

## 콩단백질과 이소플라본이 성장기 암컷 쥐의 골밀도에 미치는 영향\*

최 미 자<sup>§</sup> · 조 현 주

계명대학교 식품영양학과

### Effects of Soy Protein and Isoflavones on Bone Mineral Density in Growing Female Rats\*

Choi, Mi-Ja<sup>§</sup> · Cho, Hyun-Ju

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

#### ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the impact of soy protein and soy isoflavones on bone and mineral density in young female Sprague-Dawley rats. Fifty eight rats (body weight  $75 \pm 5$  g) were randomly assigned to one of four groups, consuming casein, soy protein concentrate, soy protein isolate (57 mg isoflavones/100 g diet) or casein added isoflavones (57 mg isoflavones /100 g diet). All rats were fed on experimental diet and deionized water ad libitum for 9 weeks. Bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) were measured using PIXImus (GE Lunar Co, Wisconsin, USA) in spine and femur on 3, 6, 9 weeks after feeding. The serum and urine concentrations of Ca and P were determined. Diet did not affect weight gain and mean food intake. Food efficiency ratio was lower in soy protein groups. The serum concentration of Ca and P were not changed by soy protein and isoflavones. Urinary Ca and P excretion were not significantly different. Spine BMD was significantly increased by soy protein isolate on 3 and 6 weeks after feeding. Femur BMD was significantly increased in the groups of soy protein isolate and isoflavones adding on after 9 weeks. Therefore, soy protein with rich isoflavones may be beneficial on spine and femur BMD increasement in growing female rats. (*Korean J Nutrition* 36(4) : 359~367, 2003)

**KEY WORDS** : soy protein, isoflavones, bone mineral density, growing female rat.

#### 서 론

콩단백질이 골다공증 예방<sup>1-4)</sup>이나 골소실 지연에 유익한 이유 중 하나로 이소플라본에 관심이 고조되고 있다. 이소플라본은 구조와 분자량이 여성호르몬인 에스트로젠 (17  $\beta$ -estradiol)과 유사하여 약한 에스트로젠의 성질을 가진다고 보고되었으며,<sup>5)</sup> 골다공증 치료약물인 ipriflavone과 구조적으로 유사하다는 점 때문에 이소플라본이 풍부한 콩단백질은 폐경 후 여성의 골다공증 발병 위험을 줄여 줄 수 있다고 제시되었다.<sup>6)</sup> 그리고 이소플라본은 에스트로젠 수용체- $\beta$ 에 선택적으로 작용하여,<sup>7,8)</sup> 에스트로젠 수용체- $\beta$ 가 주로 분포되어 있는 조직인 갑상선, 뼈, 혈관 등에는 더

욱 선택적으로 작용할 것이라는 이소플라본의 조직 선택적 효과 (tissue selective effect)에 대한 가능성이 제시되었다.<sup>9)</sup> 이러한 성질 때문에 이소플라본은 폐경기 이후 여성에서 에스트로젠 분비 부족으로 인한 골소실 위험을 낮춰 줄 수 있다고 제안되었다.<sup>10)</sup> 또한 역학 연구에서 골다공증은 콩 섭취가 많은 아시아 여성이 서구의 여성보다 낮다고 보고되었다.<sup>10,11)</sup> 그리고 실험적 연구에서 폐경 후 여성 또는 난소절제 동물을 대상으로 한 연구에서 이소플라본이 풍부한 콩단백질은 골소실을 막는데 유익하다는 보고<sup>12)</sup>가 많이 되었다. 한편, 모든 연구자들이 이소플라본의 골 보호효과에 동의하는 것은 아니며 일부 학자들은 이소플라본의 골 보호효과에 대해 상반된 견해를 제시하였다. Jayo 등<sup>6)</sup>과 Lees와 Ginn<sup>13)</sup>은 난소절제한 원숭이에게 이소플라본이 풍부한 콩단백질을 급여했을 때 골소실을 지연시키지 못하였으나 에스트로젠은 효과가 있었다고 하였다. 사람을 대상으로 한 Dalais 등<sup>14)</sup>의 연구에서는 12주 동안 52 mg의 이소플라본의 섭취로 골무기질 함량이 변화되지 않았다고 보고하여 이소플라본의 골 보호효과에 대한 연구는 일관성 있

접수일 : 2003년 1월 6일

채택일 : 2003년 4월 24일

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

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

는 결과를 보이지 않는다. 이소플라본의 생리적 활성수준에 관련한 선행연구들을 살펴보면, 폐경기 전후의 여성을 대상으로 한 Alekel 등<sup>15)</sup>과 폐경기 이후의 여성을 대상으로 한 Erdman 등<sup>16)</sup>의 연구에서 하루에 각각 80 mg과 90 mg의 이소플라본을 6개월간 섭취하게 하였을 때 요추에서만 골손실을 예방할 수 있었다. 따라서 Messina<sup>17)</sup>는 사람의 경우 뼈에서 이소플라본이 유의한 효과를 나타내는데 필요한량은 하루에 90 mg정도로 높은 수준이며 이는 아시아인의 일반적인 섭취량의 약 3~5배 정도가 될 것이라고 하였다.

반면, 난소절제한 흰쥐를 이용한 Anderson과 Garner<sup>18)</sup>의 연구에서는 저 수준 (0.5 mg/day)의 genistein은 골손실 예방효과가 있었으나 이보다 더 높은 수준의 genistein은 오히려 역효과를 나타내었다고 보고하였다. Kim<sup>19)</sup>의 연구에서도 난소절제 흰쥐에서 6주간 콩 이소플라본을 공급하였을 때, 80 ppm군에서는 골격에서의 칼슘손실을 예방하는 효과가 있었으나 160 ppm군에서는 이러한 효과를 확인할 수 없었다고 보고하여 투여량에 따라 이소플라본의 효과가 다르게 나타남을 보였다. 이처럼 폐경 여성에서 골다공증이 급증하는 점에 초점을 맞추어 대부분의 연구가 에스트로겐이 결핍된 폐경 후 여성들이나 난소절제동물을 대상으로 주로 이루어져 왔다. 그러나 일부에서는 동물과 *in vitro* 실험에서 이소플라본은 에스트로겐으로서의 효과뿐만 아니라 항에스트로겐으로서의 효과도 함께 나타내는 것으로 보고하였다.<sup>20,21)</sup> Dwyer 등<sup>21)</sup>은 이소플라본이 폐경 후 여성에서는 에스트로겐으로 작용하나 폐경기 이전 여성에서는 수용체의 결합부위에 대하여 내인성 에스트로겐과 경쟁하므로 약한 항에스트로겐으로서 작용할 수 있다고 제안하였다. 이러한 이론에 근거하여 일부 학자들은 이소플라본이 성장기나 젊은 여성에서 오히려 내인성 에스트로겐의 활성을 떨어뜨려 유익하지 못할 것이라는 우려가 있었다.<sup>22)</sup>

그러나 이들 제안이나 우려에 뒷받침하는 폐경기 이전 여성에서 isoflavones가 항에스트로겐 작용이나 에스트로겐의 활성을 떨어뜨려 골밀도에 유익하지 못하다는 실험적 연구는 없다. 또한 최근의 연구에서 콩 영아식 (soy-based infant formula)을 통한 영아기 동안의 이소플라본의 섭취는 성인기 후반에 나타날 수 있는 골다공증 발생에 대한 방어작용을 하므로 장기적인 이점을 줄 수 있을 것이라고 보고하였으나,<sup>23)</sup> 실제로 성장기에 콩단백질이나 isoflavones에 노출된 경우 직접 골밀도를 측정할 실험 연구도 거의 없다. 그러나 최근 본 실험실에서 성장기 수컷 쥐에서 콩단백질이나 isoflavones가 풍부한 콩단백질에 노출된 경우 체중 당 척추의 골밀도가 높아서 골형성에 유리한 것으로 사료된다고 보고하였다.<sup>24)</sup> 폐경 후 골소실 시기에 골소실을

지연시키는 것도 매우 중요하지만 성장기에 최대 골밀도를 높이는 것이 가장 적극적인 골다공증의 예방법임을 감안하고, 콩의 isoflavones가 여성 호르몬의 역할과 비슷하다는 점을 고려 할 때 isoflavones가 풍부한 콩단백질 섭취 시 여성 호르몬이 분비되는 성장기의 암컷에서도 성장기의 수컷처럼 골밀도 형성에 유익한지 아니면 antiestrogenic 한지를 알아보는 것은 매우 의의 있는 일이나 성장기 암컷을 대상으로 isoflavones가 골밀도에 미치는 효과에 대한 보고는 아직 없다.

따라서 본 연구는 성장기 암컷 쥐를 대상으로 콩단백질과 isoflavone가 골밀도 및 골함량에 미치는 효과를 알아보고자하였다.

## 연구방법 및 내용

### 1. 실험동물 및 실험식이

Sprague-Dawley 암컷 쥐 (50~65 g)를 대한 동물사육센터로부터 분양 받아 1주일간의 적응 기간 동안 고품 사료 (rat chow, 삼양사)로 사육한 후 난괴법을 이용하여 각 군당 10마리씩 3군으로 나누어 9주간 실험 식이를 공급하였다. 실험동물은 9주간 stainless-steel wire cage에서 한 마리씩 분리 사육하였으며, 사육실의 온도는  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $63 \pm 5\%$ 로 유지하고 매일 광주기, 암주기를 12시간이 되도록 조절하였다 (Table 1). 실험 기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취하게 하였으며 물은 모두 2차 이온교환수를 사용하였다. 실험 식이는 단백질 급원으로 casein과 콩단백질을 사용하였다. 이때 콩단백질은 이소플라본의 함량을 달리하기 위하여 이소플라본이 풍부한 soy isolate protein (isoflavones 3.4 mg/g protein)과 이소플라본이 거의 함유되어 있지 않은 soy concentrate protein (isoflavones 0.1이하 mg/g protein)을 각각 사용하였다. 실험 기간 동안 식이 섭취량은 이들에 한 번씩, 체중은 1주일에 한 번씩 일정 시간에 측정하였다.

### 2. 골밀도 측정

실험 동물은 사육 3주, 6주, 9주 째에 마취제 ketamine hydrochloride (유한양행, 50 mg/ml)를 사용하여 체중 1 kg 당 75 mg의 용량으로 근육 주사 한 후 척추와 대퇴골의 골밀도를 GE, LUNAR (Madison, WI, USA)사의 양에너지 방사선 골밀도 측정기 (dual energy x-ray absorptiometry, DEXA)인 small animal 전용 골밀도 측정기인 PIXImus를 이용하여 척추 (spine)와 대퇴골 (femur)의 골밀도 (bone mineral density, BMD)와 골함량 (bone

mineral content, BMC)을 측정하였다. 총 칼슘 량과 골밀량은 g으로 그리고 골밀도는 g/cm<sup>2</sup>로 나타내었다.

**3. 생화학분석**

혈청과 뇨중 칼슘은 칼슘이 함유되어 있는 시료에 o-CPC (o-cresolphthalein complexone)를 첨가하여 생성되는 발색복합물의 흡광도를 570 nm에서 측정한 비색정량법<sup>25,26)</sup>으로, 인은 시료에 몰리브덴산을 첨가함으로 생성되는 인-몰리브덴산 복합체의 발색정도를 340 nm에서 측정한 인-몰리브덴산 비색정량법<sup>27)</sup>을 이용한 TECHNICON CHEN<sup>TM</sup> SYSTEM을 이용하여 자동분석기로 측정하였다.

**4. 통계처리**

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준오차를 계산하였고, 실험군 간의 비교는 One way ANOVA 분석을 이용하였으며, Duncan's multiple range test에 의

해 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 체중과 식이 효율**

9주간의 체중 증가량, 평균 식이 섭취량 및 식이 효율을 Table 2에 나타내었다. 9주간의 체중증가량은 158.9 g~160.8 g, 평균 식이 섭취량은 13.7 g~14.6 g으로 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 식이 효율은 soy isolate를 섭취한 군과 soy concentrate를 섭취한 군이 casein을 섭취한 군 보다 유의적으로 낮아 단백질 급원에 따라 식이 효율이 다르게 나타났다. 콩단백질의 식이 효율이 casein 보다 낮은 결과는 선행연구에서 성장기 수컷 쥐에서 콩단백질이 casein에 비하여 식이 효율이 낮았다고 보고한 선행연구 결과와<sup>24)</sup> 일치한다. 식이 효율이 낮음에도 체중의 증가량에서 유의적인 차이가 없는 것은 콩단백질 군의 일일 평균 식이 섭취량이 casein 군에 비하여 약간 높았기 때문으로 사료된다. 콩단백질군 내에서 isoflavones의 함량의 차이에 따라 체중과 식이 섭취량에는 차이가 없었다. 이 결과는 동물을 폐경 모델로 하여 콩 이소플라본을 공급한 결과 난소절제군과 sham군 모두에서 이소플라본의 첨가에 따라 체중은 차이가 없었다고 보고한 것이나,<sup>28)</sup> 폐경 모델 흰쥐에서 이소플라본을 첨가한 경우 식이 섭취량 (14.9 g~16.7 g)에 유의적인 차이가 없었다고 보고한 결과와<sup>19)</sup> 일치한다. 그러나 폐경의 경우에는 체중 증가량에 미치는 이소플라본의 효과에 대해 다른 견해도 있다. Picherit 등<sup>29)</sup>은 난소절제 흰쥐에서 이소플라본을 체중 1 kg 당 27.8 mg/d의 isoflavones을 섭취시킨 경우 난소절제 쥐에서 나타나는 전형적인 체중증가 현상이 없이 sham 군과 유사한 체중을 보여 이소플라본이 난소절제쥐에서 체중증가를 막아 줄 수 있다고 하였다. 그러나 Picherit 등<sup>29)</sup>의 연구는 식이 섭취량에 대한 정보가 없어서 순수 isoflavones의 섭취 때문인지 더욱 연구가 요망된다.

**2. 혈 중 칼슘과 인**

혈청 칼슘과 인의 농도에 대한 결과를 Table 3에 제시하

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

Ingredients	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Casein <sup>1)</sup>	200	-	-
Soy protein isolate <sup>2)</sup>	-	202	-
Soy protein Concentrate <sup>3)</sup>	-	-	226
Corn starch	530	528	504
Sucrose	100	100	100
Soybean oil	70	70	70
Cellulose	50	50	50
Min-mix <sup>4)</sup>	35	35	35
Vit-mix <sup>5)</sup>	10	10	10
L-cystine	3	3	3
Choline	2.5	2.5	2.5
Tert-butyl hydroquinone	0.014	0.014	0.014

1) Casein high protein (total protein 85%), Teklad Test Diets, Madison, Wisconsin, USA St. Louis, MO 63188, USA

2) Soy isolate protein (total protein 84.4%, isoflavones 3.4 mg/g protein), Protein Technologies International, St. Louis, MO 63188, USA

3) Soy concentrate protein (total protein 75%, isoflavones < 0.1 mg/g protein), Protein Technologies International, St. Louis, MO 63188, USA

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

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

\*Calorie % of diet - CHO: protein: fat = 64: 19: 17

**Table 2.** Effect of soy protein or soy isoflavones 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 <sup>3)</sup>
Casein	160.8 ± 12.31 <sup>1)oz)</sup>	13.75 ± 0.8 <sup>o</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>a</sup>
Soy isolate	160.6 ± 9.71 <sup>o</sup>	14.20 ± 1.72 <sup>o</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>b</sup>
Soy concentrate	158.9 ± 13.92 <sup>o</sup>	14.62 ± 1.35 <sup>o</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>b</sup>

1) Mean ± SD

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

3) Food intake efficiency ratio (FER) = weight gain (g)/total food intake (g)

였다. 혈청 칼슘은 casein군 9.47 mg/dl, soy isolate군 9.42 mg/dl, soy concentrate군 9.41 mg/dl로 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 혈청 인의 농도도 casein군 7.75 mg/dl, soy isolate군 6.60 mg/dl, soy concentrate군 6.31 mg/dl로 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 성장기 쥐를 대상으로 본 연구와 동일한 방법으로 분석한 혈 중 칼슘과 인의 농도를 각각 비교해 보면 9~11 mg/dl 와<sup>33)</sup> 7~9 mg/dl 로<sup>30)</sup> 본 연구의 결과와 유사하였다.

이 결과는 콩단백질 또는 이소플라본을 이용한 대부분의 실험에서 혈중 칼슘 농도와 인의 농도는 식이에 의한 영향을 받지 않았다는 여러 선행연구와 일치한다. 즉 난소절제 흰쥐,<sup>31)</sup> 수컷 흰쥐,<sup>32)</sup> 성장기의 수컷<sup>33)</sup>과 암컷<sup>34)</sup> 쥐를 대상으로 한 연구에서 casein과 콩단백질군 간에 혈청 칼슘과 인의 농도에는 차이가 없었다고 보고하였다. 또한, 이소플라본의 섭취 수준에 의해서도 혈 중 칼슘 농도는 변화되지 않았는데, Arjmandi 등<sup>28)</sup>의 동물실험에서는 콩단백질 내 이소플라본 함유여부가 혈 중 칼슘농도에 영향을 미치지 않았으며, Uesugi 등<sup>35)</sup>의 연구에서는 혈청 칼슘과 인의 농도가 이소플라본의 종류에 따라서도, 각 종류별 공급수준에

**Table 3.** Effect of soy protein or soy isoflavones on serum calcium and phosphorus in growing female rats

Group	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Ca (mg/dl)	9.47 ± 0.19 <sup>1)ab2)</sup>	9.42 ± 0.18 <sup>a</sup>	9.41 ± 0.19 <sup>a</sup>
P (mg/dl)	7.75 ± 0.69 <sup>a</sup>	6.60 ± 0.53 <sup>a</sup>	6.31 ± 0.48 <sup>a</sup>

1) Mean ± SD

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

**Table 4.** Effect of soy protein or soy isoflavones on urinary calcium and phosphorus excretion in growing female rats

Group	Casein	Soy isolate	Soy Concentrate
Ca (mg/day)	0.26 ± 0.17 <sup>1)ab2)</sup>	0.22 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.31 <sup>a</sup>
P (mg/day)	4.83 ± 1.78 <sup>a</sup>	4.01 ± 1.56 <sup>a</sup>	4.23 ± 2.69 <sup>a</sup>

1) Mean ± SD

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

**Table 5.** Effect of soy protein or soy isoflavones on spine bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMD) in 3 weeks after feeding growing female rats

Spine BMD & BMC	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.0949 ± 0.0027 <sup>1)ab2)</sup>	0.1074 ± 0.0118 <sup>b</sup>	0.1027 ± 0.0110 <sup>a</sup>
Spine BMD/wt (kg)	0.58 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.65 ± 0.03 <sup>c</sup>
Spine BMD/Ca intake (mg)	0.00276 ± 0.000191 <sup>a</sup>	0.00318 ± 0.000410 <sup>b</sup>	0.00290 ± 0.000231 <sup>a</sup>
Spine BMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.2362 ± 0.0381 <sup>a</sup>	0.2396 ± 0.0168 <sup>a</sup>	0.2350 ± 0.0140 <sup>a</sup>
Spine BMC/wt (kg)	1.48 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.53 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.10 <sup>a</sup>
Spine BMC/Ca intake (mg)	0.00492 ± 0.00278 <sup>a</sup>	0.00700 ± 0.00081 <sup>b</sup>	0.00675 ± 0.00094 <sup>a</sup>

1) Mean ± SD

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

따라서도 영향을 받지 않았다.

### 3. 뇨 중 칼슘과 인의 배설량

뇨 중 칼슘 배설량과 인의 배설량에 대한 결과는 Table 4에 나타내었다. 뇨 중 칼슘 배설량은 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 soy isolate군이 0.22 mg/d, soy concentrate군이 0.24 mg/d, casein군이 0.26 mg/d의 순으로 나타났다. 이 결과는 성장기 수컷 쥐에서 비슷한 식이 조성과 같은 실험기간으로 사육한 경우 isoflavones가 풍부한 콩단백질은 유의적이지 않았으나 뇨 중 배설량이 casein 보다 낮았고 isoflavones가 풍부한 콩단백질은 isoflavones가 거의 없는 콩단백질 보다 칼슘 배설량이 낮은 경향을 보였다고 한 결과와<sup>24)</sup> 일치한다.

### 4. 골밀도와 골함량에 미치는 영향

콩의 isoflavones가 약한 estrogenic한 역할을 한다고 알려져 있으므로 성장기 암컷의 경우 여성 호르몬이 분비가 거의 없는 시기, 분비 시작시기, 그리고 분비가 왕성한 시기의 구분은 매우 중요하다고 사료된다. 흰쥐 (rat)의 암컷의 성숙속은 생후 60~70일 쯤부터 성주기가 안정되고 80일부터 완전성숙속에 이르며 성숙속의 체중은 200~400 g으로 보는데, 실험동물의 생리 주기와 체중을 고려하여 주령 6주 쯤부터 체중이 200~210 g이 되므로<sup>36)</sup> 생리주기를 실험 3주 쯤 (주령 6주), 실험 6주 쯤 (주령 9주), 실험 9주 쯤 (주령 12주)로 나누어 여성 호르몬의 분비가 거의 없는 시기, 미약한 시기, 왕성한 시기별로 나누어 콩단백질과 isoflavones가 골밀도에 미치는 효과를 측정하였다.

#### 1) 척추 골밀도와 골함량

(1) 3주 쯤 척추 골밀도와 골함량

실험식이 섭취 3주 쯤의 척추 골밀도와 골무기질 함량을 Table 5에 나타내었다. 3주 쯤 척추 골밀도는 이소플라본이 풍부한 콩단백질을 섭취한 soy isolate군이 0.1074 g/cm<sup>2</sup>로 다른 세 군에 비해 유의적으로 높았으며, casein군의

**Table 6.** Effect of soy protein or soy isoflavones on spine bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMD) in 6 weeks after feeding

Spine BMD & BMC	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.1266 ± 0.0020 <sup>1)a2)</sup>	0.1327 ± 0.0066 <sup>b</sup>	0.1239 ± 0.0071 <sup>a</sup>
Spine BMD/wt (kg)	0.59 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.64 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.60 ± 0.03 <sup>a</sup>
Spine BMD/Ca intake (mg)	0.00170 ± 0.000055 <sup>a</sup>	0.00189 ± 0.000092 <sup>b</sup>	0.00172 ± 0.000074 <sup>a</sup>
Spine BMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.3134 ± 0.0723 <sup>a</sup>	0.3593 ± 0.0392 <sup>a</sup>	0.3263 ± 0.0395 <sup>a</sup>
Spine BMC/wt (kg)	1.47 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.73 ± 0.18 <sup>b</sup>	1.59 ± 0.17 <sup>a</sup>
Spine BMC/Ca intake (mg)	0.00422 ± 0.000942 <sup>a</sup>	0.00511 ± 0.000463 <sup>b</sup>	0.00454 ± 0.000678 <sup>a</sup>

1) Mean ± SD

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

**Table 7.** Effect of soy protein or soy isoflavones on spine BMD and BMC in 9 weeks after feeding

Spine BMD & BMC	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.1477 ± 0.0070 <sup>1)a2)</sup>	0.1496 ± 0.0056 <sup>a</sup>	0.1457 ± 0.0070 <sup>a</sup>
Spine BMD/wt (kg)	0.62 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.62 ± 0.04 <sup>a</sup>
Spine BMD/Ca intake (mg)	0.00149 ± 0.000075 <sup>a</sup>	0.00151 ± 0.000093 <sup>b</sup>	0.00144 ± 0.000076 <sup>a</sup>
Spine BMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.4318 ± 0.0381 <sup>a</sup>	0.4396 ± 0.0418 <sup>a</sup>	0.4309 ± 0.0459 <sup>a</sup>
Spine BMC/wt (kg)	1.82 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.88 ± 0.18 <sup>ab</sup>	1.82 ± 0.14 <sup>a</sup>
Spine BMC/Ca intake (mg)	0.00444 ± 0.000351 <sup>a</sup>	0.00454 ± 0.000508 <sup>a</sup>	0.00424 ± 0.000376 <sup>a</sup>

1) Mean ± SD

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

0.0949 g/cm<sup>2</sup>와 비교하여 13% 더 높았다. 3주 짜의 척추 골함량은 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 이소플라본이 풍부한 콩단백질을 섭취한 soy isolate군이 가장 높았다. 체중은 골밀도와 골함량에 매우 큰 영향을 미치므로<sup>37)</sup> 체중 당 척추 골밀도를 비교한 결과 soy isolate군은 0.70 g/cm<sup>2</sup>로 casein군의 0.58 g/cm<sup>2</sup>에 비하여 20% 더 높았다. 또한 척추 골밀도와 골함량에 대한 칼슘 효율도 isoflavones가 풍부한 soy isolate 군이 유의적으로 가장 높았고 그 다음 soy concentrate군 casein 군 순서로 나타났다.

(2) 6주 짜 척추 골밀도와 골함량

6주 짜 척추 골밀도는 soy isolate군이 0.1327 g/cm<sup>2</sup>로 3주 짜 척추 골밀도에서와 같이 soy isolate군이 다른 군에 비하여 유의적으로 높았고, 그 다음이 casein군 0.1266 g/cm<sup>2</sup>, Soy concentrate군 0.1239 g/cm<sup>2</sup>로 두 군간에는 유의적인 차이가 없었다 (Table 6). 체중 당 골밀도도 이소플라본이 풍부한 soy isolate군 (0.6408 g/cm<sup>2</sup>/kg)이 soy concentrate군 (0.6023 g/cm<sup>2</sup>/kg)과 casein군 (0.5865 g/cm<sup>2</sup>/kg)보다 유의적으로 높았다. 또한 이소플라본이 풍부한 soy isolate군은 이소플라본이 거의 없는 soy concentrate군 보다 6.6% 높았다. 6주 짜 척추 골함량은 soy isolate군, soy concentrate군, casein 군 순서로 나타났으나 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 그러나 soy isolate군은 soy concentrate 군과 casein군 보다 각각 14%와 10% 정도 골함량이 높았다. 체중 당 척추 골함량과 척추

골밀도에 대한 칼슘효율은 soy isolate군이 가장 높았고, soy concentrate군, casein군의 순으로 높았고, 유의적인 차이는 없었으나 soy isolate군은 casein군 보다 18%정도 더 높았다.

(3) 9주 짜 척추 골밀도와 골함량

9주 짜 척추 골밀도는 soy isolate군 0.1496 g/cm<sup>2</sup>, soy concentrate군 0.1457 g/cm<sup>2</sup>, casein군 0.1477 g/cm<sup>2</sup>로 soy isolate군이 가장 높았으나 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다 (Table 7). 그러나 척추 골밀도에 대한 칼슘효율은 soy isolate군이 유의적으로 가장 높았다. 척추 골함량은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나 체중 당 척추 골밀도와 척추 골함량은 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 이소플라본이 풍부한 soy isolate군의 값이 casein군과 soy concentrate군 보다 높은 경향성은 유지되었다. 또한 칼슘효율은 높게 나타났다.

최근 실험동물 전용 골밀도 측정기 (FIXImus)를 이용하여 최초 보고한 같은 주령의 수컷의 골밀도값 0.1490 g/cm<sup>2</sup>와<sup>24)</sup> 같은 FIXImus 측정한 본 연구의 암컷의 척추 골밀도는 0.1495 g/cm<sup>2</sup>로 유사하였다.

대조군의 골밀도 측정 결과는 3주 짜 (8~9주령) 0.0949 g/cm<sup>2</sup>, 6주 짜 0.1266 g/cm<sup>2</sup>, 9주 짜 0.1477 g/cm<sup>2</sup>로 나타났다. 본 연구와 비슷한 주령의 수컷 흰쥐를 대상으로 한 Chae<sup>38)</sup>가 보고한 대조군의 척추 골밀도는 0.15 g/cm<sup>2</sup>로 본 연구의 0.1477 g/cm<sup>2</sup>와 매우 유사한 값을 보고하였다.

**Table 8.** Effect of soy protein or soy isoflavones on femur bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMD) in 3 weeks after feeding

Femur BMD & BMC	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Femur BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.1357 ± 0.0058 <sup>1) a2)</sup>	0.1372 ± 0.0108 <sup>a</sup>	0.1359 ± 0.0119 <sup>a</sup>
Femur BMD/wt (kg)	0.85 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.86 ± 0.09 <sup>a</sup>
Femur BMD/Ca intake (mg)	0.00395 ± 0.000352 <sup>a</sup>	0.0040 ± 0.00404 <sup>a</sup>	0.00384 ± 0.000387 <sup>a</sup>
Femur BMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.2020 ± 0.0088 <sup>a</sup>	0.1950 ± 0.0137 <sup>a</sup>	0.2004 ± 0.0174 <sup>a</sup>
Femur BMC/wt (kg)	1.27 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.27 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.27 ± 0.11 <sup>a</sup>
Femur BMC/Ca intake (mg)	0.00578 ± 0.000343 <sup>a</sup>	0.00582 ± 0.000548 <sup>a</sup>	0.00558 ± 0.000471 <sup>a</sup>

1) Mean ± SD

2) Values with different superscript within the column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test**Table 9.** Effect of soy protein or soy isoflavones on femur bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMD) in 6 weeks after feeding

Femur BMD & BMC	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Femur BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.1805 ± 0.0061 <sup>1) a2)</sup>	0.1888 ± 0.0041 <sup>a</sup>	0.1796 ± 0.0102 <sup>a</sup>
Femur BMD/wt (kg)	0.86 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.87 ± 0.05 <sup>a</sup>
Femur BMD/Ca intake (mg)	0.00244 ± 0.000048 <sup>a</sup>	0.00269 ± 0.000096 <sup>b</sup>	0.00250 ± 0.000093 <sup>a</sup>
Femur BMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.3030 ± 0.0148 <sup>a</sup>	0.2791 ± 0.0517 <sup>a</sup>	0.3035 ± 0.0173 <sup>a</sup>
Femur BMC/wt (kg)	1.434 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.349 ± 0.25 <sup>a</sup>	1.473 ± 0.03 <sup>a</sup>
Femur BMC/Ca intake (mg)	0.00409 ± 0.000133 <sup>a</sup>	0.00401 ± 0.000872 <sup>a</sup>	0.00422 ± 0.000731 <sup>a</sup>

1) Mean ± SD

2) Values with different superscript within the column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test**Table 10.** Effect of soy protein or soy isoflavones on femur bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMD) in 9 weeks after feeding

Femur BMD & BMC	Casein	Soy isolate	Soy concentrate
Femur BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.1989 ± 0.0070 <sup>1) a2)</sup>	0.2016 ± 0.0082 <sup>b</sup>	0.1972 ± 0.0082 <sup>a</sup>
Femur BMD/wt (kg)	0.84 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.83 ± 0.04 <sup>a</sup>
Femur BMD/Ca intake (mg)	0.00202 ± 0.000092 <sup>a</sup>	0.00203 ± 0.000092 <sup>a</sup>	0.00195 ± 0.000093 <sup>b</sup>
Femur BMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.3565 ± 0.0265 <sup>a</sup>	0.3574 ± 0.0279 <sup>a</sup>	0.3478 ± 0.0294 <sup>a</sup>
Femur BMC/wt (kg)	1.58 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.47 ± 0.06 <sup>a</sup>
Femur BMC/Ca intake (mg)	0.00369 ± 0.000242 <sup>a</sup>	0.00361 ± 0.000237 <sup>b</sup>	0.00344 ± 0.000251 <sup>c</sup>

1) Mean ± SD

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

또한 본 연구에서 성장기의 기간 동안 골밀도의 획득을 보면 3주에서 6주 사이의 획득량이 6주에서 9주 사이의 획득량 보다 많았다. 즉 3주에서 6주 사이의 골밀도 증가율이 6주에서 9주 사이의 증가율 보다 빠르게 나타났다. 또한 3주째 척추의 골밀도는 casein군 보다 이소플라본이 풍부한 콩단백질군이 유의적으로 높았고, 6주째 척추 골밀도 또한 casein군 보다 soy isolate군이 유의적으로 높았다.

9주째에도 이소플라본이 풍부한 soy isolate군이 casein에 비하여 높은 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다. 이는 일반적으로 SD중 흰쥐의 경우 8주령 이후부터 규칙적인 배란이 이루어져서 13주령 이후부터는 안정적으로 여성 호르몬 분비가 이루어진다는 점을 고려해 볼 때, 실험 3주째 (6주령)와 6주째 (9주령)에는 여성호르몬 분비가 상대적으로 적어서 이소플라본의 효과가 크게 나타날 수

있었고, 9주째 (12주령)에는 여성호르몬의 분비가 많았던 시기이므로 이소플라본의 효과가 다소 미약하게 나타나 골밀도에 미치는 영향이 미약할 수 있다고 추론할 수 있겠으나 장기간의 연구가 요망되며 이 결과로 볼 때 미약하더라도 장기간의 효과는 유리할 수 있다고 사료된다. 또한 여러 선행연구에서 여성의 경우 초경이 빠를수록 골밀도가 높았다고 한 결과를 고려할 때 본 연구에서 일찍이 isoflavones에 노출되는 것이 척추 골밀도에 유리하여 결과가 일치한다.

## 2) 대퇴 골밀도와 대퇴 골함량

(1) 3주 대퇴 골밀도, 골함량

실험식이 섭취 후 3주째 대퇴 골밀도와 골무기질 함량을 Table 8에 제시하였다. 3주째 대퇴 골밀도와 골함량은 척추 골밀도와는 다르게 콩단백질이나 이소플라본이 풍부한

**Table 11.** Correlation coefficient among variables with BMD and BMC at 9 wks

Variables	Spine BMD	Spine BMC	Femur BMD	Femur BMC
Spine BMC	0.7176***			
Femur BMD	0.64887***	0.6545***		
Femur BMC	0.4302**	0.6252**	0.7412***	
Body weight	0.4449**	0.5442***	0.5053***	0.5213***
DPD crosslinks value	-0.2936 <sup>NS</sup>	-0.4067*	-0.3281 <sup>NS</sup>	-0.2455 <sup>NS</sup>
Mean food intake	0.1493 <sup>NS</sup>	0.3043*	0.2514 <sup>NS</sup>	0.2719 <sup>NS</sup>

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001, NS: not significant

콩단백질이 골밀도에 미치는 효과는 거의 볼 수 없었는데 체중 당 대퇴 골밀도는 soy isolate군의 값이 가장 높았다.

(2) 6주 짜 대퇴 골밀도, 골함량

실험 6주 짜 대퇴 골밀도는 (Table 9) soy isolate군이 0.1888 g/cm<sup>2</sup>로 가장 높았으나 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나, 체중 당 대퇴골밀도는 soy isolate군이 0.911 g/cm<sup>2</sup>/kg로 다른 세 군에 비해 유의적으로 높았고 대퇴골 밀도에 대한 칼슘효율도 유의적으로 높았다. 6주 대퇴 골함량과 체중 당 골함량은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다.

(3) 9주 짜 대퇴 골밀도, 골함량, 체중당 골밀도, 골함량

9주 짜 대퇴골밀도는 soy isolate 군이 유의적으로 높았고, 체중 당 대퇴 골밀도는 soy isolate군이 0.86 g/cm<sup>2</sup>/kg로 이소플라본을 섭취하지 않은 두 군보다 유의적으로 높았으며, soy concentrate군과 casein군은 각각 0.83 g/cm<sup>2</sup>/g과 0.84 g/cm<sup>2</sup>/g로 비슷하였다 (Table 10). 체중 당 대퇴 골함량도 soy isolate군이 casein군과 soy concentrate군 보다 유의적으로 높았다. 선행된 동물실험에서의 대퇴 골밀도 수준을 본 연구와 비교해 보면, 본 연구와 비슷한 주령의 수컷 흰쥐를 대상으로 같은 골밀도 측정기 PIXImus를 이용하여 측정한 대퇴골밀도와 골무기질 함량은 0.23 g/cm<sup>2</sup>와 0.54 g으로<sup>38)</sup> 암컷을 대상으로 한 본 연구의 골밀도 보다 약간 높았다.

이 보고는 성장기 쥐의 6주령이나 9주령에 대한 골밀도를 측정된 값의 처음 보고이어서 성장기의 6주령과 9주령의 척추나 대퇴의 절대적인 골밀도 값을 비교하기도 어렵지만, 콩단백질이나 이소플라본이 성장기 암컷 쥐의 골격에 미치는 효과에 대한 연구로 성호르몬의 분비주기로 연구한 보고도 처음이기 때문에 선행연구와의 비교는 할 수 없다. 그러나 이 연구 결과는 골격 부위별로, 섭취기간에 따라 영향이 다르게 나타나는 것으로 보인다. 즉 이소플라본이 풍부한 콩단백질이 골밀도 증가에 미치는 효과가 척추에서는 6주 짜에 현격한 반면에 대퇴골에서는 9주 짜 현저하게 나타났다. 이는 이소플라본이 풍부한 콩단백질 또는 분리

콩 이소플라본의 섭취 효과가 대퇴골 보다 대사적 활성이 높은 해면골을 많이 함유하고 있는 척추에서 더 빨리 식이에 의한 효과가 나타난 것으로 보인다. 해면골은 피질골에 비해 대사속도가 빠르고 대사적으로 쉽게 영향을 받는다.<sup>39)</sup> 척추는 피질골 보다 해면골의 함유비율이 높은 반면, 대퇴골은 해면골 보다 피질골의 함유비율이 3배정도 많다.<sup>39)</sup> 이러한 이유로 해면골이 많은 척추에서는 대퇴골 보다 식이에 의한 영향이 더 빨리 나타날 수 있었던 것으로 사료된다. 이런 결과는 선행연구에서도 볼 수 있었는데, 콩 이소플라본은 섭취기간에 따라서도 골밀도에 미치는 영향이 달라질 수 있다. 최근의 역학조사<sup>40)</sup>에서 최근의 콩 이소플라본 섭취량은 척추 골밀도에는 영향을 미쳤으나 femoral neck과 trochanter에는 영향을 미치지 않았다. 반면, 일생동안의 콩섭취량은 femoral neck에서는 유의적으로, 척추에서는 유의적이지는 않았으나 섭취량이 많을수록 골밀도가 높았다고 보고하여 섭취기간에 따라서도 골격 부위별로 미치는 영향이 다를 수 있음을 시사하였다.<sup>40)</sup>

**5. 골밀도와 제요인간의 상관관계**

체중은 척추 골밀도와 골함량, 대퇴골밀도와 골함량과 매우 높은 양의 상관관계가 있었으며 척추 골밀도는 척추 골함량과 대퇴 골함량과 높은 양의 상관관계가 있었고, 대퇴 골밀도 역시 척추 골함량 및 대퇴골함량과 높은 양의 상관관계가 있었다. 척추 골함량과 대퇴 골함량간에도 높은 양의 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 또한 척추 골함량은 평균 식이 섭취량과는 양의 상관관계가 있었다. 다른 골에 비하여 식이에 비교적 영향을 받는다고 알려져 있는 척추는 식이 섭취량과 양의 상관관계를 보였다. 그리고 DPD crosslinks value와는 음의 상관관계가 있었다 (Table 11). 선행연구에서 성장기 수컷 쥐에서 9주간 콩단백질과 isoflavones가 풍부한 콩단백질을 섭취시킨 경우 casein에 비하여 체중 당 척추나 대퇴골의 골밀도가 높았고 특히 isoflavones가 풍부한 콩단백질은 isoflavones가 거의 없는 콩단백질에 비하여 유의적으로 높아서 isoflavones가 풍부한 콩단백질이 성장기 수컷 쥐에서 골밀도 형성에 유리하다고

하였다.<sup>24)</sup> 본 연구의 성장기 암컷 쥐의 경우는 주령에 따라 여성 호르몬의 분비량이 다르므로 여성 호르몬의 분비량에 따라서 거의 미약한 실험 동물의 주령이 6주가 되는 실험 3주 째와, 여성 호르몬의 분비량이 조금 왕성하기 시작하는 9주령의 실험 6주 째와, 여성 호르몬의 분비량이 매우 왕성한 주령 12주령의 실험 9주 째를 구분하여 각각의 골밀도를 측정하였다. 그 결과 여성 호르몬의 분비가 미약한 실험 3주 째의 경우 isoflavones가 풍부한 콩단백질과 콩단백질은 골대사가 빠른 척추 골밀도에 유익한 효과를 나타내었고, 콩단백질 내에서 isoflavone이 풍부한 콩단백질이 더 골밀도가 높았다. 체중 당 척추 골밀도도 콩단백질과 isoflavones가 풍부한 콩단백질이 casein 보다 척추 골밀도를 높였고, 콩단백질 내에서 isoflavone이 풍부한 콩단백질이 더 골밀도가 높았다. 척추 골함량은 식이 군간에 유의적인 차이가 없었다. 여성호르몬이 분비되기 시작하는 실험 6주 째의 경우에도 여전히 콩단백질이 풍부한 경우가 골밀도가 높았다. 또한 9주 째에는 6주 째와 비슷하게 효과의 폭은 감소하였으나 골밀도가 높은 경향을 보였다. 한편 대퇴골의 경우 cortical bone의 함량이 많아서 trabecular bone의 함량이 많은 척추 보다 골대사가 느리므로<sup>39)</sup> 그 효과가 늦게 나타났다고 사료된다. 따라서 isoflavones의 효과는 골의 종류에 따라 다른 효과를 볼 수 있었다. 최근 성장기 수컷 흰쥐에게 이소플라본이 함유된 콩단백질의 공급은 대조군인 casein 군에 비해 척추와 대퇴골의 골밀도에 대한 칼슘효율을 높였다고<sup>33)</sup> 하였으며, 성장기 수컷 흰쥐의 casein 식이에 콩 이소플라본을 첨가한 경우에도 척추와 대퇴골의 체중 당 골밀도가 증가하였다고 보고<sup>38)</sup>하여 성장기 수컷에서 콩단백질이나 이소플라본이 골격에 유익할 것으로 보고되었다. 본 연구에서도 이소플라본이 풍부한 콩단백질은 골격 부위와 시기에 따라 다소 차이가 있었으나 성장기 동안 암컷 흰쥐에서 골밀도와 골함량을 높이는 데 유익하게 작용하는 것으로 사료된다.

## 요약 및 결론

성장기 암컷 흰쥐에서 이소플라본이 풍부한 콩단백질과 콩의 이소플라본이 골격대사에 미치는 영향에 대한 결과를 아래와 같이 요약하였다.

- 1) 체중 증가량과 식이 섭취량은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었고 식이 효율은 카제인 섭취군이 콩 단백질 섭취군 보다 유의적으로 높았다.
- 2) 혈청 칼슘과 인의 농도는 단백질 급원과, 이소플라본 함유 여부에 따라 유의적인 차이가 없었으며, 노 중 칼슘

배설량은 이소플라본을 함유한 군에서 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었고 노 중 인의 배설량도 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

3) 척추골밀도와 골함량은 콩단백질과 isoflavones의 섭취 3주와 6주 째는 casein 군에 비해 유의적으로 높았으며 9주 째는 높았으나 통계적 유의성은 없었다.

4) 대퇴골밀도는 3주와 6주 째는 soy isolate군이 가장 높은 경향을 보였으며 9주 째는 유의적으로 가장 높았다. 체중 당 대퇴골밀도는 soy isolate군이 3주, 6주, 9주에 casein군에 비해 유의적으로 높았고, 체중당 대퇴골함량은 9주 째 soy isolate군이 다른 두 군에 비해 유의적으로 높았다.

결론적으로, 이소플라본이 풍부한 콩단백질의 섭취는 성장기의 성장기 수컷에서와 같이 암컷 흰쥐의 척추와 대퇴골 형성에 유익한 것으로 나타나서, 콩단백질과 이소플라본이 풍부한 콩단백질의 섭취는 최대 골밀도 형성에 유익한 것으로 사료된다.

## Literature cited

- 1) Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized osteoporosis. *J Nutr* 126: 161-167, 1996
- 2) Harrison E, Adjei A, Ameho C. The effect of soybean protein on bone loss in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Nutr Sci Vitaminol* 44: 257-268, 1998
- 3) Scheiber MD, Rebar RW. Isoflavones and postmenopausal bone health. *Menopause* 6: 233-241, 1999
- 4) Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 72 (3): 844-852, 2000
- 5) Setchell KDR, Borriello SP, Hulme P, Axelson M. Nonsteroidal estrogens of dietary origin: Possible roles in hormone-dependent disease. *Am J Clin Nutr* 40: 569-578, 1984
- 6) Jayo MJ, Anthony MS, Register C, Rankin SE, Best T, Clarkson TB. Dietary soy isoflavones and bone loss: a study in ovariectomized monkeys. *J Bone Mineral Res* 11: s228 (Abstr), 1996
- 7) Oursler MJ, Osoboy P, Pyfferoen J. Avian osteoclasts as estrogen target cells. *Proc Natl Sci USA* 88: 6613-6617, 1991
- 8) Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast like cells. *Science* 241: 84-86, 1998
- 9) Kuiper GGJM, Lemmen JG, Calsson B. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor  $\beta$ . *Endocrinology* 139: 4252-4263, 1998
- 10) Messina M, Messina V. Soy foods, soybean isoflavones, and health: a brief overview. *J Ren Nutr* 10 (2): 63-68, 2000
- 11) Cooper C, Campion G, Melton LJ. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporosis Int* 2: 285-289, 1992
- 12) Song TT, Hendrich S, Murphy PA. Estrogenic activity of glycitein,

- a soy isoflavone. *J Agric Food Chem* 47: 1607-1610, 1999
- 13) Lees CJ, Ginn TA. Soy protein isolate diet does not prevent increased cortical bone turnover in ovariectomized macques. *Calcif Tissue Int* 62: 557-558, 1998
  - 14) Dalais FS, Rice GE, Wahlqvist ML, Grehan M, Murkies AL, Medley G, Ayton R, Strauss BJ. Effects of dietary phytoestrogens in postmenopausal women. *Climacteric* 1: 124-129, 1998
  - 15) Alekel L, Germain A, Hanson K. Soy protein isolate with isoflavone prevents loss of lumbar spine bone mineral density in perimenopausal women. *Consortium on human health and soybeans. July* 13-14 Lisle, Illinois, 1998
  - 16) Erdman JW Jr, Stillman RJ, Lee KR, Potter SM. Short-term effects of soybean isoflavone on bone in postmenopausal women. *Second International Symposium on the Role of Soy in Prevention and Treating Chronic Disease (Abst.)*, p.219, 1996
  - 17) Messina M. Soy food soybean isoflavones and bone health. *Korean Soybean Digest* 15: 122-136, 1998
  - 18) Anderson JJ, Garner SC. Phytoestrogens and bone. *Clin Endocrinol Metab* 12: 543-557, 1998.
  - 19) Kim MS. Beneficial effect of soy isoflavone on bone loss and hyperlipidemia in ovariectomized rats. Dissertation of *Ph. D in seoul national university*, 1999
  - 20) Makela S, Davis VL, Tally WC. Dietary estrogens act through estrogen receptor-mediated processes and show no antiestrogenicity in cultured breast cancer cells. *Environ health perspect* 102: 572-578, 1994
  - 21) Dwyer JT, Goldin BR, Saul N, Gualtieri L, Barakat S, Adlercreutz H. Tofu and soy drinks contain phytoestrogens. *J Am Diet Assoc* 94: 739-743, 1994
  - 22) Martin RM, Horwitz KB, Ryan DS, McGuire WL. Phytoestrogen interaction with estrogen receptors in human breast cancer cells. *Endocrinology* 198: 1860-1867, 1978
  - 23) Setchel KDR, Nechemias LZ, Cai J, heubi JE. Isoflavone content of infant formulas and the metabolic fate of these phytoestrogens in early life. *Am J Clin Nutr* 68 (Suppl): 1453s-1461s, 1998
  - 24) Choi MJ. Effects of soy protein on bone mineral content and bone mineral density in growing male rats. *Kor J Nutr* 35 (4) : 409-413, 2002
  - 25) Anderegg G, Flaschka H, Sallmann R, Schwarzenboch G. Metal indicators. Apthalein responding to alkaline earth ions and is analytical applications. *Helvet chim Acta* 37: 111-120, 1954
  - 26) Zak B, Epstein E, Baginski ES. *Annals of Clinical and laboratory Science* 5: 195-215, 1975
  - 27) Daly JA, Ertingshansen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the centrifichem. *Clin Chem* 18: 263-265, 1972
  - 28) Arjmandi AH, Getlinger MJ, Goyal NV, Alekel L, Hasler CL, Juma S, Drum ML, Hollis BW, Kukreja SC. Role of soy protein with normal or reduced isoflavone content in reversing bone loss induced by ovarian hormone deficiency in rats. *Am J Clin Nutr* 68 (Suppl) : 1358s-1363s, 1998
  - 29) Picherit C, Bennetau-Pelissero C, Chanterme B, Lebecque P, Cavicco MJ, Barlet JP, Coxam V. Soybean isoflavones dose-dependently reduce bone turnover but do not reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. *J Nutr* 131: 723-728, 2001
  - 30) Anderson JJB, Thomsen K. High protein meals, insular hormones and urinary calcium excretion in human subjects. *Crhistiansen C, Johansen JS, des. International Symposium on Osteoporosis, Viborg, Denmark*, 1987
  - 31) Arjmandi BA, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, Jukreja SC. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 126: 161-167, 1996
  - 32) Kalu DN, Masoro EJ, Yu BP, Hardin RR, Hollis BW. Modulation of age related hyperparathyroidism and senile bone loss in fisher rats by soy protein and food restriction. *Endocrinology* 122: 1847-1854, 1998
  - 33) Jung SH. The effect of dietary protein source and sulfur amino acid content on bone metabolism in male rats. *Master's thesis, Keimyung university*, 1995
  - 34) Mathur SR. Effect of protein source and exercise on skeletal health of growing female rats. *Dissertation of Ph.D in Texas Woman's University*, 1998
  - 35) Uesugi T, Toda T, Tsuji K, Ishida H. Comparative study on reduction of bone loss and lipid metabolism abnormality in ovariectomized rats by soy isoflavones, daidzin, genistin, and glycitin. *Biol Pharm Bull* 24 (4) : 368-372, 2001
  - 36) Lee YS. Introduction of experimental animal study. Charoon, pp.126-127, 2000
  - 37) Rico H, Amo C, Revilla M, Arribas I, Gonzales-Rida J, Villa LF, Rodriguez-Puyol M. Etidrinatate versus Clodronate in the prevention of postovariectomy bone loss: An experimental study in rats. An experimental study in rats. *Clin Exp Rheumatol* 12: 301-304, 1994
  - 38) Chae JH. The effect of isoflavones on bone mineral density and bone mineral content in growing male rats. *Master's thesis, Keimyung university*, 2002
  - 39) Pruitt LA, Jackson RD, Bartels RL, Lehman HJ. Weight-training effects on bone mineral density in early postmenopausal women. *J Bone Mineral Res* 7: 179-185, 1992
  - 40) Rice M.M. Soy consumption and bone mineral density in older Japanese American women in King country. *Dissertation of Ph.D in University of washington*, 1999