

# 성장기 암컷 쥐에서 Arginine 첨가가 골밀도에 미치는 영향\*

최 미 자<sup>§</sup>

계명대학교 식품영양학과

## Effects of Arginine Supplementation on Bone Mineral Density in Growing Female Rats\*

Choi, Mi-Ja<sup>§</sup>

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

### ABSTRACT

The aim of this study was to define an arginine effect when added to a diet. The influence of arginine supplements on bone mineral density and content were studied in young female Sprague-Dawley rats fed either an arginine supplemented diet or control diet. Twenty four rats (body weight  $83 \pm 5$  g) were randomly assigned to one of two groups, consuming casein or casein with supplemented arginine 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 3, 6, and 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. The serum concentration of Ca and P were not changed by arginine supplementation. Urinary Ca excretion was significantly decreased by arginine supplementation. Spine BMD was significantly increased by arginine supplementation on 3 and 6 weeks after feeding. Femur BMD was significantly increased in the group of arginine supplementation on 3, 6, and 9 weeks. Rats fed the arginine-supplemented diet had better bone mineral content than did control diet rats in the experimental period. Therefore, arginine supplementation may be beneficial on spine and femur BMD increment in growing female rats. These are thought to be associated with an arginine-induced growth hormone release. The exact mechanism of this effect remains to be elucidated. (*Korean J Nutr* 2007; 40(3): 235~241)

KEY WORDS : arginine, bone mineral density, growing female rat.

### 서론

최근 콩이 성인병 예방과 골다공증 예방에 좋다고 알려지면서 콩 식품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>1)</sup> 콩단백질이 골 대사에 유리한 이유로 콩단백질에 함유된 이소플라본이 여성호르몬인 에스트로겐 (17β-estradiol)과 구조와 분자량이 유사하여 약한 에스트로겐의 성질을 가지며,<sup>2)</sup> 골다공증 치료약물인 ipriflavone과 구조적으로 유사하여 폐경 후 여성의 골다공증 발병 위험을 줄여 줄 수 있다고 보고되었다.<sup>3)</sup> 그 후 콩단백질의 이소플라본이 폐경 여성이나<sup>4)</sup> 폐경기 여성에서<sup>6,7)</sup> 척추 골밀도와 골함량을 증가시키는데 유효

하였고, 난소절제쥐에서 골소실의 지연에 효과적이라고 보고되었다.<sup>8,9)</sup> 그리고 역학연구에서 콩 섭취가 많은 아시아 여성이 콩 섭취가 낮은 미국 백인 여성보다 골절율이 낮다고 보고되었다.<sup>10)</sup> 그러나 *in vitro* 실험에서 이소플라본은 에스트로겐으로써의 효과뿐 만 아니라 antiestrogen으로써의 효과도 함께 나타내는 것으로 보고되어 이소플라본이 폐경 후 여성에서는 에스트로겐으로 작용하나 폐경기 이전 여성에서는 수용체의 결합 부위에 대하여 endogenous estrogen과 경쟁하므로 약한 antiestrogen으로써 작용할 수도 있다고 제안하였다.<sup>11)</sup>

그러나 여성호르몬의 분비가 있는 30~40대의 젊은 여성에게 콩 제품을 식사에 포함시켰을 때<sup>12)</sup> 척추 골밀도 증대에 효과가 있었다고 하였고, Setchell 등<sup>13)</sup>은 영아기에 이소플라본을 함유한 콩단백질 식품이 골다공증 예방에 장기적인 이점을 가질 수 있다고 추론하였다. 또한 성장기 수컷 쥐를 대상으로 isoflavones가 풍부한 콩 단백질의 섭취 시 척추 골밀도와 대퇴 골밀도에 유익한 것으로 보고되었고,<sup>14)</sup> 성장기

접수일 : 2007년 3월 22일

채택일 : 2007년 3월 30일

\*The present research has been conducted by the Bisa Research Grant of Keimyung University in 2004.

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

E-mail : choimj@kmu.ac.kr

암컷 쥐에서도 isoflavones가 풍부한 콩 단백질은 척추와 대퇴의 골밀도에 유리한 것으로 나타났다.<sup>15)</sup>

콩단백질이 골밀도에 유리한 이유로 콩 단백질이 성장 호르몬의 분비를 증가시킬지도 모른다는 추론이 있었고,<sup>16)</sup> Monson 등<sup>17)</sup>은 성장 호르몬이 아동기의 골질량 획득의 주된 인자로서 최대 골밀도 형성과 성인기의 신장 결정에 중요한 인자로 작용하며 성인기 동안에는 골 재형성률을 결정하여 골밀도 유지에 영향을 미친다고 하였다. Attie 등<sup>18)</sup>도 성장 호르몬은 아동기의 골격성장과 최대 골밀도 형성 및 성인기의 골량 보유와 감소예방에 중요한 인자라고 지적하였다. Nass 등<sup>19)</sup>은 1998년에 아미노산 중 arginine은 성장 호르몬 분비를 자극한다고 보고한 바 있다. Arginine은 성장 호르몬의 분비를 촉진시키는 물질로 성장 호르몬 결핍성 왜소증을 진단하는데 사용 된다.<sup>20)</sup>

최근 성장기 쥐에게 콩단백질을 섭취 시킨 경우 대조군인 카제인군 보다 혈중 성장호르몬의 농도가 높았는데 이것은 이소플라본이 거의 없는 콩 단백질과 이소플라본이 풍부한 콩 단백질을 섭취한 군 모두에서 유의적으로 높아 이소플라본과 상관없이 콩단백질 섭취군에서 성장호르몬 농도가 높았다. 그리고 콩단백질 급원으로 이용한 콩단백질의 arginine 함량은 대조군에 이용한 카제인에 함유된 arginine량 보다 약 2.3배 높았다.<sup>21)</sup> 성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 한 Kim과 Kim의 연구<sup>22)</sup>에서는 카제인군 보다 콩단백질을 섭취한 군에서 혈청 arginine 농도가 높았다고 보고하였다. Arginine은 골격의 주요성분인 신장의 creatine 합성의 전구체로서 중요하며<sup>23)</sup> 성장기 아동과 고양이에게는 필수아미노산이다.<sup>24)</sup>

선행연구를 보면<sup>22)</sup> 카제인에 비하여 콩 단백질 섭취 시 성장 호르몬 분비 증가효과는 콩 단백질이 카제인에 비하여 풍부한 arginine을 가진 아미노산 조성의 차이에서 기인된 것으로 추론할 수 있겠으나 실제 arginine의 양을 통제하거나 첨가하여 검증한 연구는 아직 없다. 따라서 성장기 암컷 쥐를 대상으로 콩단백질의 arginine의 단독효과를 알아보기 위하여 카제인 식이에 선행연구에서 사용한 콩단백질이 함유한 arginine량 만큼 첨가하여 골밀도 및 골함량에 미치는 효과를 알아보고자 한다.

## 연구방법 및 내용

### 실험동물 및 실험식이

Sprague-Dawley 암컷 쥐 (60 ± 5 g)를 대한 동물사육센터로부터 분양받아 1주일간의 적응기간 동안 고품사료 (rat chow, 삼양사)로 사육한 후 난괴법을 이용하여 각 군당 12마리씩 2군으로 나누어 9주간 실험 식이를 공급하였다. 실험

동물은 stainless steel wire cage에서 한 마리씩 분리 사육하였으며, 사육실의 온도는 25 ± 2°C, 습도는 63 ± 5%로 유지하였고 매일 광주기, 암주기를 12시간이 되도록 조절하였다. 실험 기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취케 하였으며 물은 모두 2차 이온교환수를 사용하였다. 실험 식이는 대조군과 arginine 첨가군으로 나누었고 arginine 첨가군의 arginine (L-Arginine: Sigma A8094, Japan) 첨가량은 선행연구에서 사용한 콩단백질이 함유하고 있는 arginine 함량과 같은 양이 되게 카제인군에 첨가하였다. 식이의 기본 조성은 AIN-93G에 기준하여 조제하였다.<sup>25)</sup> 실험식이의 조성은 Table 1과 같다.

### 실험분석

#### 식이 섭취량 및 체중 측정

실험기간 동안 식이 섭취량은 이틀에 한 번씩, 체중은 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다.

#### 시료 수집

9주간 사육 후 12시간 동안 절식시킨 후 에테르 마취하에 복부를 절개하여 대동맥에서 혈액을 채취 하였으며, 채취한 혈액은 상온에서 30분간 방치한 후 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 -70°C에서 냉동 보관하였다. 시료 채취에 사용되는 모든 기구는 2차 이온교환수로 헹구어 사용하였다.

#### 혈중의 칼슘과 인의 농도 및 뇨중 칼슘과 인의 배설량

혈중 칼슘과 인은 시료를 그대로 사용하였고, 요 중 칼슘은 칼슘이 함유되어 있는 시료에 *o*-CPC (*o*-cresolphthalein

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

Ingredients	Control	Arginine supplementation
Casein <sup>1)</sup>	20	20
Corn starch	53	52.34
Sucrose	10	10
Soybean oil	7	7
Cellulose	5	5
Min-mix <sup>2)</sup>	3.5	3.5
Vit-mix <sup>3)</sup>	1.0	1.0
L-cystine	3.0	3.0
Choline	0.25	0.25
Tert-butyl hydroquinone	0.0014	0.0014
Arginine <sup>4)</sup>	-	0.66

<sup>1)</sup> Casein, Maeil dairy industry Co. Ltd. 480 Gagok-Ri, Jinwi-Myun, Pyung taek-city, Kyunggi-Do

<sup>2)</sup> AIN-93G-MX, Teklad test diets, Medison, Wisconsin, USA

<sup>3)</sup> AIN-93G-VM, Teklad test diets, Medison, Wisconsin, USA

<sup>4)</sup> L-Arginine: Sigma A8094, Japan

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

complexone)를 첨가하여 생성되는 발색복합물의 흡광도를 570 nm에서 측정된 비색정량법으로 분석하였다.<sup>26)</sup> 요 중 인은 Tween 80을 2배 물로 희석한 (v/v) 용액 (Tween 80 (1): Water (2)) 0.9 ml에 molybdate 용액 (황산 (0.60 mol/liter)액에 2.0 g ammonia molybdate를 녹여 침전시켜 molbdate 용액을 만듬) 100 ml를 넣어 working reagent를 만들어서 여기에 인의 표준용액을 첨가함으로써 생성되는 인-몰리브덴산 복합체의 발색정도를 340 nm에서 측정된 인-몰리브덴산 비색정량법<sup>27)</sup>으로 분석하였다.

**골밀도 측정**

선행연구에서 성장기 암컷 쥐를 대상으로 여성 호르몬의 분비가 거의 없는 시기, 분비시작시기, 그리고 분비가 왕성한 시기로 구분하여 골밀도를 측정하였으므로 같은 시기로 구분하여 실험 3주째 (주령 6주: 성호르몬 분비가 미약), 실험 6주째 (주령 9주: 성주기가 안정), 실험 9주째 (주령 12주: 완전 성성숙)로 나누어 골밀도를 측정하여 선행연구 결과와 비교하였다. 따라서 사육한 흰쥐는 사육 3주째 (6주령), 6주째 (9주령), 9주째 (12주령)에 마취제 ketamine hydrochloride (유한양행, 50 mg/ml)를 사용하여 체중 1 kg 당 75 mg의 용량으로 근육주사한 후 골밀도를 측정 하였다. 골밀도 측정은 척추와 대퇴골의 골밀도를 측정하였다. 골밀도는 LUNAR사의 small animal 전용 골밀도 측정기인 PIXImus (#51038)를 이용하여 척추 (spine)와 대퇴골 (femur)의 골밀도 (bone mineral density, BMD)와 골무기질함량 (bone mineral content, BMC)을 측정하였다.

**자료처리 및 분석**

본 실험에서 얻은 결과는 SAS package를 이용하여 분석하였다. 각 군의 평균과 표준편차를 구하였으며 군 간의 통계적 유의성은 student's t-test로 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**체중과 식이섭취량**

Table 2에서 9주 동안 실험 식이를 섭취한 쥐의 체중을 나타내었다. 이들 각 군은 실험 시작 시에 체중에 유의적인 차이가 없었는데 9주 후에도 체중증가량은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 평균 일일 식이 섭취량은 두군 모두 각각 12.5 g/day로서 거의 같았고 식이효율도 두 군간에 유의적인 차이가 없었다.

**혈중 칼슘과 인의 농도 및 뇨 중 칼슘과 인의 배설량**

Table 3에서 혈중 칼슘과 인의 농도를 나타내었는데 혈 중

**Table 2.** Effect of arginine supplementation on weight gains, mean food intake and food intake efficiency ratio (FER) in growing female rats

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
Weight gains (g/4 wks)	161.67 ± 12.5 <sup>1)</sup>	162.8 ± 11.6	NS <sup>2)</sup>
Mean food intake (g/day)	12.5 ± 0.4	12.5 ± 0.6	NS
FER <sup>3)</sup>	0.25 ± 0.01	0.25 ± 0.03	NS

<sup>1)</sup> Mean ± SD  
<sup>2)</sup> NS: Not significantly different at p < 0.05.  
<sup>3)</sup> Food intake efficiency ratio (FER) = weight gain (g)/food intake (g)

**Table 3.** Serum calcium and phosphorus of rats fed arginine supplementation diet in growing female rats

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
Ca (mg/dl)	9.38 ± 0.13 <sup>1)</sup>	9.49 ± 0.36	NS <sup>2)</sup>
P (mg/dl)	8.12 ± 0.60	8.31 ± 0.43	NS

<sup>1)</sup> Mean ± SD  
<sup>2)</sup> NS: Not significantly different at p < 0.05

칼슘 농도는 대조군과 arginine 첨가군 각각 9.38 ± 0.13 mg/dl과 9.49 ± 0.36 mg/dl로서 두군 간에 차이는 없었고, 두군 모두 혈중 칼슘 농도는 흰쥐의 혈청 칼슘농도의 정상수준 (7.2~13.0 mg/dl)에 포함되어 있었다.<sup>28)</sup> 그리고 혈청 칼슘 농도는 Choi 등<sup>15,29,30)</sup>이 보고한 9.47 mg/dl과 비슷하였다. 혈청 인의 농도는 실험 군 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 모두 정상수준 (3.11~11.0 mg/dl)내에 포함되었고<sup>28)</sup> 혈청 인의 농도도 선행연구와<sup>15,29,30)</sup> 유사하였다.

요 중 칼슘 배설량은 식이와 호르몬 상태에 의해 영향을 받는다. 식이 요인 중의 하나로 단백질 급원이나 섭취 수준이 요 중 칼슘 배설에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 여러 선행연구에서 함황 아미노산 함유율이 높은 동물성 단백질인 카제인은 콩 단백질 보다 요 중 칼슘 배설량을 증가시킨다고 보고<sup>31-34)</sup> 되었다. 이는 단백질에 함유되어 있는 함황 아미노산의 대사산물인 황산이 칼슘과 염을 형성하여 요로 배설되기 때문인 것으로 설명되고 있다.<sup>35)</sup> 또한 단백질의 섭취 수준이 높을 경우 요 중 칼슘 배설량이 증가하는 것으로 보고되었다.<sup>36,37)</sup> 성장기 쥐를 대상으로 한 선행연구에서 casein군이 콩단백질 군에 비해 칼슘 배설량이 유의적으로 높게 나타났는데 이것은 단백질의 종류에 따른 차이로, 여러 선행연구에서 함황 아미노산 함유율이 높은 동물성 단백질은 식물성 단백질보다 요 중 칼슘 배설량을 증가시킨다는 결과가 보고되어 있다.<sup>31)</sup>

요 중 칼슘 배설량은 arginine 첨가군이 유의적으로 낮았고 인의 배설량은 유의적인 차이가 없었다. 일반적으로 콩은

**Table 4.** Urinary calcium and phosphorus excretion of rats fed experimental diets

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
Ca/ (mg/day)	0.73 ± 0.2 <sup>1)</sup>	0.39 ± 0.2	* <sup>2)</sup>
P/ (mg/day)	10.1 ± 3.8	9.4 ± 3.4	NS <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Mean ± SD<sup>2)</sup> \*: p<0.05<sup>3)</sup> NS: Not significantly different at p<0.05**Table 5.** Spine BMD and BMC of rats fed experimental diets at 3 week

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
SBMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.097 ± 0.009 <sup>1)</sup>	0.105 ± 0.001	NS <sup>2)</sup>
SBMC (g)	0.194 ± 0.03	0.238 ± 0.02	* <sup>3)</sup>
SBMD/wt (kg)	0.6 ± 0.044	0.6 ± 0.051	NS
SBMC/wt (kg)	1.2 ± 0.102	1.4 ± 0.103	NS

<sup>1)</sup> Mean ± SD<sup>2)</sup> NS: Not significantly different at p<0.05<sup>3)</sup> \*: p<0.05

casein에 비하여 arginine 함량이 높고 이 arginine은 성장 호르몬의 분비를 촉진시킨다고 알려져 있으나 성장호르몬과 칼슘의 배설량과의 직접적인 연구보고가 없다. 그러나 성장 호르몬의 분비증가는 많은 칼슘의 체내축적이 가능하므로 칼슘의 배설량을 낮출 수 있다고 사료되나 arginine의 첨가가 요 중 칼슘배설에 어떤 영향을 미치는지 그 기전에 대한 추 후 연구가 요망된다. 이것은 성장기 암컷 쥐에서 arginine이 casein에 비하여 풍부한 콩단백질의 섭취 시 요중 칼슘 배설량이 낮은 경향을 보였다는 선행연구<sup>15)</sup> 결과와 일치하며 장기적인 요 중 칼슘 배설량이 적어지면 골 대사에 유리할 것으로 사료된다.

## 골밀도 및 골함량

### 3주째의 척추 및 대퇴부의 골밀도와 골무기질 함량

실험식이 섭취 3주 째 척추 골밀도와 골무기질 함량을 Table 5에 나타내었다. 3주 째 척추 골밀도는 대조군이 0.097 g/cm<sup>2</sup>, arginine 첨가군이 0.105 g/cm<sup>2</sup>로 arginine 군이 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이가 없었다. 이것은 같은 연령의 성장기 암컷 쥐에서 대조군식은 casein으로 동일하고 실험군으로 이소플라본이 풍부한 콩단백질과 이소플라본이 거의 없는 콩단백질을 섭취시킨 경우 대조군인 casein군의 골밀도는 0.0949 g/cm<sup>2</sup>로 본 연구 결과와 매우 비슷하였고 soy isolate군이 0.1074 g/cm<sup>2</sup>로 유의적으로 높았으며 대조군과 비교하여 13% 높았다고 보고하였는데,<sup>15)</sup> 선행 연구에서 사용한 soy isolate에 포함된 arginine량만큼 casein에 첨가하였을 때 0.105 g/cm<sup>2</sup>로 유의적인 차이는 없었으

**Table 6.** Femur BMD and BMC of rats fed experimental diets at 3 week

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
FBMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.126 ± 0.007 <sup>1)</sup>	0.143 ± 0.005	*** <sup>2)</sup>
FBMC (g)	0.181 ± 0.013	0.206 ± 0.009	** <sup>3)</sup>
FBMD/wt (kg)	0.8 ± 0.012	0.8 ± 0.045	NS <sup>4)</sup>
FBMC/wt (kg)	1.1 ± 0.042	1.2 ± 0.123	NS

<sup>1)</sup> Mean ± SD<sup>2)</sup> \*\*\*: p<0.001<sup>3)</sup> \*\*: p<0.01<sup>4)</sup> NS: Not significantly different at p<0.05**Table 7.** Spine BMD and BMC of rats fed experimental diets at 6 week

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
SBMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.127 ± 0.006 <sup>1)</sup>	0.132 ± 0.005	NS <sup>2)</sup>
SBMC (g)	0.338 ± 0.029	0.373 ± 0.020	* <sup>3)</sup>
SBMD/wt (kg)	0.6 ± 0.014	0.6 ± 0.022	NS
SBMC/wt (kg)	1.5 ± 0.001	1.7 ± 0.010	*

<sup>1)</sup> Mean ± SD<sup>2)</sup> NS: Not significantly different at p<0.05<sup>3)</sup> \*: p<0.05

나 본 연구에서는 8.1%가 증가하여 증가하는 경향은 보였으나 그 비율이 낮았다. 이것은 선행연구에서 콩단백질은 arginine 외에 이소플라본도 포함하고 있기 때문으로 사료된다. 그러나 이소플라본이 거의 없는 콩단백질의 경우 대조군과 차이가 없는 것 (0.102 ± 0.011 g/cm<sup>2</sup>)으로 보고<sup>15)</sup>하였다. 3주 째 척추 골무기질 함량은 대조군이 0.194 ± 0.03 g인 반면 arginine 첨가군은 0.238 ± 0.02 g으로 유의적으로 높았다. 체중은 골밀도와 함량에 매우 큰 영향을 미치므로<sup>38)</sup> 체중 당 척추 골밀도를 비교한 결과 대조군은 0.60 ± 0.044 g/cm<sup>2</sup>, arginine 첨가군은 0.60 ± 0.051 g/cm<sup>2</sup>로 차이가 없었다. 그러나 체중 당 척추골밀도 함량은 arginine 첨가군이 높은 경향을 보여 여전히 척추 골 함량에는 arginine이 유리한 것으로 사료된다.

Arginine 첨가군에서 3주째의 대퇴 골밀도와 대퇴 골함량은 arginine 첨가군에서 유의적인 증가를 나타내었다 (Table 6). 이것은 선행연구에서 casein과 콩단백질군을 비교하였을 때 3주째에 대퇴 골밀도와 대퇴 골함량은 유의적인 차이가 없었으나 체중 당 비교 시 대퇴골함량이 높았다고 하였는데<sup>15)</sup> 본 연구에서는 대퇴골밀도와 골함량이 arginine 첨가군이 대조군에 비하여 유의적으로 높았다.

### 6주째의 척추 및 대퇴부의 골밀도와 골무기질 함량

6주째에 척추 골밀도는 통계적인 유의성은 없었으나 높은 경향을 보였고, 척추 골함량은 유의적인 증가를 나타내었다

**Table 8.** Femur BMD and BMC of rats fed experimental diets at 6 week

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
FBMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.171 ± 0.006 <sup>1)</sup>	0.181 ± 0.004	** <sup>2)</sup>
FBMC (g)	0.287 ± 0.014	0.307 ± 0.010	* <sup>3)</sup>
FBMD/wt (kg)	0.8 ± 0.027	0.8 ± 0.027	*
FBMC/wt (kg)	1.3 ± 0.043	1.4 ± 0.100	*

<sup>1)</sup> Mean ± SD  
<sup>2)</sup> \*\*: p < 0.01  
<sup>3)</sup> \*: p < 0.05

**Table 9.** Spine BMD and BMC of rats fed experimental diets at 9 week

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
SBMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.141 ± 0.008 <sup>1)</sup>	0.146 ± 0.080	NS <sup>2)</sup>
SBMC (g)	0.447 ± 0.060	0.432 ± 0.040	NS
SBMD/wt (kg)	0.6 ± 0.028	0.6 ± 0.038	NS
SBMC/wt (kg)	1.8 ± 0.054	1.8 ± 0.200	NS

<sup>1)</sup> Mean ± SD  
<sup>2)</sup> NS: Not significantly different at p < 0.05

(Table 7). 이것은 선행연구에서<sup>21)</sup> 콩단백질 섭취 시 6주 짜에 척추의 골밀도와 골함량이 유의적으로 증가하였다고 보고한 연구결과와 일치하는 경향을 보였는데, 선행연구에서 성장기 암컷 쥐에서 casein군과 콩단백질군은 각각 0.126 ± 0.002, 0.132 ± 0.001으로 콩단백질군이 4.8% 증가하였고<sup>15)</sup> 본 연구에서는 대조군과 arginine 첨가군이 각각 0.126 ± 0.006 g/cm<sup>2</sup>, 0.132 ± 0.005 g/cm<sup>2</sup>로 arginine 첨가군이 4.2% 증가하였다.

6주째의 대퇴 골밀도와 골함량은 arginine 첨가군에서 모두 유의적인 증가를 나타내었다 (Table 8). 이것은 선행 연구에서 콩단백질의 섭취 시 6주째 체중당 대퇴골밀도는 높았는데 본 연구에서는 대퇴골밀도와 대퇴 골함량 및 체중당 대퇴골밀도와 골함량이 모두 arginine 첨가군이 유의적으로 높았다. 성호르몬의 분비 변화는 생체 내에서 골격대사와 밀접한 관계를 가지며, 성장기의 골성숙과 나이가 증가함에 따라 일어나는 골소실 방지에 매우 중요한 역할을 하고 있다.<sup>39)</sup> 에스트로겐의 정확한 작용은 아직 규명되어 있지 않지만 부갑상선 호르몬 작용을 억제하고, calcitonin의 작용을 촉진하며 비타민 D의 활성형인 1,25-(OH)<sub>2</sub>-비타민 D의 합성에 관여하여 간접적으로 골 용해량을 감소시키고 칼슘평형을 개선시키는 것으로 추측되고 있다.<sup>40)</sup>

**9주째의 척추 및 대퇴부의 골밀도와 골무기질 함량**

성호르몬 분비가 왕성한 9주째에는 척추 골밀도와 골함량 모두 대조군과 arginine 첨가군 모두에서 유의적인 차이가 없었다. 3주째와 6주째와 다르게 9주째에는 (Table 9) 대조

**Table 10.** Femur BMD and BMC of rats fed experimental diets at 9 week

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
FBMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.1957 ± 0.007 <sup>1)</sup>	0.2055 ± 0.007	* <sup>2)</sup>
FBMC (g)	0.360 ± 0.087	0.3737 ± 0.018	NS <sup>3)</sup>
FBMD/wt (kg)	0.8 ± 0.017	0.8 ± 0.038	NS
FBMC/wt (kg)	1.5 ± 0.040	1.5 ± 0.100	NS

<sup>1)</sup> Mean ± SD  
<sup>2)</sup> \*: p < 0.05  
<sup>3)</sup> NS: Not significantly different at p < 0.05

군과 arginine 첨가군 사이에 척추 골밀도 및 골함량에 차이가 없는 것은 골대사에 유리하게 작용하는 에스트로겐이 안정적으로 분비되고 있는 시기인 것이 한 가지 요인으로 작용하였을 것으로 생각되나 그 명확한 기전은 향후 연구에서 규명되어야겠다. 따라서 성 성숙이 되어 estrogen의 분비가 왕성하여 arginine의 효과가 상쇄 될 수 있다고 사료되므로 수컷을 대상으로 arginine을 첨가한 연구가 추후 요망된다.

9주째의 대퇴골밀도는 arginine 첨가군이 유의적으로 높았다. 이것은 이소플라본이 풍부한 콩단백질 섭취 시 9주째 대퇴 골밀도가 높은 경향을 보였다고 보고한 선행연구와<sup>15)</sup> 일치한다. 그러나 대퇴 골함량은 유의적인 차이가 없었다.

결론적으로 성장기 암컷 쥐에서 arginine 첨가 시 척추골밀도는 3주째와 6주째에 유의적으로 높았고, 대퇴 골밀도는 3, 6, 9주째 모두 유의적으로 높아 arginine 첨가식은 성장기 쥐에서 골 형성에 유리하였다. 또한 arginine 첨가는 성장호르몬의 분비를 촉진 시켜 골함량 향상에 더 유리한지 추후 연구가 요망된다. 또한 척추의 골절은 연령이 증가하면서 완만한 증가를 보이는데 반하여 대퇴골의 골절은 폐경까지는 서서히 증가하다가 그 때 이후로는 기하급수적으로 증가한다고 보고되었다.<sup>41)</sup> 따라서 폐경 후 대퇴부의 골밀도 감소율이 급속히 증가하므로 폐경 여성에서 arginine의 첨가가 대퇴 골밀도 소실 지연에 향상에 도움이 되는지 추후 연구가 요망된다.

**요약 및 결론**

성장기 암컷 흰쥐에서 arginine 첨가가 골격대사에 미치는 영향에 대한 결과를 아래와 같이 요약하였다.

- 1) 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이효율은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다.
- 2) 혈청 칼슘과 인의 농도는 arginine군과 대조군 사이에 유의적인 차이가 없었으며, 요 중 칼슘 배설량은 arginine군이 유의적으로 낮았다.
- 3) Arginine군은 대조군에 비하여 척추골밀도가 3주는

높은 경향을 보였고, 6주에 유의적으로 높았고 9주째는 통계적 유의성이 없었다.

4) Arginine군은 대조군에 비하여 척추 골함량은 3주째와 6주째 유의적으로 높았고 9주는 높았으나 통계적 유의성은 없었다.

5) Arginine군은 대조군에 비하여 대퇴골밀도는 3주, 6주, 9주째 모두 유의적으로 높았다.

6) Arginine군은 대조군에 비하여 대퇴골함량은 3주, 6주째 유의적으로 높았으나 9주째는 유의적인 차이가 없었다.

결론적으로, arginine 첨가식은 성장기의 암컷 흰쥐에서 척추와 대퇴골 형성에 유익한 것으로 나타나서 arginine이 풍부한 식품의 섭취는 최대 골밀도 형성에 유익할 것으로 사료된다. 그러나 생리주기 별로 골격부위에 따라 다르게 나타나 성호르몬 분비가 다른 성장기 수컷에서나 난소절제 쥐에서 등 다른 생리적 모델에서 연구가 요망되며 arginine이 골밀도에 유리한 이유로 관련 호르몬 및 골대사 지표에 대한 추후 연구가 요망된다.

#### ■ 감사의 글

본 연구를 위하여 casein을 공급해 주신 (주)매일 유업에 감사를 드립니다.

#### Literature cited

- Zubik L, Meydani M. Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (6): 1459-1465
- 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* 2003; 78 (1): 123-130
- 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* 1996; 11: s228 (Abstr)
- Dalais FS, Rice GE, Wahlqvist ML, Grehan M, Murkies AL, Medley G, Ayton R, Strauss BJ. Effects of dietary phytoestrogens in postmenopausal women. *Climacteric* 1998; 1: 124-129
- Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW Jr. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (suppl): 1375S-1379S
- Atkinson C, Compston JE, 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* 2004; 79 (2): 326-333
- Song TT, Hendrich S, Murphy PA. Estrogenic activity of glycitein, a soy isoflavone. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 1607-1610
- Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized osteoporosis. *J Nutr* 1996; 126: 161-167
- Arjmandi BH, Birnbaum R, Goyal NV, Getlinger MJ, Juma S, Alekel L, Hasler CM, Drum ML, Hollos BW, Kukreja SC. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian hormone-deficient rats is related to its isoflavone content. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1364-1368
- Cooper C, Campion G, Melton LJ. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporosis Int* 1992; 2: 285-289
- Dwyer JT, Goldin BR, Saul N, Gualtieri L, Barakat S, Adlercreutz H. Tofu and soy drinks contain phytoestrogens. *J Am Diet Assoc* 1994; 94: 739-743
- Ho SC. Soy intake and the maintenance of peak bone mass in Hong Kong Chinese women. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1363-1369
- Setchell KDR, Borriello SP, Hulme P, Axelson M. Nonsteroidal estrogens of dietary origin: Possible roles in hormone dependent disease. *Am J Clin Nutr* 1984; 40: 569-578
- Choi MJ. Effects of soy protein on bone mineral content and bone mineral density in growing male rats. *Korean J Nutr* 2002; 35 (4): 409-413
- Choi MJ, Jo HJ. Effects of soy protein and isoflavones on bone mineral density in growing female rats. *Korean J Nutr* 2003; 36 (4): 359-367
- 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* 1995; 10: 1057-1067
- Monson JP, Arake WM, Carroll PV, Weaver JU, Rodriguez-Arnao J, Savage MO. Influence of growth hormone on accretion of bone mass. *Horm Res* 2002; 58 (Suppl) 1: 52s-56s
- Attie KM. The importance of growth hormone replacement therapy for bone mass in young adults with growth hormone deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13 (suppl): 1011-1021
- Nass R, Pezzoli SS, Chapman IM, Patrie J, Hintz RL, Hartman ML, Thorner MO. IGF-I does not affect the net increase in GH release in response to arginine. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283 (4): E702-710.
- Dean HJ, Kellett JG, Bala RM. The effect of growth hormone treatment on somatomedin levels in growth hormone deficient children. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55: 1167-1173
- Choi MJ, Jo HJ. Effects of Soy and Isoflavones on Bone Metabolism in Growing Female Rats. *Korean J Nutr* 2003; 36 (6): 549-558.
- Kim KL, Kim WY. The effect of soy protein and casein on serum lipid, amino acid. *Korean J Nutr* 1983; 17: 309-310
- Heys SD, Gardner E. Nutrients and the surgical patient: current and potential therapeutic applications to clinical practice. *J R Coll Surg Edinb* 1999; 44: 283-293
- Newsholme EA, Leech AR. Biochemistry for the medical sciences. New York: Wiley & Sons, 1983. Windmueller HG, Spaeth AE. Source and fate of circulating citrulline. *Am J Physiol* 1981; 241: E473-480
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents. *J Nutr* 1993; 123: 1939-1951
- Zak B, Epstein E, Baginski ES. Aphthalein responding to alkaline earth ions and analytical applications. *Ann Clin Laboratory Sci*

- 1975; 5: 195-215
- 27) Daly JA, Ertings HG. Direct method for determine inorganic phosphate in serum with the centrifichem. *Clin Chem* 1972; 18: 263-265
- 28) Mituka BM, Rawnsley HN. Clinical biochemical and hematological reference value in normal experimental animals and normal humans. 2nd edition, Masson, New York; 1987. p.160
- 29) Choi MJ, Jung SH. The effects of dietary protein source and sulfur amino acid content on bone metabolism in growing rats. *Korean J Nutr* 2004; 37(2): 100-107
- 30) Choi MG, Lee YS, Sung JJ. Effects of Caffeine Intake on Calcium Utilization in Rats of Different Age and Sex. *Korean J Nutr* 1997; 30(8): 911-919
- 31) Funaba 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* 1990; 36: 559-567
- 32) Calvo MS, Bell RR, Forbes RM. Effect of protein-induced calciuria on calcium metabolism and bone status in adult rats. *J Nutr* 1982; 112: 1401-1409
- 33) Whiting SJ, McNally ME. Calciuric effect of diets high in soy, beef or lactalbumin protein in the rat. *Nut Rep Intl* 1989; 40: 199-205
- 34) 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* 2002; 132(9): 2605-2608
- 35) Zemel MB. Calcium utilization: effect of varying level and source of dietary protein. *Am J Clin Nutr* 1988; 48(3): 880s-883s
- 36) Linkswiler HM, Zemel MB, Hegsted M, Schuette S. Protein-induced hypercalciuria. *Fed Proc* 1981; 40: 2429-2433
- 37) Schuette SA, Hegsted M, Zemel MB, Linkswiler HM. Renal acid, urinary cyclic AMP, and hydroxyproline excretion as affected by level of protein, sulfur amino acid, and phosphorus intake. *J Nutr* 1981; 111: 2106-2116
- 38) Rico H, Amo C, Revilla M, Arribas I, Gonzales-Rida J, Villa LF, Rodriguez-Puyol M. Etidrinat versus Clodronate in the prevention of postovariectomy bone loss: An experimental study in rats. An experimental study in rats. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12: 301-304
- 39) Im SK, Jung HC, Lee MK, Kim HM, Lee HC, Hu GB. Risk factor of osteopenia in Korean women. *J Korean Soc Internal Med* 1976; 34: 444-451
- 40) Civitelli R, Gonnelli S, Zacchei F. Bone turnover in postmenopausal osteoporosis: 12 year study. *Br Med J* 303: 961-964, 1991
- 41) Kang MI. Editorial: Prevalence and risk factors of the osteoporosis of perimenopausal women. *Kor Med J* 2002; 62: 103