

골다공증 모델 흰쥐에서 고수준의 단백질과 칼슘 섭취가 칼슘대사 및 신장기능에 미치는 영향

오주환 · 송명희 · 이연숙

서울대학교 농업생명과학대학

Effects of High Protein and Calcium Intakes on Calcium Metabolism and Renal Function in Ovariectomized Osteoporosis Rat Model

O, Ju Hwan · Song, Myung Hee · Lee, Yeon Sook

College of Agriculture of Life Sciences, Seoul National University, Suwon, Korea

ABSTRACT

This study was to investigate interaction between dietary protein and Ca levels in Ca metabolism and renal function in osteoporosis rats. Five week-old female rats were fed a low Ca diet for 4 weeks after ovariectomy operation to establish rat models of osteoporosis. The ovariectomized osteoporosis rats were divided into six groups and were fed experimental diets which contained two levels of protein, normal(20%) and high(40%), and three levels of Ca, low (0.06%), normal(0.47%) and high(0.94%) for 4 weeks, respectively.

The ovariectomized rat model of osteoporosis showed a remarkable decrease in serum Ca concentration, fresh weight and breaking force of femur, Ca and P contents of femur, and apparent absorption and retention of Ca. The supplementations of Ca at the dietary levels of normal and high levels significantly enhanced the reduced Ca bioavailability shown in the above experimental rat models of osteoporosis, regardless of dietary protein levels ; whereas the rats which were fed the low Ca diet demonstrated rather a decrease in its bioavailability. Irrespectively of the dietary Ca levels, the rats which were fed high protein diet exhibited an increase in kidney weight, urinary Ca, volume and hydroxyproline, and glomerular filtration ratio(GFR). The results show that dietary protein and calcium levels affect the renal function and Ca metabolism independently, while the interaction between protein and calcium have not been shown. (*Korean J Nutrition* 30(6) : 605~613, 1997)

KEY WORDS : osteoporosis · high protein · high Ca · Ca metabolism · renal function.

서 론

노령화에 따른 골격대사 이상 또는 골격 칼슘대사의 불균형으로 인한 가장 전형적인 골격질환인 골다공증(osteoporosis)은 근래 노인 인구의 증가로 세계 각국에

채택일 : 1997년 7월 7일

*본 연구는 서울대학교 발전기금(선경)학술연구비의 지원에 의해 수행되었음.

서 중요하게 다루어지고 있는 보건의양 문제 중 하나이다. 골다공증의 유발요인은 다요인적(multifactorial)이고 복합적인 것으로, 생리적, 영양적, 유전적, 환경적인 자들이 직·간접적으로 또는 상호 복합적으로 관여하는 것으로 보고되어 왔으나 아직 충분히 규명되어 있지 않다. 이들 요인 가운데 칼슘섭취와 노령화에 따른 골격대사가 많은 연구자들에 의해 특히 강조하여 왔다¹⁻³⁾. 즉 골다공증의 주요 발병 요인으로 칼슘의 섭취 부족과 체내 이용성 저하 및 칼슘 대사의 변동을 들고 있으나

치료 측면에서 칼슘의 섭취 효과에 대해서는 모순된 결과가 제시되어 왔다.

노령화에 따른 골격대사에 있어서 골격대사 이상 특히 골격 손실은 성장기에 이루어지는 최대골질량(peak bone mass)과 골질 보유량(retained bone mass)이 주요 결정인자로 주목되고 있다. 골격 손실 억제 측면에 있어서 칼슘 섭취는 결정적인 역할이라기 보다는 permissive role로 생각되며⁴⁾, 골격 성장기에 최대 골질량 형성을 통해 골다공증을 예방하는 역할에 더 큰 비중을 두고 있다. 또 노령화 및 골다공증에서는 칼슘 흡수를 감소, 노중 칼슘배설량 증가, 저칼슘 섭취에 대한 적응력 감소, 혈중 VD_3 농도 저하 등 체내 칼슘 이용성이 저하된다. 이러한 관점에서 볼 때 칼슘 섭취가 골다공증 발병과 치료에 유일하게 가장 중요한 인자가 될 수 없다 하더라도 체내 이용성 저하를 보상하기 위해서 칼슘 섭취 필요량을 크게 증가해야 한다고 본다⁶⁾.

한편 단백질 섭취와 골격대사는 두 가지 측면에서 고려되어야 할 것이다. 첫째는 골격 건강 유지에 있어서 단백질 섭취가 최대 골질량 형성과 유지에 중요한 요인이 되는 것으로, 단백질 섭취와 골밀도 사이에는 양(+)의 상관관계를 가지므로, 단백질 섭취 부족은 골다공증의 주요 요인이 된다는 것이다⁸⁻⁹⁾. 충분한 단백질의 섭취는 골절 치료에 유효하게 작용함도 보고되어 있다⁷⁾. 둘째는 과잉의 단백질 섭취가 노 중 칼슘의 과잉 배설을 초래함으로써 음(-)의 칼슘평형을 나타내며, 칼슘 섭취 필요량을 증가시킨다는 것이다. 많은 연구에서 단백질 섭취량을 2배로 증가시켰을 때 노중 칼슘 배설량을 50%까지 증가시킨다고 보고했다⁸⁻¹¹⁾.

지금까지 사람과 실험동물을 대상으로 성장기 또는 노령기에 있어서 골격대사에 대한 칼슘과 단백질 섭취의 양적 검토가 이루어져 왔으나⁸⁻¹¹⁾, 골격질환 동물을 대상으로 상기 문제를 검토한 예는 거의 없다. 골격질환 동물에서는, 칼슘과 단백질 섭취가 골격질환의 발병, 진행과정 뿐 아니라 치료 측면에서도 가장 중요한 영양소임에 틀림없다. 특히, 골다공증 환자 또는 노년기에 이들 영양소의 체내 이용성 저하로 말미암아 섭취량을 증가시킬 것을 권장하고 있으나, 증가된 섭취량이 칼슘과 골격대사 및 생리기능에 어떻게 영향을 미칠지는 시급히 해결되어야 할 과제로 남아있다.

이러한 관점에서 본 연구에서는 흰쥐를 이용하여 난소절제와 저칼슘 식이 섭취에 의해 골다공증 실험모델 동물을 설정한 후, 단백질과 칼슘 수준을 각기 달리한 실험식이의 섭취효과를 검토함으로써, 골다공증 동물의 칼슘 및 골격대사로 뼈의 무게, 강도, 미네랄 함량, hydroxyproline 배설량 등과 신장 기능으로 신장 무게

와 GFR 등에 대한 단백질과 칼슘 섭취의 양적 영향과 대사적 상호관계를 보다 명백히 하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

약 180g의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley rats, female : 서울대학교 실험동물 사육장)에게 sodium pentobarbital(Pitman-Moore, Inc., USA) 30~40mg/kg B.W.를 주사하여 마취시킨 후 양쪽 난소를 절제하는 수술을 실시하였다. 수술을 한 후 1일 경과 후부터 칼슘 결핍 식이(식이중 단백질 20%, 칼슘 0.06% ; Normal Protein-Low Ca : NPLCa)를 4주간 자유섭취방법(ad libitum)으로 급여하여 선행연구¹²⁻¹³⁾에서와 같이 골다공증 실험모델 흰쥐를 설정하였다. 이들 흰쥐를 7군으로 완전 임의배치하였으며, 이 중 1군은 희생시켜 실험식이 급여전 골다공증 실험 모델 흰쥐인 대조군(control period)으로 하였다. 나머지 6군에게는 두 수준의 단백질(고수준과 정상수준)과 세 수준의 칼슘(고수준, 정상수준, 저수준)을 함유한 6종류의 실험식이(Normal Protein-High Ca, NPHCa ; Normal Protein-Normal Ca, NPNCa ; Normal Protein-Low Ca, NPLCa ; High Protein-High Ca, HPHCa ; High Protein-Normal Ca, HPNCa ; High Protein-Low Ca, HPLCa)를 4주간 더 급여하였다.

실험동물들은 환경 조절된 실험동물 사육실(온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$, 조명 6 : 00pm~6 : 00am)에서 Shoe-Box cage에 분리사육하였다. 실험식이와 탈이온수를 완전 자유급식형태로 공급하였으며, 실험기간 동안 식이 섭취량과 증체량을 2일에 한 번씩 측정하였다. 사육기간 중 실험 종료 1주일 전부터 흰쥐를 대사 케이지에 넣어 적응 시킨후, 마지막 4일 동안의 대사실험을 실시하였다.

식이 조성은 Table 1과 같다. 본 실험에 사용된 식이의 일반 조성은 정제된 원료로 casein(매일유업 <주>), 옥수수전분(미원식품 <주>), 옥수수기름(동방유량 <주>)과 비타민 혼합물(AIN-76), 그리고 미네랄 혼합물(Harper pattern)¹⁴⁾은 칼슘과 인을 제외시켜 조제한 것을 사용하였다. 칼슘급원으로는 소뼈회분 칼슘과 탄산칼슘을 사용하여 함량을 조정하였다. 식이중 단백질 수준은 각각 정상수준(20%)과 고수준(40%)을 함유하도록 하였으며, 칼슘수준은 고수준(0.94%), 정상수준(0.47%), 저수준(0.06%)을 각각 함유하도록 하였다. 인 함량은 흰쥐의 사양표준(NAS-NRC)에 맞추어 0.32%로 일정하게 함유하도록 하였다.

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

Protein Levels Ca Levels Dietary Groups	Normal Protein			High Protein		
	High-Ca (NPHCa)	Normal-Ca (NPNCa)	Low-Ca (NPLCa)	High-Ca (HPHCa)	Normal-Ca (HPNCa)	Low-Ca (HPLCa)
Casein	200	200	200	400	400	400
Starch	646.61	657.08	665.74	446.61	457.17	465.84
Corn oil	50	50	50	50	50	50
Fiber	8	8	8	8	8	8
Choline-Chloride	2	2	2	2	2	2
Vit. Mix. ¹⁾	10	10	10	10	10	10
Min. Mix. ²⁾	40	40	40	40	40	40
(Ca & P free)						
PEG ³⁾	10	10	10	10	10	10
KH ₂ PO ₄	-	4.97	13.25	-	5.38	13.66
Bone Ash ⁴⁾	17.51	11.31	1.01	17.51	10.81	0.50
CaCO ₃	5.09	-	-	5.09	-	-
Potassium-Citrate	10.79	6.64	-	10.79	6.64	-

1) AIN-76

2) Mineral mixture(g/kg) : NaCl 250.6 ; MgSO₄ · 7H₂O 99.8 ; Fe-citrate 6.23 ; CuSO₄ · 5H₂O 1.56 ; MnSO₄ · H₂O 1.21 ; ZnCl₂ 0.2 ; (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O 0.025 ; KI 0.005 ; Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.015 ; sucrose 640.355

3) PEG : Polyethylene glycol #4000, Yakuri Chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan

4) Contained Ca 39.78% ; P 18.28%

2. 시료수집 및 분석방법

1) 시료수집

실험 최종일에 실험동물을 14시간 절식시킨 후, 1.5시간 동안 식이를 금여하였다. 식이 섭취 종료 1시간 후 sodium pentobarbital을 복강내로 주사하여 마취하였다. 시료수집과 분석방법은 선행연구¹²⁻¹³⁾와 동일한 방법으로 하였다. 즉, 혈액은 경동맥에서 채취하여 냉장고(4℃)에서 24시간 동안 방치한 후 3000rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈액 채취 후 간과 양쪽 신장 그리고 대퇴골을 차례로 적출하여, 조직에 부착되어 있는 지방이나 근육을 깨끗이 제거한 후 냉장 생리식염수(0.9% NaCl용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음 여과지로 물기를 닦고 전자천평으로 생조직의 무게와 길이를 각각 측정하였다. 또한 실험 종료 전 4일간의 대사 실험을 통해 일정한 시간에 분과 뇨를 매일 수집하였다. 분은 총 중량을 측정 후 냉동건조하여 분쇄하였으며, 뇨는 0.1% HCl 용액을 소량 넣어 수집하였다. 모든 시료는 분석할 때까지 -20℃에서 냉동 보관하였다.

2) 분석방법

혈청의 Ca농도는 혈청을 TCA용액으로 제단백한 후 LaCl₃ · 7H₂O용액으로 희석하여 원자흡광도계(Atomic Absorption Spectrophotometer ; AAS, Hitachi Z-6000)로 422.7nm에서 측정하였다. 혈청 인은 증류수로 희석하여 Fisk-Subbarow법¹⁵⁾으로 비색정량(Sp-

ectrophotometer ; Shimadzu UV-200S, 830nm)하였다. 간, 신장 및 대퇴골의 칼슘함량은 각 조직을 550~600℃의 회화로서 회화하여 얻은 회분을 6N HCl용액으로 용해한후, LaCl₃ · 7H₂O용액으로 희석하여 원자흡광도계로 측정하였다. 뼈의 강도(breaking force)는 Instron(Universal Testing Instrument, Model 1000)을 이용하여 측정하였으며, 사용한 추는 5kg, scale range는 50/10이었다. 각 조직 중의 인은 혈청 인을 분석하는 것과 같이 하였다. 뇨는 3,000rpm에서 20분간 원심분리하여 불순물을 제거한 후, 혈청과 같은 방법으로, 분은 조직과 같은 방법으로 각각 칼슘과 인을 정량하였다. 뇨중 hydroxyproline 함량은 원심분리한 뇨를 Bergman과 Loxley¹⁶⁾ 방법에 의해 Spectrophotometer(Shimadzu UV-200S, 558nm)를 이용하여 비색정량하였다.

혈액과 뇨의 creatinine 함량은 Jaffe 반응을 이용한 Kit(영동제약 <주>)를 사용하여 측정하였다. GFR(glomerular filtration rate)은 혈장 및 뇨의 creatinine함량과 뇨의 배설량을 이용하여 계산하였다. 대퇴골의 질소 함량은 동결 건조시킨 시료를 분쇄한 후, 뇨의 질소함량은 뇨의 불순물을 제거한 다음 질소자동분석기(BÜCHI 322, Swiss)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계처리

실험식이의 처리에 의한 각 분석치는 평균과 표준오차로 제시하였다. 각 실험식이별 평균치간의 유의성 검

증은 ANOVA로, 그 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 시행하였다. 단백질 수준(20%, 40%)과 칼슘 수준별(0.94%, 0.47%, 0.06%)로 요인분석(factorial analysis)으로 검증하였다.

실험결과 및 고찰

1. 성장과 식이섭취량

성장과 식이섭취량은 Table 2에 제시하였다. 성숙한 암쥐의 난소를 절제한 후 정상수준의 단백질과 저수준의 칼슘(NPLCa)을 함유한 식이를 4주 동안 급여하여 설정된 골다공증 실험 모델 흰쥐의 체중은 250~260g 까지 증가되었으며(control period), 그후 단백질과 칼슘수준을 달리한 6종의 실험식이를 4주간 급여한 결과(test period)를 보면 정상단백질-저칼슘식이군(NP-LCa)에서만 체중이 유의적으로 감소되었을 뿐, 다른 5군간에는 차이가 없었다. 즉 정상단백질-저칼슘식이를 4주간 이상 계속적으로 급여했을 때는 체중 감소가 일어났으나, 고단백질-저칼슘식이의 경우 체중 감소는 일어나지 않았으므로 고단백식이의 높은 식이효율에 의해서 보상된 것으로 생각된다.

2. 칼슘대사

1) 혈청과 조직의 칼슘함량

혈청, 간과 신장의 칼슘 함량은 Table 3에 제시하였다. 골다공증 실험 모델 흰쥐(control period)의 혈청 칼슘 농도는 정상값 보다 낮았다. 이 골다공증 실험 모델 흰쥐에게 정상 수준 이상의 칼슘 식이를 4주간 계속 급여했을 경우 칼슘 농도는 정상 수준으로 다시 회복되

었지만, 지속적인 저칼슘 식이 섭취시에는 단백질 섭취 수준에 관계없이 더욱 감소하였다. 따라서 혈청 칼슘 농도는 식이 칼슘 수준에 의해서만 영향($p < 0.05$)받으며, 골다공증 모델 흰쥐에게 칼슘을 보충하였을 때, 혈청 칼슘 농도가 정상으로 회복되었다고 한 선행 연구의 실험결과와도 일치하였다¹²⁻¹³. 단백질 섭취 수준에 따라 혈청 칼슘농도가 영향을 받지 않음은 이미 다른 연구에서도 보고되었다⁸⁾¹⁰⁾.

간의 중량은 실험식이 군간에 차이가 없었다. 간조직의 칼슘함량은 단백질 섭취 수준에 따라서는 차이가 없었으나 칼슘 섭취 수준에 따라서는 고칼슘 식이군에 비해 저칼슘 식이군에서 유의적으로 감소되었다($p < 0.05$).

골다공증 실험모델 흰쥐(대조군 : Control Period)에 비해, 이후 4주동안 실험식이를 계속 섭취시켰을 때 동일한 실험식이(NPLCa)를 급여한 군을 제외하고 모든 실험 군에서 신장의 중량이 유의적으로 증가되었으며, 특히 고단백 식이 섭취에 따라 유의적인 영향을 받았다. 이러한 경향은 제시하지는 않았지만, 신장조직의 조희분 함량과 인의 함량에서도 동일하게 나타났다. 신장조직 중 칼슘 함량이 각각 단백질 섭취 수준과 칼슘 섭취 수준의 증가에 따라서 유의적으로 증가함을 보였다. 그러나 이러한 경향에 대하여 단백질 섭취와 칼슘 섭취 수준간의 상호관계는 인정되지 않았다. 신장의 크기 및 조직중 칼슘함량에 대한 단백질 섭취 수준의 영향에 대해서는 타연구 결과¹⁰⁻¹¹⁾와 대체로 일치하였으며, 이것이 신장의 기능과도 밀접한 관련이 있음을 시사하였다.

2) 칼슘의 체내보유량 및 소화흡수량

실험 식이에 따른 1일 칼슘의 섭취량, 분중 배설량,

Table 2. Body weight and food intake

	Final Body Wt. (g)	Food Intake (g/d)	Weight Gain (g/d)	FER (WG/FI)
Control Period(4 wks)				
NPLCa	255.6 ± 13.2 ¹⁾	13.1 ± 0.9	2.7 ± 0.7	0.2 ± 0.0
Test Period(4 wks)				
NPHCa	278.2 ± 4.9 ^{b2)}	12.0 ± 1.1 ^{ab}	0.72 ± 0.09 ^{bc}	0.06 ± 0.01 ^{bc}
NPNCa	277.2 ± 7.3 ^b	11.9 ± 0.5 ^{ab}	0.70 ± 0.19 ^b	0.06 ± 0.01 ^{bc}
NPLCa	240.2 ± 7.7 ^a	11.2 ± 0.9 ^a	-0.66 ± 0.17 ^a	-0.06 ± 0.02 ^a
HPHCa	278.8 ± 7.8 ^b	11.7 ± 0.9 ^{ab}	0.89 ± 0.13 ^{cd}	0.07 ± 0.01 ^{cd}
HPNCa	282.8 ± 4.9 ^b	12.6 ± 0.4 ^b	1.03 ± 0.10 ^d	0.08 ± 0.01 ^d
HPLCa	270.2 ± 5.2 ^b	11.5 ± 0.7 ^{ab}	0.58 ± 0.13 ^b	0.05 ± 0.10 ^b
Protein Levels	NS ³⁾	NS	$p < 0.05$	$p < 0.05$
Ca Levels	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$
Protein * Ca	$p < 0.05$	NS	$p < 0.05$	$p < 0.05$

1) Mean ± SE of 8 rats per group

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at $p < 0.05$

3) NS : Not significantly different

노중 배설량, 보유량, 결보기 흡수량은 각각 Table 4에 제시하였다. 칼슘 섭취량이 많을 수록 절대 보유량과 흡수량은 증가하였으나, 고수준군과 정상수준 군 사이에 유의적인 차이가 인정되지 않았다. 이러한 칼슘의 체내 보유량에 단백질 섭취 수준에 의한 유의적인 효과는 없었다. 특기할 만한 것은 고단백식의 섭취로 노중 칼슘 배설량은 유의적으로 증가하였으며 Ca balance (retention)에서는 고단백 식이군이 정상 단백질이 군보다 낮은 경향을 나타내므로서 고단백 식이가 Ca대사에 좋지 않은 영향을 주는 것으로 보인다. 이것은 고단백질 섭취에 의한 hypercalciuria 효과에 대한 많은 보

고와 일치하였다⁹⁻¹⁰⁾.

3) 뼈의 무기질 함량과 골격대사

(1) 대퇴골의 중량, 길이 및 강도

대퇴골의 중량, 길이, 강도는 Table 5에 제시하였다. 골다공증 실험모델 흰쥐에서 지속적으로 칼슘 결핍식을 섭취할 경우, 뼈의 중량 증가는 미미하였으며, 뼈의 강도는 크게 약화되었다. 이때 칼슘을 정상 수준 이상으로 공급할 경우, 단백질 섭취 수준과 관계없이 칼슘 섭취 수준에 비례해서 뼈의 크기 및 강도가 증가되었다. 이것은 골다공증 여성에게 Ca을 보충했을 때 골

Table 3. The concentration of Ca in serum, liver and kidney

	Blood	Liver		Kidney	
	Ca(mg/dl)	Wet wt.(g)	Ca(µg/g)	Wet wt.(g)	Ca(µg/g)
Control Period(4 wks)					
NPLCa	7.19±0.15 ¹⁾	6.9±0.3	19.9±1.5	1.59±0.17	0.38±0.08
Test Period(4 wks)					
NPHCa	8.73±0.11 ^{b2)}	7.0±0.1 ^a	22.1±0.7 ^{bc}	1.92±0.03 ^{ab}	0.93±0.02 ^c
NPNCa	7.89±0.69 ^b	7.0±0.5 ^a	20.8±1.6 ^{abc}	1.85±0.18 ^{ab}	0.45±0.02 ^a
NPLCa	5.85±0.21 ^a	6.2±0.7 ^a	17.3±0.6 ^a	1.59±0.15 ^a	0.22±0.02 ^a
HPHCa	8.91±0.11 ^b	7.3±0.1 ^a	22.7±1.7 ^c	2.06±0.09 ^b	1.59±0.04 ^d
HPNCa	8.52±0.27 ^b	7.6±0.3 ^b	20.5±2.2 ^{abc}	2.06±0.18 ^b	1.04±0.05 ^c
HPLCa	5.58±0.23 ^a	6.9±0.2 ^a	17.7±0.9 ^{ab}	2.04±0.11 ^b	0.75±0.07 ^b
Protein Levels	NS ³⁾	NS	NS	p<0.05	p<0.05
Ca Levels	p<0.05	NS	p<0.05	NS	p<0.05
Protein * Ca	NS	NS	NS	NS	NS

1) Mean±SE of 8 rats per group

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05

3) NS : Not significantly different

Table 4. Ca intake, excretion, retention and apparent absorption

	Ca intake (mg/d)	Fecal Ca excretion (mg/d)	Urinary Ca excretion (mg/d)	Ca retention ⁴⁾ (mg/d)	Apparent ⁵⁾ absorption (mg/d)
Control Period(4 wks)					
NPLCa	7.7±0.9 ¹⁾	0.5±0.1	0.23±0.02	0.9±0.5	7.1±0.5
Test Period(4 wks)					
NPHCa	136.3±9.1 ^{c2)}	70.7±1.5 ^c	0.53±0.10 ^a	57.1±12.3 ^b	57.6±12.2 ^b
NPNCa	66.9±7.0 ^b	17.8±1.4 ^b	0.31±0.04 ^a	48.8±6.2 ^b	49.1±6.2 ^b
NPLCa	6.7±0.3 ^a	0.4±0.0 ^a	0.17±0.22 ^a	6.1±0.2 ^a	6.2±0.2 ^a
HPHCa	122.7±9.3 ^c	78.6±6.4 ^c	1.26±0.24 ^b	50.7±8.6 ^b	52.0±8.7 ^b
HPNCa	61.9±4.3 ^b	17.7±4.1 ^b	1.13±0.24 ^b	43.0±6.3 ^b	44.2±6.4 ^b
HPLCa	6.7±0.4 ^a	0.4±0.0 ^a	1.07±0.21 ^b	5.2±0.5 ^a	6.3±0.6 ^a
Protein Levels	NS ³⁾	NS	p<0.05	NS	NS
Ca Levels	p<0.05	p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05
Protein * Ca	NS	NS	NS	NS	NS

1) Mean±SE of 8 rats per group

2) Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05

3) NS : Not significantly different

4) Retention(mg)=Intake(mg) - [Fecal excretion(mg) + Urinary excretion(mg)]

5) Apparent absorption(mg)=Intake(mg) - Fecal excretion(mg)

밀도가 증가한다는 보고⁶⁻⁷⁾에 의해서도 지지되며, 선행 연구¹²⁻¹³⁾ 결과와 일치하였다.

(2) 대퇴골의 칼슘과 인 함량

대퇴골의 조회분량, 칼슘 및 인의 함량은 Table 6에 제시하였다. 골다공증 실험모델 흰쥐에게 지속적으로 칼슘 결핍식을 급여할 경우 뼈중 회분과 칼슘 및 인의 함량은 신체 성장에도 불구하고 감소하였다. 그러나 칼슘을 정상 수준 이상으로 보충 급여함에 따라 이들 무기질 함량은 크게 증가되었다. 즉 칼슘 섭취 수준에 따른 차이를 보면 섭취 수준과는 무관하게 정상, 고칼슘 식이를 급여했을 때 저칼슘 식이를 급여했을 경우보다 조회분, 칼슘 및 인 함량, 회분 중 Ca함량(Ca%)의 유의적인 증가를 볼 수 있었다.

본 실험결과 골다공증 모델 동물의 경우 여러 종류의 식이 섭취 조건에 따라 뼈의 회분중 칼슘함량이나 Ca/P비가 변화하지 않았음이 밝혀졌다. 즉 칼슘섭취 부족에도 불구하고 뼈성분의 절대량의 감소는 일어나지만 뼈 조성이 크게 변화하지 않는 것으로 나타났다.

(3) Hydroxyproline 배설량

뼈중 질소 함량과 골격대사의 지표의 하나로 이용한 뇨중 hydroxyproline 배설량은 Table 7에 제시하였다. 뼈의 습중량 g당 질소 함량과 총 질소 함량은 단백질 섭취 수준에 따라서 통계적인 유의차가 없었다. 그러나 칼슘 수준에 따라서는 칼슘 수준이 증가할 수록 질소 함량이 증가하는 경향을 보였다. 이것은 칼슘 증가에 따라 뼈의 크기가 증가함으로써 bone matrix를 구성하는 골

Table 5. Wet weight, length and breaking force of femur

	Wet weight (g)	Length (cm)	Breaking force (kg/g wet wt.)
Control Period(4 wks)			
NPLCa	1.26±0.10 ¹⁾	3.33±0.03	8.24±0.37
Test Period(4 wks)			
NPHCa	1.73±0.06 ^{c2)}	3.63±0.04 ^b	9.25±0.17 ^c
NPNCa	1.50±0.07 ^{ab}	3.54±0.07 ^a	8.60±0.38 ^{bc}
NPLCa	1.32±0.03 ^a	3.47±0.03 ^a	6.15±0.28 ^a
HPHCa	1.74±0.10 ^c	3.61±0.04 ^{ab}	9.01±0.29 ^c
HPNCa	1.57±0.09 ^{bc}	3.57±0.06 ^a	8.20±0.10 ^b
HPLCa	1.41±0.04 ^{ab}	3.50±0.07 ^a	5.97±0.22 ^a
Protein Levels	NS ³⁾	NS	NS
Ca Levels	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Protein * Ca	NS	NS	NS

- 1) Mean±SE of 8 rats per group
- 2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05
- 3) NS : Not significantly different

Table 6. Ca and P contents of femur

	Ash (mg/g)	Ca (mg/g)	Ca % (Ca/ash×100)	P (mg/g)	Ca : P
Control Period(4 wks)					
NPLCa	221.9±9.1 ¹⁾	94.7±7.4	42.6±2.1	49.0±2.5	1.9±0.1
Test Period(4 wks)					
NPHCa	264.9±3.7 ^{b2)}	114.9±4.6 ^b	43.4±1.2 ^b	54.0±1.8 ^b	2.1±0.1 ^{NS}
NPNCa	262.7±4.4 ^b	113.5±4.1 ^b	43.2±1.8 ^b	52.4±1.5 ^b	2.1±0.1
NPLCa	212.6±1.4 ^a	85.2±2.5 ^a	40.2±1.5 ^a	40.8±1.3 ^a	2.1±0.1
HPHCa	263.3±4.1 ^b	110.0±4.6 ^b	41.8±1.8 ^{ab}	51.3±1.7 ^b	2.1±0.1
HPNCa	260.9±2.2 ^b	106.5±2.8 ^b	40.8±1.3 ^a	49.7±0.9 ^b	2.1±0.1
HPLCa	205.6±3.2 ^a	80.2±2.3 ^a	39.1±1.7 ^a	39.8±1.3 ^a	2.0±0.1
Protein Levels	NS ³⁾	NS	NS	NS	NS
Ca Levels	p<0.05	p<0.05	NS	p<0.05	NS
Protein * Ca	NS	NS	NS	NS	NS

- 1) Mean±SE of 8 rats per group
- 2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05
- 3) NS : Not significantly different

격 단백질 함량 역시 증가하는 것으로 사료된다.

노중 hydroxyproline 배설량은 고단백 식이 섭취군에서 유의적으로 높게 나타났으며($p < 0.05$), 칼슘 섭취 수준도 다소 영향을 미쳐서 칼슘 수준이 높을수록 낮은 경향을 보였다.

Hydroxyproline은 collagen에 존재하는 아미노산이며, total body collagen의 약 40%가 골격에 있다. 따라서 노중 hydroxyproline 배설은 collagen 대사와 골격대사를 크게 반영한다고 할 수 있다. 노중 hydroxyproline 배설량은 negative Ca balance에서 높게 나타나며 골다공증 환자에게 칼슘을 보충하여 bone resorption을 감소시키면 노중 hydroxyproline 배설량은 저하한다고 보고하고 있다¹⁷⁾.

2. 신기능

1) 뇨 배설량과 사구체 여과율

신장기능의 하나의 지표로 측정된 혈장과 뇨 creatinine, 뇨 배설량과 사구체 여과율은 Table 8에 제시하였다. 혈장 creatinine은 단백질 또는 칼슘 섭취 수준에 의해 영향을 받지 않았지만, 뇨량, 뇨의 creatinine 및 사구체 여과율은 식이 단백질 수준에 따라 유의적으로 영향을 받았다($p < 0.05$). 즉 칼슘 섭취 수준에 관계없이 고단백식 섭취에 따라 노중 creatinine함량과 사구체 여과율이 정상 단백질 섭취군에 비해 1.5배 이상 증가하였으며, 뇨 배설량은 2배나 증가되었다. 이와 같은 결과는 정상 실험동물 및 사람에게 의해서도 보고되었는데, 과다한 식이 단백질 섭취가 신장 사구체와 세뇨

Table 7. Nitrogen contents of femur and urinary hydroxyproline excretion

	Femur		Urinary	
	Nitrogen (mg/g wet wt.)	Total Nitrogen (mg)	Hydroxyproline (ug/d)	Hydroxyproline (mg/d, kg B.W)
Control Period(4 wks)				
NPLCa	30.1 ± 1.2 ¹⁾	37.9 ± 2.1	278.1 ± 7.0	1.09 ± 0.09
Test Period(4 wks)				
NPHCa	32.0 ± 1.3 ^{NS3)}	55.4 ± 2.0 ^{b2)}	186.5 ± 14.8 ^a	0.67 ± 0.05 ^a
NPNCa	30.0 ± 1.4	45.0 ± 2.0 ^b	227.5 ± 17.9 ^{ab}	0.82 ± 0.07 ^a
NPLCa	30.0 ± 1.4	39.7 ± 2.6 ^a	276.0 ± 28.4 ^b	1.15 ± 0.11 ^b
HPHCa	31.5 ± 1.1	54.9 ± 1.9 ^b	574.6 ± 17.5 ^c	2.07 ± 0.10 ^c
HPNCa	29.9 ± 1.3	47.0 ± 2.3 ^b	623.0 ± 48.1 ^{cd}	2.21 ± 0.17 ^{cd}
HPLCa	29.6 ± 1.2	41.8 ± 3.2 ^a	662.8 ± 18.8 ^d	2.45 ± 0.06 ^d
Protein Levels	NS	NS	$p < 0.05$	$p < 0.05$
Ca Levels	NS	$p < 0.05$	NS	NS
Protein * Ca	NS	NS	NS	NS

1) Mean ± SE of 8 rats per group

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at $p < 0.05$

3) NS : Not significantly different

Table 8. Plasma creatinine, urinary volume, creatinine, nitrogen and glomerular filtration rate(GFR)

	Plasma	Volume (ml/d)	Urinary		GFR
	Creatinine (mg/dl)		Creatinine (mg/d)	Nitrogen (mg/d)	(ml/min)
Control Period(4 wks)					
NPLCa	0.90 ± 0.03 ¹⁾	7.20 ± 0.73	8.41 ± 0.87	94.2 ± 4.6	0.65 ± 0.08
Test Period(4 wks)					
NPHCa	0.89 ± 0.01 ^{NS3)}	7.25 ± 0.49 ^a	9.41 ± 0.31 ^{a2)}	92.2 ± 5.7 ^a	0.73 ± 0.03 ^a
NPNCa	0.87 ± 0.01	6.81 ± 0.37 ^a	9.41 ± 1.01 ^a	87.1 ± 7.2 ^a	0.75 ± 0.08 ^a
NPLCa	0.86 ± 0.01	7.68 ± 0.60 ^a	7.83 ± 0.69 ^a	71.3 ± 4.9 ^a	0.66 ± 0.06 ^a
HPHCa	0.89 ± 0.03	15.00 ± 1.17 ^b	15.50 ± 0.84 ^b	223.5 ± 23.3 ^b	1.23 ± 0.11 ^b
HPNCa	0.88 ± 0.03	16.59 ± 0.95 ^b	15.62 ± 1.04 ^b	223.1 ± 21.1 ^b	1.23 ± 0.06 ^b
HPLCa	0.87 ± 0.01	15.05 ± 0.82 ^b	13.61 ± 0.78 ^b	276.1 ± 13.0 ^c	1.11 ± 0.05 ^b
Protein Levels	NS	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$
Ca Levels	NS	NS	NS	NS	NS
Protein * Ca	NS	NS	NS	$p < 0.05$	NS

1) Mean ± SE of 8 rats per group

2) Values with different superscript within the column are significantly different at $p < 0.05$

3) NS : Not significantly different

판의 기능저하를 초래하므로써 사구체 여과율을 증가시킨다고 하였다¹⁰⁻¹¹⁾. 본 실험에서 설정된 골다공증 실험모델 동물의 경우에서도 이와 유사한 고단백질의 영향이 나타났으며, 높은 수준의 단백질 섭취가 신장의 크기와 기능에 영향을 미쳤다. 특히 고단백 식이시 유발되는 사구체 여과율의 증가는 이미 언급된 노중 칼슘 배설량의 증가와도 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다. 이러한 사구체 여과율의 증가로 인한 hyperfiltration이 신장의 노화를 촉진시켜 신장기능을 퇴화시킨다고 보고되고 있다¹⁸⁾.

2) 노중 질소 함량

골다공증 실험 모델 흰쥐의 단백질과 칼슘 수준에 따른 노로 배설되는 질소 함량(Table 8)을 본 결과, 단백질 섭취 수준이 증가할 수록 노를 통한 질소 배설량은 증가되었다. 노중 질소 함량이 높다는 것은 노로 배설되는 비단백질 성분 및 단백질 성분이 많다는 것으로, 단백질 가능성을 보였으며, 이것이 신장 기능의 퇴화를 반영한다. 즉 고단백 식이가 신장의 기능에 나쁜 영향을 미치며, 그 결과 노중 Ca배설을 증가시키는 부분적인 원인이 되는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합 고찰해보면 다음과 같다. 골다공증 실험모델 흰쥐에게 단백질 수준과 칼슘 수준을 각기 달리한 실험식을 섭취시켰을 때, 정상수준 이상의 충분한 칼슘 함유 식이 섭취의 경우, 혈청 및 신장조직의 칼슘 농도, 골격의 크기, 강도, 미네랄 함량, 골격대사 등이 개선되었다. 그러나 지속적인 결핍식이의 섭취로 인하여 상기 측정된 값들은 더욱 감소되었다. 칼슘대사와 신장 기능에 미치는 영향에 대하여 고찰해보면 고단백 식이에 따라 정상 단백질 섭취 수준에 비해 신장기능의 저하와 신장 형태의 변화가 유도됨이 관찰되었다. 즉 고단백 식이를 섭취했을 때에는 신장이 비대해지고 뇨량과 사구체 여과율, 노중 칼슘 배설량이 정상 수준의 단백질을 섭취했을 때보다 증가되었음이 관찰되었다. 노를 통한 칼슘 손실을 보충하고 혈중 칼슘 농도를 유지하기 위해서 소장 칼슘 흡수가 증가하고, 분중 칼슘 배설량이 감소하기는 하지만 이것은 노로 인한 손실을 상쇄시키기에 충분하지 못하였다. 이로 인해 고단백식이 섭취시에 칼슘 평형은 약간 저하하는 경향을 보였다.

이러한 칼슘 평형의 차이가 골격대사에 어떻게 영향을 미치는가를 알아보기 위해 대퇴골의 칼슘 함량과 강도를 측정해 본 결과 고단백 식이와 정상 단백질 식이군간에 대퇴골의 칼슘 함량과 강도의 유의적인 차이는 발견되지 않았다. 정상과 고단백질 식이 섭취군에서 칼

슘수준에 따른 차이를 보면 칼슘 섭취의 증가가 체내 칼슘 대사와 골격 대사를 호전시키는 것이 관찰되었다. 그러나 단백질과 칼슘 섭취 수준간의 상호작용은 대부분의 측정치에서 찾아볼 수 없었고, 어느 정도 독립적 요인이 시사되었다.

고단백 식이가 골격대사에 미치는 영향은 연령과 신체 상태에 따라 다르게 나타나며⁸⁻¹¹⁾, 본 실험 결과 골다공증 실험모델에서는 단기간에 골격에 영향을 미치지 않았으나 노를 통한 칼슘 배설량 증가, 사구체 여과율 증가, 대퇴골의 칼슘 함량과 강도가 다소 감소된 것을 고찰해 볼 때 골다공증 동물에서 고단백 식이를 계속 섭취하면 신장의 기능에 악영향을 미치며 골격손실의 위험이 증가할 것으로 보인다. 따라서 고단백 식이는 골다공증 실험모델에서도 hypercalciuria로 인해 칼슘 손실을 증가시키고 골격에 손실을 초래할 것이 우려되므로 골다공증 환자에서는 단백질을 권장량 이상 섭취하는 것이 바람직하지 않다는 것을 제안하고자 한다.

요약 및 결론

골다공증 실험모델 동물에서 단백질과 칼슘의 섭취 수준이 체내 칼슘 및 골격대사와 신장기능에 미치는 영향을 검토할 목적으로 암컷 흰쥐를 이용하여 난소절제 후 4주간의 칼슘 결핍식이의 섭취에 의해 골다공증 실험 모델 동물을 설정하고, 이들에게 단백질과 칼슘 섭취 수준을 달리한 6종의 실험식을 4주간 섭취시킨 실험 결과는 다음과 같다.

골다공증 실험모델 흰쥐에게 단백질 수준과 칼슘 수준을 각기 달리한 실험식을 섭취시켰을 때, 충분한 칼슘 함유 식이 섭취의 경우, 혈청 및 신장 조직의 칼슘 농도, 골격의 크기, 강도와 미네랄 함량, 골격대사 등이 개선되었으나, 지속적인 칼슘 결핍식이의 섭취로 인하여 상기 측정값들은 더욱 저하하였다. 한편, 고단백식이의 섭취에 따라 혈청 칼슘농도 및 골격의 크기, 강도, 미네랄 함량에는 영향을 미치지 않았으나, 신장조직의 비대 경향과 함께 조직 중 미네랄 함량 뿐 아니라 GFR은 크게 증대되었다. 또 노중 hydroxyproline, 총 질소 및 Ca배설량도 유의적으로 증가되었다.

결론적으로 골다공증 실험모델 동물에게 정상수준 이상의 충분한 칼슘보충으로 칼슘대사, 골격대사 및 칼슘 체내이용성은 개선될 수 있으며, 고단백식에 의해서는 크게 영향받지 않았다. 그러나 고단백식이의 섭취로 인하여 신장의 비대, 비정상적인 사구체 여과율의 증진, 뇨량 및 노중 칼슘 배설량 증진 등 신장기능에 악

영향을 미칠 우려가 시사되었다. 이와 같은 결과에서 고수준의 단백질과 칼슘 섭취는 골다공증 실험모델 동물의 체내 칼슘 대사와 신장 기능에 있어서 상호독립적으로 영향을 미침이 시사되었으며, 골다공증의 예방과 치료를 위한 식사요법 및 영양교육 자료로 활용될 수 있음이 기대된다.

Literature cited

- 1) Lawrence GR & Smith JA. Pathogenesis, prevention and treatment of osteoporosis. *Ann Rev Med* 40 : 251-267, 1989
- 2) Heaney RP. Nutritional factors in osteoporosis. *Ann Rev Nutr* 13 : 287-366, 1993
- 3) Allen LH, Wood Rj. Calcium and phosphorus. In : Shills Me, Olson JA, Shike M. eds. : *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8th ed, pp.144-163, Lea & Febiger, 1994
- 4) Heaney RP, Weaver CM and Fitzsimmons ML. The influence of calcium load on absorption fraction. *J Bone Miner Res* 11 : 1135-1143, 1990
- 5) Reid IR, Ames R and Evans MC. Dietary calcium supplementation slows the decline in total body bone mineral density in postmenopausal in adult females. *Bone Miner* 17(supp 1) : 73-79, 1992
- 6) Ira W, Taylor N, Dorothy J and Sara B. Calcium nutrition in the elerly : Ronald RW ed. In *handbook of nutrition in the aged*, 2nd ed, pp.355-362, CRC, 1994
- 7) Bonjour JP, Rapin Ch, Rizzoli R, Tkatch L, Delmi M, Chevalley T, Nydegger V, Slosman D and Vasey H. Hip fracture, femoral bone mineral density, and protein supply in elderly patients. In : Munro H and Schliert G. eds : *Nutrition of the elderly*, Nestlé Nutrition Workshop Ser-

- ies, Vol. 29 : 151-159, 1992
- 8) 정소형 · 최미자. 식이단백질량이 성장기 흰쥐의 골밀도에 대한 칼슘효율에 미치는 영향. *한국영양학회지* 28(9) : 817-824, 1995
- 9) Calvo MS, Bell JL, & Forbes RM. Effect of protein-induced calciuria on Ca metabolism and bone status in adult rats. *J Nutr* 112 : 1401-1413, 1982
- 10) 이정아 · 장영애 · 김화영. 나이가 다른 단계에서 식이 단백질 수준이 흰쥐의 Ca대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25(7) : 569-577, 1992
- 11) 김화영 · 문경원 · 김정희. 장기간의 고 · 저 단백질이 섭취가 난소절제 쥐의 Ca과 골격대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 28(5) : 415-425, 1995
- 12) 오주환 · 이연숙. 난소절제 골다공증 모델 흰쥐의 체내 칼슘 이용성 저하에 대한 칼슘 섭취 수준의 효과. *한국영양학회지* 26(3) : 277-285, 1993
- 13) 이연숙 · 오주환. 골다공증 실험모델 흰쥐의 칼슘대사에 대한 소뼈회분과 인산칼슘의 섭취효과. *한국영양학회지* 28(5) : 434-441, 1995
- 14) Roger, QR and Harper AE. Amino acid diets and maximal growth in the rat. *J Nutr* 87 : 267-273, 1965
- 15) Fisk CH and Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66 : 375-400, 1925
- 16) Bergman IB and Loxley R. 1963. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal Chem* 35 : 1752-1763, 1963
- 17) Smith and Nordin. The relation between calcium balance and hydroxyproline excretion in osteoporosis. *Proc Roy Soc Med* 27 : 26-28, 1964
- 18) Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH. Dietary protein intake and progressive nature of kidney disease. *N Engl J Med* 307 : 652-659, 1982