).

이들 외에 니켈, 바나듐, 주석, 규소 등도 체내에 존재하고 있는 것이 확인되고 있지만 아직까지 이들의 확실한 기능 및 중요성을 찾지 못하고 있다. 그리고 극미량의 존재로써 인체의 생명과 활동에 크게 해를 일으키는 무기질도 있다. 이들을 비필수적인 오염 물질로 취급하고 있는데, 납(Pb), 카드뮴(Cd), 수은(Hg), 비소(As), 바리움(Ba), 스트론튬(Sr), 알루미늄(Al), 리튬(Li), 베리리움(Be), 루비디움(Rb) 등이 이에 속한다(Cotzias, 1964).

이와 같이 다양한 무기질의 생체 기능, 함량 및 요구량이 밝혀지지 않은 상황에서 이를 규명하기 위한 지속적인 연구가 요구되고 있다. 동물체의 4~5% 밖에 함유되어 있지 않은 무기질은 동물의 종류와 연령에 따라 동물체 내 함량이 다르기 때문에(Widdowson, 1974) 무기질의 생체 내 함량을 분석하는 연구는 무기질 연구에 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

체내 무기질 중 가장 많은 양을 차지하고 있는 칼슘은 체내 양의 약 99%가 $Ca(PO_4)_2$로써 골격의 세포간질에 존재하면서 적당한 골격 발달에 절대적으로 필요한 역할을 하고 있다(Bell, 1952). 칼슘 이외에도 인, 마그네슘과 같은 무기질이 골격 기능에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 밝혀진 바 있다(Nelson 등, 1965; Ishimi, 2010). 그 밖

† Corresponding author : Phone: +82-41-330-1462, E-mail: mkchoi67@kongju.ac.kr

에 다양한 미량 무기질이 골격 발달에 관여하는 것으로 제기되고 있지만 이에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 실험동물로 가장 많이 사용되는 rat에 있어 첫째, 조직 중 무기질 함량을 분석하고, 둘째, 골 무기질과 골밀도를 분석하여 이들 간 상관 관계를 살펴봄으로써 향후 다양한 무기질의 생체 기능을 규명하는 연구에 필요한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 실험식이

체중이 110 g 정도 되는 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 15마리를 구입하여 4주간 사육하였다. 실험실은 온도 24±2℃, 습도 55~60%를 항상 유지시켜 주었으며, 물은 2차 증류수로 매일 급여시켜 주었고, 모든 식이는 자유급식시켰다. 무기질의 오염을 방지하기 위하여 실험실에 필요한 모든 기구는 5 g/L EDTA(ethylene diamine tetra acetate) 용액에 24시간 동안 담갔다가 2차 증류수로 세 번 이상 세척하고, 습기를 제거한 다음에 사용하였다. 실험식이의 배합은 AIN-96G(Reeves, 1997)를 참고로 하였으며, 단백질의 급원은 casein(Junsei Chemical Co, Ltd, Tokyo, Japan)을 사용하였고, corn starch 및 sucrose는 Shinyo Pure Chemical사(Osaka, Japan)의 제품을 구입하여 사용하였다.

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

식이섭취량은 일주일에 3번, 체중은 일주일에 한번 같은 시각에 측정하였다. 체중 및 식이섭취량 조사는 식이에 의한 급격한 체중의 변화를 줄이기 위하여 3시간 전에 절식시킨 후 실시하였다. 식이 효율은 일주일간 증가한 체중과 같은 기간의 식이섭취량을 이용하여 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{식이효율 (FER)} = \frac{\text{일주일간의 체중 증가량 (g)}}{\text{일주일간의 식이 섭취량 (g)}}$$

혈액 및 장기 채취

사육이 종료된 실험동물은 24시간 절식시킨 후 ethyl-ether로 마취시켜 바로 개복한 후, 간정맥에서 채혈하였다. 채취한 혈액은 4℃, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 −70℃에 냉동 보관하여 분석에 사용하였다. 간, 비장, 신장, 요추와 오른쪽 경골은 혈액을 채취한 후 즉시 적출하여 연결조직을 제거한 다음 −70℃에 냉동 보관하면서 분석에 사용하였다.

무기질 함량 분석

경골은 전량을 취하고 균질화한 간, 비장, 신장은 일정량을 취해 microwave digestion system(Ethos touch control, Milestone Inc, Italy)으로 분해하여 검액으로 만든 뒤 ICP-AES(Thermoelemental Ltd., UK)를 이용하여 12종류 무기질의 정량분석을 실시하였다. 동일한 시료의 3반복 분석으로부터 얻은 상대 표준 편차(relative standard deviation, RSD)는 3% 이내로 재현성이 우수하였다. 실험에 사용한 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위하여 깨끗이 씻은 후 플라스틱 제품인 경우에는 0.4% EDTA 용액에, 유리제품일 경우에는 질산원액에 24시간 이상 담갔다가 2차 증류수로 3번 이상 세척하고, 건조기에서 습기를 제거한 다음에 사용하였다.

골밀도 분석

경골과 요추(L1~L4)의 골밀도는 소형 실험동물용 PIXImus2(Lunar, Wisconsin, USA)를 이용하여 dual-energy X-ray absorptiometry법으로 측정하였다. 15마리의 경골과 요추의 3반복 분석으로부터 얻은 변동계수비율(% CV)은 각각 0.64%와 1.81%이었다.

통계처리

실험 결과는 SAS program(version 8.01, SAS Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 계산하였고, 경골과 요추 골밀도와 경골의 무기질 함량 간 상관관계는 Pearson's correlation coefficient(r) 및 이에 대한 유의성을 $p<0.05$ 수준에서 검정하였다.

결 과

체중 증가량, 식이효율 및 비만도

4주 동안 표준식이로 사육한 흰쥐의 체중 증가량, 사료섭취량 및 식이효율에 대한 결과는 Table 1과 같다. 사육 전 평균 체중은 111.00 g이었으며, 사육기간 중 체중 증가량은 41.00 g/week, 사료 섭취량은 171.15 g/week이었고, 그에 따른 사료효율은 0.24이었다.

조직 중 무기질 함량

4주간 표준식이로 사육한 흰쥐의 조직 중 무기질 함량에 대한 결과는 Table 2와 같다. 12종의 분석 무기질 중 혈청은 칼슘이 6.86 mg/dl로 가장 높았고, 마그네슘 2.52 mg/dl, 셀레늄 0.23 mg/dl, 구리 0.22 mg/dl 수준이었다. 간장은 마그네슘이 246.36 μg/g으로 가장 높았으며, 철 194.07 μg/g, 칼슘 64.94 μg/g이었고, 바나듐은 검출되지 않았다. 비장은 마그네슘이 105.01 μg/g으로 가장 높았고, 철 75.46 μg/g, 칼슘 35.95 μg/g이었다. 신장은 마그네슘이 273.38 μg/g으로 가장 높았으며, 칼슘 115.47 μg

Table 1. Body weight and food intake of the rats

Variable	Mean
Initial body weight (g)	111.00 ± 10.22
Final body weight (g)	271.50 ± 16.84
Weight gain (g/week)	41.00 ± 5.18
Food intake (g/week)	171.15 ± 11.23
FER	0.24 ± 0.04

Table 2. Mineral contents in serum and tissues of the rats

Mineral	Serum (mg/dl)	Liver (μg/g)	Spleen (μg/g)	Kidney (μg/g)	Tibia (mg/g)
Ca	6.86 ± 3.45[1)]	64.94 ± 5.76	35.95 ± 16.29	115.47 ± 57.57	194.91 ± 58.48
Mg	2.52 ± 1.24	246.36 ± 25.79	105.01 ± 55.77	273.38 ± 129.19	23.10 ± 8.50
Fe	0.14 ± 0.12	194.07 ± 23.43	75.46 ± 40.71	83.23 ± 47.23	0.35 ± 0.15
Cu	0.22 ± 0.14	7.26 ± 1.77	14.47 ± 2.24	10.23 ± 4.76	ND
Zn	0.15 ± 0.12	41.04 ± 5.83	12.31 ± 4.18	23.53 ± 13.46	0.60 ± 0.21
Se	0.23 ± 0.17	2.32 ± 0.30	13.08 ± 3.12	14.28 ± 8.29	0.09 ± 0.06
Co	0.16 ± 0.12	0.10 ± 0.01	10.09 ± 1.51	ND	ND
Cr	0.11 ± 0.08	1.71 ± 0.15	9.50 ± 1.78	ND	ND
Mn	0.10 ± 0.07	3.90 ± 0.37	8.56 ± 1.28	ND	ND
Mo	0.16 ± 0.11	1.48 ± 0.28	10.50 ± 1.51	2.58 ± 1.23	ND
Ni	0.02 ± 0.03	0.96 ± 0.14	6.81 ± 1.42	ND	ND
V	0.10 ± 0.07	ND[2)]	6.00 ± 1.12	ND	0.14 ± 0.07

[1)] Mean±standard deviation.
[2)] Not detected.

/g, 철 83.23 μg/g이었고, 코발트를 포함한 5종의 무기질은 검출되지 않았다. 경골은 칼슘이 194.91 mg/g으로 가장 높았으며, 마그네슘 23.10 mg/g, 아연 0.60 mg/g, 철 0.35 mg/g, 바나듐 0.14 mg/g이었고, 코발트를 포함한 6종의 무기질은 검출되지 않았다.

골밀도와 골무기질 함량 간 상관 관계

4주간 표준식이로 사육한 흰쥐의 경골과 요추 골밀도와 경골의 무기질 함량 간 상관 관계는 Table 3과 같다. 경골의 골밀도는 122.04 mg/cm^2, 요추의 골밀도는 153.61 mg/cm^{2}이었다. 경골의 골밀도는 경골의 셀레늄(p<0.05), 바나듐 함량(p<0.01)과 유의한 정의 상관 관계를, 요추의 골밀도는 경골의 바나듐 함량(p<0.05)과 유의한 정의 상관 관계를 보였다.

Table 3. Correlation coefficient between tibia minerals and bone mineral density in the rats

		Bone mineral density	
		Tibia	Spine
Mean (mg/cm^2)		122.04 ± 5.15	153.61 ± 5.33
Correlation coefficient	Ca	0.4355	0.2983
	Mg	0.1689	0.1314
	Fe	−0.2630	0.0490
	Zn	−0.3177	0.1040
	Se	0.5207*	0.3568
	V	0.6423**	0.5947*

* p<0.05, ** p<0.01.

고 찰

본 연구에서는 흰쥐의 여러 조직 중 다양한 무기질 분포를 살펴보고자 4주간 표준식이로 사육한 후 혈액, 간장, 비장, 신장, 경골을 채취하여 칼슘, 마그네슘의 다량 무기질과 코발트, 크롬, 구리, 철, 망간, 몰리브덴, 니켈, 셀레늄, 바나듐, 아연의 미량 무기질을 포함한 총 12종류의 필수 무기질 함량을 분석하였다.

칼슘은 체내 99%가 뼈 조직에 존재하면서 골격 기능을 하며, 나머지 1%는 뼈 이외에 조직에 분포되어 있고, 주로 혈액에 많이 존재하면서 혈액 응고, 근육 수축과 긴장, 신경 조절 등 중요한 생리적 기능을 수행한다(Nordin, 1964). 인체에 있어 혈청 칼슘은 9~11 mg/dl로 항상성을 유지하는데, rat을 분석한 본 연구에서 혈청 칼슘은 6.86 mg/dl로 인체 수준보다 낮았지만 rat을 대상으로 분석한 선행 연구들(Jun 등, 2002; Kim 등, 2008)과는 유사한 수준이었다.

마그네슘은 동물 체내에서 가장 중요한 역할을 하는 무기질 중의 하나로써 골격에 약 60%, 연조직에 약 40% 존재한다. 혈청 마그네슘 함량은 1~3 mg/dl로 보고되고 있는 바와 같이(Brown, 1956) 본 연구에서도 혈청 마그네슘 함량은 2.52 mg/dl를 보였다. 연조직 세포 내의 마그네슘 함량은 칼륨 다음으로 높기 때문에 조직 내 마그네슘의 손실은 곧 조직 및 세포의 파손을 의미한다고 한다. 본 연구에서 칼륨은 분석하지 않았지만, 간장, 비장, 신장에서 분석한 무기질 중 마그네슘 함량이 가장 높아 마그네슘이 다른 무기질보다 연조직에 높게 분포함을 알 수 있

었다. 골격 내 마그네슘 함량은 동물의 종류나 나이 및 사양방법에 따라 다른데, 골격 내 마그네슘 함량은 마그네슘 섭취량에 따라 증가하였으며, 어린 동물이 성숙한 동물보다 그 함량이 높다고 한다(Barbagallo 등, 2009). 본 연구에서 분석한 경골의 마그네슘 함량은 표준식이로 사육하였기 때문에 식이의 영향을 받지 않은 것으로 보이며, 4주령의 성장기 흰쥐에서 23.10 mg/g으로 나타났다. 향후 다양한 식이조성이나 연령에 따른 조직 중 무기질 함량을 비교 분석하는 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

철, 구리, 아연 등과 같은 미량 무기질은 각 조직이나 기관마다 그 함량이 다르고 차이가 크게 나타나며, 극미량 있는 것이 많은 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 분석한 10가지 미량 무기질의 혈청 함량은 셀레늄 2.29 mg/dl에서 니켈 0.22 mg/dl, 간장은 철 194.07 μg/g에서 코발트 0.10 μg/g, 비장은 철 75.46 μg/g에서 바나듐 6.00 μg/g, 신장은 철 83.23 μg/g에서 몰리브덴 2.58 μg/g의 넓은 함량 차이를 보였다. 간장과 신장에서는 검출되지 않은 미량 무기질도 다수 있었다.

골의 구성성분은 무기질 68.8%, 유기질 22.1%, 수분 9.1% 정도로 구성되어 있다. 골 무기질 중 칼슘 함량이 가장 높아 32~37%에 달하며, 인은 14~16%, 마그네슘은 3~7% 정도이다(Owen, 1952). 본 연구에서 경골의 칼슘 함량은 974.54 mg/g으로 가장 높았고, 마그네슘 함량은 23.10 mg/g이었으며, 그 밖의 무기질은 소량이거나 검출되지 않았다.

동물 체내에서 바나듐의 생리적 기능은 아직 명확히 밝혀지지 않은 상태이다. 바나듐은 제 2형 당뇨환자의 혈당을 낮추는 효과가 있어 혈당 개선 약물로 이용되고 높다. 약물로 섭취한 바나듐은 뼈에 축적되기 때문에 바나듐이 골격 구조와 강도에 영향을 미치는가에 대한 관심이 증가하고 있다. Osteoblast-like cell을 이용한 생체외 실험에서 낮은 농도의 바나듐은 osteoblast의 증식과 분화를 촉진한 반면, 높은 농도에서는 이러한 효과가 억제되었다고 한다(Cortizo와 Etcheverry, 1995; Cortizo 등, 2000). Facchini 등(2007)은 9~12개월의 당뇨 유발 암쥐에게 bisoxovanadium(BEOV)을 12주 동안 공급했을 때 당뇨로 유발된 골기능 저하를 개선시켰으며, 특히 BEOV는 당뇨와 정상 쥐에서 모두 골 형성을 증가시켰다고 하였다. Zhang 등(2007)은 당뇨쥐에게 매일 3 mg의 바나듐에 해당하는 vanadyl acetylacetonate를 35일간 경구 투여했을 때 골강도, 섬유주 두께, 무기질 침착률, 혈당 osteocalcin이 정상 수준으로 증가함으로써 당뇨와 관련된 골격이상의 개선 효과를 보였다고 보고하였다. 본 연구에서 경골의 바나듐 농도는 0.14 mg/g으로 코발트, 크롬, 망간, 몰리브덴, 니켈과 같은 미량 무기질은 검출되지 않은 것과 차이를 보였다. 또한, 경골과 요추 골밀도와 무기질 함량과의 관계에서 경골의 바나듐 함량은 각각의 골밀도와 유의한 정의 상관 관계를 보여 바나듐이 골격과 관련된 기능을 하는 것으로 생각된다. 앞으로 이를 분명히 규명하기 위해서는 바나듐의 공급량과 공급형태에 따른 골격 상태를 면밀히 살펴보는 보다 체계적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

인용문헌

1. Barbagallo M, Belvedere M, Dominguez LJ (2009): Magnesium homeostasis and aging. Magnes Res 22:235-246.
2. Bell GH (1952): Bone as a skeletal structure. Br J Nutr 6:405-409.
3. Brown RW (1956): Magnesium; its role in metabolism. J Kans Med Soc 57:170-179.
4. Cortizo AM, Etcheverry SB (1995): Vanadium derivatives act as growth factor-mimetic compounds upon differentiation and proliferation of osteoblast-like UMR-106 cells. Mol Cell Biochem 145:97-102.
5. Cortizo AM, Brussone L, Molinuevo S, Etcheverry SB (2000): Vanadate-induced nitric oxide production: role in osteoblast growth and differentiation. Eur J Pahrmacol 400:279-285.
6. Cotzias GC (1964): Trace metals: essential or detrimental to life. Tech Rep Brookhaven Natl Lab 10:1-14.
7. Facchini DM, Yuen VG, Battell ML, McNeill JH, Grynpas MD (2006): The effects of vanadium treatment on bone in diabetic and non-diabetic rats. Bone 38: 368-377.
8. Ishimi Y (2010): Nutrition and bone health. Magnesium and bone. Clin Calcium 20:762-767.
9. Jun YS, Choi MK, Kim AJ, Kim MH, Sung CJ (2002): Effect of iron supplementation on mineral utilization in rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 31:658-663.
10. Kim MH, Kim YR, Lee JW, Park BK, Kim MK, Choi MK, Kim AJ (2008): The effects of caffeine on lipid and mineral content in the serum of rats. Korean J Food & Nutr 21:336-343.
11. Nelson TS, Hargus WA, Storer N, Walker AC (1965): The influence of calcium on phosphorus utilization by chicks. Poult Sci 44:1508-1513.
12. Nordin BE (1964): The blood-bone equilibrium. Sci Basis Med Annu Rev 308-316.
13. Owen EC (1952): Bone as a mineral reserve. Br J Nutr 6:415-423.
14. Reeves PG (1997): Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. J Nutr 127: 838S-841S.
15. Underwood EJ (1976): Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4th ed. Academic Press, New York, pp 2-15.
16. Widdowson EM (1974): Trace elements in fetal and early postnatal development. Proc Nutr Soc 33:275-284.
17. Zhang SQ, Chen GH, Lu WL, Zhang Q (2007): Effects on the bones of vanadyl acetylacetonate by oral administration: a comparison study in diabetic rats. J Bone Miner Metab 25:293-301.

(접수일자: 2005. 5. 20 / 채택일자: 2010. 8. 20)