

성장기 흰쥐에서 붕소의 보충이 체내 칼슘 및 골격 대사에 미치는 영향*

정혜경 · 이현숙** · 김종연 · 김중여***

호서대학교 자연과학대학 식품영양학과, 이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과**
단국대학교 치과대학 구강조직학과***

Effect of Boron Supplementation on Ca and Bone Metabolism in Rats during Growth

Chung, Hae Kyoung · Lee, Hyun Sook** · Kim, Joung Yeon · Kim, Jong Yeo***

Department of Food & Nutrition, College of Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

Department of Food & Nutrition,** College of Home Science, Ewha Womans University,
Seoul 120-750, Korea

Department of Oral Histology,*** College of Dental, Dankook University,
Cheonan 330-714, Korea

ABSTRACT

It has been reported that boron may be beneficial for optimal calcium metabolism and, thus, optimal bone metabolism. Therefore, we designed a study to determine the effect of boron supplementation on Ca and bone metabolism in rats. The rats of 80 - 140g body weight were given a control(0ug), 5µg, 10µg, 20µg, 40µg, or 80µg boron supplement per 1g diet for 4-weeks. The results are summarized as follows. There were no differences in total food intake and weight gain among the experimental groups. Fecal Ca excretion, urinary Ca excretion, apparent Ca absorption, Ca retention, serum alkaline phosphatase activity, and urinary hydroxyproline were not affected by boron supplementation. There was no difference in serum creatinine. Whereas, urinary creatinine excretion was increased with increasing boron supplementation, and consequently creatinine clearance was increased with boron supplementation. No differences were found in length, weight, density, Ca content of femur and scapular. The findings suggest that boron supplementation was not effective in Ca and bone metabolism in growing rats fed normal Ca diet. (*Korean J Nutrition* 31(6) : 1039~1048, 1998)

KEY WORDS : boron intake · Ca metabolism · bone metabolism.

서 론

붕소는 수천년 동안 의약품, 세척제, 식품보존제, 산소제거제, 가스제거제, 반도체의 전기저항 조절제, 오

채택일 : 1998년 6월 8일

*This research was supported by 1997 research grant of the Hoseo University

염방지제, 로켓트 연료 등 다양한 용도로 사용되어져 왔다¹⁾. Wittstein과 Apoiger는 1875년에 처음으로 식물이 붕소를 함유하고 있음을 밝혀냈으며 그 후 약 0.5ppm 정도의 붕소가 정상적인 식물 성장을 위해 필요함이 밝혀졌다²⁾.

사람의 혼합식사 중에는 약 3.44ppm의 붕소가 들어 있다. Iyengar는 6명의 다른 사람의 식사 중 2.41~4.58ppm의 붕소가 함유되어 있다고 보고했다³⁾. 과일과

채소, 콩류 및 땅콩류는 붕소의 주요 공급식품이다. 사과에는 110ppm, 쌀가루에는 0.65ppm, 밀가루에는 0.58ppm, 탈지유에는 2.13ppm의 붕소가 함유되어 있다⁴⁾.

식품 내의 붕소는 빨리 흡수되고 대부분 뇨를 통해 배설된다. 사람을 비롯한 동물의 조직과 기관에는 다양한 양의 붕소가 분포되어 있고 그 양은 체중 1g당 4.6과 55.5nmol(0.05와 0.6 μ g)이다. 기관 중에서 붕소를 가장 많이 함유하고 있는 것은 뼈, 지라, 그리고 흉선이다⁵⁾.

최근 동물과 사람을 대상으로 한 붕소 결핍 실험 결과 붕소가 영양적으로 필수영양소일 가능성이 대두되었다. 동물 실험에서 붕소 결핍은 골격, 신장, 뇌 등의 신체 조직의 조성 또는 기능에 영향을 주었다^{6,7)}. 붕소 결핍에 의해 영향 받는 변인들을 보면 칼슘, 구리 등 다량 무기질 대사에 영향미치는 인자들이며 붕소 결핍의 증상은 식이 중의 칼슘, 인, 마그네슘, 칼륨, 콜레칼시페롤, 알루미늄 함량의 변화에 의해 영향을 받았다⁸⁻¹⁵⁾. 저붕소식은 호르몬 또는 칼슘, 콜레칼시페롤, 마그네슘, 칼륨 등의 세포막 수준에 영향 미친다고 보고되었다. 칼슘 결핍 식이를 먹인 쥐들에게 식이 1g 당 0.28, 0.56, 또는 1.12 μ mol(3, 6, 또는 12 μ g)의 붕소를 보충해 준 결과 붕소 보충군에서 척추뼈의 칼슘 함량이 높았고 뼈를 부러뜨리는데 더 많은 힘이 요구되었다¹²⁾. 다른 연구에서 칼슘, 마그네슘, 인의 흡수와 균형이 콜레칼시페롤 식이를 먹인 붕소결핍쥐(식이 1g 당 0.158 μ g의 붕소 함유)보다 붕소 보충쥐(식이 1g 당 2.72 μ g의 붕소 함유)에서 더 높았다¹³⁾. 또한 저붕소식은 암컷 쥐에서 칼슘과 마그네슘의 뇨중 배설량을 증가시켰고 붕소의 보충은 칼슘의 흡수와 보유를 증가시켰다¹⁴⁾.

12명의 폐경기 여성을 대상으로 한 최초의 사람 대상 연구에서는 하루에 3mg의 붕소를 보충해 준 결과 혈청 내 17 β -estradiol, testosterone, 그리고 칼슘 이온의 농도가 증가되었고, 뇨로 배설되는 칼슘과 마그네슘 양이 감소되었다¹¹⁾. 다음엔 45세 이상의 남자 5명, 에스트로겐 치료를 받고 있는 폐경후 여성 5명, 에스트로겐 치료를 받지 않고 있는 폐경후 여성 4명, 그리고 폐경전 여성 1명을 연구한 결과 혈장 내의 이온화된 칼슘, 혈청 칼시토닌, 25-hydroxycholecalciferol과 ceruloplasmin, 그리고 적혈구의 superoxide dismutase 활성은 붕소 보충식이시보다 붕소 결핍식이시에 더 낮았다. 반면 혈청 크레아티닌, 포도당, 그리고 혈중 요소 질소는 붕소 보충시기보다 붕소 결핍시기에 더 높았다¹⁵⁾. 이러한 연구들은 붕소가 폐경기 여성에서 에스트로겐의 영향을 향상시키거나 최소화할 수 있다는 증거들

을 얻게 해 주었다. 에스트로겐 치료를 받지 않는 여성과 비교했을 때, 고붕소식을 섭취하는 여성이 저붕소식을 섭취하는 여성에 비해 혈청 17 β -estradiol과 혈장 구리 농도가 유의적으로 증가하는 것을 볼 수 있었다. 에스트로겐을 섭취하는 경우 ceruloplasmin, 중성 지방, 그리고 25-hydroxycholecalciferol 농도가 증가되었는데, 또한 저붕소식이에 붕소를 보충해 줌으로서 모든 대상자들에게서 이 모든 변인들이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 이러한 발견들은 만일 에스트로겐이 칼슘 대사에 유익하다면, 붕소도 또한 유익할 것이라는 가설을 가능하게 한다.

또한 역학 조사에 의하면 붕소 섭취가 1.0mg 이하인 지역에서는 관절염 발생율이 20~70%인데 반해서 붕소 섭취량이 3~10mg인 지역에서는 0~10%에 불과했다¹⁶⁾. 쥐에게 경구 또는 정맥주사로 붕소를 공급한 결과 관절염에 좋은 영향을 미쳤으며, 사람에서도 하루에 6mg의 붕소를 보충해 줌으로서 관절의 건강이 증진되는 결과를 보였다¹⁷⁾. 이러한 결과들로 볼 때 붕소는 뼈와 관절에 대해 유익한 영향을 미치는 것으로 보인다. 만일 소량의 붕소 첨가로 체내의 칼슘흡수율이 증가되고 체내 골격 대사가 향상된다면 현재 노인 인구가 급증하면서 중요한 문제로 대두된 골다공증의 예방 치료 뿐만 아니라 우리나라와 같이 칼슘섭취량이 부족한 집단에게 칼슘 섭취의 권장 외의 또 다른 대안책이 될 수 있을 것으로 보인다. 예를 들어 칼슘보충제에 약간의 붕소 첨가로 상승효과를 기대할 수도 있을 것이다. 그러나 아직까지는 붕소의 보충에 대한 정확한 효과와 그 작용기전이 밝혀지지 않았다.

따라서 본 연구는 붕소의 활용성에 대한 기초 조사로 이유 후의 성장기 흰쥐를 대상으로 여러 수준의 붕소를 보충해 줌으로서 각 군의 칼슘 흡수율과 생체 이용율을 측정하고 아울러 골격대사에 미치는 영향을 비교해 보자 실시 되었다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육 및 식이

본 실험에서는 체중 80~140g의 이유를 마친 수컷 Sprague-Dawley종을 구입하여 고형사료로 1주간 사육실 환경에 순응 시킨후 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 6군으로 나누었다.

실험식은 Table 1에서 보는 것과 같이 식이내 칼슘 수준은 American Institute of Nutrition(18)의 실험식이 구성을 참고하여 정상적으로 공급하였다. 붕

Table 1. Experimental diet composition (g/kg diet)

	Control(0B)	5 B	10 B	20 B	40 B	80 B
Corn Starch	696.2773	696.2723	696.2673	696.2573	696.2373	696.1973
Casein	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0
Corn oil	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Salt Mixture ¹⁾	14.72	14.72	14.72	14.72	14.72	14.72
Vitamine Mixture ²⁾	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
CaCO ₃	0.336	0.336	0.336	0.336	0.336	0.336
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ · H ₂ O	23.6667	23.6667	23.6667	23.6667	23.6667	23.6667
Choline chloride	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
DL-Methionine	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Boron	0	0.005	0.01	0.02	0.04	0.08

1) Salt mixture ingredients(mg/kg mixture) : MgCO₃ 6900, ZnCO₃ 96, FeSO₄ · 7H₂O 124, MnSO₄ · 5H₂O 150, CuSO₄ · 5H₂O 20, KI 1.3, NaCl 2300, Na₂CO₃ 1600, K₂CO₃ 3530, Na₂SeO₃ 0.22, Sucrose, finely powdered to make 1000.
 2) AIN(American Institute of Nutrition) vitamin mixture ingredients(per kg mixture) : Thiamin.HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxin · HCl 700mg, Nicotinicacid(nicotinamide is equivalent) 3g, D-Calciumpanthothenate 1.6g, Folic acid 200mg, D-Biotin 20mg, Cyanocobalamin(vitaminB₁₂) 1mg, Retinylpalmitate(vitaminA)-as stabilized powder to provide 400,000IU vitamin activity or 120,000 retinol equivalents, DL- α -Tocopherylacetate (vitaminE)-as stabilized powder to provide 5,000 IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5mg(100,000 IU. May be in powder form), Menaquinone (vitaminK) 5.0mg, Sucrose, finely powdered to make 1,000g.

소 결정체(boron crystalline, Sigma)를 사용하여 붕소를 첨가하지 않은 군(0B군)과 식이 1g당 5 μ g(5B군), 10 μ g(10B군), 20 μ g(20B군), 40 μ g(40B군), 80 μ g(80B군)의 붕소를 첨가한 6군으로 나누어 공급하였다. 이러한 붕소의 보충량은 기존의 동물과 사람을 대상으로 한 연구 결과 과잉증이 나타나는 것으로 보고된 식이 1g당 100 μ g 이하의 수준에서 임의대로 결정한 것이다. 모든 실험식이와 탈이온수는 자유섭취방법(ad libitum)으로 4주간 공급하였고 stainless-steel wire cage에 한 마리씩 분리하여 사육하였다. 식이 섭취량과 체중은 매주 1회 일정시간에 측정하였다.

2. 시료의 채취

노와 번은 실험식이 적용후 2주마다 대사장에서 이등¹⁹⁾이 보고한 바와 같은 방법으로 채취하였다. 사육기간이 끝난 후 희생시키기 전 12시간은 굶기고 ethyl ether로 마취시킨 후 복개하여 heart puncture에 의해 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분 이상 방치해 두었다가 2000rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청을 얻고 분석시까지 냉동고에 보관하였다. 혈액 채취 직후에 해부하여 간, 신장, 비장, 흉선, EFP(Epididymal fat pad)를 떼어 내어 무게를 측정하였고 골격 채취는 체중의 영향을 받는 뼈로서 대퇴골을, 체중의 영향을 받지 않는 뼈로서 견갑골을 채취하여 냉동 보관하였다.

뼈의 부피와 밀도는 Archimedes의 원리에 의해 측정하였다²⁰⁾. 그 후 뼈는 105 \pm 5 $^{\circ}$ C의 drying oven에서 함량이 될 때까지 건조시켜 마른 무게를 재고 길이는

caliper를 이용하여 재었다. 그런 다음 600 $^{\circ}$ C의 전기 회화로에서 회화시켜 회분 함량을 측정하고 1N의 HCl로 녹인 후 각 무기질 함량을 분석하였다.

3. 생화학적 분석

노중 hydroxyproline 함량은 Blumenkrantz As-boe-hansen방법에 의해서 측정하였다²¹⁾. 사구체여과율을 구하기 위해 creatinine clearance를 측정하였는데 혈청과 뇨의 creatinine은 Jaffe 반응²²⁾의 변법을 이용한 kit(영동제약)을 사용하였고 이 값을 이용하여 creatinine clearance를 구하였다²³⁾.

혈청중의 alkaline phosphatase는 Kind-King법²⁴⁾을 이용한 Kit(영동제약)를 사용하여 분석하였다. 노와 혈청의 칼슘 함량은 일정량의 노와 혈청을 취해 각각 0.5%와 0.1%의 La₂O₃ 용액으로 희석해 AAS(Atomic Absorption Spectrophotometer, Perkin Elmer Co. 2380)으로 422.7nm에서 흡광도를 측정하였다. 대변과 뼈의 칼슘은 600 $^{\circ}$ C에서 회화시킨 후 1N HCl로 녹인 후 0.5% La₂O₃ 용액으로 희석하여 AAS로 흡광도를 측정하였다. 혈청중의 인의 함량과 뇨중의 인의 함량은 인몰리브덴산-색소법²⁵⁾을 이용한 kit(영동제약)를 이용하여 측정하였다. 대변과 뼈중의 인의 함량은 Molybdenum blue 흡광도법²⁶⁾을 이용하여 측정하였는데 일정량의 시료용액을 100ml의 v-flask에 취한후 ammonium molybdate를 가한후 잘 혼합하여 방치하였다가 hydroquinon용액과 Na₂SO₃용액을 가한 후 정용하여 30분 동안 발색시켜 650nm에서 비색 정량하였다.

4. 골격 조직 검사

골격 조직의 변화 양상을 보기 위해 조직 검사를 하였다. 각 군에서 척추골을 채취하여 즉시 4% 중성 완충 포르말린에 넣어 3일간 고정하였다. 각 시편은 5% 질산용액에서 2주간 탈회하고 통법에 따라 하룻밤 동안 흐르는 물에 수세하고 농도를 높여 가며 에틸알콜로 탈수하여 xylene으로 치환하여 명화시키고 파라핀에 포매하였다. 파라핀 블록을 조직 절편기로 4mm 절편을 만들어 Gomori의 삼중염색을 시행하였다. 각 표본은 광학 현미경으로 관찰하고 사진 촬영을 하였다.

5. 자료의 처리

실험의 결과는 SAS package를 이용하여 각 실험 군의 평균과 표준편차를 계산하였으며 붕소의 섭취에 의한 차이를 검증하기 위하여 one way Anova를 실시하였고 각 군간의 차이를 검증하기 위해 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 식이섭취량, 체중 증가량 및 장기 무게

실험 기간 동안의 총 식이섭취량과 체중증가량은 Table 2에 나타낸 바와 같이 각 군간에 유의적인 차이가 없었다. 다만 총식이섭취량은 20B군과 80B군이 다

른 군에 비해 높은 경향을 보였고 체중증가량은 10B군과 0B군(대조군)이 높은 경향이었다.

각 장기의 무게는 Table 3에서 보는 바와 같이 식이내 붕소의 함량에 따른 유의적인 차이는 발견되지 않았다. 그러나 80B군은 간과 흉선의 무게는 다른 군에 비해 가장 컸으며 신장과 지라의 무게는 가장 적은 경향이었다.

2. 칼슘 대사

사육기간 동안 2주마다 측정된 1일 칼슘 섭취량과 대변을 통한 칼슘 배설량, 뇨중 칼슘 배설량, 칼슘 보유량, 칼슘의 흡수율은 Table 4에 나타내었다. 칼슘 섭취량은 식이섭취량을 측정하여 함량비로 계산하였는데 사육후 2주째에 식이내 붕소 수준에 따라 식이섭취량에 유의적인 차이를 보여 식이내 붕소 수준이 증가할수록 증가하였고 따라서 칼슘섭취량도 증가하는 경향을 보였다. 그러나 4주째에는 유의적인 차이를 볼 수 없었고 오히려 40B군과 80B군의 식이섭취량이 감소하여 칼슘 섭취량이 낮은 경향이었다. 실험 식이 적용후 2주째에 뇨칼슘배설량은 식이내 붕소의 수준이 높을수록 감소하는 경향이었고 흡수율과 보유량도 40B군과 80B군이 다른 군보다 높은 경향이었다. 그러나 4주째에는 배설량과 흡수율에서 어떤 일관된 경향을 찾아볼 수 없었으며 5B군>80B군>20B군>40B군>10B군>0B군의

Table 2. Food intake and body weight gain for groups of different boron intake¹⁾ (g/4weeks)

Group	Total food intake	Body weight	Weight gain
0 B	391.00±71.50	101.21±16.53	133.39±28.11
5 B	378.56±42.45	104.25±13.07	123.74±16.66
10 B	412.14±66.85	104.39±12.27	140.84±26.75
20 B	441.32±48.25	110.52± 8.65	124.92±17.14
40 B	389.38±58.08	106.26±10.05	121.29±25.32
80 B	430.35±73.45	110.40± 7.81	127.40±28.85
SF ²⁾	NS	NS	NS

1) Mean ± standard deviation

2) Significant Factor

NS : Effect of dietary B level was not significant by F-test.

Table 3. Liver, kidney, thymus, epididymal fat pad, and spleen weight for groups of different boron intake¹⁾ (g)

Group	Liver	Kidney	Thymus	EFP	Spleen
0 B	6.07±0.67	1.68±0.18	0.36±0.08	2.09±1.09	0.44±0.08
5 B	6.00±0.65	1.59±0.12	0.32±0.08	1.52±0.66	0.45±0.13
10 B	6.34±1.07	1.64±0.27	0.36±0.09	2.15±1.25	0.43±0.16
20 B	6.30±0.72	1.63±0.06	0.33±0.14	2.03±0.56	0.42±0.07
40 B	5.97±0.98	1.62±0.21	0.33±0.08	1.68±1.19	0.40±0.10
80 B	6.49±0.87	1.46±0.63	0.56±0.54	1.85±1.66	0.38±0.04
SF ²⁾	NS	NS	NS	NS	NS

1) Mean ± standard deviation

2) Significant Factor

NS : Effect of dietary B level was not significant by F-test.

Table 4. Daily calcium intake, fecal and urinary Ca excretions, apparent absorption and Ca retention for groups of different boron intake¹⁾

Group	Intake (mg/day)	Fecal excretion (mg/day)	Urinary excretion (mg/day)	Apparent absorption ²⁾ (%)	Retention ³⁾ (mg/day)
<i>2 weeks</i>					
0 B	79.72 ± 12.72 ^{b4)}	69.59 ± 24.01	0.36 ± 0.24	10.18 ± 35.24	9.76 ± 28.20
5 B	78.20 ± 4.69 ^b	67.17 ± 5.72	0.33 ± 0.11	13.69 ± 11.68	10.70 ± 9.64
10 B	111.84 ± 25.50 ^a	79.24 ± 28.85	0.23 ± 0.05	29.45 ± 19.83	32.37 ± 21.43
20 B	95.75 ± 11.29 ^{ab}	83.97 ± 17.84	0.20 ± 0.05	11.58 ± 19.02	11.58 ± 20.11
40 B	83.53 ± 29.73 ^{ab}	50.39 ± 25.39	0.19 ± 0.06	42.04 ± 10.76	32.95 ± 9.42
80 B	114.67 ± 21.96 ^a	73.02 ± 32.75	0.16 ± 0.03	33.12 ± 38.88	41.49 ± 46.96
SF ⁵⁾	B*	NS	NS	NS	NS
<i>4 weeks</i>					
0 B	135.02 ± 26.20	66.90 ± 26.55	0.67 ± 0.29	49.49 ± 22.25	67.44 ± 32.25
5 B	144.67 ± 12.47	36.69 ± 26.68	0.69 ± 0.57	73.58 ± 20.09	107.29 ± 37.87
10 B	166.28 ± 28.29	69.31 ± 48.72	0.27 ± 0.04	56.73 ± 33.02	96.70 ± 55.19
20 B	163.13 ± 25.52	55.43 ± 17.81	0.49 ± 0.39	66.23 ± 8.84	107.21 ± 19.44
40 B	117.35 ± 37.30	50.39 ± 25.39	0.25 ± 0.08	58.95 ± 10.92	66.71 ± 13.80
80 B	114.53 ± 50.67	34.67 ± 24.35	0.52 ± 0.35	71.09 ± 9.16	79.35 ± 31.24
SF	NS	NS	NS	NS	NS

1) Mean ± standard deviation

2) Apparent absorption(%) = [(intake - fecal loss) / intake] × 100

3) Retention(mg/day) = (intake - fecal loss) / intake

4) Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple-range test.

5) Significant Factor

B : Effect of dietary B level was significant by F-test.

* : significant at α = 0.05

NS : Effect of dietary B level was not significant by F-test.

순으로 흡수율이 높았다. 반면 보유량은 5B군과 20B군이 가장 높았으며 그 다음은 10B군, 80B군의 순으로 높았다.

본 연구 결과로 볼 때 전반적으로 성장기 흰 쥐에서는 식이 1g 당 5~80µg의 붕소의 보충이 칼슘 대사에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 볼 수 있다. 이런 결과들은 식이 1g 당 0.158µg의 붕소가 함유된 저붕소식을 먹인 쥐가 식이 1g 당 2.72µg의 붕소가 함유된 식이를 먹인 쥐보다 뇨 중 칼슘과 마그네슘의 배설량이 증가했다는 보고¹³⁾나 12명의 폐경후 여성을 대상으로 한 연구에서 하루에 3mg의 붕소를 식이에 보충해 줌으로서 뇨로 배설되는 칼슘의 양이 감소하고 혈청내 17β-estradiol, testosterone, 그리고 칼슘 이온의 농도가 증가했다고 보고¹⁴⁾한 것과는 다소 차이가 있다. 따라서 붕소가 칼슘과 골격대사에 미치는 유의한 영향은 칼슘이나 마그네슘의 부족 상태, 폐경후 여성과 같이 호르몬 분비상의 문제가 있는 경우 또는 관절염 환자 등과 같이 뼈의 건강에 문제가 생긴 경우 그것에 대한 보상 기전으로서 작용했을 가능성이 큰 것으로 보이며 본 연구에서와 같이 실험 동물이 성장기이고 또한 칼슘 섭취 수준이 정상인 경우에는 별 영향을 미치지 않는 것으로

사료된다.

3. 혈청 칼슘, alkaline phosphatase 활성 및 뇨중 hydroxyproline 배설량

혈청 내 칼슘과 alkaline phosphatase의 활성, 뇨중 hydroxyproline의 배설량은 Table 5에 나타낸 바와 같다. 혈청 내 Ca 수준은 각 군 간에 유의적인 차이는 없었으나 80B > 10B > 20B > 5B > 40B > 0B군의 순으로 높았다. Alkaline phosphatase의 활성은 각 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 뇨중 hydroxyproline 배설량은 실험식이 적용후 2주째에는 붕소 보충에 따른 유의적인 차이를 보여 40B 군과 80B군이 다른 군들에 비해 낮은 경향이였다. 뇨중 hydroxyproline은 골격 및 연조직에 많이 함유되어 있는 콜라겐의 주요성분으로 콜라겐이 많이 분해될수록 뇨 hydroxyproline의 배설량이 증가하기 때문에 골격 용출의 지표로 사용된다. 따라서 식이내 붕소 수준을 증가시켜줌으로서 골격 용출이 감소된 것으로 볼 수 있다. 그러나 실험식이 적용후 4주째에는 2주째와는 달리 붕소 보충에 따른 유의적인 영향을 볼 수 없었다.

Table 4의 결과에서 2주째의 칼슘섭취량과 칼슘흡수

율이 높은 경향이었다가 4주째에는 차이가 없었던 점이 나 위의 뇨중 hydroxyproline의 결과에서 볼 때 성장기 흰쥐에서 붕소 보충식이에 의한 칼슘흡수율과 보유량 및 골격 용출에 미치는 영향은 보충식이후 2주 정도의 단기적으로만 영향을 미치는 것으로 보이며 그 이후에는 붕소 보충식이에 대해 적응하는 것으로 보인다.

4. 사구체여과율

붕소가 골격 및 Ca 대사에 좋은 영향을 미치는 것으로 보이며 이에 따라 붕소를 필수 영양소의 하나로 간주하려는 시도들이 있으나 아직까지는 붕소의 생리적, 생화학적 기능이 확실치 않기 때문에 식이내 붕소의 첨가시 나타날 수 있는 독성에 대해서도 관심을 기울여야 한다. 물론 본 실험에서 식이에 첨가해 준 붕소의 양은 그 동안 축적된 연구 결과 과잉증이 나타나는 것으로 보고된 수준보다 낮은 것이기는 하나 혹시 이로 인한 신장 기능의 변화를 보기 위하여 크레아티닌 제거율을 측정함으로써 사구체여과율을 계산하였다. 그 결과는 Table 6에 있다.

혈중 크레아티닌 농도는 각 군간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 뇨 중 크레아티닌 배설량은 붕소 보충 수준에 따라 유의적인 차이가 있어 식이내 붕소 수준이 증가할수록 뇨중 크레아티닌 배설량이 증가하였다. 따라서 사구체여과율도 붕소를 보충해 주지 않은 군보다 10µg 이상의 붕소 첨가군에서 유의적으로 높았다. 이런 결과로 볼 때 붕소의 보충은 혈중 크레아티닌 수준에는 영향 없이 뇨 중 크레아티닌 배설량을 증가시킴으로서 사구체여과율을 증가시키는 것으로 보이며 따라서 신장 기능을 향상시키는 기능이 있음을 알 수 있다. 또한 붕소 보충에 의해 사구체여과율이 이렇게 증가하는데도 불구하고 앞에서 제시한 바와 같이 뇨중 칼슘 배설량은 영향 받지 않거나 오히려 감소하는 것으로 볼 때 붕소 보충은 사구체여과율을 증가시키는 기전과 뇨중 Ca 배설량을 감소시키는 기전을 공유하는 것으로 사료된다.

5. 골격대사

사육기간 종료후에 대퇴골과 견갑골을 채취하였으며

Table 5. Alkaline phosphatase and Ca in serum and urinary Hydroxyproline excretions¹⁾

Group	Alkaline phosphatase (KA)	Ca (mg/dl)	Hydroxyproline of 2 weeks (mg/day)	Hydroxyproline of 4 weeks (mg/day)
0 B	43.51 ± 7.71	9.07 ± 1.58	7.69 ± 1.07 ^{ab}	6.48 ± 0.29
5 B	41.29 ± 2.84	9.55 ± 1.82	7.74 ± 0.71 ^{ab}	6.44 ± 0.45
10 B	39.65 ± 10.63	10.01 ± 1.34	8.45 ± 1.35 ^a	6.52 ± 0.36
20 B	40.92 ± 5.18	9.78 ± 2.09	7.73 ± 0.91 ^{ab}	6.52 ± 0.75
40 B	35.94 ± 4.28	9.22 ± 1.36	7.02 ± 0.26 ^b	6.85 ± 0.63
80 B	45.08 ± 14.51	11.09 ± 1.86	6.62 ± 0.43 ^b	6.31 ± 0.36
SF ³⁾	NS	NS	B*	NS

1) Mean ± standard deviation
 2) Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple-range test.
 3) Significant Factor
 B : Effect of dietary B level was significant by F-test.
 * : significant at α=0.05
 NS : Effect of dietary B level was not significant by F-test.

Table 6. Creatinine clearance¹⁾

Group	Serum creatinine (mg/dl)	Urinary creatinine (mg/day)	Creatinine clearance (ml/min)
0 B	0.080 ± 0.004	38.42 ± 5.39 ^{c2)}	0.32 ± 0.04 ^c
5 B	0.083 ± 0.007	42.35 ± 7.84 ^{bc}	0.35 ± 0.09 ^{bc}
10 B	0.080 ± 0.009	46.70 ± 7.37 ^{ab}	0.44 ± 0.10 ^a
20 B	0.080 ± 0.015	51.94 ± 3.54 ^a	0.45 ± 0.08 ^a
40 B	0.080 ± 0.006	49.48 ± 3.64 ^{ab}	0.43 ± 0.04 ^{ab}
80 B	0.080 ± 0.011	51.18 ± 6.11 ^a	0.43 ± 0.05 ^{ab}
SF ³⁾	NS	B**	B**

1) Mean ± standard deviation
 2) Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple-range test.
 3) Significant Factor
 B : Effect of dietary B level was significant by F-test.
 ** : significant at α=0.01
 NS : Effect of dietary B level was not significant by F-test.

Table 7. Length, wet weight, dry weight, density and content of Ca and P of femur and scapular for groups of different B intake¹

Group	Length (mm)	Wet weight (mg)	Dry weight (mg)	Density (mg/cm ³)	Ca (mg)	Ca/wt (%)	p (mg)	p/wt (%)
Femur								
0 B	31.93±1.28	625.02±54.58	324.01±36.91	6.21±1.54	227.73± 59.3	46.57±17.04	18.02±2.14	3.59±0.43
5 B	31.90±0.61	624.44±37.83	324.09±24.61	5.66±0.86	198.36± 2.8	42.08± 3.54	18.57±1.19	3.81±0.39
10 B	31.95±1.64	625.34±71.97	335.73±46.75	5.24±0.53	250.65±101.8	51.30±23.19	17.03±2.23	3.54±0.31
20 B	31.83±0.85	642.26±34.52	339.42±31.34	5.22±0.44	190.94± 23.8	40.35± 5.17	19.15±0.27	4.00±0.34
40 B	32.01±0.79	644.04±37.97	336.70±28.55	5.36±0.58	251.13± 91.5	53.17±23.68	17.44±1.82	3.56±0.33
80 B	31.95±1.12	624.60±38.45	343.52±38.68	5.89±1.68	295.30± 83.0	60.01±18.31	17.63±2.53	3.58±0.45
SF ²⁾	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Scapular								
0 B	24.14±1.07	135.36±15.32	86.40± 9.61	3.28±1.08	25.89± 4.62	29.39± 5.08	8.13±0.65	8.80±1.10 ^{ab3)}
5 B	24.08±0.77	138.46±18.85	87.85± 7.35	3.65±0.35	30.70± 8.37	34.61±15.57	8.55±0.56	8.70±0.67 ^{ab}
10 B	24.33±1.14	143.35±20.15	94.41±12.09	4.41±1.07	28.35± 3.36	26.17± 3.44	7.54±0.92	7.36±1.09 ^b
20 B	24.23±0.80	143.40±20.63	92.00±11.07	3.52±0.87	28.72± 3.84	32.40± 6.10	8.87±0.46	9.80±2.29 ^a
40 B	24.46±0.81	149.83±14.62	91.13±10.30	4.35±1.10	27.59± 2.15	27.70± 1.41	7.57±1.57	7.51±1.28 ^b
80 B	23.38±1.48	144.10±17.69	95.28±12.89	3.58±0.45	27.75± 3.39	27.62± 3.32	8.41±1.85	8.00±1.40 ^b
SF	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	B*

1) Mean±standard deviation

2) Significant Factor

B : Effect of dietary B level was significant by F-test.

* : significant at α=0.05

NS : Effect of dietary B level was not significant by F-test.

3) Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple-range test.

골격 구성 성분에 대한 결과는 Table 7에 나타내었다. 대퇴골의 길이, 젖은 무게, 마른 무게는 각 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 대퇴골내 칼슘 함량을 단위 무게 당으로 환산해 본 결과 80B군이 가장 높은 경향을 보였고 그 다음 40B>10B>0B>5B>20B군의 순으로 높았다. 견갑골의 길이, 무게, 밀도, 칼슘 함량은 각 군간에 유의적인 차이가 없었다. 견갑골의 인 함량을 단위 무게당으로 계산해 본 결과 식이내 붕소 수준이 높을수록 낮아지는 경향을 보였다.

MaCoy 등¹²⁾의 연구에서는 칼슘 결핍식이를 먹이면서 식이 1g 당 3, 6, 12μg의 붕소를 보충해 준 쥐들에서는 척추뼈 중의 칼슘 함량이 높았고 강도가 강해졌다고 했다. Dupre 등⁹⁾은 비타민 D결핍시 2.72ppm의 붕소 보충을 하였을 때 0.16ppm의 붕소 섭취시보다 칼슘, 마그네슘의 균형이 높아지는 것을 발견했다. Newnham¹⁷⁾은 관절염 환자에게 하루에 6mg의 붕소를 보충해준 결과 위약을 준 군보다 유의적으로 증세가 완화되었다고 보고 했다. 48~82세 사이의 폐경후 여성에게 하루에 3mg의 붕소 보충으로 노중 칼슘과 마그네슘의 배설량이 감소하며 이런 현상은 마그네슘 결핍 상태일 때 더 뚜렷했다고 했다¹¹⁾. 그러나 본 연구에서는 매우 높은 수준의 붕소를 보충해 줬음에도 불구하고 이러한 연구들과는 달리 칼슘과 골격 대사에서의 유의적인 변화를 볼 수 없

었다.

6. 골격 조직의 형태학적 변화

사육이 끝난후 척추골을 채취하여 사진 촬영을 실시하였으며 그 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 0B군의 척추골의 골소주(trabecule)는 연골내골화(endochondral ossification)방식에 의해 형성되어 있어 연골심(cartilage seam) 주변으로 골화되어 있는 모습을 보인다. 골소주들은 다소 불규칙하면서 인접 골소주와 연결되어 있는 양상을 띤다. 5B군은 연골세포주(chondrocyte column)가 짧고 골수강(bone marrow)이 넓으며 골소주의 수가 작고 불규칙하며 골소주의 굵기는 굵어져 있다. 또한 정상골에서의 연골내골화양상이 변화되어 석회화 연골층이 거의 없이 모두 골주로만 이루어져 있다. 10B군은 골수강이 다소 넓어져 있으며 골소주의 수가 줄어 있다. 또한 골소주는 비교적 직선형이거나 단독으로 고립되어 있으며 인접 골소주와의 연결이 적어졌다. 20B군은 골소주의 수가 다소 줄었으며 불규칙하게 배열된 경향을 보인다. 40B군은 골소주는 다소 직선적으로 형성되어 있고, 그 수는 적으며 골수강이 다소 넓어진 양상이다. 80B군은 다소 짧게 단락지어진 골소주들이 배열되어 있고 골수강내에 지방세포가 증가되었다.

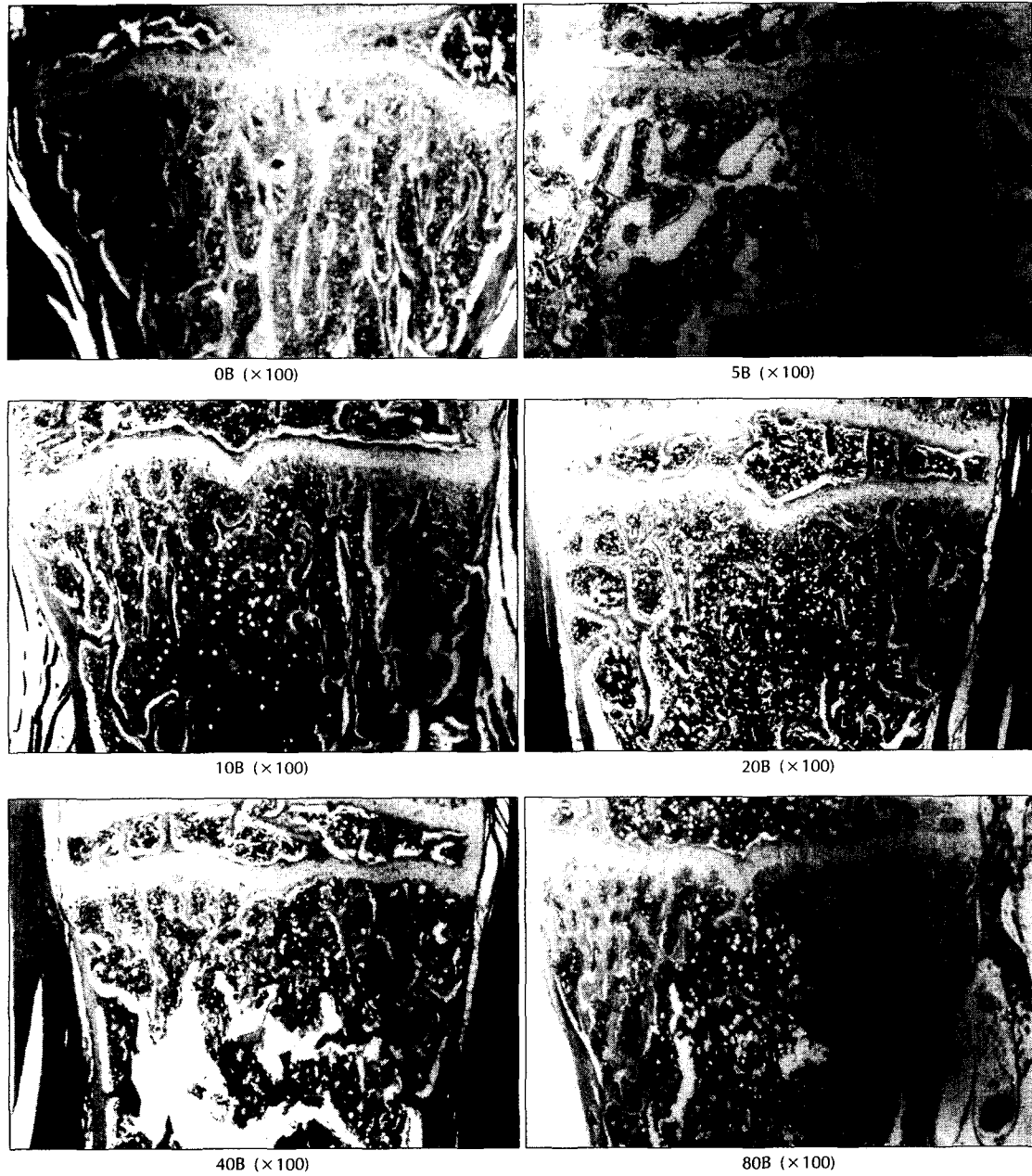


Fig. 1 Photomicrographs of 4th vertebra sections.

이상의 결과를 종합해 보면 0B군의 골격구조는 비교적 안정적인 경향을 보이며 80B군이 다소 골소주의 길이는 짧으나 골소주의 수는 별로 감소하지는 않은 경향을 보이고 5B군은 골소주의 굵기는 다소 굵어져 있으나 그 수가 적고 불규칙하게 배열되어 있으며 20B군도 골소주의 수가 적어지고 불규칙하게 배열되어 있는 것을 볼 수 있다. 붕소의 보충이 골격 조절의 형태학적 변화에 일괄적인 영향을 미친다고 볼 수 없다.

요약 및 결론

본 연구는 성장기 동안에 식이내 붕소의 보충이 골격 및 칼슘 대사에 미치는 영향을 알아보려고 시도되었다. 이를 위해 이유한 숫컷 흰쥐를 이용하여 식이 1g 당 5, 10, 20, 40, 80 μ g의 붕소를 보충해 준 군과 대조군 등 6군으로 나누어 4주간 사육하였고 그 결과는 다음과

같다.

식이섭취량과 체중증가량은 각 군간에 유의적인 차이가 없었다. 간, 신장, 흉선, 부고환지방조직, 지라의 무게도 각 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 변과 뇨를 통한 칼슘의 배설량, 칼슘흡수율과 보유량도 붕소 보충에 따른 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 혈청 alkaline phosphatase 활성과 뇨중 hydroxyproline 배설량도 각 군간에 유의적인 차이가 없었다. 크레아티닌 제거율로 사구체여과율을 측정해 본 결과 혈청 크레아티닌 수준은 붕소 보충에 의한 영향이 없이 각 군 간에 일정했으나 뇨중 크레아티닌 배설량은 붕소 보충 수준이 증가할수록 증가하는 경향을 보여 식이 1g 당 10 μ g 이상의 붕소를 첨가한 군에서 사구체여과율이 높았다. 대퇴골과 견갑골의 길이, 무게, 밀도, 칼슘 함량은 붕소 보충에 따른 영향을 받지 않았으며 각 군간에 유의적인 차이가 없었다. 견갑골의 인의 함량을 단위 무게당으로 환산한 결과 식이내 붕소 수준이 높을수록 낮아지는 경향을 보였다. 골격 조직은 0B군과 80B군에서 안정적인 골격의 구조를 보였다.

이와 같이 성장기 흰쥐에게 식이 1g 당 5~80 μ g의 비교적 높은 수준의 붕소를 보충해 주었음에도 불구하고 칼슘과 골격 대사는 영향을 받지 않았다. 이런 결과로 볼 때 붕소가 칼슘 및 골격 대사에 유익한 영향을 미치는 조건은 골격 대사에 영향을 미치는 인자들 - 비타민 D, 마그네슘, 칼슘, 에스트로젠 등 - 의 영양상태나 대사가 부적절한 경우에 한하는 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서와 같이 정상적인 칼슘 섭취를 하는 성장기 흰쥐에서 붕소의 보충이 큰 영향을 미치지 않은 것은 이 시기의 Ca 및 골격대사가 원활히 진행된다는 점을 고려해 볼 수 있다. 그러나 이 연구만으로는 어떤 결론을 내리기 미흡하며 앞으로 붕소의 효용성을 실생활에 이용하기 위해 다각도의 후속연구가 이루어져야 할 것으로 본다.

Literature cited

- 1) Mellor JA. Inorganic and theoretical chemistry. vol 5. London : Longman, Green, and Co., pp2, 1924
- 2) Solis-Cohen S, Githens TS. Pharmacotherapeutics. D Appleton and Company, pp.581-586, 1938
- 3) Iyengar GV, Clark WB, Downing RG, Tanner JT. Lithium in biological and dietary materials. *Trace Elem Anal Chem Med Biol Proc Int Workshop* 5 : 267-269, 1988
- 4) Anderson DL, Cunningham WC, Mackey EA, Fresenius J. Determination of boron in food and biological reference materials by neutron capture prompt-gamma ac-

- tivation. *Anal Chem* 338 : 554-558, 1990
- 5) Forbes RM, Cooper AR, Mitchell HH. On the occurrence of beryllium, boron, cobalt, and mercury in human tissues. *J Biol Chem* 209 : 857-865, 1954
- 6) Nielsen FH. Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel, and arsenic : Current knowledge and speculation. *FASEB J* 5 : 2661-2667, 1991
- 7) Nielsen FH. The saga of boron in food : From a banished food preservative to a beneficial nutrient for humans. *Curr Top Plant Biochem Physiol* 10 : 274-286, 1991
- 8) Meacham SL, Taper LJ, Volpe SL. Effect of boron supplementation on bone mineral density and dietary, blood, and urinary calcium, phosphorus, magnesium, and boron in female athletes. *Environ Health Perspect* 102(Supple 7) : 79-82, 1994
- 9) Dupre JN, Keenan MJ, Hegsted M, Brudevold AM. Effects of dietary boron in rats fed a vitamin D-deficient diet. *Environ Health Perspect* 102(Supple. 7) : 55-58, 1994
- 10) Meacham SL, Taper LJ, Volpe SL. Effect of boron supplementation on blood and urinary calcium, magnesium, and phosphorus, and urinary boron in athletic and sedentary women. *Am J Clin Nutr* 61 : 341-345, 1995
- 11) Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR. Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB J* 1 : 394-397, 1987
- 12) McCoy H, Irwin A, Kenney MA, Williams L. Effects of boron supplements on bones from rats fed calcium and magnesium deficient diets. *FASEB J* 5 : A1309, 1991
- 13) McCoy H, Montgomery C, Kenney MA, Williams L. Effects of boron on bones from rats fed low-calcium diets. *FASEB J* 4 : A1050, 1990
- 14) Brossart B, Nielsen FH. Boron affects magnesium and calcium metabolism in the rats. *ND Acad Sci* 40 : 128, 1986
- 15) Nielsen FH, Mullen LM, Gallagher SK. Effect of boron depletion and repletion on blood indicators of calcium status in humans fed a magnesium-low diet. *J Tr Elem Exp Med* 3 : 45-54, 1990
- 16) Newnham RE. Boron problems and its essential nature. In : Current Trends in Trace Elements Research(Chazot G, Abdulla M, Arnaud P, eds). Nishimura, Japan : Smith-Gordon, 89-91, 1989
- 17) Newnham RE. Essentiality of boron for healthy bones and joints. *Environ Health Perspect* 102(Supple 7) : 83-85, 1994
- 18) The American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of nutrition. Ad Hoc Committee on standards for Nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 19) Lee JA, Jang YA, Kim WY. The effects of age and dietary protein level on Ca metabolism in rats. *Korean J Nutr*

- 25 : 569-577, 1992
- 20) Cho SY, Jang YA, Lee HS, Kim WY. The effect of dietary protein level on the Ca and bone metabolism in ovariectomized rat. *Korean J Nutr* 26 : 915-924, 1993
- 21) Horowitz M, Need AJ, Philcox JC, Nordin BEC. Effect of calcium supplementation on urinary hydroxyproline in osteoporotic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 39 : 857-859, 1984
- 22) Bonsnes RW, Taussky HH. On the colorimetric determination of creatinine by the jaffe reaction. *J Biol Chem* 158 : 581-591, 1945
- 23) Lee HS, Kim WY. The effect of level of dietary protein on kidney development and function in growing rats. *Kor J Nutr* 23 : 401-407, 1990
- 24) Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. *Am J clin pathol* 24 : 322-326, 1954
- 25) Helrich K. Official Method of Analysis of the Association of official analytical chemists, pp.1112-1113, 1990
- 26) Helrich K. Official Method of Analysis of the Association of official analytical chemists, pp.56, 1990