

홍국의 첨가가 난소절제 쥐에서 골밀도 및 골함량에 미치는 영향*

최 미 자**§ · 유 대 식***

계명대학교 식품영양학과,** 미생물학과***

Effects of Red-Yeast-Rice Supplementation on Bone Mineral Density and Bone Mineral Content in Ovariectomized Rats*

Choi, Mi-Ja**§ · Yu, Taeshick***

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

ABSTRACT

This study was performed to evaluate the effect of red-yeast-rice on bone metabolism in ovariectomized (OVX) rats. Forty female Sprague-Dawley rats (body weight 210 ± 5 g, 9 weeks old age) were divided into two groups. One group were OVX, and the other group received sham operation (SHAM), and received either control diet (20% casein) or a red-yeast-rice powder supplemented diet (0.1%) for 9 weeks. And then each rat group was further divided into control diet (casein 20%) and red-yeast-rice powder supplemented (0.1%) diet group. 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 5, 9 weeks after feeding. The serum and urine concentrations of Ca and P were determined. Bone formation was measured by serum osteocalcin and alkaline phosphatase (ALP) concentrations. And bone resorption rate was measured by deoxypyridinoline (DPD) crosslinks immunoassay and corrected for creatinine. Serum osteocalcin, growth hormone, IGF-1 and calcitonin were analyzed using radioimmunoassay kits. Urinary Ca and P excretion were not significantly different among the groups. Within the OVX group, the red-yeast-rice group had a lower crosslinks value than the casein group. Therefore the red-yeast-rice supplemented groups had a lower bone resorption ratio than the casein group in the ovariectomized rats. And, the red-yeast-rice group had significantly higher IGF-1 hormone than casein group in ovariectomized rats. The red-yeast-rice group had higher spine bone mineral content than those of control group within the OVX groups. This study was an important first step in establishing that the observed beneficial effects of red-yeast-rice on bone, and this study also established the need for a study on the long-term effect of this supplement in a human. (*Korean J Nutrition* 37(6): 423 ~ 430, 2004)

KEY WORDS : red-yeast-rice, bone resorption, bone mineral density, ovariectomized rat.

서 론

우리 나라의 평균 수명은 점점 증가하여 2000년 남자 72.1세 여자 79.5세로 보고되었고, 2010년에는 남자 75.5세 여자 82.2세로 예측되고 있다.¹⁾ 따라서 노인인구의 증

가로 골다공증의 유병율도 선진국과 같이 점점 증가하여 농촌의 50세 이상의 여성에서 86.4%가 골감소증 또는 골다공증으로 분류되었고,²⁾ 60세 이상 남자 노인의 85.5%, 여자 노인의 91.7%는 골감소증 또는 골다공증으로 약 10% 정도만이 정상적인 골밀도를 유지하고 있다고 보고 했다.³⁾ 2001년의 국민건강·영양조사의 결과를 보면 칼슘의 섭취량은 국민 평균 섭취량이 497 mg으로 한국인 영양권장량의 70% 수준으로 권장량의 75% 미만 인구가 50% 이상인 것으로⁴⁾ 보고하여 최근 30여년간 가장 낮게 섭취하는 영양소 중 하나로 변함이 없고 동물성 단백질의 섭취비율은 매우 증가하였다. 칼슘섭취는 낮고 동물성 단백질의 섭취는 높아 노중 칼슘을 증가시켜 골다공증의 위

접수일 : 2004년 4월 23일

채택일 : 2004년 7월 16일

*This work supported by Ministry of Science and Technology (MOST) and the Korea Science and Engineering Foundation (KOSEF) through the Center for Traditional Microorganism Resources (TMR) at Keimyung University.

§To whom correspondence should be addressed.

험을 높이므로⁵⁾ 우리나라 국민의 현재 식생활은 골다공증의 위험에 노출되어 있다고 볼 수 있다. 그리고 최근 연구에서 아시아인의 동물성 단백질의 지나친 섭취와 생활양식의 서구화로 아시아에서 골반 골절이 현저하게 증가할 것으로 전망하였다.⁶⁾ 역학 조사에서 아시아 여성은 서구의 여성보다 칼슘 섭취가 낮으나 골다공증의 유병율이 낮은데,⁷⁾ 그 이유 중에 하나로 아시아 여성은 서구 여성에 비하여 식물성 단백질의 섭취가 높기 때문으로 추론한다. 특히 폐경 여성은 골다공증의 위험에 높게 노출되어 있는데 이들 질환의 위험을 낮추기 위하여 폐경 여성에게 에스트로겐 투여의 호르몬 치료법을 이용하여 왔으나 암 발생의 위험과 여러가지 부작용 때문에 기피하고 있다.⁸⁾ 따라서 부작용이 적은 식품의 기능성 물질 및 생리활성 물질에 대한 관심이 더욱 높아지고 있다. 홍국은 오래동안 중국에서 이용되어 왔으며 혈중 지질 개선과 항균 작용이 밝혀지면서 새롭게 각광받고 있다. 중국이나 일본에서는 홍국의 일상적 평균 섭취량은 14~55 g/d이며,⁹⁾ 여러 임상연구에서 홍국의 콜레스테롤 저하 효과에 대한 연구 보고가 많다.^{10,12,13)} 홍국의 약리 효과 중 순환기계와 관련된 성분으로 Endo 등¹¹⁾은 1979년에 Monacolin K가 강력한 cholesterol 생합성 저해물질, monacolin K를 생산하는 것을 발견하였으며, monacolin K와 유사한 구조를 갖는 다른 활성 물질도 같은 균주에서 분리하였다. 이들은 β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase)를 길항 저해하는 것이 특징이다.¹¹⁾ 따라서 최근 홍국이 혈중 지질에 미치는 효과에 대하여 사람과 동물을 대상으로 연구한 연구 등이 활발히 진행되고 있다.^{12,13)} 그리고 최근에 HMG-CoA reductase를 저해하여 콜레스테롤의 농도를 낮추는 statins는 골형성을 촉진시키고 골절율을 낮추었다고 보고했다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 그리고 이 statins는 생쥐 (mouse)에서 mevalonate pathway를 저해하고 골형성을 촉진하여 몇 주의 약 치료로 골절율을 낮추었다고 보고했다.¹⁸⁾ 또한 골다공증 치료제나 골감소 방지제로 이용되는 bisphosphonates를 복용하는 경우 콜레스테롤 합성의 중간 물질을 조절하는 것으로 나타났다. 또한 최근 보고¹²⁾에 의하면 홍국은 saponin과 isoflavones 등도 함유한다고 알려져 있다. Isoflavones은 항에스테로겐 혹은 약한 에스트로겐의 성질을 가지며 이러한 성질때문에 에스테로겐의 수준이 감소된 폐경기 이후의 여성에게 isoflavones은 골소실을 지연시킨다고 보고되었다.¹⁹⁾ 홍국은 isoflavones를 함유하고 있을 뿐 아니라 홍국의 monacolin K가 HMG-CoA reductase를 저해하여 골 형성을 촉진시킨다고 하여 골 대사에 유익하리라는 추론이 가능하나 홍국이 골밀도에

미치는 영향에 대한 연구보고는 아직없다. 따라서 홍국이 난소절제쥐에서 골밀도에 미치는 효과를 알아보고자 한다.

연구방법

1. 실험 동물 및 실험 식이

Sprague-Dawley 암컷 쥐 (9 week old)를 주식회사 대한동물사육센터로부터 분양받아 1주일간의 적응 기간동안 고행사료 (rat chow, 삼양사)로 사육한 후 난소절제수술을 하였고 대조군은 Sham 수술을 하여 난피법을 이용하여 각 군당 12마리씩 4군으로 나누어 9주간 실험 식이를 공급하였다. 실험동물은 9주간 stainless steel wire cage에서 한 마리씩 분리 사육하였으며, 사육실의 온도는 23 ± 2 °C, 습도는 $60 \pm 5\%$ 로 유지하고 매일 광 주기, 암 주기를 12시간이 되도록 조절하였다. 실험 기간동안 식이와 물은 자유롭게 섭취케 하였으며 물은 모두 2차 이온교환수를 사용하였다. 실험군의 분류는 Sham군에서 대조군과 홍국첨가군 (0.1%), OVX에서 대조군과 홍국첨가군 (0.1%)으로 하여 식이의 기본조성은 AIN-93M에 기준하여 조제하였다.²⁰⁾

홍국의 첨가량은 혈중 지질을 낮추었다는 선행연구에^{16,21)} 근거하여 홍국 분말을 0.1%로 첨가하였다. 실험식이의 조성은 Table 1과 같다.

2. 실험 분석

1) 식이 섭취량 및 체중 측정

실험 기간동안 식이 섭취량은 이들에 한번씩, 체중은 1주일에 한번씩 일정한 시간에 측정하였다.

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

Ingredients	Casein	Red-yeast-rice supplementation
Casein ¹⁾	200	200
Corn starch	520	519
Sucrose	100	100
Soybean oil	70	70
Cellulose	50	50
Min-mix ²⁾	35	35
Vit-mix ³⁾	10	10
L-cystine	3	3
Choline	2.5	2.5
Tert-butyl hydroquinone	0.014	0.014
Cholesterol	10.0	10.0
Red-yeast-rice power	-	1.0

1) Casein high protein (total protein 85%), Teklad Test Diets, Madison, Wisconsin, USA, 2) AIN-93M-MX, Teklad Test Diets, Madison, Wisconsin, USA, 3) AIN-93M-VM, Teklad Test Diets, Madison, Wisconsin, USA.

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

식이 효율 =
{9주간의 체중 증가량 (g) / 9주간의 식이 섭취량 (g)}

2) 시료 수집

9주간 사육 후 희생 전 24시간동안 절식시킨 후 요를 수집하였고, ether 마취 하에 복부를 절개하여 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 상온에서 30분간 방치한 후 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 -70℃에서 냉동 보관하였다.

3) 골대사의 생화학적 지표 및 호르몬 분석

골형성 측정을 위하여 혈청 alkaline phosphatase (ALP)의 측정은 TECHNICON CHEN™ system 이용하여 automatic chemical analyzer로 측정하였고, osteocalcin의 측정은 one-step solid phase를 이용한 competitive radioimmuno-assay에 기초한 OSTEOCALCIN MYRIA Kit (Techno genetics, Italia)으로 radioimmuno-assay를 한 후, gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정하였다. 골흡수 지표로 요중 deoxypyridinoline, creatinine, crosslinks value의 측정은 collagen crosslinks™ Kit (Metra Biosystems Inc. U.S.A.)을 이용하여 ELISA (enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석하였다. 골 대사와 관련된 호르몬의 측정으로 calcitonin, parathyroid hormone (PTH), growth hormone 분석은 시험관에 부착된 항체와 125-I으로 표식된 항체를 함께 사용하여 항원과 항체간에 'sandwich'를 형성하게 하는 non-competitive radioimmuno-assay를 이용한 DSL-7700 ACTIVETM Calcitonin IRMA Kit (Diagnostic System Laboratories Inc., USA), DSL-8000 ACTIVETM Intact PTH IRMA Kit (Diagnostic System Laboratories Inc., USA), hGH IRMA CT Kit (Radim,

Italia), IGF-1 Kit (Active non-extraction IGF-1 IRMA DSL-2800, USA)으로 radioimmuno-assay를 한 후, gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정하였다.

4) 골밀도 측정

실험 동물은 사육 5주와 9주째에 마취제 ketamine hydrochloride (유한양행, 50 mg/ml)를 사용하여 체중 1 kg당 75 mg의 용량으로 근육 주사한 후 척추와 대퇴골의 골밀도를 GE, LUNAR (Madison, WI, USA)사의 양에너지 방사선 골밀도 측정기 (dual energy x-ray absorptiometry, DEXA)인 작은 동물 전용 골밀도 측정기 FIXImus를 이용하여 척추 (spine)와 대퇴골 (femur)의 골밀도 (bone mineral density, BMD)와 골무기질 함량 (bone mineral content, BMC)을 측정하였다.

3. 통계 분석

실험 결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준오차를 계산하였고, 실험군 간의 비교는 One way ANOVA 분석을 이용하였으며, Duncan's multiple range test에 의해 유의수준 p < 0.05에서 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중과 식이 섭취량

실험 기간 9주동안 식이 섭취량은 각 군간에 유의적인 차이가 없었으나 체중의 증가는 OVX군이 유의적으로 증가하였다 (Table 2). 이것은 난소절제 흰쥐에서 난소절제하지 않은 쥐에 비하여 체중이 증가하였다는 선행연구²²⁾와 일치하며 OVX군내에서 흉골 첨가에 의한 체중의 차이는

Table 2. Body weight, mean food intake, weight gain and FER in sham and ovariectomized rats

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
Initial weight (g)	Control (n = 12)	210.50 ± 7.40 ^{a1)}	210.40 ± 7.20 ^a
	Redrice (n = 12)	211.78 ± 6.40 ^a	210.12 ± 10.45 ^a
Final weight (g)	Control (n = 12)	285.67 ± 19.61 ^a	321.30 ± 26.52 ^{b2)}
	Redrice (n = 12)	280.00 ± 13.00 ^a	332.83 ± 7.52 ^b
Mean intake (g/d)	Control (n = 12)	15.71 ± 1.20 ^a	16.62 ± 1.27 ^a
	Redrice (n = 12)	15.73 ± 1.26 ^a	17.11 ± 0.78 ^a
Weight gain (g)	Control (n = 12)	75.17 ± 16.67 ^a	110.90 ± 23.90 ^b
	Redrice (n = 12)	68.21 ± 13.47 ^a	118.33 ± 6.78 ^b
FER	Control (n = 12)	0.082 ± 0.015 ^a	0.118 ± 0.022 ^a
	Redrice (n = 12)	0.076 ± 0.011 ^a	0.121 ± 0.008 ^a

1) Mean ± SD.

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

없었다.

2. 혈중 칼슘과 인

혈청 칼슘과 인의 농도에 대한 결과를 Table 3에 제시하였다. 혈청 칼슘은 Sham군 내에서 대조군은 11.58 mg/dL, 홍국첨가군은 11.62 mg/dL로 실험 군간에 유의적인 차이가 없었고, OVX 군에서도 대조군은 11.25 mg/dL, 홍국첨가군은 11.46 mg/dL로 두 군간에 유의적인 차이가 없었다. 혈청 인의 농도도 Sham의 casein군은 8.06 mg/dL, 홍국군은 8.26 mg/dL, OVX군 내에서 casein은 8.90 mg/dL, 홍국군은 9.86 mg/dL로 두 군간에 차이가 없었다. 쥐를 대상으로 본 연구와 동일한 방법으로 분석한 혈중 칼슘과 인의 농도를 각각 비교해 보면 9~12 mg/dL와 6~11 mg/dL와²³⁾ 8~13 mg/dL와 13.7~9 mg/dL로²⁴⁾ 본 연구의 결과와 유사하였다. 이 결과는 홍국의 첨가가 혈중 칼슘 농도와 인의 농도에 미치는 연구 결과가 없어 직접 비교는 어려우나 난소 절제쥐에서 이소플라본을 첨가한 경우 혈중 칼슘 농도와 인의 농도는 식이에 의한 영향을 받지 않았다고 하여²⁵⁾ 혈중 칼슘이나 인은 항상성을 잘 유지하고 있음을 볼 수 있었다.

Table 3. Ca and P concentration in serum of sham and ovariectomized rats

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
Ca (mg/dl)	Control (n = 12)	11.58 ± 0.25	11.25 ± 0.64
	Redrice (n = 12)	11.62 ± 0.25	11.46 ± 0.55
P (mg/dl)	Control (n = 12)	8.06 ± 0.66	8.90 ± 1.87
	Redrice (n = 12)	8.26 ± 1.50	9.86 ± 2.04

1) Mean ± SD.

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

Table 4. Urinary excretion of Ca and P in experimental animals

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
Ca/day	Control (n = 12)	0.59 ± 0.25 ¹⁾	0.63 ± 0.17
	Redrice (n = 12)	0.34 ± 0.15	0.45 ± 0.10
P/day	Control (n = 12)	16.07 ± 1.96	18.95 ± 5.48
	Redrice (n = 12)	13.96 ± 2.86	19.37 ± 5.34

1) Mean ± SD

2) Values are not significantly different at $p < 0.05$

Table 5. Value of osteocalcin and alkaline phosphatase (ALP) in sham and ovariectomized rats

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
ALP (U/l)	Control (n = 12)	66.00 ± 15.19	86.50 ± 15.1
	Redrice (n = 12)	63.20 ± 9.33	93.66 ± 14.01
Osteocalcin (ng/ml)	Control (n = 12)	3.834 ± 0.83	5.060 ± 1.78
	Redrice (n = 12)	3.414 ± 0.35	3.599 ± 0.71

1) Mean ± SD

2) Values are not significantly different at $p < 0.05$

3. 뇨중 칼슘과 인의 배설량

뇨중 칼슘 배설량과 인의 배설량에 대한 결과는 Table 4에 나타내었다. 뇨중 칼슘 배설량은 실험군 간에 유의적인 차이는 없었는데 Sham군의 대조군은 0.59 mg/dL, 홍국첨가군은 0.34 mg/dL로 나타났고 OVX군에서는 대조군이 0.63 mg/dL로 홍국첨가군이 0.45 mg/dL로 나타났다. 이것은 성장기 암컷의 경우 0.22~0.26 mg/dL로 보고한 것에 비하면 뇨중 칼슘 배설량이 다소 높았고 같은 식이의 비교 시 난소절제군에서 높은 경향을 보였고 또한 홍국의 첨가는 뇨중 칼슘 배설량을 낮추는 경향을 보였다 ($p < 0.1$). 뇨중 칼슘 배설은 OVX군이 Sham군에 비하여 높은 경향을 보였고, OVX군이나 Sham군에서 홍국의 첨가시 뇨중 칼슘 배설량이 감소하는 경향을 보여 장기적인 홍국의 섭취는 칼슘 보유에 유리하다고 사료된다.

4. 골형성 지표에 미치는 영향

혈청 alkaline phosphatase (ALP)와 osteocalcin은 골형성 지표로서 대사성 골질환 및 골재형성 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.²⁶⁾ 본 연구의 난소절제쥐에서 ALP의 농도는 난소절제하지 않은 경우에 비하여 높게 나타났고, 홍국의 첨가에 의하여 차이는 볼 수 없었다. 혈중 osteocalcin 농도는 3.4~12.0 ng/ml로 나타났다. 이것은 골형성이 왕성한 성장기 암컷의 4주령의 경우 30.8 ng/mL로²⁷⁾ 보고된 값보다 낮고, 5개월 된 흰쥐의 혈중 osteocalcin 농도가 약 17 ng/ml²⁸⁾로 보고된 것과는 약간 낮은 값이다. 본 연구에서 혈중 osteocalcin 농도는 유의적인 차이는 없었으나 OVX군의 경우 Sham군보다 혈중 농도가 높았고, 홍국 첨가 시 Sham군이나 OVX군에서 모두 낮아지는 경향을 보였는데, 이것은 OVX군내에서 더욱 현저하였다. 이런 현상이 장기간 계속될 경우 골보호에 유리하리라 사료된다. 폐경기에 ALP나 osteocalcin의 농도가 높은것은 골 교체가 빠름을 의미하는데²⁹⁾ 난소절제쥐에서 Sham군보다 ALP나 osteocalcin의 농도가 높은 경향을 보여 골교체가 빠름

을 볼 수 있었다. 이 결과는 선행연구의 난소절제 시 ALP의 농도가 증가하는 경향을 보였다는 결과와³⁰⁾ 일치하였다 (Table 5).

5. 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 뇨로 배설되게 된다. 따라서 소변 내의 이러한 crosslink를 측정하는 것은 골 흡수의 특이적인 지표로 보고되고 있다. 즉 골 교체율이 빠를 때 요중 pyridinoline, deoxypyridinoline, crosslinks value가 높아지게 된다. 뇨중 pyridinoline, deoxypyridinoline, crosslinks value는 뇨중 creatinine에 대한 비로 나타내며 이 지표는 매우 정확하다고 보고되고 있다.³¹⁾

이 연구에서 crosslinks value는 Sham군이 149.9~166.4 (nM/mM), OVX군이 280.4~202.6 (nM/mM)로서 이 결과는 성장기 수컷 쥐를 대상으로 crosslink value가 83~138 (nM/mM)라고 보고한 것과 비교하면 높은 편이었고, 난소절제 한 쥐의 경우 250~500 (nM/mM)라고 보고한 것과³²⁾ 비교하면 약간 낮거나 비슷하였다 (Table 6). 난소호르몬의 결핍은 골흡수를 촉진시킨다고 알려져 있는데 OVX군의 crosslink value가 Sham군에 비하여 현저히 높아 난소절제군의 골 흡수율이 높음을 확인하였다. 그리고 난소절제군 내에서 홍국의 첨가가 crosslinks value에 미치는 효과를 보았을 때 대조군과 홍국 첨가군의 cross-

links value가 각각 280.4 (nM/mM), 202.6 (nM/mM)로 나타나 홍국 첨가 시 crosslinks value가 유의적으로 낮아 난소호르몬 결핍의 폐경 모델에서 홍국은 골 흡수율을 낮추는 것으로 나타났다.

6. 골 형성과 골 흡수에 관련된 호르몬에 미치는 영향

골 형성은 여러 가지 호르몬에 의하여 영향을 받는데 골 형성에 유리하게 작용하는 것으로 알려진 growth hormone 과 IGF-1에 대하여 홍국이 미치는 효과를 Table 7에 나타내었다. 혈장 IGF-1은 골아세포의 분열 및 골기질 형성을 촉진시킨다고 알려져 있는데³⁴⁾ 홍국은 난소절제쥐에서 혈청 IGF-1 농도를 유의적으로 증가시켰다. 홍국의 어떤 성분이 IGF-1 호르몬에 영향을 미치는지 더욱 많은 연구가 요망되며, 최근 대두 단백질 섭취 시에도 혈청 IGF-1 농도를 유의적으로 증가시켰다는 보고가 있어³⁵⁾ 대두와 홍국의 isoflavones가 혈청 IGF-1 농도를 높일지도 모른다고 추론되나 더욱 연구가 필요하다.

골 흡수를 촉진시키는 parathyroid hormone (PTH)의 농도는 OVX군과 Sham군간에 유의적인 차이가 없었다. 일반적으로 에스트로겐 부족 시 부갑상선 기능 항진을 시켜 폐경으로 인한 골 교체율의 증가가 있다고 제안하였는데 난소절제군에서 PTH의 상승은 볼 수 없었다 (Table 8). 그리고 혈장의 calcium ion의 항상성 유지에 민감하게 반응하며 뇨 hydroxyproline의 배설을 감소시키는 역할을 한다고 알려진³³⁾ calcitonine 농도도 OVX와 Sham군간에 또는 홍국의 첨가에 따른 차이는 볼 수 없었다.

Table 6. Crosslink value of sham and ovariectomized rats

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
Creatinine (nM)	Control (n = 12)	4.21 ± 2.62 ^{a1)}	3.83 ± 0.37 ^a
	Redrice (n = 12)	5.42 ± 1.47 ^a	6.22 ± 2.04 ^a
DPD* (mM)	Control (n = 12)	646.2 ± 450.7 ^a	1080.3 ± 303.7 ^a
	Redrice (n = 12)	888.8 ± 236.3 ^a	1246.5 ± 300.9 ^a
Crosslink value (nM/mM)	Control (n = 12)	149.9 ± 55.6 ^a	280.4 ± 71.9 ^{b2)}
	Redrice (n = 12)	166.4 ± 24.7 ^a	202.6 ± 62.1 ^c

1) Mean ± SD

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

*: DPD: deoxypyridinoline

Table 7. Bone formation related hormones in sham and ovariectomized rats

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
IGF-1 (ng/ml)	Control (n = 12)	318.04 ± 62.44 ^{a1)}	254.38 ± 43.25 ^{b2)}
	Redrice (n = 12)	345.40 ± 82.55 ^a	393.37 ± 126.04 ^c
Growth hormone (ng/ml)	Control (n = 12)	0.220 ± 0.043 ^a	0.259 ± 0.186 ^a
	Redrice (n = 12)	0.232 ± 0.008 ^a	0.246 ± 0.091 ^a

1) Mean ± SD

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

7. 골밀도와 골함량에 미치는 영향

홍국의 기능 중 혈중 콜레스테롤을 낮추는데 이 콜레스테롤을 낮추는 기전이 골형성에 유리하고 또한 홍국의 isoflavones가 함유되어 있는데 이 isoflavones는 약한 estrogenic한 역할을 하여 여성 호르몬 결핍상태에서 골보호 효과가 있다고 여러 연구에서 보고되고 있으므로²⁰⁻³²⁾ isoflavones를 함유하는 홍국이 난소절제쥐에서 골밀도에 미치는 효과를 보기위하여 홍국의 섭취 후 5주와 9주째에 척추와 대퇴부의 골밀도와 골함량을 측정하였다.

1) 5주째 골밀도와 골무기질 함량

(1) 척추 골밀도와 골무기질 함량

실험식이 섭취 5주째의 척추 골밀도와 골무기질 함량을 Table 9에 나타내었다. 5주째 척추 골밀도는 OVX군의 골밀도가 Sham군에 비하여 유의적으로 낮아 난소호르몬 결핍에 의한 골감소의 효과를 확인하였다. 난소절제군내에서 홍국의 섭취는 골밀도에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 척추 골무기질 함량에서도 OVX군과 Sham군간에 유의적인 차이는 없었으나 OVX군이 낮은 경향을 보였으며, OVX군 내에서 홍국을 섭취한 군이 대조군보다 골함량이 높은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다.

(2) 대퇴부 골밀도와 골무기질 함량

실험식이 섭취 후 5주째 대퇴 골밀도와 골무기질 함량을 Table 9에 제시하였다. 5주째 대퇴 골밀도와 골함량은

Sham군에 비하여 난소절제군에서 낮았고, 홍국의 첨가에 따른 효과는 Sham군과 OVX군 모두에서 유의적인 차이가 없었다.

2) 9주째 골밀도와 골무기질 함량

(1) 척추 골밀도와 골무기질 함량

9주째 척추 골밀도를 Sham군내에서 비교하면 대조군 0.1620 g/cm², 홍국군 0.1587 g/cm²로 각각 나타났다 (Table 10). OVX군내에서 대조군은 0.1448 g/cm²로, 홍국군은 0.1458 g/cm²로 나타나 Sham군에서나 OVX군내에서 홍국의 첨가가 척추 골밀도에 미치는 영향은 유의적이지 않았다. 그러나 난소절제군은 난소절제하지 않은 군에 비하여 골밀도가 유의적으로 낮아서 난소절제에 따른 성호르몬의 결핍으로 인한 골 감소를 볼 수 있었다.

척추의 골함량에 대하여 홍국이 미치는 효과를 보면, Sham군내에서는 대조군과 홍국의 첨가군 간에 차이가 없었다. 그러나 난소절제군내에서 홍국의 첨가시 5주째에는 골함량이 유의적 높게 나타났고, 9주째에는 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 따라서 폐경 후 경과 기간에 따라 다르게 반응하는지와 경과기간이 길 때 현재의 첨가량 보다 더 많이 필요한지 장기간의 다양한 홍국의 섭취량에 따른 연구가 요망된다. 본 연구의 결과를 볼 때 난소호르몬 결핍상태에서 홍국의 섭취는 척추의 골함량의 유지에 매우 유익함을 볼 수 있었다.

Table 8. Calcitonin and PTH in sham and ovariectomized rats

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
Calcitonin (pg/ml)	Control (n = 12)	3.033 ± 1.18	4.170 ± 1.78
	Redrice (n = 12)	2.697 ± 1.53	4.252 ± 2.36
PTH (pg/ml)	Control (n = 12)	20.30 ± 7.84	14.35 ± 5.67
	Redrice (n = 12)	29.75 ± 15.49	21.47 ± 14.22

1) Mean ± SD

2) Values are not significantly different at p < 0.05

Table 9. BMD and BMC of spine and femur in sham and ovariectomized rats at 5 weeks

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
Spine BMD (g/cm ²)	Control (n = 12)	0.1513 ± 0.0059 ^{a1)}	0.1373 ± 0.0089 ^{b2)}
	Redrice (n = 12)	0.1468 ± 0.0065 ^a	0.1373 ± 0.0056 ^b
Spine BMC (g)	Control (n = 12)	0.5001 ± 0.0347 ^a	0.4586 ± 0.0413 ^a
	Redrice (n = 12)	0.4918 ± 0.0352 ^a	0.4867 ± 0.0563 ^a
Femur BMD (g/cm ²)	Control (n = 12)	0.1975 ± 0.0139 ^a	0.1826 ± 0.0062 ^b
	Redrice (n = 12)	0.1910 ± 0.0066 ^a	0.1839 ± 0.0025 ^b
Femur BMC (g)	Control (n = 12)	0.3646 ± 0.0331 ^a	0.3572 ± 0.0197 ^a
	Redrice (n = 12)	0.3698 ± 0.0093 ^a	0.3585 ± 0.0105 ^a

1) Mean ± SD

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

*: BMD: bone mineral density, BMC: bone mineral content

Table 10. BMD and BMC of spine and femur in sham and ovariectomized rats at 9 weeks

		Sham (n = 24)	Ovx (n = 24)
Spine BMD (g/cm ²)	Control (n = 12)	0.1620 ± 0.0050 ^{a1)}	0.1448 ± 0.0041 ^{b2)}
	Redrice (n = 12)	0.1587 ± 0.0104 ^a	0.1458 ± 0.0059 ^b
Spine BMC (g)	Control (n = 12)	0.5443 ± 0.0318 ^a	0.4482 ± 0.0170 ^b
	Redrice (n = 12)	0.5324 ± 0.0422 ^a	0.5233 ± 0.0178 ^a
Femur BMD (g/cm ²)	Control (n = 12)	0.2143 ± 0.0146 ^a	0.2037 ± 0.0091 ^a
	Redrice (n = 12)	0.2101 ± 0.0068 ^a	0.2066 ± 0.0033 ^a
Femur BMC (g)	Control (n = 12)	0.4123 ± 0.0356 ^a	0.4044 ± 0.0245 ^a
	Redrice (n = 12)	0.4091 ± 0.0194 ^a	0.4150 ± 0.0091 ^a

1) Mean ± SD

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

(2) 대퇴 골밀도, 골무기질 함량

실험 9주째 대퇴 골밀도는 (Table 10) Sham군보다 난소 절제군에서 다소 낮은 경향을 보였다. 그리고 홍국의 첨가에 따른 효과는 두 군 모두에서 볼 수 없었다. 이 연구는 홍국이 골밀도에 미치는 효과에 대한 처음 보고여서 선행연구와 비교할 수 없다. 그러나 이 연구 결과는 골격 부위별로 영향이 다르게 나타나는 것으로 보인다. 즉 홍국이 골밀도에 미치는 효과가 척추에는 현격한 반면에 대퇴골에서는 현저하게 나타나지 않았다. 이는 대퇴골보다 대사적 활성이 높은 해면골을 많이 함유하고 있는 척추에서 더 빨리 식이에 의한 효과가 나타난 것으로 보인다. 해면골은 피질골에 비해 대사속도가 빠르고 대사적으로 쉽게 영향을 받는데, 척추는 피질골보다 해면골의 함유비율이 높은 반면, 대퇴골은 해면골보다 피질골의 함유비율이 3배정도 많다.³⁶⁾ 이러한 이유로 해면골이 많은 척추에서는 대퇴골 보다 식이에 의한 영향이 더 빨리 나타날 수 있었던 것으로 사료된다. 이런 결과는 선행연구에서³⁷⁾ 이소플라본은 척추 골밀도에는 영향을 미쳤으나 대퇴골경부 (femoral neck)와 대퇴골전자 (trochanter) 에는 영향을 미치지 않았다는 것과 일치하였다.

위의 결과를 종합해 볼 때 난소절제쥐에서 홍국의 섭취는 척추의 골함량을 유의적으로 높였고, crosslinks value를 유의적으로 낮추어 골밀도에 유리한 것으로 사료되나 이 연구가 처음이므로 다양한 홍국의 양으로 더 많은 연구가 요망되며, 그리고 이 결과는 홍국의 isoflavones 때문인지 아니면 statins처럼 monacolin K 성분 때문인지 더욱 연구가 요망된다. 그리고 칼슘의 섭취가 매우 낮음에도 불구하고 아시아 여성은 세계에서 낮은 골절율을 나타내었다고 보고하였는데³⁸⁾ 중국 사람들의 콩의 섭취와 아울러 홍국의 섭취도 많은 민족이므로 이들과의 상관성에 대하여 더욱 연구가 요망된다. 그리고 홍국의 섭취가 골밀도와 관련된 실험적 연구 결과 보고가 이것이 처음이어서 다른 연구와 고찰을 할 수 없었다.

요약 및 결론

난소절제쥐에서 홍국의 섭취가 골밀도와 골함량에 미치는 효과를 알아 본 결과는 아래와 같다.

- 1) 골 형성 지표인 osteocalcin은 난소절제쥐에서 홍국 섭취 시 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다.
- 2) 골 흡수 지표인 crosslink value는 Sham군에 비하여 난소절제군에서 유의적으로 높았고 난소절제군내에서 홍국 첨가군의 crosslinks value가 유의적으로 낮았다.
- 3) 혈중 PTH나 calcitonin은 홍국의 첨가에 따라 유의적인 차이가 없었다.
- 4) 난소절제군에서 홍국 첨가군의 IGF-1 농도는 유의적으로 높았다.
- 5) 난소절제군에서 홍국첨가군의 척추 골함량은 유의적으로 높았다.

결론적으로 난소 절제 쥐에서 홍국 섭취군은 골흡수 지표를 유의적으로 낮았고, IGF-1이 유의적으로 높았으며, 척추의 골함량이 유의적으로 높았다. 따라서 홍국의 섭취는 난소절제쥐에서 골밀도 감소를 지연시키는데 유리하다고 사료되며 그 기전에 대하여 어떤 성분이 골 보호 효과가 있는지 더욱 연구가 요망된다. 또한 섭취량에 따라 다르게 반응할 수 있으므로 섭취량에 따른 연구도 요망된다.

Literature cited

- 1) Population Projections for Korea. 2000-2050, Korean National Statistical Office, Republic of Korea, 2001
- 2) Kim KR, Kim KH, Lee EK, Lee SS. A study on the factors affecting bone mineral density in adult women-based on the mothers of elementary school students. *Korean J Nutr* 33(3): 241-249, 2000
- 3) Lee HJ, Lee HO. A study on the bone mineral density and related factors in Korean postmenopausal women. *Korean J Nutr*

- 32(2): 197-203, 1999
- 4) Korean Health Industry Development Institute/Ministry of Health and Welfare. 2001 National Health and Nutrition Survey Report, 2003
 - 5) Sellmeyer DE, Stone KL, Sebastian A, Cummings SR. A high ratio of dietary animal to vegetable protein increases the rate of bone loss and the risk of fracture in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 73(1): 118-122, 2001
 - 6) Anderson JJB. Plant-based diets and bone health: nutritional implications. *Am J Clin Nutr* 70: 539s-542s, 1999
 - 7) Cooper C, Campion G, Melton LJ. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporosis Int* 2: 285-289, 1992
 - 8) Lissin LW, Cooke JP. Phytoestrogens and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol* 35: 1403-1410, 2000
 - 9) Mei F. Red yeast flavonoid duck. In: Fang Me's illustrated cookbook of regional Chinese cuisine. Guangxi, China: Guangxi National Press, pp.177-188, 1990
 - 10) Shepherd J, Cobbe SM, Ford I. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 333: 1301-1307, 1995
 - 11) Endo A. Monacolin, a new hypercholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase. *J Antibiotic* 33: 334-339, 1980
 - 12) Heber D, Yip L, Ashley JM, Elashoff DA, Elashoff RM, Go VLW. Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Clin Nutr* 69(2): 231-236, 1999
 - 13) Yu TS, Kim HH, Yoon CG. Hepatic oxygen free radical metabolizing enzyme activities and serum lipid profile in rats fed diet supplemented with *Monascus Pigment*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(2): 244-249, 2003
 - 14) Meier CR, Schlienger RG, Kraenzlin ME, Schlegel B, Jick H. HMG-CoA reductase inhibitors and the risk of fractures. *JAMA* 283: 3205-3210, 2000
 - 15) Wang PS, Solomon DH, Mogun H, Avorn J. HMG-CoA reductase inhibitors and the risk of hip fractures in elderly patients. *JAMA* 283: 3211-3216, 2000
 - 16) Chan KS, Andrade SE, Boles M. Inhibitors of hydroxymethylglutarylcoenzyme A reductase and the risk of fractures among older women. *Lancet* 355: 2185-2188, 2000
 - 17) Edwards CH, Hart DJ, Spector TD. Plasma statins and increased bone mineral density in postmenopausal women. *Lancet* 355: 2218-2219, 2000
 - 18) Mundy G, Garrent R, Harris S. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 286: 1946-1954, 1999
 - 19) Steinberg FM, Guthrie NL, Villablanca AC, Kumar K, Murray MJ. Soy protein with isoflavones has favorable effects on endothelial function that are independent of lipid and antioxidant effects in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 78: 123-130, 2003
 - 20) 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
 - 21) Rhyu MR, Kim EY, Han JS. Effect of *Monascus Koji* on blood pressure and serum cholesterol composition of SHR by Chronic Dietary administration. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 32(3): 464-468, 2003
 - 22) Kim KH, Choi MJ, Lee IK. The effect of dietary calcium level on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized female rats. *Korean J Nutr* 29(6): 590-596, 1996
 - 23) Choi MJ, Jung SH. The effect of dietary protein source and sulfur amino acid content on bone metabolism in growing rats. *Korean J Nutr* 37(2): 100-107, 2004
 - 24) Anderson JJB, Thomsen K, Christiansen C, Johansen JS. High protein meals, insulin hormones and urinary calcium excretion in human subjects. *des International Symposium on Osteoporosis Viborg Denmark*, 1987
 - 25) Arjmandi BA, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, Kukreja SC. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 126: 161-167, 1996
 - 26) 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
 - 27) Makela S, Davis VL, Tally WC. Dietary estrogens act through estrogen receptor mediated processes and show no anti-estrogenicity in cultured breast cancer cells. *Environ Health Perspect* 102: 572-578, 1994
 - 28) Katz I, Li M, Joffe I, Stein B, Jacobs T, Liang XG, Ke HZ, Jee W, Epstein S. Influence of age on cyclosporin A-induced alterations in bone mineral metabolism in the rat in vivo. *J Bone Min Res* 9(1): 59-67, 1994
 - 29) Choi MJ, Cho HJ. Effects of soy and isoflavones on bone marks and hormones in growing female rats. *Korean J Nutr* 36(6): 549-558, 2003
 - 30) Choi MJ, Cho HJ. Effect of Sodium chloride supplementation on bone metabolism in rats consuming a low calcium diet. *Korean J Nutr* 29: 1096-1104, 1996
 - 31) Eyre DR. Biochemical Markers of Bone Turnover. In: Favus MJ (ed.). *Primer on the metabolic bone diseases and disorder of mineral metabolism*, 3rd ed., New York: Raven Press, pp.114-118, 1996
 - 32) Picherit C, Coxam V, Bennetau-Pelissero C, Kati-Coulibaly S, Davicco MJ, Lebecque P, Barlet JP. Daidzen is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr* 130(7): 1675-1681, 2000
 - 33) Vaananen HK. Pathogenesis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 49(suppl): s11-s14, 1991
 - 34) Price JS, Oyajobi BO, Russell RGG. The cell biology of bone growth. *Eur J Clin Nutr* 48: s131-s149, 1994.
 - 35) Khalil DA, Lucas EA, Juma S, Smith BJ, Payton ME, Arjmandi BH. Soy protein supplementation increases serum insulin-like growth factor-I in young and old men but does not affect markers of bone metabolism. *J Nutr* 132(9): 2605-2608, 2002
 - 36) Pruitt LA, Jackson RD, Bartels RL, Lehmann HJ. Weight-training effects on bone mineral density in early postmenopausal women. *J Bone Mineral Res* 7: 179-185, 1992
 - 37) 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
 - 38) Xu L, Lu A, Zhad X, Chen X, Cummings SR. Very low rates of hip fracture in Beijing, People's Republic of China the Beijing osteoporosis project. *Am J Epidemiology* 144(9): 901-907, 1996