

콩 단백질과 Isoflavones가 성장기 수컷 흰쥐에서 골 지표와 호르몬에 미치는 영향*

최 미 자[§]

계명대학교 식품영양학과

Effects of Soy Protein and Isoflavones on Bone Markers and Hormones in Growing Male Rats*

Choi, Mi-Ja[§]

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

ABSTRACT

Soybean is a rich source of isoflavones such as genistein and daidzein. Soy isoflavones have both weak estrogenic and anti-estrogenic effects and are structurally similar to tamoxifen, an agent that has an effect similar to that of estrogen in terms of reducing postmenopausal bone loss. The purpose of this study was to determine the effects of differences in protein source (casein vs soy) and isoflavone levels (reduced vs higher levels) on selected bone markers and hormones in growing male rats. Thirty weanling Sprague-Dawley young rats were divided into 3 groups: The control group was fed a casein-based diet, the soy concentrate group was fed soy protein with totally reduced isoflavones content (isoflavones 0.07 mg/g protein), and the soy isolate group was fed soy protein with a higher than normal isoflavones content (isoflavones 3.4 mg/g protein). The degree of bone formation was estimated by measuring serum osteocalcin and alkaline phosphatase (ALP). By determining collagen cross-linkage by immunoassay and correcting with creatinine values, the bone resorption rate was compared. Serum osteocalcin, growth hormone, estrogen and calcitonin were analyzed using radio immunoassay kits. The bone formation marker and ALP activity were differentiated by protein source, showing higher values than casein in feeding either soy isolate or soy concentrate. In this study using growing rats, the differences in isoflavone contents were not a significant factor in either bone formation or bone reabsorption markers. Moreover, the soy isolate group had significantly higher levels of growth hormone than the casein group. The findings of this study suggest that growth hormone is partially responsible for its bone-formation effects in young growing rats. Soy protein and the isoflavones in soy protein are beneficial for bone-formation in growing male rats. Therefore, exposure to soy protein and isoflavones early in life may have long-term health benefits in preventing bone diseases such as osteoporosis. Further study to evaluate the mechanism of action of isoflavones on bones is warranted. (*Korean J Nutrition* 36(5) : 452~458, 2003)

KEY WORDS : soy protein, ALP, osteocalcin, calcitonin, cross link value, growth hormone, growing male rats.

서 론

최근 우리나라에서도 노인인구가 증가하면서 노화와 관련된 여러 가지 노인성 질병에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데 그 중 골다공증의 예방 및 치료에 대한 관심이

높아지고 있다. 골다공증은 칼슘대사의 변화로 인해 골격의 무기질 양이 감소되고 골격의 절대량이 줄어 쉽게 골절을 일으키게 되는 노인성 질병으로 골격의 성장과정 및 여러 인자들에 의해 영향을 받는다.¹⁻³⁾ 골격대사에 영향을 미치는 인자 중 최근 콩 단백질이 골 소실을 지연시켰다는 보고가 많다.⁴⁾ Ishimi 등은⁵⁾ 콩 단백질은 폐경 여성에서 골 소실을 지연시켰고 Picherit 등은⁶⁾ 콩 단백질이 난소 절제한 쥐에서 골 소실을 지연시켰다고 보고했다. 그리고 Kalu 등은 casein 대신에 콩 단백질을 먹었을 때 나이든 수컷 흰쥐에서 노화로 인한 골 감소를 감소시켰다고 보고했다.⁷⁾

접수일 : 2002년 12월 17일

채택일 : 2003년 6월 3일

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

[§]To whom correspondence should be addressed.

특히 콩 단백질 성분 중의 isoflavones (genistein and daidzein)는 난소 호르몬 결핍 상태에서 골 감소를 방지하는 효과가 있다고 알려져 있다.⁴⁾ 폐경기 여성에서 isoflavones가 풍부한 콩 단백질은 lumbar spine의 골 소실을 지연시켰다고 보고했고,⁸⁾ 또한 폐경 여성에서 콩의 isoflavones는 vertebral bone과 trabecular bone에 유익한 영향이 있다고 보고했다.⁹⁾ 그 mechanism으로 콩 단백질의 isoflavones가 약한 estrogen의 기능을 함으로써 난소 호르몬이 결핍되는 폐경 여성이나 흰쥐에서 estrogen의 부족 분을 채움으로써 호르몬 결핍으로 일어나는 골 흡수를 낮추어 골 대사에 유익한 효과를 가진다고 보고하였다.¹⁰⁾ 또한 아시아 여성이 미국 여성보다 골절율이 낮은 이유 중에 동물성 단백질의 섭취는 낮고 식물성 단백질 특히 콩의 섭취가 많은 것이 부분적인 이유일 수 있다고 보고했다.¹¹⁾ 또한 아시아 여성의 골밀도가 낮은 이유로서 초경 연령은 높고 폐경 연령은 낮아서 평생 동안 estrogen 노출 기간이 서양 여성 보다 낮기 때문이라는 주장도 있다.¹¹⁾ 그러나 최근 콩 단백질이 골밀도에 유익한 효과를 가지는 이론으로 콩 단백질이 성장 호르몬의 분비를 자극시켜 이것이 결국 골 형성을 촉진시킬지도 모른다고 추론하고 있으나¹²⁾ 이것에 대한 연구 자료는 없다. 골다공증의 특징은 치료가 매우 어렵고 이로 인한 골절은 삶의 질을 낮추고 의료비용을 증가시켜 선진국에서도 국민 보건의 중요한 문제로 대두되고 있다. 콩 단백질의 유익한 효과는 많은 연구가 폐경 여성 혹은 난소 절제한 쥐를 대상으로 하여 행하여졌고 성장기에 콩 단백질이 골밀도에 미치는 효과에 대한 연구 보고는 거의 없다. 그러나 최근 성장기 수컷 쥐를 대상으로 isoflavones가 풍부한 콩 단백질의 섭취 시 체중 당 척추와 대퇴골의 골밀도가 높았다고 보고하였다.¹³⁾ 따라서 본 연구의 목적은 콩 단백질의 isoflavones가 골 대사에 어떻게 유익한 영향을 미치는지 그 기전을 알아보고자 성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 콩 단백질의 섭취가 골 형성 지표와 골 흡수 지표에 미치는 영향과 골 대사와 관련이 있는 호르몬 농도에 미치는 효과를 알아보고자 한다.

연구방법 및 내용

1. 실험동물 및 실험기간

3 주령의 Sprague-Dawley 수컷 쥐 30마리를 단백질 급원에 따라 동물성 단백질 급원으로 casein을, 식물성 단백질 급원으로 soy protein을 사용하였다. 이때 Soy protein은 isoflavones가 풍부하게 들어있는 soy isolate (isoflavones 3.4 mg/g protein, supplied by PTI (Protein Te-

Table 1. Composition of experimental diet (g/100g diet)

Ingredients	Control diet	Soy isolate	Soy concentrate
Corn starch	66.2	66.2	65.2
Casein	20.0	-	-
Soy isolate	-	20.0	-
Soy concentrate	-	-	21.0
α -Cellulose	3.8	3.8	3.8
Vitamin mixture	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture	3.5	3.5	3.5
Corn oil	5.0	5.0	5.0
Choline	0.2	0.2	0.2
Methionine	0.3	0.3	0.3

Soy isolate, supplied by PTI (Protein Technology Institute, St. Louis, USA)

Soy concentrate, supplied by Dan-Pro, USA

Mineral mixture, supplied U.S. Corning Laboratory Services Company, Teklad test diets, Madison, Wisconsin, Biological test, Material No 170915.

Vitamin Mixture, supplied by U.S. Corning Laboratory Services Company, Teklad test diets, Madison, Wisconsin, Biological test, Material No 40070.

chnology Institute, St. Louis, USA)와 isoflavones가 거의 없는 soy protein concentrate (0.07 mg/g protein, supplied by Dan-Pro, USA)를 사용하였다 (Table 1). 실험동물은 9주 동안 stainless-steel wire cage에서 한 마리 씩 분리 사육하였다. 사육실의 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $60 \pm 5\%$ 로 유지하였고 매일 광 주기, 암 주기를 12시간이 되도록 조절하였다. 실험 기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취케 하였으며, 물은 모두 2차 이온 교환수를 사용하였다.

2. 생화학 분석

골 흡수 측정은 요 중 pyridinoline, creatinine, crosslinks value의 측정은 collagen crosslinksTM Kit (cat. No : 8001. Metra Biosystems Inc. U.S.A.)을 이용하여 ELISA (enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석하였다. 골 형성 측정을 위하여 혈청 alkaline phosphatase (ALP)의 측정은 TECHNICON CHENTM SYSTEM을 이용하여 자동분석기 (automatic chemical analyzer)로 측정하였고, osteocalcin의 측정은 osteocalcin kit (Nichols Institute, IMMUTOPICS, INC)과 growth hormone은 hGH IRMA CT kit (RADIM, Roma, Italia)으로, calcitonin과 esteradiol 농도는 각각 DSL-7700 ActiveTM calcitonin IRMA kit과 Coat-A-Count estradiol kit (Diagnostic System Laboratories, Inc USA)을 이용하여 gamma counter로 radio immunoassay 하였고, parathyroid hormone (PTH)는 ActiveTM intact PTH IRMA

Table 2. The effect of dietary protein and isoflavones on body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER)

	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g)	Food intake (g/d)	FER
Casein	83.70 ± 3.1 ^{1)ab2)}	449.70 ± 16.8 ^a	366.0 ± 13.2 ^a	22.39 ± 1.91 ^a	0.267 ± 0.017 ^a
Soy isolate	83.90 ± 2.9 ^a	400.75 ± 14.2 ^b	316.8 ± 12.3 ^b	21.36 ± 0.88 ^b	0.246 ± 0.016 ^b
Soy concentrate	83.85 ± 2.9 ^a	432.60 ± 15.9 ^c	348.8 ± 12.9 ^c	23.81 ± 2.17 ^c	0.243 ± 0.014 ^b

1) Mean ± SD

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

kit (Diagnostic System Laboratories, Inc USA)을 이용하여 gamma counter로 분석하였다.

3. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였고, 실험군 간의 비교는 One way ANOVA 분석을 한 후 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중과 식이 섭취량

실험 시작 시에 차이가 없는 몸무게로 시작하여 실험 기간 9주 동안 체중의 증가는 대조군인 casein 섭취군이 가장 높았고 그 다음이 soy concentrate군, soy isolate군 순으로 세 군간에 유의적인 차이를 보였다. 이것은 식이 섭취량에서도 세 군간에 같은 순서로 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 그러나 식이 효율을 비교하였을 때 대조군과 콩 단백질군 간에는 유의적인 차이가 있었으나 isoflavones 함량이 다른 두 콩 단백질군 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Table 2). 콩 단백질은 casein에 비해 식이 효율이나 단백질효율이 실험동물에서는 낮은 것으로 보고되었는데 특히 성장기 흰쥐의 경우 사람 보다 methionine의 요구량이 더 많기 때문에 성장이 빠른 어린 쥐에게 있어서는 메티오닌 함량이 적은 콩 단백질의 식이효율이나 단백질 효율이 더 낮게 평가되어질 수 있다고 하였다.¹⁴⁾ 하지만 사람의 경우는 동물과 다르게 1993년 미국의 식품의 약청 (FDA)에서 새로 개발하여 세계보건기구 (WHO)와 유엔식량농업기구 (FAO)에서 권장하고 있는 PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score)는 단백질효율을 대신하여 1세 이상의 어린이와 성인을 위한 식품표시 (food label)에서 단백질의 daily value를 계산하는 새로운 표준으로 사용하고 있다. 카제인과 soy protein isolate의 PDCAAS값은 동일하였으며 최고 값인 '1'을 나타내었다. 이로 soy protein isolate는 2~5세 어린이의 필수 아미노산을 100% 공급해 줄 수 있는 단백질 공급원으로 평가되었다.¹⁵⁾

Table 3. Pyridinoline, creatinine and cross link value in experimental rats

	Pyridinoline (nM)	Creatinine (mM)	Crosslink value (nM/mM)
Casein	522.45 ± 112.1	4.998 ± 0.43	130.92 ± 18.1
Soy isolate	463.33 ± 89.4	6.665 ± 0.47	117.49 ± 17.3
Soy concentrate	487.98 ± 96.3	4.777 ± 0.51	112.45 ± 17.9

Not significantly different at p < 0.05

2. 골 형성 지표에 미치는 영향

혈청 Alkaline Phosphatase (ALP)와 osteocalcin은 골 형성 지표로서 대사성 골 질환 및 골 재형성 시 조골 세포의 활동이 증가되어 골 교체율이 빠를 때 혈청 내 농도가 증가되며 특히 Osteocalcin은 골에 특이하고 유일한 단백질로서 조골 세포의 활동을 나타내는데 가장 민감하고 특이하다고 알려져 있다.¹⁶⁾ 흰쥐를 대상으로 osteocalcin 농도를 측정된 결과를 보면 5개월 된 쥐의 혈 중 osteocalcin 농도는 약 17 ng/ml, 9개월 된 흰쥐는 50 ng/ml로 보고하여 상대적으로 더 늙은 쥐에서 osteocalcin 농도가 높았다.¹⁷⁾ 혈 중 osteocalcin 농도는 골 교체율이 빠를 때 높다는 것을 고려할 때 더 늙은 쥐에서 혈 중 osteocalcin 농도가 높다는 것을 알 수 있다. 그러나 Murakami은 4 주령의 Sprague-Dawley 수컷의 경우 혈 중 osteocalcin의 농도가 30.8 ng/ml 보고하였는데¹⁸⁾ 성장기에도 골 교체율이 빠르므로 생의 주기에 따라 혈 중 osteocalcin 농도가 다르게 나타남을 볼 수 있었다. 본 연구에서 13 주령의 성장기의 수컷 Sprague-Dawley는 혈 중 osteocalcin 농도가 16~18 ng/ml로 나타났다 (Table 3). 본 연구에서 식이 종류에 따라서 혈 중 osteocalcin 농도에는 유의적인 차이는 없었으나 콩단백질 섭취군이 casein군 보다 높은 경향을 나타내었다.

ALP는 골 형성 지표로서 가장 흔하게 이용되며 조골 세포의 활성을 반영한다. 그러나 혈 중 ALP의 반이 빠르게 유리되고 간과 신장에서도 합성되므로 골의 미세한 변화를 반영하는 데는 특이도와 예민도가 osteocalcin에 비하여 떨어진다.¹⁶⁾ 본 연구에서 단백질의 종류와 isoflavones의 함량에 따른 ALP를 비교하였을 때 콩 단백질 군이 casein군보다 유의적으로 높았고, isoflavones의 함량에 따라서

특히 콩 단백질 성분 중의 isoflavones (genistein and daidzein)는 난소 호르몬 결핍 상태에서 골 감소를 방지하는 효과가 있다고 알려져 있다.⁴⁾ 폐경기 여성에서 isoflavones가 풍부한 콩 단백질은 lumbar spine의 골 소실을 지연시켰다고 보고했고,⁸⁾ 또한 폐경 여성에서 콩의 isoflavones는 vertebral bone과 trabecular bone에 유익한 영향이 있다고 보고했다.⁹⁾ 그 mechanism으로 콩 단백질의 isoflavones가 약한 estrogen의 기능을 함으로써 난소 호르몬이 결핍되는 폐경 여성이나 환위에서 estrogen의 부족 분을 채움으로써 호르몬 결핍으로 일어나는 골 흡수를 낮추어 골 대사에 유익한 효과를 가진다고 보고하였다.¹⁰⁾ 또한 아시아 여성이 미국 여성보다 골절율이 낮은 이유 중에 동물성 단백질의 섭취는 낮고 식물성 단백질 특히 콩의 섭취가 많은 것이 부분적인 이유일 수 있다고 보고했다.¹¹⁾ 또한 아시아 여성의 골밀도가 낮은 이유로서 초경 연령은 높고 폐경 연령은 낮아서 평생 동안 estrogen 노출 기간이 서양 여성 보다 낮기 때문이라는 주장도 있다.¹¹⁾ 그러나 최근 콩 단백질이 골밀도에 유익한 효과를 가지는 이론으로 콩 단백질이 성장 호르몬의 분비를 자극시켜 이것이 결국 골 형성을 촉진시킬지도 모른다고 추론하고 있으나²⁾ 이것에 대한 연구 자료는 없다. 골다공증의 특징은 치료가 매우 어렵고 이로 인한 골절은 삶의 질을 낮추고 의료비용을 증가시켜 선진국에서도 국민 보건의 중요한 문제로 대두되고 있다. 콩 단백질의 유익한 효과는 많은 연구가 폐경 여성 혹은 난소 절제한 쥐를 대상으로 하여 행하여졌고 성장기에 콩 단백질이 골밀도에 미치는 효과에 대한 연구 보고는 거의 없다. 그러나 최근 성장기 수컷 쥐를 대상으로 isoflavones가 풍부한 콩 단백질의 섭취 시 체중 당 척추와 대퇴골의 골밀도가 높았다고 보고하였다.¹³⁾ 따라서 본 연구의 목적은 콩 단백질의 isoflavones가 골 대사에 어떻게 유익한 영향을 미치는지 그 기전을 알아보고자 성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 콩 단백질의 섭취가 골 형성 지표와 골 흡수 지표에 미치는 영향과 골 대사와 관련이 있는 호르몬 농도에 미치는 효과를 알아보고자 한다.

연구방법 및 내용

1. 실험동물 및 실험기간

3 주령의 Sprague-Dawley 수컷 쥐 30마리를 단백질 급원에 따라 동물성 단백질 급원으로 casein을, 식물성 단백질 급원으로 soy protein을 사용하였다. 이때 Soy protein은 isoflavones가 풍부하게 들어있는 soy isolate (isoflavones 3.4 mg/g protein, supplied by PTI (Protein Te-

Table 1. Composition of experimental diet (g/100g diet)

Ingredients	Control diet	Soy isolate	Soy concentrate
Corn starch	66.2	66.2	65.2
Casein	20.0	-	-
Soy isolate	-	20.0	-
Soy concentrate	-	-	21.0
α -Cellulose	3.8	3.8	3.8
Vitamin mixture	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture	3.5	3.5	3.5
Corn oil	5.0	5.0	5.0
Choline	0.2	0.2	0.2
Methionine	0.3	0.3	0.3

Soy isolate, supplied by PTI (Protein Technology Institute, St. Louis, USA)
 Soy concentrate, supplied by Dan-Pro, USA
 Mineral mixture, supplied U.S. Corning Laboratory Services Company, Teklad test diets, Madison, Wisconsin, Biological test, Material No 170915.
 Vitamin Mixture, supplied by U.S. Corning Laboratory Services Company, Teklad test diets, Madison, Wisconsin, Biological test, Material No 40070.

chnology Institute, St. Louis, USA)와 isoflavones가 거의 없는 soy protein concentrate (0.07 mg/g protein, supplied by Dan-Pro, USA)를 사용하였다 (Table 1). 실험동물은 9주 동안 stainless-steel wire cage에서 한 마리 씩 분리 사육하였다. 사육실의 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $60 \pm 5\%$ 로 유지하였고 매일 광 주기, 암 주기를 12시간이 되도록 조절하였다. 실험 기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취케 하였으며, 물은 모두 2차 이온 교환수를 사용하였다.

2. 생화학 분석

골 흡수 측정은 요 중 pyridinoline, creatinine, cross-links value의 측정은 collagen crosslinks™ Kit (cat. No : 8001, Metra Biosystems Inc. U.S.A.)을 이용하여 ELISA (enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석하였다. 골 형성 측정을 위하여 혈청 alkaline phosphatase (ALP)의 측정은 TECHNICON CHEN™ SYSTEM을 이용하여 자동분석기 (automatic chemical analyzer)로 측정하였고, osteocalcin의 측정은 osteocalcin kit (Nichols Institute, IMMUTOPICS, INC)과 growth hormone은 hGH IRMA CT kit (RADIM, Roma, Italia)으로, calcitonin과 esteradiol 농도는 각각 DSL-7700 Active™ calcitonin IRMA kit과 Coat-A-Count estradiol kit (Diagnostic System Laboratories, Inc USA)을 이용하여 gamma counter로 radio immunoassay 하였고, parathyroid hormone (PTH)는 Active™ intact PTH IRMA

Table 2. The effect of dietary protein and isoflavones on body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER)

	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g)	Food intake (g/d)	FER
Casein	83.70 ± 3.1 ^{1)az}	449.70 ± 16.8 ^a	366.0 ± 13.2 ^a	22.39 ± 1.91 ^a	0.267 ± 0.017 ^a
Soy isolate	83.90 ± 2.9 ^a	400.75 ± 14.2 ^b	316.8 ± 12.3 ^b	21.36 ± 0.88 ^b	0.246 ± 0.016 ^b
Soy concentrate	83.85 ± 2.9 ^a	432.60 ± 15.9 ^c	348.8 ± 12.9 ^c	23.81 ± 2.17 ^c	0.243 ± 0.014 ^b

1) Mean ± SD

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

kit (Diagnostic System Laboratories, Inc USA)을 이용하여 gamma counter로 분석하였다.

3. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였고, 실험군 간의 비교는 One way ANOVA 분석을 한 후 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중과 식이 섭취량

실험 시작 시에 차이가 없는 몸무게로 시작하여 실험 기간 9주 동안 체중의 증가는 대조군인 casein 섭취군이 가장 높았고 그 다음이 soy concentrate군, soy isolate군 순으로 세 군간에 유의적인 차이를 보였다. 이것은 식이 섭취량에서도 세 군간에 같은 순서로 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 그러나 식이 효율을 비교하였을 때 대조군과 콩 단백질간에는 유의적인 차이가 있었으나 isoflavones 함량이 다른 두 콩 단백질간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Table 2). 콩 단백질은 casein에 비해 식이 효율이나 단백질효율이 실험동물에서는 낮은 것으로 보고 되었는데 특히 성장기 흰쥐의 경우 사람 보다 methionine의 요구량이 더 많기 때문에 성장이 빠른 어린 쥐에게 있어서는 메티오닌 함량이 적은 콩 단백질의 식이효율이나 단백질 효율이 더 낮게 평가되어질 수 있다고 하였다.¹⁴⁾ 하지만 사람의 경우는 동물과 다르게 1993년 미국의 식품의 약청 (FDA)에서 새로 개발하여 세계보건기구 (WHO)와 유엔식량농업기구 (FAO)에서 권장하고 있는 PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score)는 단백질효율을 대신하여 1세 이상의 어린이와 성인을 위한 식품표시 (food label)에서 단백질의 daily value를 계산하는 새로운 표준으로 사용하고 있다. 카제인과 soy protein isolate의 PDCAAS값은 동일하였으며 최고 값인 '1'을 나타내었다. 이로 soy protein isolate는 2~5세 어린이의 필수 아미노산을 100% 공급해 줄 수 있는 단백질 공급원으로 평가되었다.¹⁵⁾

Table 3. Pyridinoline, creatinine and cross link value in experimental rats

	Pyridinoline (nM)	Creatinine (mM)	Crosslink value (nM/mM)
Casein	522.45 ± 112.1	4.998 ± 0.43	130.92 ± 18.1
Soy isolate	463.33 ± 89.4	6.665 ± 0.47	117.49 ± 17.3
Soy concentrate	487.98 ± 96.3	4.777 ± 0.51	112.45 ± 17.9

Not significantly different at p < 0.05

2. 골 형성 지표에 미치는 영향

혈청 Alkaline Phosphatase (ALP)와 osteocalcin은 골 형성 지표로서 대사성 골 질환 및 골 재형성 시 조골 세포의 활동이 증가되어 골 교체율이 빠를 때 혈청 내 농도가 증가되며 특히 Osteocalcin은 골에 특이하고 유일한 단백질로서 조골 세포의 활동을 나타내는데 가장 민감하고 특이하다고 알려져 있다.¹⁶⁾ 흰쥐를 대상으로 osteocalcin 농도를 측정된 결과를 보면 5개월 된 쥐의 혈 중 osteocalcin 농도는 약 17 ng/ml, 9개월 된 흰쥐는 50 ng/ml로 보고하여 상대적으로 더 늙은 쥐에서 osteocalcin 농도가 높았다.¹⁷⁾ 혈 중 osteocalcin 농도는 골 교체율이 빠를 때 높다는 것을 고려할 때 더 늙은 쥐에서 혈 중 osteocalcin 농도가 높다는 것을 알 수 있다. 그러나 Murakami은 4 주령의 Sprague-Dawley 수컷의 경우 혈 중 osteocalcin의 농도가 30.8 ng/ml 보고하였는데¹⁸⁾ 성장기에도 골 교체율이 빠르므로 생의 주기에 따라 혈 중 osteocalcin 농도가 다르게 나타남을 볼 수 있었다. 본 연구에서 13 주령의 성장기의 수컷 Sprague-Dawley는 혈 중 osteocalcin 농도가 16~18 ng/ml로 나타났다 (Table 3). 본 연구에서 식이 종류에 따라서 혈 중 osteocalcin 농도에는 유의적인 차이는 없었으나 콩단백질 섭취군이 casein군 보다 높은 경향을 나타내었다.

ALP는 골 형성 지표로서 가장 흔하게 이용되며 조골 세포의 활성을 반영한다. 그러나 혈 중 ALP의 반이 뼈로부터 유리되고 간과 신장에서도 합성되므로 골의 미세한 변화를 반영하는 데는 특이도와 예민도가 osteocalcin에 비하여 떨어진다.¹⁶⁾ 본 연구에서 단백질의 종류와 isoflavones의 함량에 따른 ALP를 비교하였을 때 콩 단백질 군이 casein 군보다 유의적으로 높았고, isoflavones의 함량에 따라서

특히 콩 단백질 성분 중의 isoflavones (genistein and daidzein)는 난소 호르몬 결핍 상태에서 골 감소를 방지하는 효과가 있다고 알려져 있다.⁴⁾ 폐경기 여성에서 isoflavones가 풍부한 콩 단백질은 lumbar spine의 골 소실을 지연시켰다고 보고했고,⁸⁾ 또한 폐경 여성에서 콩의 isoflavones는 vertebral bone과 trabecular bone에 유의한 영향이 있다고 보고했다.⁹⁾ 그 mechanism으로 콩 단백질의 isoflavones가 약한 estrogen의 기능을 함으로써 난소 호르몬이 결핍되는 폐경 여성이나 흰쥐에서 estrogen의 부족 분을 채움으로써 호르몬 결핍으로 일어나는 골 흡수를 낮추어 골 대사에 유의한 효과를 가진다고 보고하였다.¹⁰⁾ 또한 아시아 여성이 미국 여성보다 골절율이 낮은 이유 중에 동물성 단백질의 섭취는 낮고 식물성 단백질 특히 콩의 섭취가 많은 것이 부분적인 이유일 수 있다고 보고했다.¹¹⁾ 또한 아시아 여성의 골밀도가 낮은 이유로서 초경 연령은 높고 폐경 연령은 낮아서 평생 동안 estrogen 노출 기간이 서양 여성 보다 낮기 때문이라는 주장도 있다.¹¹⁾ 그러나 최근 콩 단백질이 골밀도에 유의한 효과를 가지는 이론으로 콩 단백질이 성장 호르몬의 분비를 자극시켜 이것이 결국 골 형성을 촉진시킬지도 모른다고 추론하고 있으나¹²⁾ 이것에 대한 연구 자료는 없다. 골다공증의 특징은 치료가 매우 어렵고 이로 인한 골절은 삶의 질을 낮추고 의료비용을 증가시켜 선진국에서도 국민 보건의 중요한 문제로 대두되고 있다. 콩 단백질의 유의한 효과는 많은 연구가 폐경 여성 혹은 난소 절제한 쥐를 대상으로 하여 행하여졌고 성장기에 콩 단백질이 골밀도에 미치는 효과에 대한 연구 보고는 거의 없다. 그러나 최근 성장기 수컷 쥐를 대상으로 isoflavones가 풍부한 콩 단백질의 섭취 시 체중 당 척추와 대퇴골의 골밀도가 높았다고 보고하였다.¹³⁾ 따라서 본 연구의 목적은 콩 단백질의 isoflavones가 골 대사에 어떻게 유의한 영향을 미치는지 그 기전을 알아보고자 성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 콩 단백질의 섭취가 골 형성 지표와 골 흡수 지표에 미치는 영향과 골 대사와 관련이 있는 호르몬 농도에 미치는 효과를 알아보고자 한다.

연구방법 및 내용

1. 실험동물 및 실험기간

3 주령의 Sprague-Dawley 수컷 쥐 30마리를 단백질 급원에 따라 동물성 단백질 급원으로 casein을, 식물성 단백질 급원으로 soy protein을 사용하였다. 이때 Soy protein은 isoflavones가 풍부하게 들어있는 soy isolate (isoflavones 3.4 mg/g protein, supplied by PTI (Protein Te-

Table 1. Composition of experimental diet (g/100g diet)

Ingredients	Control diet	Soy isolate	Soy concentrate
Corn starch	66.2	66.2	65.2
Casein	20.0	-	-
Soy isolate	-	20.0	-
Soy concentrate	-	-	21.0
α -Cellulose	3.8	3.8	3.8
Vitamin mixture	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture	3.5	3.5	3.5
Corn oil	5.0	5.0	5.0
Choline	0.2	0.2	0.2
Methionine	0.3	0.3	0.3

Soy isolate, supplied by PTI (Protein Technology Institute, St. Louis, USA)

Soy concentrate, supplied by Dan-Pro, USA

Mineral mixture, supplied U.S. Corning Laboratory Services Company, Teklad test diets, Madison, Wisconsin, Biological test, Material No 170915.

Vitamin Mixture, supplied by U.S. Corning Laboratory Services Company, Teklad test diets, Madison, Wisconsin, Biological test, Material No 40070.

chnology Institute, St. Louis, USA)와 isoflavones가 거의 없는 soy protein concentrate (0.07 mg/g protein, supplied by Dan-Pro, USA)를 사용하였다 (Table 1). 실험동물은 9주 동안 stainless-steel wire cage에서 한 마리 씩 분리 사육하였다. 사육실의 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $60 \pm 5\%$ 로 유지하였고 매일 광 주기, 암 주기를 12시간이 되도록 조절하였다. 실험 기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취케 하였으며, 물은 모두 2차 이온 교환수를 사용하였다.

2. 생화학 분석

골 흡수 측정은 요 중 pyridinoline, creatinine, cross-links value의 측정은 collagen crosslinksTM Kit (cat. No : 8001. Metra Biosystems Inc. U.S.A.)을 이용하여 ELISA (enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석하였다. 골 형성 측정을 위하여 혈청 alkaline phosphatase (ALP)의 측정은 TECHNICON CHENTM SYSTEM을 이용하여 자동분석기 (automatic chemical analyzer)로 측정하였고, osteocalcin의 측정은 osteocalcin kit (Nichols Institute, IMMUTOPICS, INC)과 growth hormone은 hGH IRMA CT kit (RADIM, Roma, Italia)으로, calcitonin과 esteradiol 농도는 각각 DSL-7700 ActiveTM calcitonin IRMA kit과 Coat-A-Count estradiol kit (Diagnostic System Laboratories, Inc USA)을 이용하여 gamma counter로 radio immunoassay 하였고, parathyroid hormone (PTH)는 ActiveTM intact PTH IRMA

Table 2. The effect of dietary protein and isoflavones on body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER)

	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g)	Food intake (g/d)	FER
Casein	83.70 ± 3.1 ^{1)a2)}	449.70 ± 16.8 ^a	366.0 ± 13.2 ^a	22.39 ± 1.91 ^a	0.267 ± 0.017 ^a
Soy isolate	83.90 ± 2.9 ^a	400.75 ± 14.2 ^b	316.8 ± 12.3 ^b	21.36 ± 0.88 ^b	0.246 ± 0.016 ^b
Soy concentrate	83.85 ± 2.9 ^a	432.60 ± 15.9 ^c	348.8 ± 12.9 ^c	23.81 ± 2.17 ^c	0.243 ± 0.014 ^b

1) Mean ± SD

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

kit (Diagnostic System Laboratories, Inc USA)을 이용하여 gamma counter로 분석하였다.

3. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였고, 실험군 간의 비교는 One way ANOVA 분석을 한 후 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중과 식이 섭취량

실험 시작 시에 차이가 없는 몸무게로 시작하여 실험 기간 9주 동안 체중의 증가는 대조군인 casein 섭취군이 가장 높았고 그 다음이 soy concentrate군, soy isolate군 순으로 세 군간에 유의적인 차이를 보였다. 이것은 식이 섭취량에서도 세 군간에 같은 순서로 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 그러나 식이 효율을 비교하였을 때 대조군과 콩 단백질군 간에는 유의적인 차이가 있었으나 isoflavones 함량이 다른 두 콩 단백질군 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Table 2). 콩 단백질은 casein에 비해 식이 효율이나 단백질효율이 실험동물에서는 낮은 것으로 보고되었는데 특히 성장기 흰쥐의 경우 사람 보다 methionine의 요구량이 더 많기 때문에 성장이 빠른 어린 쥐에게 있어서는 메티오닌 함량이 적은 콩 단백질의 식이효율이나 단백질 효율이 더 낮게 평가되어질 수 있다고 하였다.¹⁴⁾ 하지만 사람의 경우는 동물과 다르게 1993년 미국의 식품의 약청 (FDA)에서 새로 개발하여 세계보건기구 (WHO)와 유엔식량농업기구 (FAO)에서 권장하고 있는 PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score)는 단백질효율을 대신하여 1세 이상의 어린이와 성인을 위한 식품표시 (food label)에서 단백질의 daily value를 계산하는 새로운 표준으로 사용하고 있다. 카제인과 soy protein isolate의 PDCAAS값은 동일하였으며 최고 값인 '1'을 나타내었다. 이로 soy protein isolate는 2~5세 어린이의 필수 아미노산을 100% 공급해 줄 수 있는 단백질 공급원으로 평가되었다.¹⁵⁾

Table 3. Pyridinoline, creatinine and cross link value in experimental rats

	Pyridinoline (nM)	Creatinine (mM)	Crosslink value (nM/mM)
Casein	522.45 ± 112.1	4.998 ± 0.43	130.92 ± 18.1
Soy isolate	463.33 ± 89.4	6.665 ± 0.47	117.49 ± 17.3
Soy concentrate	487.98 ± 96.3	4.777 ± 0.51	112.45 ± 17.9

Not significantly different at $p < 0.05$

2. 골 형성 지표에 미치는 영향

혈청 Alkaline Phosphatase (ALP)와 osteocalcin은 골 형성 지표로서 대사성 골 질환 및 골 재형성 시 조골 세포의 활동이 증가되어 골 교체가 빠를 때 혈청 내 농도가 증가되며 특히 Osteocalcin은 골에 특이하고 유일한 단백질로서 조골 세포의 활동을 나타내는데 가장 민감하고 특이하다고 알려져 있다.¹⁶⁾ 흰쥐를 대상으로 osteocalcin 농도를 측정된 결과를 보면 5개월 된 쥐의 혈 중 osteocalcin 농도는 약 17 ng/ml, 9개월 된 흰쥐는 50 ng/ml로 보고하여 상대적으로 더 늙은 쥐에서 osteocalcin 농도가 높았다.¹⁷⁾ 혈 중 osteocalcin 농도는 골 교체가 빠를 때 높다는 것을 고려할 때 더 늙은 쥐에서 혈 중 osteocalcin 농도가 높다는 것을 알 수 있다. 그러나 Murakami은 4 주령의 Sprague-Dawley 수컷의 경우 혈 중 osteocalcin의 농도가 30.8 ng/ml 보고하였는데¹⁸⁾ 성장기에도 골 교체가 빠르므로 생의 주기에 따라 혈 중 osteocalcin 농도가 다르게 나타남을 볼 수 있었다. 본 연구에서 13 주령의 성장기의 수컷 Sprague-Dawley는 혈 중 osteocalcin 농도가 16~18 ng/ml로 나타났다 (Table 3). 본 연구에서 식이 종류에 따라서 혈 중 osteocalcin 농도에는 유의적인 차이는 없었으나 콩단백질 섭취군이 casein군 보다 높은 경향을 나타내었다.

ALP는 골 형성 지표로서 가장 흔하게 이용되며 조골 세포의 활성을 반영한다. 그러나 혈 중 ALP의 반이 뼈로부터 유리되고 간과 신장에서도 합성되므로 골의 미세한 변화를 반영하는 데는 특이도와 예민도가 osteocalcin에 비하여 떨어진다.¹⁶⁾ 본 연구에서 단백질의 종류와 isoflavones의 함량에 따른 ALP를 비교하였을 때 콩 단백질 군이 casein 군보다 유의적으로 높았고, isoflavones의 함량에 따라서

는 isoflavones가 풍부한 콩단백질이 isoflavones가 거의 없는 콩단백질 보다 높은 경향을 나타내었다 (Table 3). 성장기 수컷의 흰쥐를 대상으로 ALP를 측정된 선행연구 결과와 비교해 보면, 본 연구의 혈중 ALP 농도 77~89 (u/l)로 본 연구에서 이용한 쥐보다 2 주령이 많은 경우 평균 111 (u/l)이라 보고한 것에¹⁹⁾ 비하면 조금 낮고, 성장기의 수컷으로 본 연구의 쥐와 주령이 같은 경우 74.8 (u/l)로 보고한 Chae²⁰⁾의 결과와 비슷하다. 또한 본 연구의 결과는 성장기 흰쥐를 대상으로 한 선행연구에서 콩 단백질 섭취 시 osteocalcin과 ALP의 농도에서 유의적인 차이가 없었다는 결과²¹⁾와 casein에 isoflavones를 첨가하였을 때 osteocalcin 농도에서 차이가 없었다는 보고²⁰⁾와 일치한다.

3. 골 흡수 지표에 미치는 영향

골 흡수 지표로 알려진 collagen의 crosslink인 pyridinoline 및 deoxypyridinoline은 골격 내에 분포하며 다른 연골조직은 제외되고 골격의 뼈에서만 유리된다. 파골 세포의 흡수와 더불어 이들 collagen의 부산물의 생성은 혈중을 통해 소변으로 배설되게 된다. 따라서 소변 내의 이러한 crosslink를 측정하는 것은 골 흡수의 특이적인 지표로 보고되고 있다. 즉 골 교체율이 빠를 때 요 중 pyridinoline, deoxypyridinoline, crosslinks value가 높아지게 된다. 요 중 pyridinoline, deoxypyridinoline, crosslinks value는 요 중 creatinine에 대한 비로 나타내며 이 지표는 매우 정확하다고 보고되고 있다 (Table 4).²²⁾ 본 연구에서는 단백질의 종류나 isoflavones의 함량에 따라 crosslink value에 통계적으로 유의한 차이는 볼 수 없었으나 soy isolate 군과 soy concentrate 군이 각각 117.4 (nM/mM), 112.4 (nM/mM)로서 casein 군의 130.9 (nM/mM)보다 낮은 경향을 보였다. 이 결과는 성장기 수컷 쥐를 대상으로 casein과 콩 단백질을 이용하여 단백질 급원을 달리 하였을 때 crosslinks value에 통계적으로 유의적인 차이는 없었으나 콩 단백질군이 caein군 보다 낮은 경향을 보였다는 선행 연구 결과와¹⁹⁾ 일치한다. 또한 성장기 수컷 쥐에서 보고된 crosslink value가 83~138 (nM/mM)라고 보고한 수준과²⁰⁾ 본 연구의 crosslink value의 수준과

Table 4. The effect of dietary protein and isoflavones on bone markers

	ALP (u/l)	Osteocalcin (ng/ml)
Casein	77.16 ± 13.7 ^{1)a2)}	16.21 ± 1.83 ^a
Soy isolate	88.33 ± 16.8 ^b	17.85 ± 1.79 ^b
Soy concentrate	89.66 ± 17.3 ^b	18.13 ± 1.76 ^b

1) Mean ± SD

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

비슷하였다. 그러나 난소절제 한 쥐의 경우 250~500 (nM/mM)라고 보고하여²³⁾ 폐경의 모델에서 현저히 높음을 알 수 있었다. Khalil은²⁴⁾ 콩 단백질의 섭취 시 혈청 ALP와 deoxypyridinoline의 배설량에서 casein 섭취 시와 유의적인 차이가 없었다고 보고하여 골 교체에 영향을 미치지 않는 것으로 보고하였다.

4. 골형성 지표와 골흡수 지표의 비율

식이 단백질의 종류와 isoflavones의 함량의 차이가 골형성 지표와 골흡수 지표의 비율에 미치는 효과를 Table 5에 나타내었다. 콩단백질군은 casein군에 비하여 골형성 지표/골흡수 지표의 비율이 유의적으로 높았으며 콩단백질군 내에서 isoflavones의 함량차이에 따라서는 유의적인 차이가 없었다. 골형성 지표를 ALP로 비교하였을 때 콩단백질의 soy isolate군과 soy concentrate군이 casein 군에 비하여 각각 127%와 125%로 높았고, 골형성 지표를 osteocalcin으로 비교하였을 때 콩단백질의 soy isolate군과 soy concentrate군이 casein군에 비하여 각각 124%와 130%로 높았다. 따라서 골형성 지표와 골흡수 지표의 비율을 고려하면 콩단백질군이 casein군에 비하여 골밀도 형성에 유의하리라 사료된다.

5. 골 형성과 골 흡수에 관련된 호르몬에 미치는 영향

골 형성은 여러 가지 호르몬과 성장요인에 의하여 영향을 받는데²⁵⁾ 골 형성에 유리하게 작용하는 것으로 알려진 estrogen과 growth hormone에 대하여 콩 단백질과 isoflavones가 미치는 효과를 Table 6에 나타내었다. 혈 중 estrogen은 calcitonin의 분비를 촉진시키고 PTH로 인한 골 손실을 막아준다고 보고되었는데⁸⁾ casein군과 콩 단백

Table 5. The effect of dietary protein and isoflavones on ALP/crosslink value or osteocalcin/crosslink value ratio

	ALP/crosslink	Osteocalcin/crosslink
Casein	0.59 ± 0.04 ^{1)a2)}	0.123 ± 0.01 ^a
Soy isolate	0.75 ± 0.05 ^b	0.153 ± 0.02 ^b
Soy concentrate	0.74 ± 0.05 ^b	0.161 ± 0.02 ^b

1) Mean ± SD

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

Table 6. The effect of dietary protein and isoflavones on estrogen and growth hormone

	Estrogen (pg/ml)	Growth hormone (ng/ml)
Casein	138.28 ± 32.8 ^{1)a2)}	0.174 ± 0.008 ^a
Soy isolate	137.85 ± 29.4 ^a	0.186 ± 0.009 ^b
Soy concentrate	128.12 ± 22.1 ^a	0.171 ± 0.018 ^a

1) Mean ± SD

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

Table 7. The effect of dietary protein and isoflavones on calcitonin and PTH

	Calcitonin (pg/ml)	PTH (pg/ml)
Casein	1.51 ± 0.18	9.52 ± 2.23
Soy isolate	1.49 ± 0.14	10.29 ± 2.38
Soy concentrate	1.47 ± 0.19	10.31 ± 1.70

Not significantly different at $p < 0.05$

질 군간에 또 콩 단백질 군내에서 isoflavones 함량에 따라 혈 중 estrogen 농도는 유의적인 차이가 없었다. 그리고 골 형성에 불리하게 작용하는 parathyroid hormone (PTH)에 단백질의 종류가 미치는 효과에 대한 선행 연구에서는 casein을 섭취시킨 경우 혈 중 PTH 농도가 상승하였고 soy protein을 섭취시킨 경우 혈 중 PTH 농도가 낮아져서 콩 단백질이 골밀도에 유리하다고 보고하였다.¹²⁾ 그러나 본 연구에서는 식이 단백질 군간에 혈 중 PTH 농도에 차이가 없었다 (Table 7). 늙은 쥐를 대상으로 한 선행 연구결과^{7,12)}에서, 콩 단백질이 혈청 PTH 수준을 낮추어 주었다고 하였으나 본 연구에서는 그 효과를 볼 수 없었다. 본 연구의 동물은 성장기의 쥐를 대상으로 하였으므로 생리주기에 따른 차이 일 수 있다고 사료된다. 콩 단백질의 골 감소 지연효과는 폐경 인 경우나 난소 절제 및 늙은 쥐의 경우에 그 효과가 현저하였다.^{12,26)} Mei 등²⁶⁾은 폐경 후 중국 여성을 대상으로 조사한 결과를 보면 isoflavones 섭취가 높은 군의 혈청 PTH 농도는 19.83 pg/ml으로 섭취가 낮은 군의 26.56 pg/ml보다 유의적으로 낮게 나타나 isoflavones가 estrogen 부족으로 인한 부갑상선 기능항진을 역전시켜 폐경으로 인한 골 교체율의 증가를 낮추어 줄 수 있다고 제안하였다. 혈장의 calcium ion의 항상성 유지에 민감하게 반응하며 urinary hydroxyproline의 배설을 감소시키는 역할을 한다고 알려진²⁷⁾ calcitonine 농도는 세 군간에 차이가 없었다.

콩의 isoflavones는 폐경 여성이나 난소 절제한 쥐에서 estrogenic 한 효과를 나타내어 부족한 estrogen을 채워 골 소실의 지연에 기여한다고 하였다. 또한 estrogen이 풍부한 상태에서 antiestrogenic 한 효과를 나타낼 수 있다고 알려져 있다. 본 연구에 이용한 동물은 성장기 수컷이므로 isoflavones가 풍부한 콩 단백질 섭취 시 혈 중 estrogen 농도에 미치는 효과를 보는 것은 의미 있는 일이라 본다. 그러나 혈 중 estrogen 농도는 실험 식이에 따라 차이가 없었다. 이것은 콩 단백질을 폐경 여성에게 섭취시켰을 때 혈 중 estrogen 농도에 영향을 미치지 않았다는 보고와²⁸⁾ 일치한다. 그리고 골 형성에 유리하게 작용하는 growth hormone의 농도는 isoflavones가 풍부한 콩 단백질군이

casein군 보다 유의적으로 높았다. 그러나 isoflavones가 거의 없는 콩 단백질인 soy concentrate 군은 casein 군과 growth hormone의 농도에 유의적인 차이가 없어서 이것은 콩 단백질이 성장호르몬의 분비를 촉진시켜 골 대사를 유익하게 할지도 모른다고 추론한 선행연구에¹²⁾ 부분적으로 동의 할 수 있으나 단백질 조성의 차이도 배제할 수 없는 것으로 보인다. 콩단백질군의 경우 골형성지표/골 흡수지표의 비가 isoflavones 함량과 상관없이 casein 보다 유의적으로 높았고, 또한 체중당 척추 및 대퇴 골밀도는 콩단백질군이 casein 에 비하여 높았다고 보고한 연구 결과와¹³⁾ 연관지어 볼 때 콩단백질이 골형성에 유리할 수 있다고 사료되며, 또한 isoflavones가 풍부한 경우 체중당 척추의 골밀도가 isoflavones가 거의 없는 콩단백질에 비하여 유의적으로 높았고,¹³⁾ 본 연구에서 성장호르몬의 분비도 더 많았으므로 isoflavones가 풍부한 경우 골밀도 향상에 더 유리할 수 있다고 사료된다. Nass 등은²⁹⁾ arginine은 성장 호르몬 분비를 자극한다고 하였고, 또한 성장 호르몬은 아동기의 골격 성장 및 최대 골밀도 형성에 매우 중요한 인자라 하였다.³⁰⁾ Kassem은³¹⁾ 성장 호르몬이 직접 조골 세포의 증식과 분화를 자극하여 성장 호르몬을 투여하면 ALP와 osteocalcin 합성이 증가된다고 보고하였다. 성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 casein을 섭취시킨 경우보다 콩 단백질 섭취 시에 혈 중 arginine 농도가 높았다고 보고하였는데,³²⁾ 본 연구에서 사용한 콩단백질은 casein 보다 arginine이 2배 이상 많았으므로 콩의 arginine이 혈 중 성장호르몬 분비를 촉진 시켰고, 증가된 성장 호르몬이 골밀도를 높일 수 있다고 볼 수 있겠다. 선행연구에서¹³⁾ 콩 단백질군 내에서 isoflavones 함량이 많은 콩단백질이 체중당 척추 골밀도가 isoflavones가 거의 없는 경우 보다 유의적으로 높아서 isoflavones의 역할도 배제할 수 없다고 사료된다. 한편 대두 단백질은 IGF-1 농도를 유의적으로 증가 시켰다는 보고도 있으므로²⁴⁾ 콩 단백질의 골 대사에 미치는 효과에서 호르몬에 미치는 영향에 대하여 더욱 많은 연구가 요망된다. 성장기 수컷 쥐에서 콩 단백질은 골밀도에 대한 칼슘 효율을 높였다는 보고와,¹⁹⁾ 성장기 수컷 쥐에서 콩단백질은 casein에 비하여 체중 당 척추와 대퇴의 골밀도가 높았고, 또한 콩단백질 내에서는 isoflavones가 풍부한 경우 체중당 척추와 대퇴 골밀도가 유의적으로 높았다고 한 결과와, casein에 isoflavones를 첨가시킨 경우 골밀도가 향상되었다는 보고와,²⁰⁾ 성장기 수컷 쥐를 대상으로 isoflavones가 풍부한 콩 단백질의 섭취 시 체중 당 척추와 대퇴골의 골밀도가 높았다고 보고를¹³⁾ 종합해 볼 때 어릴 적부터 phytoestrogens에 노출되면 호

르몬에 의존하는 질병 예방에 도움이 된다고 보고한 최근 연구에³³⁾ 이 연구 결과는 적어도 골다공증 예방의 차원에서 동의할 수 있다고 사료된다. 그리고 casein에 비하여 콩 단백질이 골밀도에 유리한 이유에 대하여 단백질의 아미노산의 조성 차이 때문인지 isoflavones의 함량차이 때문인지 식이 단백질과 골밀도와의 관계에 대한 연구가 더욱 요망된다.

요약 및 결론

성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 콩 단백질과 콩의 isoflavones가 골밀도 및 골 함량에 미치는 효과를 알아 본 결과는 아래와 같다.

- 1) 골 형성 지표인 ALP는 콩 단백질군이 casein군 보다 높았고, osteocalcin의 혈중 농도는 유의적인 차이가 없었다.
- 2) 골 흡수 지표인 crosslink value는 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 콩 단백질군이 casein 군에 비하여 낮은 경향을 나타내었다.
- 3) 골형성지표/골흡수지표의 비율은 콩단백질군이 casein 군에 비하여 유의적으로 높았다.
- 4) 칼슘 배설이나 재 흡수에 영향을 미치는 PTH나 calcitonin은 단백질의 종류나 콩 단백질에서 isoflavones 유무에 따라 유의적인 차이가 없었다.
- 5) casein군이나 콩 단백질군에서 isoflavones 함량 차이에 따른 혈청 estrogen 농도는 차이가 없었다.
- 6) 성장 호르몬은 isoflavones가 함유된 콩 단백질군이 casein 군에 비하여 유의적으로 높았다.

결론적으로 콩 단백질은 casein에 비하여 골형성 지표와 골흡수 지표의 비가 유의적으로 높았고, 특히 isoflavones가 풍부한 콩 단백질은 성장 호르몬이 유의적으로 높았다. 따라서 선행 연구에서 isoflavones가 풍부한 콩 단백질의 섭취 시 체중 당 척추와 대퇴골의 골밀도를 높여 주었는데, 본 연구의 결과는 isoflavones가 풍부한 콩 단백질이 골밀도를 높여 주는 부분적인 설명으로 성장 호르몬이 역할을 하였다고 생각되며, 성장기의 isoflavones가 풍부한 콩 단백질의 섭취는 골밀도 형성에 유리하리라 사료된다.

Literature cited

- 1) Katherine LT, Chen H, Hannan MT, Cupples LA, Wilson PWF, Felson D, Kiel DP. Bone mineral density and dietary patterns in older adults: the Framingham Osteoporosis Study. *Am J Clin Nutr* 76(1) : 245-252, 2002
- 2) Kanis J and the WHO study group. Assessment of fracture risk and its applications to screening for postmenopausal osteoporosis of a WHO report. *Osteoporos Int* 1994(4) : 368-381, 1994
- 3) Heaney RP. Calcium, dairy products and osteoporosis. *Am J Coll Nutr* 19: 825-842, 2000
- 4) Arjmandi BH, Getlinger MJ, Goyal NV, Alekel L, Hasler CM, 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) : 1364s-1368s, 1998
- 5) Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y, Sato T, Uchiyama Y, Ito M, Wang X, Suda T, Ikegami S. Selective effects of Genistein, a soybean isoflavones, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinology* 140(4) : 1893-1900, 1999
- 6) Picherit C, Coxam V, Bennetau-Pelissero C, Kati-Coulibaly S, Davicco MJ, Lebecque P, Barlri JP. Daidzen is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr* 130(7) : 1675-1681, 2000
- 7) Kalu DN, Maroro EJ, Byung P, Hardin RR, Hollis BW. Modulation of age-related hyperparathyroidism and senile bone loss in Fisher rats by soy protein and food restriction. *Endocrinol* 122: 1847-1854, 1988
- 8) Alekel DL, St Germain A, 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
- 9) Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Erdman JW Jr. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 68 (suppl) : 1375s-1379s, 1998
- 10) Arjmandi BH, MJ Getlinger, NV Goyal, L Alekel, CM Hasler, S Juma, ML Drum, BW Hollis, and SC Kukreja. 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
- 11) Munger RG, Cerhan JR, Chiu BCH. Prospective study of dietary protein intake and risk of hip fracture in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 69: 147-152, 1999
- 12) Andreassen TT, Jorgensen PH, Flyvbjerg A, Orskov H, Oxlund H. Growth hormone stimulates bone formation and strength of cortical bone in aged rats. *J Bone Miner Res* 10: 1057-1067, 1995
- 13) Choi MJ. Effects of soy protein on bone mineral content and bone mineral density in growing male rats. *Korean Journal of Nutrition* 35(4) : 409-413, 2002
- 14) Mahan LK, Escott-Stump S. *Krauses's food, nutrition & diet therapy*. 9th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp346, 1996
- 15) FAO/WHO. Protein quality evaluation report of joint FAO/WHO expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper* No 51. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1989
- 16) Lian JB, Gundberg CM. Osteocalcin biochemical considerations and clinical applications. *Clin Ortho Rel Res* 226: 267-291, 1998
- 17) Hauschka PV, Lian JB, Dole DEC, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix gla protein: Vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev* 69: 990-1047, 1989
- 18) Murakami H, Nakamura T, Tsurukami H, Abe M, Barbier A,

- Suzuke. Effects of tiludronate on bone mass, structure, and turnover, at the epiphyseal primary, and secondary sponiosa in the proximal tibia of growing rats after sciatic neurectomy. *J Bone men Res* 9 (9) : 1355-1364, 1994
- 19) Jung SH, Choi MJ. Effect of dietary protein level on Ca efficiency in bone mineral density in growing rats. *Korean J Nutr* 28 (9) : 817-824, 1995
 - 20) Jung SH. Th effect of dietary protein source and sulfur amino acid content on bone metabolism in male rats. Thesis, Keimyung University, 1994
 - 21) Chae JH. The effect of isoflavones on bone mineral density and bone mineral content in growing male rats. Thesis, Keimyung University, 2002
 - 22) Garnero P, Delmas PD. New developments in biochemical markers of osteoporosis. *Calcif Tissue Intl* 59 (7) : 2-9, 1996
 - 23) Choi MJ. The effect of Dietary calcium level on biochemical variables of bone metabolism in ovariectomized female rats. *J East Asian Society of Dietary Life* 6 (3) : 295-306, 1996
 - 24) Khalil DA, Lucas EA, Juma S, Smith BJ, Payton ME, Arjmandi BH. Soy protein supplementation increases serum insulin like growth factor-1 in young and old men but does not affect markers of bone metabolism. *J Nutr* 132 (9) : 2605-2608, 2002
 - 25) Tolstoi LG, Levin RM. osteoporosis-the treatment controversy. *Nutr Today* 7: 6-29, 1992
 - 26) Mei J, Yeung SS, Kung AW. High dietary phytoestrogen intake is associated with higher bone mineral density in postmenopausal but not premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 86 (11) : 5217-5221, 2001
 - 27) Vaanannen HK. Pathogenesis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 49 (suppl) : s11-s14, 1991
 - 28) Persky VW, Turyk ME, Wang L, Freels S, Chatterton R, Barnes S, Erdman J, Sepkovic DW, Bradlow HL, Potter S. Effect of soy protein on endogenous hormones in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 75 (1) : 145-153, 2002
 - 29) Nass R, Pezzoli SS, Chapman IM, Patrie J, Hintz RL, Hartman ML, Thorne MO. IGF-1 does not affect the net increase in GH release in response to arginine. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283 (4) : E702-710, 2002
 - 30) Atti KM. The importance of growth hormone replacement therapy for bone mass in young adults with growth hormone deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab* 13 (suppl) : 1011-1021, 2000
 - 31) Kassem M, Blum W, Risteli J. Growth hormone stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 52: 222-226, 1993
 - 32) Kim KL, Kim WY. The effect of soy protein and casein on serum lipid, amino acid. *Korean J Nutr* 17: 309-310, 1983
 - 33) Setchell KD, Zimmer-Nechemias L, Cai J, Heubi JE. Isoflavone content of infant formulas and the metabolic fate of these phytoestrogens in early life. *Am J Clin Nutr* (68) : 1453s-1461s, 1998