

난소절제 쥐에서 콩단백질의 섭취가 골밀도와 골무기질 함량에 미치는 영향

최 미 자[§] · 정 지 원

계명대학교 식품영양학과

Effects of Soybean Protein on Bone Mineral Density and Bone Mineral Content in Ovariectomized Rats

Choi, Mi-Ja[§] · Jung, Ji-Won

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

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine whether soybean protein isolate with rich isoflavones which was the same amount as used for earlier study prevents bone induced by ovarian hormone deficiency. Forty female Sprague-Dawley rats (body weight 210 ± 5 g) were divided into two groups, ovariectomy (OVX) and sham surgery groups, which were each randomly divided into two subgroups that were fed casein and soybean protein isolate with rich isoflavones (isoflavones 3.4 mg/g protein). The diets were fed for 9 weeks after operation. The results of this study indicate that body weight gain and food intake were higher in OVX groups than in SHAM groups regardless of diets. Weight gain were higher in soy isolate groups than in casein groups. Serum Ca concentration was lower in OVX rats than in SHAM rats when fed casein diet. Within the OVX groups, serum Ca concentration was higher in rats fed soy isolate diet than in rats fed casein diet. Serum ALP were higher in OVX groups than in SHAM groups. Within the OVX, soy isolate groups, indices of serum osteocalcin, were a trend for greater than those of the OVX casein group. Crosslink value were increased in ovariectomy groups. Spine BMD and femur BMD of ovariectomy groups were significantly lower than SHAM groups. However, soy isolate with rich isoflavones group in ovariectomy groups, spine BMC and femur BMC were significantly increased after 9 weeks. In conclusion, the soy protein with rich isoflavones was beneficial for bone in ovariectomized rats and the results were similar to the findings of our previous study which showed a beneficial effect on bone in growing rats. (*Korean J Nutrition* 38(4) : 279~288, 2005)

KEY WORDS : soy protein, isoflavones, bone mineral density, ovariectomized rats.

서 론

지난 2000년에 우리나라의 총 인구 가운데 65세 이상의 노인인구가 차지하는 비율이 7.2%에 달해 고령화 사회에 들어선 데 이어, 2004년은 노인인구가 8.7%로 추정되고 있으며, 국민의 평균수명도 1999년 남자 71.7세, 여자 79.2세에서 2001년 남자 72.8세, 여자 80.0세로 증가되었다.¹⁾ 따라서 노인기의 삶의 질을 높이기 위하여 질병의 예방관리는 매우 중요하게 대두되었다. 특히 여성의 경우 폐경기에 난소의 기능이 저하되고 에스트로겐 분비가 감소되면서 골

다공증과 심혈관계 질환 등의 만성질환의 발생이 증가하게 된다.²⁾ 폐경 후 여성 건강관리를 위한 방법 중 임상에서 가장 보편적으로 사용되고 있는 방법은 호르몬대치요법 (Hormone replacement therapy: HRT)이다. 그러나 사용되는 호르몬이 자연호르몬이 아닌 화학약물이며, 장기간 호르몬을 투여할 경우 유방암·자궁내막암 발생율이 증가하여 여성들은 호르몬 사용을 기피하고 있다.³⁾ 이에 따라 연구자들은 부작용이 적은 천연물질에 대하여 관심이 높아지고 있으며, Phytoestrogen으로 불리는 이소플라본은 콩과 그 제품에 많이 함유되어 있는 페놀계 화합물로서 구조와 분자량이 여성 호르몬인 에스트로젠 (17β -estradiol)과 유사하여 약한 에스트로겐의 성질을 가진다고 알려져 있다.⁴⁾ 그리고 콩의 이소플라본이 골다공증 치료약물인 ipriflavone과 구조적으로 유사하고 약한 에스트로겐의 활성을 갖는 성질

접수일 : 2005년 1월 17일

채택일 : 2005년 4월 30일

[§]To whom correspondence should be addressed.

로 인해 이소플라본이 풍부한 콩단백질이 골 손실을 막는데 유효하다고 제시되었고,^{5,6)} 에스트로겐의 수준이 감소된 폐경 여성에서 이소플라본이 풍부한 콩단백질을 섭취시킨 경우 골다공증을 예방하였다.^{7,8)} 그러나 아직 콩단백질의 골다공증 예방효과에 대한 기전은 명확히 규명된 바 없으며 이러한 효과가 콩단백질 내 이소플라본에 전적으로 기인한 것 인지도 명확하지 않다.

선행연구를 보면 폐경모델로 난소절제 쥐에서 이소플라본의 섭취가 골대사에 미치는 연구에서 Toda 등⁹⁾은 4주간 이소플라본을 10~11 mg/day를 공급하였을 때 골손실이 예방되어 골대사가 개선되었다고 하였다. 그러나 Deyhim 등¹⁰⁾은 이소플라본을 11.5 mg/day와 23 mg/day을 공급시켰으나 이소플라본 공급 두군 모두에서 골밀도가 유의적이지 않았다고 보고하였다. 그리고 Park¹¹⁾은 난소절제쥐를 대상으로 8주간 이소플라본을 각각 1~2 mg/day, 4~7 mg/day, 15~20 mg/day를 공급한 후 직접 골밀도를 측정했을 때 난소절제군 내에서 대조군보다 이소플라본의 섭취량에 차이없이 이소플라본 섭취군의 골밀도가 유의적으로 높았으나 각 섭취량에 따른 차이는 없었다고 하였다. 또한 비슷한 섭취량의 이소플라본의 섭취시 연구결과가 다르게 나타나 직접 비교하기가 어려운 점은 Toda 등⁹⁾은 생화학적 자료로 골밀도를 추정하였고, Deyhim 등¹⁰⁾은 골강도 측정 후 골밀도를 계산한 것이었고, Park¹¹⁾은 직접 골밀도를 측정하였다. 따라서 골대사의 판단으로 골밀도를 직접 측정하는 것이 가장 정확한 방법임을 고려할 때 직접 골밀도를 측정하여 선행연구와 비교하는 것이 필요하다고 사료된다.

Arjmandi 등⁷⁾의 연구에서는 난소절제 쥐에서 위의 선행연구⁹⁻¹¹⁾에서와 비슷한 양인 이소플라본을 포함하는 콩단백질을 공급하였을 때 이소플라본이 풍부한 콩단백질군이 casein군에 비해 골감소가 완화되었다고 하였다. Stephanie 등¹²⁾도 9~13 mg/day의 이소플라본을 포함하는 콩단백질을 3달 동안 공급하였을 때 대퇴부 골밀도에 유의한 효과를 보였다고 하였다. 그러나 Arjmandi 등⁷⁾은 골밀도 측정없이 계산으로 구하였고 또한 연구에 사용한 콩단백질의 이소플라본 함량에 대한 정보가 없었으며, Stephanie 등¹²⁾은 척추의 골밀도 측정 없이 대퇴부 골밀도를 측정하였고 11개월의 매우 늙은 쥐를 사용하였다. 그리고 본 실험실에서 성장기 암컷 흰쥐에서 선행연구^{7,9-12)}와 동량인 (이소플라본 섭취량 9~12 mg/day) 이소플라본이 풍부한 콩단백질을 섭취시킨 경우,¹³⁾ 골밀도와 골무기질 함량에 유의하였다. 그러나 난소절제쥐에서 이소플라본이 골형성에 영향을 미치는지 골용해에 영향을 미치는지에 대한 연구가 잘되어 있지 않다.

따라서 본 연구는 선행연구에서¹³⁾ 성장기 쥐에서 골대사에 유의한 효과를 나타낸 이소플라본의 양을 포함하는 콩단백질이 난소절제 쥐에서도 그 효과가 나타나는지 골밀도 측정하고 골형성 지표와 골용해 지표를 측정하여 이소플라본이 골형성에 영향을 미치는지 골용해에 영향을 미치는지 알아보고자 한다.

실험 재료 및 실험 방법

1. 실험동물 및 실험식이

1) 실험 동물

평균 체중이 200 g인 8주령의 암컷 (Sprague-Dawley) 쥐 40마리를 난괴법 (Completely randomized design)을 이용하여 난소절제 수술을 한 난소절제 (Ovariectomized group, OVX)군과 난소절제는 하지 않고 같은 수술의 스트레스를 준 SHAM군 (Sham-operated group)군으로 나누었다. 실험동물은 다시 OVX와 SHAM군에서 식이의 조성에 따라 각각 Casein군과 Soy isolate군으로 나누어 총 4군으로 9주간 실험 식이를 공급하여 stainless steel wire cage에서 한 마리씩 분리 사육하였으며, 사육기간 동안 사육실의 온도는 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $65 \pm 5\%$ 를 유지하고 광주기와 암주기를 12시간 (light 6:00~18:00) 자동조절 장치를 이용하여 사육하였다. 실험 기간 동안 식이와 식수는 ad-libitum으로 급여하였으며, 이때 사용된 물은 모두 2차 이온 교환수였다.

2) 실험 식이

실험 식이는 정제식이로서 기본적으로 AIN-93M pattern을 따랐고 단백질 급원으로 대조군과 실험군은 각각 Casein과 Soy isolate (isoflavones 3.4 mg/g protein)을 급여하였다. Vitamin mixture는 AIN-93M-VX로서 Medison (USA) Teklad Test Diets에서 구입하였고, mineral mixture는 AIN-93M-MX로서 Medison (USA) Teklad Test Diets에서 구입하여 사용하였다 (Table 1).

2. 실험 방법

1) 체중 측정 및 실험 식이 섭취량 측정

실험 식이를 시작한 날을 기준으로, 식이섭취량은 이틀에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였고, 체중은 일주일 단위로 일정한 시간에 측정하였다.

식이효율 (Food Efficiency Ratio: FER)은 실험기간 동안의 체중증가량을 총 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

$$\text{식이효율 (FER)} = \frac{\text{9주간 체중증가량 (g)}}{\text{9주간 식이섭취량 (g)}}$$

2) 골밀도 측정

실험동물은 척추 (spine) 및 대퇴골 (femur)의 골밀도 (bone mineral density: BMD)와 골무기질함량 (bone mineral content: BMC)를 측정하였다. 골밀도 측정기기로는 LUNAR사의 PIXImus (Dual energy x-ray absorptiometry, DEXA)를 사용하였다.

3) 요 채취 및 분석

9주간 사육한 실험동물은 대사케이지에서 24시간 공복 요를 채취하였다. 시료 채취에 사용되는 모든 기구는 2차 이온 교환수로 행구어 사용하였다. 채취한 요는 -70°C의 Deep Freezer에서 냉동 보관 하였다가 성분 분석하였다.

요 중 칼슘과 인은 TECHNICON CHEN™ SYSTEM을 이용하여 자동분석기로 측정하였고, 요 중 deoxypyridinoline, creatinine의 측정은 collagen crosslinks™ Kit (Metra

Biosystems Inc. U.S.A)을 이용하여 ELISA (enzyme-linked immuno solvent assay)법에 의하여 분석하였고 crosslinks value는 deoxypyridinoline에서 creatinine으로 나누어 값을 구하였다.

4) 혈액 채취 및 분석

실험동물의 대동맥에서 혈액을 채취하여 상온에서 30분간 방치한 이후 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청은 분석할 때까지 -70°C에서 냉동 보관하였다가 성분 분석하였다.

혈청 칼슘과 인의 측정은 TECHNICON CHEN™ SYSTEM을 이용하여 자동분석기로 측정하였으며, alkaline phosphatase (ALP)는 TECHNION CHEM™ SYSTEM을 이용하여 효소법에 의해 405 nm에서 비색정량하여 자동분석기로 측정하였다. 혈청 내 osteocalcin은 osteocalcin kit (Nichols Institute, IMMUTOPICS, INC)를 이용하여 gamma counter로 radioactivity를 측정하였다.

3. 자료 처리 및 통계

실험한 결과의 통계처리는 SAS package를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차로 나타냈으며, 각 군의 비교는 p < 0.05 수준에서 one-way ANOVA test를 하였고 군간의 통계적인 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 검증하였다.

실험 결과 및 고찰

1. 체중 증가량

실험 시작시의 체중은 대조군 및 실험군간에 차이가 없었으나 종료 시의 체중 및 체중 증가량은 난소절제군에서 증가하였다 (Table 2). 난소절제군 내에서는 Soy isolate군이 Casein군에 비해 체중증가량이 유의적으로 증가하였다. 체중증가량을 보면 Kim,¹⁴⁾ Kang,¹⁵⁾ Kim 등,¹⁶⁾ Kim,¹⁷⁾ Jang¹⁸⁾의 여러 선행연구에서도 난소절제군의 체중증가가 SHAM군에 비해 높게 나타나 본 결과와 같았다. Wronski 등¹⁹⁾은 난소절제시 체중증가는 피하지방을 증가시켜 지방조직으로

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

Ingredients	Casein	Soy isolate
Casein ¹⁾	200	-
Soy isolate ²⁾	-	200
Corn starch	529.486	529.486
Sucrose	100	100
Soybean oil	70	70
α-cellulose	50	50
Min-mix ³⁾	35	35
Vit-mix ⁴⁾	10	10
L-cystine	3	3
Choline ⁵⁾	2.5	2.5
Tert-butyl hydroquinone ⁶⁾	0.014	0.014

1) Casein high protein (total protein 85%), Teklad test diets, Madison, Wisconsin, USA

2) Soy protein isolate (total protein 84%, total isoflavones 3.4 mg/g protein), protein technologies international, St. Louis, MO, USA

3) AIN-93M-MX, Teklad test diets, Madison, USA

4) AIN-93M-VX, Teklad test diets, Madison, USA

5) Choline bitartrate, corning laboratory services company, Teklad test diets, Madison, USA

6) Tert-butyl hydroquinone, corning laboratory services company, Teklad test diets, Madison, USA

Table 2. Body weight change of experimental rats

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
Initial weight (g)	198.33 ± 10.60 ¹⁾	210.42 ± 11.96	209.78 ± 13.20	210.07 ± 8.16
Final weight (g)	274.86 ± 42.66 ²⁾	288.50 ± 21.66 ^{b)}	342.75 ± 33.64 ^{c)}	363.07 ± 36.49 ^{c)}
Weight gain (g)	76.57 ± 38.60 ^{a)}	78.07 ± 29.05 ^{a)}	132.98 ± 36.15 ^{b)}	153.00 ± 32.13 ^{c)}

Sham: Sham-operated group, Ovx: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

부터 에스트로젠 분비를 증가시킴으로써 혈중 에스트로젠 농도를 증가시키려는 적응기전이라고 하였다. Utian²⁰⁾와 Gordin 등²¹⁾도 폐경에 따른 에스트로젠의 부족을 보완하기 위해 피하지방을 증가시켜, 에스트로젠의 생성이 증가될 수 있다고 하였다. 하지만 난소 절제 수술 후에 체중이 증가되는 기전에 대해서는 아직 확실히 밝혀져 있지 않다. Williams 등²²⁾은 난소절제수술에 의한 골감소증에 대하여 부분적인 보호 작용으로써 체중이 증가할 수도 있다고 보고하였으며, 이것은 Chung 등²³⁾의 연구에서 폐경기 이후 여성에서 골다공증이 발생하며 체중이 증가한다는 보고와도 일치하고 있다. 또한 Arjmandi 등⁷⁾은 콩단백질을 난소절제한 쥐에게 급여했을 때 체중이 유의적으로 증가하였다는 연구결과와 유사하였다.

2. 식이 섭취량 및 식이효율 (FER)

식이 섭취량과 식이효율 (Food Efficiency ratio : FER)은 Table 3에 나타내었다. 평균 식이 섭취량은 SHAM군 내와 난소절제군 내에서 유의적인 차이는 없었으나 두군 내 모두에서 Casein군에 비하여 이소플라본이 풍부한 Soy isolate군이 높았다. Kim¹⁴⁾은 이소플라본 첨가 시 식이 섭취량이 대조군에 비하여 높은 경향을 보였다고 하여 본 연구 결과와 일치하였다. 또한 SHAM군과 난소절제군을 비교해보면 Casein군간과 Soy isolate군간 모두 난소절제군이 SHAM군에 비하여 평균 식이 섭취량이 유의적으로 증가하였다. 이것은 선행연구에서 난소절제 시에 식이 섭취량이 증가하였다고 보고한 Kim,¹⁴⁾ Kang,¹⁵⁾ Kim 등,¹⁶⁾ Jang,¹⁸⁾ Chung 등,²³⁾ Lee 등²⁴⁾의 연구결과와 일치하였다.

식이효율 (FER)을 보면 SHAM군 내에서 Casein군은 0.093, Soy isolate군은 0.099로 유의적인 차이가 없었다. 난소절제군 내에서는 Casein군이 0.133, Soy isolate군이

0.144로 유의적인 차이는 없었으나 이소플라본이 풍부한 Soy isolate군에서 식이효율이 높은 경향을 보였다. SHAM군과 난소절제군간의 식이효율을 비교해보면 Casein군간과 Soy isolate군간 모두 SHAM군보다 난소절제군에서 유의적으로 높게 나타났다. 식이효율은 체중증가량을 식이섭취량으로 나눈 것이므로 난소절제 시에 SHAM군보다 식이효율이 높은 것은 난소절제군의 체중 증가율이 높은 것과 관련이 있다. Jang¹⁸⁾의 연구에서 난소절제군의 식이효율이 SHAM군보다 더 높게 나타나 본 결과와 같았고, 난소절제 후 체중증가와 식이효율의 증가는 난소절제로 인한 에스트로젠 분비감소와 식이섭취량의 증가에 기인하는 것으로 나타났다고 보고하였다. Kim¹⁴⁾의 연구에서도 본 실험과 같은 8주령의 쥐를 난소절제한 후 7주 동안 이소플라본을 급여했을 때 식이효율은 난소절제에 의해 증가하였고, 식이 이소플라본 첨가에 의한 유의적인 차이는 없었다고 하였다. 또한 난소절제 후 체중증가는 에스트로젠의 분비감퇴에 기인하는 것으로 나타났으며 이소플라본은 이를 감소시키지 못하였다고 하였다. 따라서 난소절제 시 식이의 종류가 식이효율에 미치는 효과보다 에스트로젠 분비감소에 의한 식이효율의 상승효과가 더욱 두드러진다고 사료된다.

3. 혈청 분석

1) 혈청 칼슘과 인 농도

혈청 칼슘의 농도에서 모든 군은 흰쥐의 혈청 칼슘 농도의 정상수준 (7.2~13.0 mg/dl) 내에²⁵⁾ 포함되었다. 식이가 Casein일 때 난소절제군은 SHAM군에 비해 혈청 칼슘농도가 유의적으로 낮았으나, 식이가 콩 단백질일 때 난소절제군은 SHAM군에 비하여 혈청 칼슘농도가 낮은 경향을 보였으나 유의적이지 않았다 (Table 4). 이 결과는 Kang¹⁵⁾의 연구

Table 3. Food intake and FER

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
Food intake (g/d)	14.62 ± 1.83 ^{1)ab2)}	15.44 ± 1.27 ^a	17.60 ± 1.11 ^b	18.86 ± 2.49 ^b
FER	0.093 ± 0.032 ^a	0.099 ± 0.025 ^a	0.133 ± 0.032 ^b	0.144 ± 0.018 ^b

Sham: Sham-operated group, OvX: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

Table 4. Serum calcium and phosphorus concentrations

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
Serum Ca (mg/dl)	11.35 ± 0.40 ^{1)ab2)}	11.07 ± 0.33 ^a	10.08 ± 0.39 ^b	10.75 ± 0.49 ^b
Serum P (mg/dl)	8.52 ± 2.58	7.80 ± 0.66	8.50 ± 0.41	7.33 ± 0.46

Sham: Sham-operated group, OvX: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

에서 난소절제 쥐에서 9주 동안 사육했을 때 난소절제군의 혈청 칼슘이 SHAM군에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다고 한 것과, Kim¹⁴⁾의 연구에서 SHAM군에 비하여 난소절제군이 시간이 지남에 따라 혈청 칼슘이 감소하는 경향을 나타내었다고 보고한 것과 일치하였다. 그러나 식이가 콩 단백질일 때 난소절제쥐의 혈청 칼슘의 농도는 SHAM군에 비하여 혈청 칼슘의 농도 저하율이 낮아, 콩단백질은 난소절제쥐에서 혈청 칼슘농도가 낮아지는 것을 완화시키는 것으로 나타났다. 이것은 동물성 단백질인 casein에 비하여 식물성 단백질인 콩단백질의 함황아미노산 함량의 차이 나 혹은 아미노산 조성의 차이로 식물성 단백질은 동물성 단백질에 비하여 소변 중 칼슘배설량이 적다고 보고되고 있다.²⁶⁾

혈청 인의 농도는 실험군 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 모두 정상수준 (3.11~11.0 mg/dl) 내에²⁷⁾ 포함되었다 (Table 4). Kim¹⁴⁾의 연구에서 혈청 인은 난소절제에 의한 변화보다는 식이 칼슘의 차이에 따른다고 제시하였고, Kang¹⁵⁾의 연구에서도 혈청 인이 난소절제 시에 영향을 받지 않는다고 하여 본 연구 결과와 일치하였다.

2) 혈청 ALP와 Osteocalcin 함량

혈청 ALP의 활성은 포괄적인 골생성 (bone formation)의 지표로서 가장 흔하게 사용되며 조골세포의 활성을 반영한다. Osteocalcin은 조골세포에 의해 합성되며 뼈의 extracellular matrix에 결합된다. 새로 합성된 osteocalcin의 일부는 순환계로 방출되는데 osteocalcin량과 조직학적으로 증명된 골형성 정도와 좋은 상관성을 나타내므로 혈청 중 osteocalcin의 농도는 조골세포의 활성도를 직접적으로 반영한다고 볼 수 있다. 혈청 ALP (Alkaline phosphatase)와 Osteocalcin 함량을 Table 5에 제시하였다.

혈청 ALP 농도는 SHAM군에 비해 난소절제군이 유의적으로 높았다. 이 결과는 Kim¹⁴⁾의 난소절제쥐는 SHAM군에 비해 혈청 ALP의 농도가 높았다고 한 것과, Kim¹⁵⁾의 난소절제쥐 실험에서 SHAM군보다 혈청 ALP의 농도가 증가하였다고 보고한 것과 일치하였다. 그러나 혈청 ALP는 이소플라본이 풍부한 Soy isolate 섭취에 따른 차이는 없었다. 이 결과는 난소절제된 쥐에게 콩단백질과 이소플라본을 공급하였을 때 혈청 ALP의 농도 차이가 없었다는 선행연구⁷⁾와 일치하였다. 일반적으로 난소절제 수술은 골형성의 생화학적 지표인 혈청 ALP의 증가를 유도하고,¹¹⁾ 난소절제시 ALP 활성의 증가는 에스트로겐 결핍으로 bone turnover가 증가되었기 때문이라고 보고¹⁴⁾되고 있다.

혈청 Osteocalcin은 SHAM군에 비해 난소절제군은 유의적이진 않았지만 높은 경향을 보였고, 이소플라본이 풍부한 Soy isolate에 의해서도 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다. 에스트로겐의 골보호 기전은 골 turnover rate를 감소시키면서 골손실을 방지하는 것으로 알려져 있다.²⁸⁾ Fandi 등²⁸⁾은 난소절제된 흰쥐에게 genistein을 주사했을 때 혈청 osteocalcin 수준을 증가시켰다고 보고하여 본 연구결과와 일치하였다. 그리고 사람을 대상으로 한 연구에서 Scheiber 등²⁹⁾은 폐경 후 여성에게 콩 (roasted whole soy nuts) 10 g과 두유 250 cc (총 이소플라본 함량 20 × 3회, 60 mg)를 1일 3회씩 12주 동안 섭취하도록 한 결과, 혈청 osteocalcin이 증가하였다고 보고하였고, Lees와 Ginn³⁰⁾도 폐경 후 여성에게 12주 동안 1일 150 mg의 이소플라본 추출물을 공급한 결과 혈청 osteocalcin이 증가하였다고 보고하였다. 따라서 이소플라본은 혈청 osteocalcin 농도를 증가시켜 골 형성에 기여한다는 선행연구^{31,32)}와 일치하는 경향을 보이고 있다.

Table 5. Alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
ALP (U/l)	34.25 ± 9.17 ^{1)a2)}	46.75 ± 7.88 ^{b)}	49.50 ± 9.67 ^{c)}	53.75 ± 5.90 ^{c)}
Osteocalcin (ng/mg)	2.43 ± 0.23	2.90 ± 1.03	2.86 ± 0.74	3.23 ± 0.88

Sham: Sham-operated group, Ovx: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

Table 6. Urinary calcium and phosphorus

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
Urinary Ca (mg/d)	0.67 ± 0.31 ¹⁾	0.33 ± 0.08	0.96 ± 1.07	0.70 ± 0.36
Urinary P (mg/d)	11.39 ± 3.37 ^{a2)}	13.67 ± 1.05 ^{b)}	13.24 ± 1.60 ^{b)}	8.86 ± 2.17 ^{c)}

Sham: Sham-operated group, Ovx: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

Table 7. Urine deoxypyridinoline, creatinine and crosslinks value

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
Deoxypyridinoline (nM)	573.22 ± 402.1 ¹⁾	528.22 ± 338.6	1064.92 ± 328.6	1014.17 ± 381.9
Creatinine (mM)	3.19 ± 1.61	5.21 ± 3.23	4.44 ± 2.21	3.92 ± 1.24
Crosslinks value (nM/mM)	170.12 ± 33.61 ²⁾	101.86 ± 37.47 ^o	262.71 ± 66.76 ^b	254.16 ± 39.45 ^b

Sham: Sham-operated group, OvX: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

4. 요 분석

1) 요 중 칼슘 및 인 배설량

요 중 칼슘은 SHAM군에서 Casein군이 0.67 mg/d, Soy isolate군이 0.33 mg/d, 난소절제군에서 Casein군이 0.96 mg/d, Soy isolate군이 0.70 mg/d로 난소절제군이 SHAM군에 비해 유의적이지 않으나 높게 나타났고, Soy isolate군은 Casein군에 비하여 요 중 칼슘 배설량이 난소절제군과 SHAM군 모두에서 낮은 경향을 나타내었다 (Table 6). 이 결과는 난소절제쥐에게 이소플라본을 첨가한 식이를 공급했을 때 요 중 칼슘의 배설이 낮은 경향을 보였다는 것과,¹⁵⁾ Cecchetti 등³²⁾이 이탈리아 폐경 여성에게 ipriflavone 200 mg/day을 12개월 보충하였을 때 요 중 칼슘 배설량이 유의적으로 낮았다고 보고한 연구와 일치하였다. Jeon³³⁾의 연구에서도 콩단백질군이 casein군에 비하여 칼슘 배설량이 낮았다고 보고하였다. 이것은 여러 선행연구에서 함황 아미노산 함유율이 높은 동물성 단백질은 식물성 단백질보다 요 중 칼슘 배설량을 증가시킨다는 결과가 보고³⁴⁾되고 있다. 요 중 인의 배설량은 군간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

2) 요 중 Deoxypyridinoline (DPD), Creatinine과 Crosslinks value

요 중 deoxypyridinoline (DPD)와 creatinine, crosslinks value를 Table 6에 제시하였다. 요 중 DPD는 난소절제군에서 유의적이진 않았으나 높은 경향을 보였고, 난소절제군 내에서 Casein군보다 Soy isolate군에서 낮은 경향을 보였다. 역학연구에서 보면 Lee와 Sung의³⁵⁾ 연구에서 폐경 여성에게 이소플라본을 90 mg을 매일 12주동안 보충 하였을 때 대조군에 비하여 DPD가 23.5%로 유의적인 감소를 보였고, Uesugi 등³⁶⁾은 폐경 여성에게 이소플라본 추출물을 매일 61.8 mg씩 4주동안 보충시킨 결과 요 중 DPD 배설량이 유의적이진 않았지만 감소하였다고 보고하였다. 또한 Arjmandi 등⁷⁾도 폐경 여성에게 이소플라본이 풍부한 콩 단백질 공급한 결과 호르몬 대체 요법을 받지 않는 대조군에서 DPD 배설량이 유의적으로 감소하였다고 보고하였다. Sung 등³⁷⁾의 연구에 따르면 이소플라본의 양과 요 중 이소

플라본의 배설량은 요 중 DPD와 역의 상관관계를 보이며, 요 중 DPD는 혈청 osteocalcin과 정 상관관계임을 밝혀 이소플라본의 섭취가 골대사 개선에 효과적이라고 보고하였고, Park¹¹⁾의 연구에서도 이소플라본 섭취량과 요 중 이소플라본의 양은 요 중 DPD와는 역 상관관계를 보고하였다.

골흡수 지표인 crosslinks value는 최근 골다공증 등 골질환의 임상적 판정을 위한 지표 중 매우 예민한 지표로 이용되고 있는데, crosslinks value는 난소절제군이 SHAM군에 비하여 유의적으로 높았다. 따라서 난소절제군이 SHAM군에 비하여 골흡수율이 유의적으로 높음을 확인할 수 있었다. SHAM군 내에서는 Casein군은 170.12 nM/mM, Soy isolate군은 101.86 nM/mM, 난소절제군 내에서는 Casein군은 262.71 nM/mM, Soy isolate군은 254.16 nM/mM으로 유의적이진 않았으나 SHAM군과 난소절제군 모두에서 Casein군에 비해 Soy isolate군에서 낮은 경향을 보였다. 이소플라본이 풍부한 콩단백질 섭취 시 골흡수 지표가 낮은 경향을 보여 골흡수 지연에 유리하게 보여진다. Kang¹⁵⁾의 연구에서 난소절제군의 crosslinks value는 SHAM군에 비하여 유의적으로 높게 나타났다고 하여 본 연구와 일치하였다.

5. 골밀도 및 골무기질 함량

1) 척추 골밀도 (BMD)와 척추 골무기질 함량 (BMC)

척추 골밀도 및 척추 골무기질 함량은 Table 8에 나타내었다. 골밀도는 SHAM군에 비해 난소절제군은 모두 유의적으로 낮았고, 체중으로 나누었을 때에도 SHAM군에 비해 난소절제군에서 유의적으로 낮았다. 이것은 Lee와 Kim³⁸⁾과 Kang¹⁵⁾의 연구에서 8주령 암컷 흰쥐의 난소절제 시에 각각 대퇴골 및 요추골에서 골 손실이 일어났고 난소절제군에서 척추골밀도가 낮았다고 보고한 것과 일치하였다.

또한 SHAM군 내에서 이소플라본이 풍부한 콩단백질을 공급했을 때 casein 공급시 보다 척추 골밀도가 유의적으로 높았고, 난소절제군 내에서는 콩단백질을 공급했을 때 casein 공급시보다 척추 골밀도가 증가하는 경향을 보였다. 골무기질 함량은 SHAM군에 비해 난소절제군이 유의적으로

Table 8. Spine bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC)

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
SBMD (g/cm ²)	0.151 ± 0.011 ^{1)a2)}	0.160 ± 0.011 ^b	0.142 ± 0.006 ^c	0.145 ± 0.009 ^c
SBMD (g/cm ²)/wt (kg)	0.584 ± 0.076 ^a	0.540 ± 0.068 ^a	0.415 ± 0.027 ^b	0.402 ± 0.042 ^b
SBMC (g)	0.503 ± 0.049 ^a	0.551 ± 0.038 ^b	0.487 ± 0.018 ^c	0.522 ± 0.069 ^a
SBMC (g)/wt (kg)	1.866 ± 0.145 ^a	1.828 ± 0.156 ^a	1.427 ± 0.135 ^b	1.449 ± 0.257 ^b

Sham: Sham-operated group, OvX: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

Table 9. Femur bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC)

Group	SHAM		OVX	
	Casein	Soy isolate	Casein	Soy isolate
FBMD (g/cm ²)	0.202 ± 0.007 ^{1)a2)}	0.219 ± 0.010 ^b	0.200 ± 0.014 ^a	0.207 ± 0.008 ^a
FBMD (g/cm ²)/wt (kg)	0.779 ± 0.097 ^a	0.737 ± 0.051 ^a	0.586 ± 0.027 ^b	0.576 ± 0.050 ^b
FBMC (g/cm ²)	0.369 ± 0.019 ^a	0.425 ± 0.031 ^b	0.393 ± 0.013 ^c	0.401 ± 0.020 ^d
FBMC (g/cm ²)/wt (kg)	1.421 ± 0.166 ^a	1.429 ± 0.102 ^a	1.150 ± 0.141 ^b	1.109 ± 0.063 ^b

Sham: Sham-operated group, OvX: Ovariectomized group

1) Mean ± SD

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

낮았으며 Casein군에 비해 콩단백질군에서 SHAM군은 9%, 난소절제군은 7%의 유의적인 척추 골무기질 함량의 증가를 나타내었다. 이것은 Kang¹⁵⁾의 연구에서 난소절제군에서 casein에 이소플라본을 첨가하여 공급한 경우 척추 골함량이 유의적으로 2% 증가하였다고 하였는데 본 연구에서는 동량의 이소플라본이 포함된 콩단백질을 공급한 경우 7%의 유의적인 증가를 보여 casein에 이소플라본을 첨가한 경우보다 동량의 이소플라본이 포함된 콩단백질을 섭취시킨 경우가 골밀도에 더 유리한 것으로 보인다. Choi와 Jo¹³⁾의 연구에서도 성장기 암컷 흰쥐에게 casein에 이소플라본을 첨가한 식이와 동량의 이소플라본이 포함된 콩단백질을 첨가시킨 경우 casein에 이소플라본을 첨가한 군보다 이소플라본이 풍부한 콩단백질을 첨가한 군에서 척추 골밀도 증가 효과가 더 높았다고 보고하였다. 따라서 콩단백질의 효과는 전적으로 이소플라본에 기인한 결과만은 아닌 것으로 사료된다.

임상 연구에서 Alekel 등⁸⁾은 폐경 초기 여성에게 이소플라본이 풍부한 콩단백질은 요추골의 골밀도를 증가시켰다고 하였고, Potter 등³⁹⁾도 폐경 후 여성을 이소플라본 섭취 수준에 따라 세 집단으로 구분한 후 6개월 동안 이소플라본을 섭취하도록 한 결과 90 mg의 이소플라본이 함유된 40 g의 콩단백질을 섭취한 여성에서 성호르몬에 민감한 소주골로 구성된 척추의 골밀도가 유의하게 증가하였다고 하였다. Rice 등⁴⁰⁾은 여성의 콩섭취 조사에서 최근의 많은 콩 이소플라본 섭취량이 척추 골밀도를 높였으나 대퇴골에는 영향

을 미치지 않았다고 하였다. 반면, 콩을 일생동안 섭취했을 때 대퇴골 골밀도는 유의적이었으나, 척추 골밀도에는 유의적이지 않았다고 하여 섭취량과 섭취기간에 따라 부위별로 미치는 골밀도 영향이 다를 수 있음을 시사하였다.

2) 대퇴 골밀도 (BMD)와 대퇴 골무기질 함량 (BMC)

대퇴 골밀도와 골무기질 함량은 Table 9에 나타내었다. 대퇴 골밀도는 난소절제 수술에 따라 큰 차이를 보이지 않았는데 이것은 난소절제군의 체중이 현저하게 높았기 때문으로 사료되며 체중이 골밀도에 미치는 것을 고려하여 체중으로 나누었을 때, 대퇴골밀도는 SHAM군에 비해 난소절제군이 유의적으로 낮았다. 그리고 SHAM군 내에서 대퇴 골밀도는 콩단백질 섭취시 유의적으로 높게 나타났고 난소절제군 내에서는 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

골무기질 함량은 콩단백질군 내에서 난소절제군이 SHAM군에 비하여 유의적으로 낮았고, SHAM군과 난소절제군 내에서 콩단백질의 섭취는 Casein군에 비해 유의적으로 높았다. 즉 콩단백질 섭취시 SHAM군은 15%, 난소절제군은 2% 유의적으로 증가하였다. 대퇴 골무기질 함량을 체중으로 나누었을 때 SHAM군에 비해 난소절제군의 두 군 모두 유의적으로 낮았으나 식이에 의한 차이는 없었다. Kang¹⁵⁾의 연구에서 난소절제주는 SHAM군에 비해 대퇴 골밀도 및 골함량이 감소하여 본 연구와 일치하였다. 그리고 대퇴골밀도는 이소플라본 공급시 SHAM군에서 4% 증가하고 난소절제군에서는 1%의 증가하는 경향을 보였다고 하였는데¹⁵⁾ 본 연구에서는 이소플라본이 풍부한 콩단백질 공급시 SHAM

군에서 유의적으로 8.4% 증가하고 난소절제군에서 3.5% 증가하여 casein에 이소플라본을 첨가한 경우보다 증가량이 더 많았고, 대퇴 골무기질 함량은 casein에 이소플라본을 첨가한 식이를 공급한 Kang의 경우¹⁵⁾ 유의적이지 않고 증가하는 경향만을 보였으나, 본 연구에서 이소플라본이 풍부한 콩단백질의 공급시에 모두 유의적으로 증가하여 골밀도 및 골함량에 순수 이소플라본보다 이소플라본을 포함하는 콩단백질을 섭취하는 경우가 더 효과적이라 사료된다. 성장기 쥐를 대상으로 연구한 Choi와 Jo¹³⁾는 이소플라본만 첨가한 경우와 이소플라본을 동량으로 포함하는 콩단백질을 9주 동안 공급했을 때 대퇴 골밀도는 casein에 이소플라본을 첨가한 군보다 동량의 이소플라본을 포함한 콩단백질군이 더 높았으며 대퇴 골무기질 함량도 유의적이지는 않았으나 이와 같은 경향이었다고 하였다.

Stephanie 등¹²⁾은 난소절제쥐에게 9~13 mg/day의 이소플라본이 포함된 콩단백질을 공급했을 때 대퇴골 골밀도 측정시 유의적으로 높았다고 하였고, 골표면적과 골흡수 비율도 높았다고 하였다. 임상에서 선행연구를 보면 Park¹¹⁾은 이소플라본 섭취량과 대퇴부의 골밀도는 정 상관관계를 보이며 폐경 후 여성에게 골손실 예방은 콩식품 섭취로 이루어질 수 있음을 제시하였고, Rice 등⁴⁰⁾은 일생동안 콩을 많이 섭취한 여성에서 적게 섭취한 여성보다 대퇴부의 골밀도를 유의하게 높였다고 보고하였다. Dalais 등⁴¹⁾은 콩을 섭취한 폐경 후 여성의 골 무기질 함량이 증가됨을 보고하였고, Somekawa 등⁴²⁾은 콩식품을 통한 이소플라본 섭취는 폐경 후 여성의 골질량 증가와 관련이 있다고 하였으며 체중이 보정된 골밀도는 이소플라본 섭취 최고 군과 이소플라본 섭취 최저 군간에 유의적인 차이가 있었다고 보고하였다. Atkinson 등⁴³⁾은 205명의 폐경여성 (49~65세)에게 12달간 이소플라본을 섭취시켰을 때 척추 골밀도 및 골함량, 골흡수 지표가 증가하였다고 하였고, 대퇴 골밀도 및 골함량은 더욱 증가하였다고 하여 이소플라본이 대퇴골에 잠재적인 효과가 있다고 보고하였다. 한편, Arjmandi 등⁷⁾은 이소플라본이 풍부한 콩단백질이 난소절제 후 골밀도의 감소는 억제하였으나 에스트로겐처럼 골형성과 골용해 지표는 감소시키지는 못하였으므로 에스트로겐과는 폐경모델의 골격보호에 있어서 다르게 작용한다고 하였다. 또한 이러한 골격손실 감소 효과가 콩 단백질 자체의 효과인지 콩 내 이소플라본 존재의 효과인지는 알 수 없다고 밝혔다.

요약 및 결론

성장기 쥐에서 이소플라본이 풍부한 콩단백질 섭취가 골

대사에 유리하였다고 보고한 동일한 양의 이소플라본을 포함하는 콩단백질을 casein 대신에 난소절제 쥐에게 공급하였을 때 골밀도 및 골무기질 함량에 미치는 효과는 다음과 같았다.

1) 체중 증가량은 난소절제 (OVX)군이 SHAM군에 비해 유의적으로 증가하였다.

2) 식이 섭취량은 난소절제군이 SHAM군보다 유의적으로 높았고 콩단백질군은 식이 섭취량 및 식이효율에서 높은 경향을 보였다.

3) 혈 중 칼슘의 농도는 난소절제시 Casein군 내에서 SHAM군에 비해 유의적으로 낮았고, 난소절제군 내에서 콩단백질 섭취시 유의적으로 높았다.

4) 혈 중 ALP는 난소절제군이 SHAM군에 비해 유의적으로 높았고 난소절제군 내에서 혈중 Osteocalcin 농도는 콩단백질 급여시 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

5) 요 중 칼슘은 SHAM군에 비해 난소절제군에서 증가하는 경향을 보였고, SHAM · 난소절제 두 군 모두에서 콩단백질 급여시 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.

6) Crosslinks value는 난소절제 시 SHAM군에 비해 유의적으로 증가하였고, 콩단백질 급여시 두 군 모두에서 감소하는 경향을 보였다.

7) 척추 골밀도는 난소절제군이 SHAM군에 비하여 유의적으로 낮았고 콩단백질 급여시 SHAM 군에서는 유의적으로 증가하였으며 난소절제군에서는 증가하는 경향을 보였다. 척추 골함량은 난소절제군이 SHAM군에 비하여 유의적으로 낮았고, 콩단백질 공급 시 SHAM, 난소절제군 모든 군에서 유의적으로 증가하였다.

8) 대퇴 골밀도는 콩단백질의 공급시 SHAM군 내에서 유의적으로 증가하였고 난소절제군 내에서는 증가하는 경향을 보였다. 대퇴 골함량은 콩단백질의 공급시 SHAM, 난소절제 모든 군에서 유의적으로 증가하였다.

결론적으로 성장기 쥐에서 골밀도에 유익한 효과를 나타내었던 양의 이소플라본을 함유하는 콩단백질의 섭취는 난소절제한 쥐에서도 골무기질 함량을 유의적으로 증가시켜 유익한 효과를 나타내었고, 골밀도를 향상시키는 기전으로 골용해를 낮추어 골밀도를 증가시키는 것으로 사료되나 그 기전에 대하여 더 많은 연구가 요망된다.

Literature cited

- 1) Korea National Statistical Office. Complete life Tables, 2004

- 2) Park HS. Effects of soybean foods intake on menopausal symptoms, serum hormones, serum lipids, and bone metabolism in middle-aged women. Dissertation of Ph D. Ewha Womans University, Seoul, 2003
- 3) Anderson LE, Garm J, Skouby SO, Jespersen J. Effects of hormone replacement therapy on hemostatic cardiovascular risk factors. *Am J Obstet Gynecol* 180: 283-289, 1999
- 4) 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
- 5) Washburn S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure and menopausal symptoms in perimenopausal women. *Menopause* 6: 7-13, 1999
- 6) Song TT, Hendrich S, Murphy PA. Estrogenic activity of glycitein, a Soy Isoflavone. *J Agric Food Chem* 47: 1607-1610, 1999
- 7) Arjmandi BH, 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
- 8) 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: 844-852, 2000
- 9) Toda T, Uesugi T, Hirai K, Nukaya H, Tsuji K, Ishida H. New 6-O-acyl isoflavone glycosides from soybeans fermented with *Bacillus subtilis* (natto). I. 6-O-succinylated isoflavone glycosides, and their preventive effects on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. *Biol Pharm Bull* 22: 1193-1201, 1999
- 10) Deyhim F, Stoecker BJ, Brusewitz GH, Arjmandi BH. The effects of estrogen depletion and isoflavone on bone metabolism in rats. *Nutrition Research* 23: 123-130, 2003
- 11) Park YH. The effect of isoflavone supplementation on bone metabolism in ovariectomized SD rats. MS Thesis. Yonsei University, Seoul, 2000
- 12) Stephanie CB, Susanne NH, Beth MB, Maren H, Scott CM. Dietary soy protein maintains some indices of bone mineral density and bone formation in aged ovariectomized rats. *J Nutr* 133: 1244-1249, 2003
- 13) Choi MJ, Jo HJ. Effects of soy protein and isoflavones on bone mineral density in growing female rat. *Kor J Nutr* 36: 359-367, 2003
- 14) Kim MS. Beneficial effect of soy isoflavone on bone loss and hyperlipidemia in ovariectomized rats. Dissertation of Ph. D, Seoul National University, Seoul, 1999
- 15) Kang YJ. Effects of isoflavones on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized rats. MS Thesis. Keimyung University, Daegu, 2004
- 16) Kim WY, Choi HK, Lee HS. The effects of dietary ca levels on ca and skeletal metabolism in ovariectomized rats of different ages. *Kor J Nutr Soc* 31 (4) : 716-728, 1998
- 17) Kim YK. Effects of soybean isoflavones on the bone metabolism in ovariectomized growing rats. MS Thesis. Hanyang University, Seoul, 2002
- 18) Jang HR. The effect of soy isoflavone supplementation on the factors relating to vascular disease in ovariectomized and hyperlipidemic rats. MS Thesis. Seoul National University, Seoul, 2002
- 19) Wronski TJ, Cinton M, Doherty AL, Donn LM. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinol* 123: 681-688, 1988
- 20) Utian WH. Biosynthesis and physiologic effects of estrogen and pathophysiologic effects of estrogen deficiency: a review. *Am J Obstet Gynecol* 161: 1828-1831, 1989
- 21) Gordin JM, Siiteri PK, McDonald PC. Source of estrogen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Meta* 76: 207-218, 1993
- 22) Williams JP, Jordan SE, Barnes S, Blair HC. Tyrosine kinase inhibitor effects on avian osteoclastic acid transport. *Am J Clin Nutr* 68 (6S) : 1369-1374, 1998
- 23) Chung LW, Gleave ME, Hsi JT, Hong SJ, Zhou HE. Reciprocal mesenchymal epithelial interaction affecting prostate tumor growth and hormonal responsiveness. (review) *Cancer Surv* 11: 91-121, 1991
- 24) Lee MH, Park YH, Oh HS, Kwak TS. Isoflavone Content in Soybean and its Processed Products. *J Kor Food Sci Nutr* 34(3) : 365-369, 2002
- 25) Mituka BM, Rawnsley HM. Clinical biochemical and hematology reference value in normal experimental animals and normal humans. 2nd edition, Masson, New York, p160, 1987
- 26) Barzel US, Massey LK. Excess dietary protein can adversely affect bone. *J Nutr* 128: 1051-1053, 1998
- 27) Riis B, Thomsen K, Christiansen C. Does calcium supplementation prevent postmenopausal bone loss? *N Engl J Med* 316: 173-177, 1987
- 28) Fanti O, Faugere MC, Gang Z, Schmidt J, Cohen D, Malluche HH. Systematic administration of genistein partially prevents bone loss in ovariectomized rats in a nonestrogen-like mechanism. *Am J Clin Nutr* 68 (suppl) : 1517s (abstr), 1998
- 29) Scheiber MD, Liu JH, Subbiah MTR, Rebar RT, Setchell KDR. Dietary inclusion of whole soy foods results insignificant reductions in clinical risk factors for osteoporosis and cardiovascular disease in normal postmenopausal women [NAMS Fellowship Findings]. *Menopause* 8(5) : 384-392, 2001
- 30) Lees DJ, Ginn TA. Soy protein isolate diet does not prevent increased cortical bone turnover in ovariectomized macaques. *Clcif Tissue Int* 62: 557-558, 1998
- 31) 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
- 32) Cecchetti M, Bellomitti S, Cremonesi G, Solimeno LP, Torri G. Metabolic and bone effects after administration of ipriflavone and salmon calcitonin in postmenopausal osteoporosis. *Biom & Pharm* 49: 465-468, 1995
- 33) Jeon HS. Effects of soy protein and isoflavones on bone mineral content and bone mineral density in growing rats consuming a low calcium diet. MS Thesis. Keimyung University, Taegu, 2003
- 34) Funada M, Kawashima T, Yano H, Kawashima R. Effects of a high protein diet on bone formation and calcium metabolism in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 36: 559-567, 1990
- 35) Lee DH, Sung CJ. Effect of soy isoflavone supplementation on bone metabolism marker and urinary mineral excretion in post-

- menopausal women. *Kor J Nutr Soc* 36(5) : 476-482, 2003
- 36) Uesugi T, Fukui Y, Yamori Y. Beneficial effects of soybean isoflavone supplementation on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal Japanese women: A four-week study. *Original Research* 21(2) : 97-102, 2002
- 37) Sung CJ, Baek SK, Lee HS, Kim MH, Choi SH, Lee SY, Lee DH. A study of body anthropometry and dietary factors affecting bone mineral density in Korean pre- and postmenopausal women. *J Kor Food Sci Nutr* 30(1) : 159-167, 2000
- 38) Lee YS, Kim EM. Effect of ovariectomy and dietary calcium levels on bone metabolism in rats fed low calcium diet during growing period. *Kor J Nutr Soc* 31: 279-288, 1998
- 39) Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JWJ. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 68(suppl) : 1375-1379, 1998
- 40) Rice MM, LaCroix AZ, Lampe JW. Soy consumption and bone mineral density in older Japanese American women in King County, Washington. *J Nutr* 130: 685, 2000
- 41) 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
- 42) Somekawa Y, Chiguchi M, Ishibashi T, Aso T. Soy intake related on menopausal symptoms, serum lipids, and bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Obstet Gynecol* 97(1): 109-115, 1997
- 43) Atkinson C, Compston AJ, Day NE, Dowsett M, Bingham SA. The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 79: 326-333, 2004