

성장기 암컷 쥐에서 Arginine 첨가 식이가 골 대사 지표 및 호르몬에 미치는 영향*

최 미 자[§]

계명대학교 식품영양학과

Effects of Arginine Supplementation on Bone Markers and Hormones in Growing Female Rats*

Choi, Mi-Ja[§]

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

ABSTRACT

An important related question is whether arginine has influence bone metabolism. The effect of arginine supplements on bone markers and related hormones were studied in young female Sprague-Dawley rats fed either an arginine supplemented diet or control diet. Twenty four rats (body weight 83 ± 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 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, estrogen, insulin-like growth factor-1 (IGF-1), parathyroid hormone (PTH) and calcitonin were analyzed using radioimmunoassay kits. The weight gain and mean food intake were not affected regardless of diets. The rats fed arginine-supplemented diet had not significantly different in ALP, osteocalcin, crosslinks value, PTH, estradiol, and IGF-1 compared to those fed casein diet group. The arginine-supplemented group had significantly higher growth hormone and calcitonin than casein group. This study suggests that arginine is beneficial for bone formation in growing female rats. Therefore exposure to diet which rich in arginine early in life may have benefits for bone formation and osteoporosis prevention. (*Korean J Nutr* 2007; 40(4): 320~326)

KEY WORDS : arginine, growth hormone, IGF-1, PTH, bone markers, growing female rat.

서 론

최근 콩 단백질은 풍부한 isoflavones¹⁾과 아미노산 조성의 차이로²⁾ 골밀도 향상이나 골 감소 지연에 매우 유리하다는 보고가 많다. 그러나 성장기를 대상으로 콩 단백질이 골 대사에 미치는 연구는 상대적으로 매우 부족한데 그 이유는 콩의 isoflavones가 약한 estrogen 성질을 가져 여성호르몬 분비가 거의 없는 폐경기 여성에게 매우 유리할 수 있다는 이론³⁾으로 주로 폐경여성을 대상으로 연구가

이루어졌기 때문이다.⁴⁾

최근 콩 단백질이 성장 호르몬의 분비를 증가시킬지도 모른다고 추론한 선행 연구⁵⁾가 있었고, Monson 등⁶⁾은 성장 호르몬이 아동기의 골 질량 획득의 주된 인자로서 최대 골밀도 형성과 마지막 신장 결정에 중요한 인자로 작용하며 성인기 동안에는 bone remodeling을 결정하여 골밀도 유지에 영향을 미친다고 하였다. Attie 등⁷⁾도 성장 호르몬은 아동기의 골격성장과 최대 골밀도 형성 및 성인기의 골 질량 보유와 감소예방에 중요한 인자라고 지적하였다. Nass 등⁸⁾은 아미노산 중 arginine은 성장 호르몬 분비를 자극한다고 보고한 바 있고, arginine은 성장 호르몬의 분비를 촉진시키는 물질로 성장 호르몬 결핍성 왜소증 진단을 위해 사용된다.⁹⁾

Arginine이 성장 호르몬의 분비를 촉진시키는 기전에 대해서 아직 확실히 규명되지는 않았으나 arginine을 투여함

접수일 : 2007년 3월 22일

채택일 : 2007년 4월 26일

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

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : choimj@kmu.ac.kr

으로서 somatostatin 분비가 억제되어 성장 호르몬의 분비가 증가한다고 보고되었다.⁵⁹ 성장 호르몬은 연령증가에 따른 여러 신체기능의 저하와 관련이 있으며 골격성장이나 골다공증의 병인과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 성장 호르몬 결핍 소아에서 골밀도가 감소되고 성장 호르몬 치료 시 골밀도가 증가한다고 보고되었다.^{6,7} 그리고 성장 호르몬 감소 시 골 교체 감소와 골밀도 감소가 일어나며, 성장 호르몬의 지속적인 치료 시 골 형성이 증가하고 골밀도가 증가한다고 하였다.¹⁰ 이 외에도 성장 호르몬 결핍증 어린이,¹¹ 청소년¹² 청년, 성인을 대상으로 한 여러 연구^{13,14}에서 성장 호르몬 결핍증은 골절 위험의 증가나 골밀도 감소와 관련이 있으며 성장 호르몬 치료 시 이러한 골절 위험의 감소, 골 형성 증가 또는 골밀도 증가의 효과가 있었다. Sugimoto 등¹⁵은 골다공증 여성 노인의 경우에도 성장 호르몬 투여는 골밀도 감소를 줄여 폐경 후 골 질량 유지에 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

성장 호르몬이 골 대사에 미치는 기전으로 골 조직에 직접 작용하여 조골세포의 수를 증가 시키거나,¹⁶ 조골세포의 증식과 분화를 자극한다는 보고가 있다.¹⁷ Barnard¹⁸는 clonal osteoblast like cell에서 성장호르몬 수용체가 존재하는 것을 증명하였고 이 수용체에 의해 성장 호르몬에 대한 조골세포의 증식이 증가된다고 하였다. 또한 인체 조골세포 배양에 성장호르몬을 투여하면 ALP 생산과 osteocalcin 합성이 증가된다고 하였다.¹⁷ 성장 호르몬은 칼슘대사에도 관여를 하는데 성장호르몬은 신장에서 1- α -hydroxylase 활성을 자극하여 25-(OH)-vitamin D를 1,25-(OH)₂-vitamin D로 전환시켜 장관에서 칼슘흡수를 촉진시킨다¹⁹고 한다.

최근 선행연구에서 성장기 쥐에게 콩 단백질을 섭취 시킨 경우 대조군인 casein군 보다 혈중 성장호르몬의 농도가 높았으며, 콩 단백질의 arginine 함량은 casein의 arginine 함량 보다 약 2.3배 높았다.²⁰ 성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 한 Kim과 Kim의 연구²¹에서는 casein군보다 콩 단백질 군에서 혈청 arginine 농도가 높았다고 보고하였다. 따라서 이들 연구를 종합 해 보면 콩 단백질 섭취 시 성장호르몬의 분비 증가 효과는 콩 단백질이 casein에 비하여 풍부한 arginine을 가진 아미노산 조성의 차이에서 기인된 것으로 추론할 수 있겠으나 실제 arginine의 양을 통제하거나 첨가하여 검증한 연구는 아직 없다. 또한 혈중 칼슘 농도와 뼈의 칼슘 함량은 체내 여러 가지 호르몬의 영향을 받게 되는데, 부갑상선 호르몬, calcitonin, 성 호르몬에 영향을 받으며 성장 호르몬도 간접적으로 영향을 미친다고 보고되었다.²² 따라서 성장기 암컷 쥐를 대상으로

arginine의 단독효과를 알아보기 위하여 casein 식이에 선행연구에서²⁰ 사용한 콩 단백질이 함유한 arginine 량만큼 첨가하여 골 형성 및 골 용출 지표 및 성장호르몬, 부갑상선 호르몬, calcitonin, estradiol, 인슐린유사 성장인자 (insulin-like growth factor 1; IGF-1) 농도에 미치는 영향을 알아보려고 한다.

연구방법

실험동물 및 실험식이

Sprague-Dawley 암컷 쥐 (60 ± 5 g)를 대한 동물사육 센터로부터 분양받아 1주일간의 적응기간 동안 고형사료 (rat chow, 삼양사)로 사육한 후 난괴법을 이용하여 각 군당 12마리씩 (83 ± 5 g) 2군으로 나누어 9주간 실험 식이를 공급하였다. 실험동물은 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 첨가 군으로 나누었고 arginine 첨가군의 arginine 첨가량은 선행연구에서 사용한 콩 단백질이 함유하고 있는 arginine 함량과 같은 량으로 casein군에 첨가하였다. 본 연구에서 사용한 casein의 arginine 함량은 3.4 g/100g이었고 선행연구에서 사용한 soy protein의 arginine 함량은 7.6 g/100g로서 실험동물 Sprague-Dawley 암컷 쥐가 하루에 평균 10~15g의 식이 섭취량을 추정하여 arginine량을 첨가하였다. 식이의 기본 조성은 AIN-93G에 기준하여 조제하였다.²³ 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 ether 마취하여 복부를 절개하여 대동맥에서 혈액을 채취 하였으며, 채취한 혈액은 상온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 -70°C에서 냉동 보관하였다.

생화학적 지표 및 호르몬 분석

골 형성 측정을 위하여 혈청 alkaline phosphatase (ALP)

의 측정에는 TECHNICONCHENTM SYSTEM을 이용하여 자동 분석기 (automatic chemical analyzer)로 측정하였고, osteocalcin의 측정은 one-step solid phase를 이용한 competitive radioimmuno-assay²⁴⁾에 기초한 OSTEOCALCIN MYRIA kit (Techno genetics, Italia)으로 radioimmuno-assay를 한 후²⁵⁾ gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정하였다. 골 용출 측정은 요 중 deoxypyridinoline (DPD), creatinine, crosslinks 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. 골대사와 관련된 호르몬의 측정으로 calcitonin, PTH, IGF-1, 성장 호르몬 분석은 시험관에 부착된 항체와 125-I로 표식된 항체를 함께 사용하여 항원과 항체 간에 'sandwich'를 형성하게 하는 non-competitive radioimmuno-assay²⁶⁾을 이용한 DSL-7700 ACTIVETM Calcitonin IRMA kit, DSL-8000 ACTIVETM Intact PTH IRMA kit (Diagnostic System Laboratories Inc, USA), HGH IRMA CT kit (Radim, Roma, Italia), IGF-1 IMRA kit (Radim, Roma, Italia)로 radioimmuno-assay를 한 후²⁷⁾ gamma-counter를 이용하여 항원 항체 결합 정도를 측정하였다. 혈중 estrogen 농도 측정을 위하여 Coat-A-Count estradiol kit (Diagnostic System Laboratories, Inc. USA)으로 이용하여 radioimmuno-assay 한 후 gamma count를 이용하여 분석하였다.

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

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

¹⁾Casein, Maeil Dairy Industry Co. Ltd. 480 Gagok-Ri, Jinwi-Myun, Pyung taek-city, Kyunggi-Do, Korea

²⁾AIN-93G-MX, Teklad Test Diets, Medison, Wisconsin, USA

³⁾AIN-93G-VM, Teklad Test Diets, Medison, Wisconsin, USA

⁴⁾L-Arginine: Sigma A8094, Japan

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

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.

결 과

체중과 식이섭취량

Table 2에서 9주 동안 실험 식이를 섭취한 쥐의 체중을 나타내었다. 이들 각 군은 실험 시작 시에 체중에 유의적인 차이가 없었는데 9주 후에도 체중 증가량은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 또한, Table 2에 식이 섭취량과 식이효율을 나타내었는데 평균 일일 식이 섭취량은 두군 모두 각각 12.5 g/day로서 거의 같았고 식이효율도 두군 간에 유의적인 차이가 없었다.

골 형성 및 골 용출 지표

성장기 쥐에서 arginine 첨가식이 골 형성 지표인 ALP 농도와 osteocalcin 농도에 미치는 영향을 Table 3에 나타내었다. ALP 농도는 대조군이 49.6 ± 22.2 U/l, arginine 첨가군이 45.3 ± 21.1 U/l로 두 군 간에 통계적으로 유의적인 차이가 없었다. 혈중 osteocalcin 농도는 대조군이 4.12 ± 0.76 ng/ml, arginine 첨가군이 4.57 ± 0.39 ng/ml로 두 군 간에 유의적인 차이가 없었다.

Arginine 첨가 식이가 골 용출 지표인 DPD의 cross-

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)	$161.7 \pm 12.5^{1)}$	162.8 ± 11.6	NS ²⁾
Mean food intake (g/day)	12.5 ± 0.4	12.5 ± 0.6	NS
FER ³⁾	0.248 ± 0.01	0.251 ± 0.03	NS

¹⁾Mean \pm SD

²⁾Not significantly different at $p < 0.05$

³⁾Food intake efficiency ration (FER)

Table 3. Serum ALP and osteocalcin of rats fed experimental diets

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
ALP (U/l)	$49.6 \pm 22.2^{1)}$	45.3 ± 21.1	NS ²⁾
Osteocalcin (ng/ml)	4.12 ± 0.76	4.57 ± 0.39	NS

¹⁾Mean \pm SD

²⁾Not significantly different at $p < 0.05$

link value에 미치는 효과를 Table 4에 나타내었는데 crosslink value는 대조군과 arginine 첨가군 간에 유의적인 차이가 없었다.

골 대사 관련 호르몬에 미치는 영향

Arginine 첨가 식이가 혈중 부갑상선호르몬 (parathyroid hormone; PTH), calcitonin, estradiol 농도에 미치는 효과를 Table 5에 제시하였다. 혈중 PTH는 각각 casein군 3.85 pg/ml, arginine 첨가군 5.73 pg/ml로 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

혈중 calcitonin 농도는 각각 대조군 1.31 pg/ml, arginine 첨가군 1.66 pg/ml로 arginine 첨가군에서 유의적으로 높았다.

혈청 estradiol의 농도는 대조군이 156.28 ng/ml, arginine 첨가군이 218.20 ng/ml로 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

성장기 쥐에서 casein 식이에 arginine을 첨가하여 성장 호르몬 분비와 인슐린 유사 성장인자 (Insulin-like Growth Factor-1; IGF-1) 농도에 미치는 효과를 Table 6에 나

타내었다. 혈중 성장호르몬의 농도는 arginine 첨가 군이 0.179 ng/ml로 대조군 0.169 ng/ml에 비하여 유의적으로 높았다. Ar혈중 인슐린 유사 성장인자 (Insulin-like Growth Factor-1; IGF-1) 농도는 대조군과 arginine 첨가군 간에 통계적으로 유의적인 차이는 없었다.

고 찰

Arginine 첨가식이 성장기 쥐에서 체중에는 영향을 미치지 않았고, arginine 첨가식이 혈중 ALP 농도에 미치는 영향에서도 대조군과 arginine 첨가군 간에 통계적으로 유의적인 차이가 없었는데 이것은 콩 단백질로 섭취시킨 경우 ALP 농도가 약간 높은 경향을 보였으나 통계적인 유의성이 없다고 보고한 것²⁸⁾과 비슷한 결과이다. 혈중 osteocalcin 농도도 두 군 간에 유의적인 차이가 없었는데 이것은 성장기 쥐에서 casein에 비하여 arginine 함량이 2.3배 높은 콩 단백질로 섭취시킨 경우 혈중 osteocalcin 농도는 유의적인 차이가 없었다는 선행연구 결과²⁹⁾와 일치하였다. Sprague-Dawley 종 실험동물 쥐의 혈중 osteocalcin 농도에 대한 연구를 보면, Murakami 등³⁰⁾은 4주 된 SD종 수컷 흰쥐의 평균 osteocalcin 농도는 30.8 ng/ml 보고 하였고, Hauschka 등³¹⁾은 5개월 된 흰쥐의 osteocalcin 농도는 17 ng/ml로 보고하였다. 그리고 본 연구의 성장기 쥐와 연령이 비슷한 SD종 13주령의 암컷 흰쥐의 평균 osteocalcin 농도는 5~13 ng/ml로 보고하였는데³²⁾ 본 연구결과는 평균 4.3 ng/ml으로 약간 낮은 농도를 나타내었다. 비록 혈중 osteocalcin은 조골세포에서 분비되므로 골 형성의 지표로 이용되지만 이것은 골 용출과 매우 상관성이 높아 osteocalcin은 골회전율이 높을 때 증가한다.³³⁾

Arginine 첨가 식이가 골 용출 지표인 DPD의 crosslink value에 미치는 효과에서 crosslink value는 대조군과 arginine 첨가군 간에 유의적인 차이가 없었다. 이것은 선행연구에서 성장기 쥐를 대상으로 연구하였을 때 arginine이 풍부한 콩 단백질 군과 casein 식이군 간에 crosslink value는 차이가 없다고 보고한 것과²⁹⁾ 일치한다. 따라서 arginine 첨가식은 골 형성 지표와 골 용출 지표에 유의적인 영향을 미치지 않았다.

PTH는 뼈의 무기질 분해속도를 증가시켜 혈중으로 칼슘과 인을 유리하게 하고, 신장 사구체에서 여과되는 칼슘 재흡수를 증진시켜 혈중 칼슘 농도를 증가시키는 동시에, 25-(OH) vitamin D-1- α -hydroxylase를 활성화시켜 1,25-(OH)₂-vitamin D의 생성을 증가시키는 방법으로 장에서 칼슘 흡수를 증가시킨다. 전체적으로 보면 PTH는 혈중 칼

Table 4. Creatinine, DPD and crosslink value of rats fed experimental diets

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
Creatinine (nM)	3.1 ± 1.6 ¹⁾	3.8 ± 2.8	NS ²⁾
DPD (mM)	474.9 ± 79.7	460.1 ± 197.0	NS
Crosslink value (nM/mM)	175.9 ± 58.1	218.2 ± 118.3	NS

¹⁾Mean ± SD

²⁾Not significantly different at p < 0.05

Table 5. The concentrations of PTH, calcitonin and estradiol of rats

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
PTH (pg/ml)	3.85 ± 1.9 ¹⁾	5.73 ± 3.3	NS ²⁾
Calcitonin (pg/ml)	1.31 ± 0.1	1.66 ± 0.3	* ³⁾
Estradiol (pg/ml)	156.28 ± 54.3	218.20 ± 61.1	NS

¹⁾Mean ± SD

²⁾Not significantly different at p < 0.05

³⁾p < 0.05

Table 6. Growth hormone and IGF-1 of rats fed experimental diets

Variables	Control	Arg supplementation	Significance
GH (ng/ml)	0.169 ± 0.002 ¹⁾	0.179 ± 0.005	** ²⁾
IGF-1 (ng/ml)	798.3 ± 90.9	847.7 ± 190.5	NS ³⁾

¹⁾Mean ± SD

²⁾p < 0.05

³⁾Not significantly different at p < 0.05

습농도를 높이는 호르몬이다. 혈중 PTH는 각각 casein군 3.85 pg/ml, arginine군 5.73 pg/ml로 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 혈중 쥐의 PTH 농도는 Choi 등²⁹⁾의 성장기의 암컷 쥐의 농도와 연구결과보다 약간 낮게 나타났다. 그러나 Kalu 등³⁴⁾은 Fischer종 수컷 흰쥐를 대상으로 한 실험에서 콩 단백질이 혈청 PTH 수준을 낮추어 주었다고 보고하였는데 이 연구는 늙은 쥐를 모델로 연구하였다. 즉 casein 식이 섭취 시 PTH 농도는 6개월이 되었을 때 12.2 pg/ml이던 것이 12개월부터 크게 증가하여 30개월이 되었을 때는 311.62 pg/ml로 연령증가와 함께 상당히 증가하였으나 콩 단백질을 섭취한 실험 군에서는 30개월이 되었을 때의 PTH농도가 103.8 pg/ml로 casein 식이에 비해 매우 낮았다고 보고하였다. 따라서 Kalu 등³⁴⁾은 콩 단백질 식이는 연령 증가로 인한 부갑상선기능항진(hyperparathyroidism)을 감소시켜 가령으로 인한 골 손실을 부분적으로 예방해 줄 수 있지만 가령으로 인한 골 손실을 완전히 막아 주지는 못한다고 제안하였다. Mei 등³⁵⁾은 폐경 후 중국여성을 대상으로 실시한 조사에서 isoflavones 섭취량이 높은 군의 혈청 PTH 농도는 19.83 pg/ml이었으나 isoflavones 섭취량이 낮은 군의 혈청 PTH 농도는 26.56 pg/ml으로 isoflavones 섭취량이 높은 군의 혈청 PTH 농도가 유의적으로 낮게 나타나 isoflavones가 estrogen 부족으로 인한 부갑상선 기능항진을 역전시켜 폐경으로 인한 골 교체율의 증가를 낮추어 줄 수 있다고 제안하였다. 이와 같이 콩 단백질이나 isoflavones가 PTH와 같은 호르몬 조절을 통해 폐경이나 노화로 인한 골 용출을 지연시킬 수 있음을 제안한 선행연구^{34,35)}들이 보고되었다. 이와는 달리 성장기 동물을 대상으로 한 경우에는 콩 단백질이나 isoflavones가 골 형성이나 골 용출을 조절하는 호르몬에 미치는 효과에 대한 연구보고가 거의 없다.

혈중 calcitonin 농도는 각각 casein군 1.308 pg/ml, arginine 첨가군 1.655 pg/ml로 arginine 첨가 군에서 유의적으로 높았는데 이것은 유의적이지 않았으나 혈중 PTH 농도가 arginine 첨가 군이 더 높았으므로 calcitonin 농도가 더 높은 것으로 사료된다. 혈중 쥐의 calcitonin 농도는 Choi 등²⁹⁾의 연구에서 콩 단백질의 섭취 시 유의적인 차이가 없었다고 보고하였는데 이것은 PTH 농도가 거의 비슷하였기 때문으로 사료된다. 그러나 혈중 calcitonin 농도는 선행연구와²⁹⁾ 비슷한 농도를 나타내었다. Calcitonin은 갑상선에서 분비되는 호르몬으로 골 용출을 강력하게 억제하는 호르몬이다. 파골세포 표면에는 calcitonin에 대한 고친화성 수용체가 존재함으로써 이를 통하여 파골세포에 직접 작용하여 파골세포에 의해 야기되는 골 용출을 저해하는 작용

을 하고 골 형성에는 관여하지 않는 것으로 알려져 있다.³⁶⁾ Calcitonin은 갑상선의 부여포세포(parafollicular cell)에서 분비되는 내인성 펩티드 호르몬으로 파골세포에 있는 수용체와 결합하여 파골세포의 성숙과 기능을 억제한다. 이런 내인성 calcitonin의 생리적 효과는 제한적이나 연어의 calcitonin은 골 용출을 억제하여 골밀도를 안정화시키는 약제로 사용되고 있다.³⁷⁾

혈청 estradiol의 농도는 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 성장기의 쥐를 대상으로 혈청 estradiol의 농도를 측정 한 선행연구에서 보고²⁹⁾된 estradiol 농도인 205~283 ng/ml와 비슷한 범위에 있었다. 성 호르몬은 성장기의 골 성숙과 나이가 증가함에 따라 일어나는 골 손실 방지에 매우 중요한 역할을 하고 있다. Estrogen의 정확한 작용은 아직 규명되어 있지 않지만 PTH, calcitonin과 vitamin D의 활성화인 1,25-(OH)₂-vitamin D와의 상호작용에 의해서 간접적으로 뼈의 손실을 방지하는 것으로 추측되고 있다.³⁷⁾ 폐경기 이후 estrogen 분비가 감소하면 PTH에 대한 뼈의 감수성이 증가되어 골 용출 속도가 증가되고 이로 인해 혈중 칼슘 수준이 증가하게 된다. 이처럼 혈중 칼슘 수준이 증가하면 이차적으로 PTH의 분비가 억제되고 이로 인해 신장에서 vitamin D의 활성화 형태인 1,25-(OH)₂-vitamin D의 생성이 감소된다. 따라서 소장에서의 칼슘 흡수가 감소되고 정상 혈중 칼슘수준을 유지하기 위하여 뼈의 칼슘이 용출되어 골밀도가 감소된다.³⁸⁾ Estrogen은 calcitonin 분비를 자극하여 골격대사에 관여하고 있는데, 폐경 후에 estrogen 분비 부족이 calcitonin분비 저하를 초래하고 골 손실량을 더욱 증가시키는 것으로 보고되고 있다.³⁹⁾ 또한 arginine 첨가 군에서 estradiol 농도가 증가되는 경향을 보였으므로 추후 연구가 요망된다.

성장기 쥐에서 casein 식이에 arginine을 첨가하여 성장 호르몬의 분비에 미치는 효과를 본 결과 arginine 첨가 군이 대조군에 비하여 혈중 성장호르몬의 농도가 유의적으로 높았다. 이 결과는 arginine은 성장 호르몬 분비를 자극한다고 보고한 선행연구와,⁹⁾ 성장기 쥐에서 isoflavones가 풍부한 콩 단백질과 casein 식이를 비교한 결과 혈중 성장 호르몬 농도가 casein군에 비하여 콩 단백질 섭취 군이 유의적으로 증가하였다는 보고와²⁹⁾ 유사한 결과를 나타내었다. Arginine이 성장 호르몬의 분비를 촉진시키는 기전에 대해서 아직 확실히 규명되지는 않았으나 somatostatin 분비를 억제시켜 성장 호르몬의 분비가 증가한다고 보고되었다.^{9,30)} 성장 호르몬은 연령증가에 따른 여러 신체기능의 저하와 관련이 있으며 골격성장이나 골다공증의 병인과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 성장 호르몬은 아동기의

골 질량 획득의 주된 인자로 작용하며 아동기의 골격성장과 최대 골밀도 형성 및 성인기의 골 질량 보유와 감소에 방에 중요한 인자로 인정되고 있다.^{6,7)} 성장 호르몬은 골 조직에서 직접적인 작용과 간접적인 작용을 하여 골 대사에 관여한다. Luwinson 등¹⁶⁾은 성장 호르몬이 흰쥐의 골 조직에 직접 작용하여 파골세포의 수를 증가시킨다고 하였다. 따라서 arginine이 골밀도에 유리한 이유로 성장호르몬의 분비를 촉진시켜 유리할 것으로 유추되며 arginine의 첨가량에 따라 그 영향이 다른지 추후 연구가 요망된다.

Arginine 첨가식이 혈중 인슐린 유사 성장인자 (Insulin-like Growth Factor-1; IGF-1) 농도에 미치는 효과를 본 결과 대조군과 arginine 첨가군 간에 통계적으로 유의적인 차이는 없었다. Arginine이 직접 IGF-1 농도에 미치는 선행연구가 없으므로 고찰이 어려우나 사람을 대상으로 IGF-1 농도와 골밀도와의 상관성을 본 결과, 혈중 IGF-1 농도는 골밀도와 매우 유의적인 상관관계가 있었다는 보고⁴⁰⁾와 여성에게만 상관성이 있다는 보고⁴¹⁾가 있다. 그리고 평균 51세 남성을 대상으로 골밀도와 성장호르몬, IGF-1과의 상관관계를 본 결과 골밀도는 성장호르몬은 상관성이 없었고, IGF-1은 유의적인 상관성이 있었다고 보고하였다.^{42,43)} 또한 IGF-1은 영양 상태와 상관성이 있는데 단백질 섭취량이 높을 때,⁴⁴⁾ 감귤류 과일 섭취, 특히 비타민 C 섭취가 많을수록 혈중 IGF-1 농도는 유의적으로 높았다⁴⁵⁾는 보고가 있다.

요약 및 결론

성장기 암컷 흰쥐에서 arginine의 첨가가 골 대사 지표 및 관련 호르몬에 미치는 영향을 알아본 결과 아래와 같이 요약하였다.

- 1) 체중 증가량과 식이 섭취량, 식이 효율은 유의적인 차이가 없었다.
 - 2) 골 형성 지표인 혈청 ALP, osteocalcin 농도는 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.
 - 3) 골 용출 지표인 DPD crosslinks value는 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.
 - 4) 혈중 PTH는 유의적인 차이가 없었으나, calcitonin 농도는 arginine 첨가 군에서 유의적으로 높았다.
 - 5) 혈중 estrogen 농도는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다.
 - 6) 성장호르몬 농도는 arginine을 첨가 군이 유의적으로 높았고, IGF-1 농도는 유의적인 차이는 없었다.
- 결론적으로 성장기의 쥐에서 arginine 첨가식은 성장

호르몬의 분비를 증가시켜 골밀도에 유리한 것으로 사료되었다.

■ 감사의 글

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

Literature cited

- 1) 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* 2000; 72:844-852
- 2) Kerstetter JE, Wall DE, Brien KO, Caseria DM, Insogna KL. Meat and soy protein affect calcium homeostasis in healthy women. *J Nutr* 2006; 136(7): 1890-1895
- 3) Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 897-904
- 4) Zhang X, Shu XO, Li H, Yang G, Li Q, Gao YT, Zheng W. Prospective cohort study of soy food consumption and risk of bone fracture among postmenopausal women. *Archives of Internal Medicine* 2005; 165(16): 1890-1895
- 5) 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
- 6) Monson JP, Arake WM, Carroll PV, Weaver JU, Rodriguez-Armao J, Savage MO. Influence of growth hormone on accretion of bone mass. *Horm Res* 2002; 58 (Suppl 1): 52s-56s
- 7) 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
- 8) 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
- 9) 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
- 10) Ki OH, Kim DY, Yong HI, Woo JT, Kim SW, Yang IM, Kim JW. Changes of bone turnover markers after treatment with growth retardation. *J Korea Soc Endocrinol* 1994; 9: 344-349
- 11) Cowell CT, Woodhead HJ, Broky J. Bone markers and bone mineral density during growth hormone treatment in children with growth hormone deficiency. *Horm Res* 2000; 54 (suppl 1): 44-51
- 12) Lissett CA, Shalet SM. Effects of growth hormone on bone and muscle. *Growth Horm IGF Res* 2000; 10 (Suppl B): 95-101
- 13) Holmes SJ, Shalet SM. Adult growth hormone deficiency and bone mass. *Horm Res* 1996; 45 (Suppl 1): 69-71
- 14) Nilsson AG. Effects of growth hormone replacement therapy on bone markers and bone mineral density in growth hormone deficient adults. *Horm Res* 2000; 54 (Suppl 1): 52-57
- 15) Sugimoto T, Kaji H, Nakaoka D, Yamauchi M, Tano S, Sugishita T, Baylink DJ, Mohan S, Chihara K. Effect of low-dose of recombinant human growth hormone on bone metabolism in elderly wo-

- men with osteoporosis. *Eur J Endocrinol* 2002; 147(3): 339-348
- 16) Lewinson D, Shenzer P, Hochberg Z. Growth hormone involvement in the regulation of tartrate resistant acid phosphatase positive cells that are active in cartilage and bone resorption. *Calcif Tissue Int* 1993; 52: 216-221
 - 17) Kassem M, Blum W, Risteli J. Growth hormone stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 1993; 52: 222-226
 - 18) Barnard R, Ng KW, Martin TJ. Growth hormone receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to growth hormone. *Endocrinology* 1991; 128: 1459-1464
 - 19) Spencer EM, Tobiassen MD. The mechanism of the action of growth hormone on vitamin D metabolism in the rat. *Endocrinology* 1981; 108: 1064-1070
 - 20) Choi MJ, Cho HJ. Effects of soy and isoflavones on bone metabolism in growing female rats. *Korean J Nutr* 2003; 36(6): 549-558
 - 21) Kim KL, Kim WY. The effect of soy protein and casein on serum lipid, amino acid. *Korean J Nutr* 1983; 17: 309-310
 - 22) Hannon R, Blumsohn A, Dehaimi AW, Eastell R. The use of biochemical markers of bone turnover to monitor the skeletal response to hormone replacement therapy. *Bone* 1995; 10(suppl 2): 549s-555s
 - 23) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents. *J Nutr* 1993; 123: 1939-1951
 - 24) Xing S, Cekan SZ, Dicafulusy U. Validation of radioimmunoassay for estradiol-17 isotope dilution-mass spectrometry and a test of radiochemical purity. *Clin Chem Acta* 1983; 135: 189-201
 - 25) Guarnero P, Grimaux M, Seguin P, Delmas P. Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated in vivo and in vitro. *J Bone Min Res* 1994; 9: 692-698
 - 26) Nanda N, Joshi H, Subbarao SK, Sharma VP. Two-site immunoradiometric assay (IRMA): detection, efficiency, and procedural modifications. *J Am Mosq Control Assoc* 1994; 10: 225-227
 - 27) Guarnero P, Grimaux M, Seguin P, Delmas P. Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated in vivo and in vitro. *J Bone Min Res* 1994; 9: 692-698
 - 28) Choi MJ, Jung SH. The effect of dietary source and sulfur amino acid content on bone metabolism in growing rats. *Korean J Nutr* 2004; 37(2): 100-107
 - 29) Choi MJ. Effects of soy and isoflavones on bone markers and hormones in growing male rats. *Korean J Nutr* 2003; 36(5): 452-458
 - 30) Murakami H, Nakamura T, Tsurukami H, Abe M, Barbier A, Suzuke K. Effects of tiludronate on bone mass, structure, and turnover, at the epiphyseal, primary, and secondary spongiosa in the proximal tibia growing rats after sciatic neurectomy. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1355-1364
 - 31) Hauschka PV, Lian JB, Dole DEC, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev* 1989; 69: 990-1047
 - 32) Mathur SR. Effect of protein source and exercise on skeletal health of growing female rats (dissertation). Texas Woman's University; 1998
 - 33) Ezzat S, Melmed S, Endres D, Eyre DR, Signer FR. Biochemical assessment of bone formation and resorption in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 1452-1457
 - 34) Kalu DN, Masoro EJ, Yu BP, Hardin RR, Hollis BW. Modulation of age related hyperparathyroidism and senile bone loss in fischer rats by soy protein and food restriction. *Endocrinology* 1998; 122: 1847-1854
 - 35) 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* 2001; 86(11): 5217-5221
 - 36) Gruber HF, Ivey JL, Baylink DJ. Long term calcitonin therapy in postmenopausal osteoporosis. *Metabolism* 1984; 33: 295-303
 - 37) Komm BS, Terpening CM, Benz DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O'Malley BW, Haussler MR. Estrogen binding, receptor mRNA, and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science* 1998; 241: 81-84
 - 38) Min HK. Treatment of osteoporosis. *J Korean Soc Endocrinol* 1989; 4: 1-5
 - 39) Lely AJ. Growth hormone and aging. *GH & IGF Res* 1999; 9: 117-119
 - 40) Sugimoto T, Nishiyama K, Kuribayashi F, Chihara K. Serum levels of insulin-like growth factor (IGF) I, IGF binding protein (IGFBP)-2 and IGFBP-3 in osteoporotic patients with and without spinal fractures. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1272-1279
 - 41) Barret-Connor E, Goodman-Gruen D. Gender differences in insulin-like growth factor and bone mineral density association in old age: the Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res* 1998; 13(8): 1343-1349
 - 42) Tasha LP Ballard, Jeffrey A Clapper, Bonny L Specker, Teresa L Binkley, Matthew D Vukovich. Effect of protein supplementation during a 6-mo strength and conditioning program on insulin-like growth factor I and markers of bone turnover in young adults. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(6): 1442-1448
 - 43) Krassas GE, Papadopoulou PH, Koliakos G. Growth hormone, insulin growth factor-I, and IGF binding protein-3 axis relationship with bone mineral density among healthy men. *Arch Androl* 2003; 49: 191-199
 - 44) Schurch MA, Rizzoli R, Slosman D, Vadas L, Vergnaud P, Bonjour JP. Protein supplements increase serum insulin-like growth factor-I levels and attenuate proximal femur bone loss in patients with recent hip fracture. *Ann Intern Med* 1998; 128: 801-809
 - 45) Tran CD, Diorio C, Bérubé S, Pollak M, Brisson J. Relation of insulin-like growth factor (IGF) I and IGF-binding protein 3 concentrations with intakes of fruit, vegetables, and antioxidants. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(6): 1518-1526