

## 칼슘 섭취 수준이 성장기 암컷 흰쥐의 최대골질량 형성에 미치는 영향

이연숙<sup>†</sup> · 박미나 · 김은미\*

서울대학교 농가정학과

\*한양대학교 식품영양학과

### Effect of Dietary Calcium Levels on Peak Bone Mass Formation in Growing Female Rats

Yeon-Sook Lee<sup>†</sup>, Mi-Na Park and Eun-Mi Kim\*

Dept. of Home Economics, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

#### Abstract

The present study was designed to examine how Ca intake contributes to the increase of peak bone mass with growing female rats. Weaned rats were fed experimental diets consisting in five levels of Ca; very low(0.1%), low(0.2%), moderate(0.5%), high(1.0%) and very high(1.5%) for 4, 8 and 12 weeks. Bone growth, metabolism and Ca metabolism were determined. As for the rats fed for 4 weeks, the bone weight, length and breaking force and bone metabolism were not significantly affected by dietary Ca levels, whereas the current intakes of Ca were observed to have significantly affected the rats fed for 8 or 12 weeks with regard to the bone weight, length and breaking force and bone metabolism. The bone ash and Ca contents of the rats were affected by dietary Ca levels for the total period of feeding. It is suggested that dietary Ca itself affected the mineralization process either during the growth or later, although the resulting bone mass is not a linear function of dietary Ca content.

**Key words:** calcium intake, peak bone mass, bone metabolism

#### 서 론

골격은 유아, 아동기, 사춘기 동안 발달하고 사춘기 후반에 성숙에 도달한다. 골격량은 생후 1년 동안 2배가 되고, 사춘기 동안 성인 골격량의 37%가 축적되며, 30세경에 최대 골질량에 도달한다고 하였다(1-3). 그리고 갱년기 이후에 골격량이 서서히 감소하여, 폐경 후 5년 이내에 최대 감소가 일어난다고 하였다. 노령화 및 폐경으로 인하여 일어나는 골격손실 정도는 최대 골질량에 의존하며, 이는 주로 유전적 요인에 의해 결정이 되지만 충분한 칼슘 섭취와 신체활동과 같은 환경적 요인에 의해서도 영향을 받는다(4).

칼슘 섭취량이 최대 골질량에 중요한 영향을 미친다. Matkovic 등(5)은 역학연구에서 고칼슘 식이를 섭취한 군이 저칼슘 식이를 섭취한군 보다 골질량이 높았음을 보여주었고, Sandler 등(6)은 사춘기 때 우유를 많이 섭

취한 여성이 우유를 섭취하지 않은 여성 보다 폐경 후 골밀도(bone mineral density)가 더 높았다고 하였다. 또한 쌍둥이를 대상으로 한 Johnston 등(7)의 연구에서 사춘기 이전에 칼슘보충제를 공급한 대상에서 척추, 요골, 팔골의 골밀도가 더 증가하였다. 또한 Sentipal 등(8)에 의한 사춘기 소녀를 대상으로 한 cross-sectional study에서 사춘기 동안의 충분한 칼슘 섭취는 유전적인 범위 내에서 최대 골질량을 최적화할 수 있다고 하였고, 사춘기 동안의 저칼슘 섭취는 성인기의 최대 골질량 형성에 주요한 제한요소가 된다고 하였다.

동물실험의 경우(9,10)는 이유한 쥐에게 칼슘 함량이 다른 식이를 줄 경우 성적 성숙이 일어나는 성장기 동안의 저칼슘 섭취는 골격형성을 감소시켰으며, 정상 수준 이상의 칼슘 섭취는 골격의 무기회화를 증가시켰다고 하였다. 즉 골격이 형성되는 동안의 칼슘 결핍은 이후 최대 골질량을 감소시키고 노년기의 골다공증 유

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

본 연구는 한국과학재단 핵심전문 연구비(941-0600-022-2)지원으로 수행되었음

발 및 골절요인을 증가시켰다(11).

지금까지 많은 동물실험연구에서 성장기 동안의 칼슘 섭취수준과 관련지어 연구되어 왔으나 칼슘대사 및 칼슘의 체내이용성에 관심이 집중되어 있으며, 실제로 골격발달 및 골격대사 측면에서는 많은 연구가 수행되지 못하였다. 노년기와 폐경에 따른 골다공증의 요인 중 가장 중요한 것이 성장기 동안에 달성한 최대 골질량이라는 것을 고려할 때, 최대 골질량 형성에 따른 칼슘 섭취의 상호관계 연구는 매우 중요하다.

따라서 본 연구는 식이 중 칼슘 함량을 각각 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0%, 1.5%로 달린 실험식을 성장기 암컷 흰쥐에게 공급하여 4주, 8주, 12주 동안의 골격성장 및 최대 골질량 형성에 대한 식이칼슘의 양적 섭취 효과를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험설계와 동물사육

갓 이유한 3주령의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley female rats: 서울대학교 실험동물 사육장에서 구입) 90마리는 실험조건을 일정하게 하기 위해 약 3일간 정상식이로 적응시킨 후 체중 70~80g에서 6마리씩 15군으로 난괴법에 의해 임의 배치하였다. 이들에게 식이 중 칼슘 함량을 각각 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0%, 1.5%로한 실험식을 4주, 8주, 12주 동안 급여하였다.

실험동물들은 Shoe-Box cage에서 분리 사육하였으며 사육실의 환경은 일정하게 유지하였다(온도: 22±2°C, 상대습도: 65±5%, 조명: 6:00a.m.-6:00p.m.). 실험식사와 탈이온수는 완전 자유급식(*ad libitum*)형태로 공급하였으며, 대사 cage와 사육에 필요한 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위해 0.4% EDTA로 씻은 후 증류수로 헹구어 사용하였다. 실험기간 동안의 식이 섭취량과 체중은 1주일에 2번 일정시간에 측정하였다.

### 실험식이

실험에 사용된 식이는 기본적으로 AIN-76(12) 정제식이 조성을 따랐으며(Table 1), 실험식이의 원료로 정제된 카세인(casein: 매일유업(주)), 옥수수 전분(미원식품(주)), 옥수수 기름(동방유량(주))과 비타민 혼합물(AIN-76 pattern: Oriental 효모공업(주), Japan)을 사용하였으며, 칼슘과 인을 제외한 무기질 혼합물(AIN-76)을 조제하여 사용하였다. 식이 중 칼슘 급원으로는 CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O와 CaCO<sub>3</sub>를 사용하였으며, 칼슘 함량

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

Ingredient	0.1%	0.2%	0.5%	1.0%	1.5%
Casein	200	200	200	200	200
Methionine	3	3	3	3	3
Corn starch	581.06	584.91	574.9	549.63	541.94
Cellulose	50	50	50	50	50
Corn oil	100	100	100	100	100
Min. mix. <sup>1)</sup>	35	35	35	35	35
Vit. mix. <sup>2)</sup>	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2
CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1.72	4.3	12.02	24.9	37.74
CaCO <sub>3</sub>	1	2	5	10	15
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	16.22	8.79	8.08	15.47	5.32

<sup>1)</sup>AIN-76(Ca & P free)

<sup>2)</sup>AIN-76

은 흰쥐의 사양표준(AIN-76)을 기준으로 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0%, 1.5%의 5가지 수준으로 하였고, 식이 칼슘과 인의 함량 비율은 약 1.25 : 1로, 저칼슘 식이에서는 인의 결핍을 배제하기 위해 인의 함량을 0.4%로 하였으며, 고칼슘 식이에서는 칼슘과의 함량비를 고려하여 인의 함량을 0.8%로 하였다.

### 시료수집

실험식을 섭취한 4주, 8주, 12주에 쥐를 희생하여 시료를 수집하였고, 실험동물은 식이섭취 조건을 일정하게 하기 위하여 희생시키기 전 하룻밤 절식시킨 후, ethyl ether로 마취한 후 경동맥혈을 채취하였다. 채취한 혈액은 냉장고(4°C)에서 하룻밤 동안 방치한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리(Sorvall, GLC-2B)하여 혈청을 얻었으며 분석 전까지 냉동보관하였다.

혈액 채취 후 즉시 대퇴골을 적출하여 뼈조직에 부착되어 있던 근육, 지방, 인대 등을 전부 제거한 후 습중량을 측정하였고, 길이는 vernier caliper에 의해 대전자(greater trochanter)와 내측과(medial condyle) 사이를 측정하였으며, 뼈의 파단력을 측정한 후 냉동건조(Freeze-Dryer 18, Labconco)한 다음 분석 전까지 냉동보관하였다.

### 시료분석

혈청 중 칼슘 농도는 혈청에 TCA(trichloroacetic acid)의 최종 농도가 5%가 되도록 용액을 넣어 단백질을 제거한 후 LaCl<sub>3</sub>의 최종 농도가 1%가 되도록 희석하여 원자흡광도계(Atomic absorption spectrophotometer: Hitachi Z-6000)로 422.7nm에서 측정하였다.

골격형성(bone formation)과 관련이 깊은 것으로 알

려져 있는 혈중 alkaline phosphatase(Alpase)활성은 Kind & King의 비색법을 이용한 Kit(영동제약(주))를 사용하여 측정하였다.

노중 creatinine 함량은 Jaffe reaction을 이용한 Kit(영동제약(주))로 측정하였으며, hydroxyproline 함량은 Bergman과 Loxley의 방법(13)으로 비색정량하였다.

대퇴골의 칼슘 함량은 시료를 550~600°C의 회화로에서 회화시켜 얻은 회분을 1N HCl용액으로 용해한 후 LaCl<sub>2</sub>의 최종 농도가 1%가 되도록 희석하여 원자흡광광도계로 측정하였다.

뼈의 파단력(breaking force)은 Instron(Tensilon/UTM-4-100, TOYO BALDWIN Co. LTD: Crosshead speed 10mm/min, Loadcell 100kg)에 의해 길이의 중심부위에서 일정하게 측정하였다.

### 통계분석

실험결과는 평균과 표준오차로 나타내었으며, 식이 중의 칼슘섭취 수준과 기간에 따른 변화의 유의성은  $p < 0.05$ 수준에서 Tukey's multiple range test로 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

칼슘 함량을 달리한 실험식을 급여한 후 12주간의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은 Table 2와 같

다. 체중 증가량과 식이 섭취량은 각 기간내에서 칼슘의 섭취수준에 따라 차이가 없었으나, 4, 8, 12주가 됨에 따라 1일 체중 증가량은 감소하였고, 식이 섭취량 및 식이 효율에서는 큰 변화가 없었다. 이것은 Bell과 Orr(14)이 수컷 흰쥐를 대상으로 0.075~1.390%의 칼슘을 함유한 식이를 공급한 결과 칼슘의 함량에 상관없이 식이 섭취량은 일정하였다는 결과와 비슷하였다. 한편 Stauffer 등(15)이 수컷 흰쥐에게 0.01%, 0.6%의 칼슘을 공급 후 비교한 결과, 칼슘 결핍시 식이 섭취량과 체중이 감소된다고 보고하였다. 본 실험에서 이용한 실험식이의 칼슘 섭취수준이 0.1%의 경우 체중 증가에 요구되는 결핍수준은 아닌 것으로 사료된다.

### 혈청 칼슘 농도와 alkaline phosphatase활성

혈청 칼슘 농도와 alkaline phosphatase(Alpase)의 함량은 Table 3과 같다.

혈청 칼슘 농도는 식이 칼슘 함량이 가장 낮은 0.1% 군과 가장 높은 1.5%군에서 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 낮았고, 0.2%~1.0%에서는 모두 동일하게 정상범위(7.2~13.9 mg/dl)를 나타냈으며(16), 기간에 따라서는 뚜렷한 변화가 없었다. Thomas 등(10)이 이유향 암쥐에게 0.1%, 0.5%의 칼슘을 성적 성숙기간 동안 공급한 결과 혈청 칼슘 농도는 변화없이 정상 수준을 유지하는 것으로 보고하였으며, Stauffer 등(15)은 수컷에게 0.01%, 0.6%의 칼슘을 5, 14일 동안 공급한 결과 칼슘 결핍시 혈청의 칼슘 농도가 감소하였다고 하였다. 본실험의 결과와 종합해 볼 때 칼슘 섭취수준이 0.1% 이하에서는 혈

Table 2. Body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio

Ca levels(%)	Weeks	Final weight(g)	Weight gain(g/day)	Food intake(g/day)	FER
0.1	4	176.9±12.2 <sup>1NSA</sup>	3.4±0.4 <sup>NSB</sup>	15.2±2.1 <sup>NSA</sup>	0.24±0.01 <sup>NSA</sup>
0.2	4	196.1±4.5 <sup>A</sup>	3.8±0.1 <sup>C</sup>	13.7±0.2 <sup>A</sup>	0.28±0.01 <sup>A</sup>
0.5	4	197.4±8.7 <sup>A</sup>	4.0±0.2 <sup>B</sup>	14.6±0.5 <sup>A</sup>	0.28±0.01 <sup>A</sup>
1.0	4	180.8±5.9 <sup>A</sup>	3.5±0.1 <sup>C</sup>	12.9±0.3 <sup>A</sup>	0.27±0.01 <sup>A</sup>
1.5	4	175.0±12.1 <sup>A</sup>	3.4±0.4 <sup>B</sup>	14.0±2.4 <sup>A</sup>	0.26±0.06 <sup>A</sup>
0.1	8	210.4±7.7 <sup>NSA</sup>	2.3±0.1 <sup>NSAB</sup>	14.6±0.7 <sup>NSA</sup>	0.17±0.01 <sup>NSAB</sup>
0.2	8	249.8±6.1 <sup>A</sup>	3.0±0.1 <sup>B</sup>	15.0±0.2 <sup>B</sup>	0.20±0.01 <sup>B</sup>
0.5	8	216.7±7.2 <sup>A</sup>	2.6±0.3 <sup>A</sup>	16.5±2.8 <sup>A</sup>	0.17±0.09 <sup>B</sup>
1.0	8	238.4±7.8 <sup>A</sup>	2.7±0.0 <sup>B</sup>	14.0±0.4 <sup>AB</sup>	0.19±0.01 <sup>B</sup>
1.5	8	229.6±9.6 <sup>A</sup>	2.6±0.1 <sup>A</sup>	13.9±2.0 <sup>A</sup>	0.19±0.05 <sup>B</sup>
0.1	12	227.9±7.6 <sup>NSA</sup>	1.7±0.1 <sup>NSA</sup>	9.6±3.1 <sup>NSA</sup>	0.16±0.03 <sup>NSAB</sup>
0.2	12	262.1±6.7 <sup>A</sup>	2.1±0.0 <sup>A</sup>	14.1±0.2 <sup>A</sup>	0.15±0.01 <sup>B</sup>
0.5	12	268.9±9.2 <sup>A</sup>	2.2±0.1 <sup>A</sup>	13.7±0.3 <sup>A</sup>	0.16±0.01 <sup>B</sup>
1.0	12	266.0±10.6 <sup>A</sup>	2.2±0.1 <sup>A</sup>	14.4±0.3 <sup>B</sup>	0.15±0.01 <sup>B</sup>
1.5	12	237.8±6.3 <sup>A</sup>	1.9±0.1 <sup>A</sup>	12.2±2.0 <sup>A</sup>	0.17±0.01 <sup>B</sup>

<sup>1)</sup> Mean±SEM of 6 rats per group

<sup>NS</sup> Not significant at  $p > 0.05$  according to different Ca levels within the same period by Tukey's multiple range test

<sup>A-C</sup> Values with different superscript within the column are significantly different at  $p < 0.05$  according to periods within the same calcium level by Tukey's multiple range test

칭 칼슘 농도변화를 초래할 수 있음이 시사되었다. 이러한 혈청 칼슘 농도 저하경향이 식이 칼슘의 과량투여군(1.5%)에서도 나타났는데, 이는 칼슘의 과잉섭취로 인한 체내 칼슘대사 및 골격대사 변동에 기인하

는 것으로 사료되며, 이에 대한 면밀한 검토가 필요하다고 본다.

골격형성 지표로 사용되는 Alpase활성은 성장기 초기(4주)에서는 비교적 높은 값을 유지하나, 8주 이후 성숙기에는 오히려 저하하였다. 칼슘섭취 수준별로 볼 때 식이 중 칼슘 함량이 높은 1.5%군에서 유의하게 낮은 값을 보인 것은 특기할 만한 사항이다. 이것은 Hämäläinen (17)이 칼슘 결핍시 Alpase가 증가된다는 결과와 같은 경향을 보이고, 조골세포(osteoblast)의 활성을 증가시키기 위한 골격 isoenzyme의 분비를 Alpase의 활성증가가 자극시킴으로써(18) 성장기 초기와 칼슘 결핍시 증가된다고 볼 수 있다. 또한 Sinha 등(19)은 2개월과 24개월된 암컷 흰쥐에게 0.2%, 1.0% 칼슘을 11주 동안 피하 주사한 결과 Alpase활성이 성장이 어릴수록, 칼슘의 함량이 높을수록 증가한다고 하였으나, 본 실험에서는 1.5%군에서 다른군 보다 유의하게 감소하였다. 이것은 칼슘의 역치효과 때문인지 성장기에 권장량의 3배나 되는 고칼슘을 섭취하여 뼈의 turnover가 둔화되었기 때문인지는 불분명하다.

**Table 3. Calcium concentration and alkaline phosphatase in serum**

Ca levels(%)	Weeks	Calcium(mg/dl)	Alpase(KA unit)
0.1	4	6.86±0.31 <sup>1)abA</sup>	33.67±2.52 <sup>cC</sup>
0.2	4	9.57±0.22 <sup>2)abB</sup>	35.73±1.40 <sup>cC</sup>
0.5	4	9.52±0.32 <sup>2)abB</sup>	28.90±2.04 <sup>bcB</sup>
1.0	4	9.36±0.24 <sup>2)abA</sup>	23.02±2.46 <sup>2)bb</sup>
1.5	4	6.64±0.31 <sup>1)abA</sup>	13.06±0.39 <sup>2)bb</sup>
0.1	8	8.66±0.13 <sup>2)bb</sup>	21.50±1.06 <sup>2)bb</sup>
0.2	8	9.40±0.29 <sup>2)bb</sup>	20.86±1.64 <sup>2)bb</sup>
0.5	8	9.21±0.20 <sup>2)abA</sup>	15.77±0.51 <sup>2)abA</sup>
1.0	8	9.99±0.06 <sup>2)bb</sup>	18.17±1.83 <sup>2)abB</sup>
1.5	8	7.25±0.07 <sup>1)abA</sup>	9.71±1.69 <sup>2)bb</sup>
0.1	12	7.15±0.10 <sup>1)abA</sup>	11.21±1.27 <sup>2)abA</sup>
0.2	12	9.85±0.29 <sup>2)bb</sup>	10.66±2.63 <sup>2)abA</sup>
0.5	12	10.07±0.37 <sup>2)bb</sup>	15.65±1.24 <sup>2)abA</sup>
1.0	12	9.12±0.13 <sup>2)abA</sup>	11.99±1.03 <sup>2)abA</sup>
1.5	12	7.00±0.13 <sup>1)abA</sup>	3.89±1.04 <sup>2)abA</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SEM of 6 rats per group

<sup>a-c</sup>Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to Ca levels within the same period

<sup>A-C</sup>Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to periods within the same calcium level

**노중 hydroxyproline과 creatinine 함량**

노 배설량, hydroxyproline(OHPr), creatinine, hydroxyproline/creatinine(OHPr/Cr)는 Table 4와 같다. 노 배설량은 4주에 1.5%군이 유의하게 낮은 값을 보일 뿐 칼슘 섭취 수준이나 기간에 따라 변화가 없었다.

**Table 4. Urine volume, hydroxyproline and creatinine contents in urine**

Ca levels(%)	Weeks	Urine volume(ml/d)	Hydroxyproline(µg/d)	Creatinine(mg/d)	OHPr/Cr(µg/mg)
0.1	4	15.6±2.4 <sup>1)abA</sup>	130.0±11.8 <sup>NSB</sup>	2.53±0.23 <sup>2)abA</sup>	52.4±7.6 <sup>2)bb</sup>
0.2	4	12.7±1.1 <sup>2)abA</sup>	158.7±11.4 <sup>B</sup>	5.45±0.42 <sup>2)bb</sup>	29.5±1.9 <sup>2)abA</sup>
0.5	4	12.1±1.5 <sup>2)abA</sup>	159.8±7.3 <sup>B</sup>	5.98±1.26 <sup>2)abB</sup>	27.0±1.4 <sup>2)bb</sup>
1.0	4	14.3±2.1 <sup>2)abA</sup>	149.2±12.0 <sup>B</sup>	4.46±0.46 <sup>2)abA</sup>	33.9±1.3 <sup>2)abB</sup>
1.5	4	6.3±1.3 <sup>1)abA</sup>	108.6±16.0 <sup>B</sup>	4.91±0.31 <sup>2)abA</sup>	22.6±3.5 <sup>2)abB</sup>
0.1	8	12.9±1.7 <sup>2)abA</sup>	119.7±8.6 <sup>2)abB</sup>	3.63±0.36 <sup>2)abA</sup>	33.0±6.6 <sup>2)abB</sup>
0.2	8	15.7±1.8 <sup>2)abA</sup>	178.4±14.9 <sup>2)abB</sup>	3.25±0.27 <sup>2)abA</sup>	55.0±7.0 <sup>2)abB</sup>
0.5	8	9.6±2.7 <sup>2)abA</sup>	81.1±5.1 <sup>2)abA</sup>	3.52±0.20 <sup>2)abA</sup>	23.3±1.8 <sup>2)abB</sup>
1.0	8	14.7±0.9 <sup>2)abA</sup>	68.9±8.6 <sup>2)abA</sup>	7.15±1.11 <sup>2)abA</sup>	9.9±3.5 <sup>2)abA</sup>
1.5	8	7.3±1.9 <sup>2)abA</sup>	52.7±10.0 <sup>2)abA</sup>	5.66±0.32 <sup>2)abB</sup>	9.2±1.6 <sup>2)abA</sup>
0.1	12	9.2±3.1 <sup>2)abA</sup>	86.0±5.2 <sup>2)abA</sup>	5.02±0.46 <sup>2)NSB</sup>	17.4±1.0 <sup>2)abA</sup>
0.2	12	14.9±2.6 <sup>2)abA</sup>	97.3±7.1 <sup>2)abA</sup>	5.80±0.48 <sup>2)B</sup>	17.0±1.5 <sup>2)abA</sup>
0.5	12	11.4±2.0 <sup>2)abA</sup>	82.2±6.7 <sup>2)abA</sup>	6.74±0.44 <sup>2)B</sup>	12.2±0.6 <sup>2)abA</sup>
1.0	12	23.5±4.5 <sup>2)abA</sup>	52.6±13.2 <sup>2)abA</sup>	5.02±0.60 <sup>2)A</sup>	11.3±3.1 <sup>2)abA</sup>
1.5	12	8.1±2.4 <sup>2)abA</sup>	46.1±7.1 <sup>2)abB</sup>	6.96±0.27 <sup>2)B</sup>	6.5±0.7 <sup>2)abA</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SEM of 6 rats per group

<sup>NS</sup>Not significant at p>0.05 according to different Ca levels within the same period

<sup>a-c</sup>Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to Ca levels within the same period

<sup>A-C</sup>Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to periods within the same calcium level

골격분해 지표인 OHPr은 collagen에 주로 존재하고 전체 아미노산의 13~14%를 차지하는 imino acid로, collagen대사 특히 뼈의 breakdown metabolism activity를 판정하는데 사용한다(20,21). OHPr은 4주의 경우는 칼슘의 섭취수준에 영향이 없었으며, 8, 12주에는 칼슘 섭취수준이 높을수록 감소하였다. 또한 모든 칼슘 수준에서 4, 8, 12주 순으로 감소하였다. 기간이 증가함에 따라 OHPr이 감소된 것은 Dull 등(20)에 의하면 성인에 비해 어린이에서 뼈 형성율과 뼈 용출율이 더 크기 때문에 OHPr의 배설량이 증가한다고 하였고, 뼈의 장애가 있을 때 OHPr의 배설량이 증가하므로 저칼슘 섭취군에서 유의하게 증가하였다.

Creatinine배설은 4주의 경우는 0.1%군이 유의하게 낮았으며, 8주에는 1.0%군이 유의하게 높았으며, 12주에는 칼슘 섭취수준에 따른 차이가 없었다. 기간에 따른 변화는 1.0%군을 제외하고 4, 8주 보다 12주에 증가하였다.

골격분해 지표인 OHPr/Cr값은 4주에서 0.1%의 칼슘 섭취수준에서 최대값을 보였으며, 8, 12주에는 1.0%, 1.5%군이 0.1%, 0.2%군 보다 유의하게 낮은 값을 보였다. 그리고 모든 칼슘 섭취수준에서 4, 8, 12주가 됨에 따라 감소하였는데 이것은 나이가 증가함에 따라 OHPr/Cr ratio가 감소하고, 아동기와 사춘기에 collagen breakdown이 증가되므로 이 기간에 OHPr/Cr ratio가 더 증가된다고 한 Hodgkinson과 Thompson(21)의 결과와 비슷한 경

향을 보였다. 또한 OHPr/Cr은 Nobbs 등(22)이 OHPr은 체중에 대한 collagen의 양과 creatinine 배설의 차이로 변동이 크고, OHPr 검사시 24시간 뇨채취에 의한 불편을 피하기 위해 fasting 뇨채취를 사용하여 OHPr/Cr ratio를 측정하였다. 그결과 OHPr과 OHPr/Cr ratio는 별 차이가 없고 간편하다고 하였다. 본 실험에서도 OHPr과 OHPr/Cr는 비슷한 양상을 보이므로 fasting뇨를 이용한 OHPr/Cr의 측정은 골격분해의 지표로 사용할 수 있다고 본다.

#### 대퇴골의 크기와 파단력

대퇴골의 중량, 길이, 파단력은 Table 5와 같다. 대퇴골의 중량은 칼슘 섭취수준이 가장 낮은 0.1%군에서 전 기간 동안 유의하게 낮았으나, 0.2%의 경우는 4주를 제외하고 0.5% 이상 섭취군과 비교시 중량에 차이가 없었다. 기간에 따른 변화는 모든 칼슘 섭취수준에서 4, 8, 12주로 갈수록 증가하였지만 8주 이후에는 차이는 없었다. 이것은 Peterson 등(9)에 의하면 무기질 축적률(mineral apposition rate)과 골격형성률(bone formation rate)이 감소되었기 때문에 0.1%군에서 중량이 감소되었고, 0.2%군 이상에서 차이가 없는 것은 중량의 catch-up(회복)효과 때문이다.

길이는 칼슘 섭취 수준에 따라 차이가 없었고 0.1%와 1.5%에서는 4, 8, 12주의 기간에 따라 증가하였고 0.2~1.0%군에서는 8주 이후에 차이가 없었다. 칼슘 섭취량

Table 5. Wet weight, length and breaking force of femur

Ca levels(%)	Weeks	Wet weight(mg)	Length(mm)	Breaking force(kg/g)
0.1	4	474.2±15.4 <sup>1)aA</sup>	29.68±0.40 <sup>NSA</sup>	3.16±0.08 <sup>aA</sup>
0.2	4	548.3±17.0 <sup>bA</sup>	30.00±0.26 <sup>A</sup>	5.43±0.50 <sup>bA</sup>
0.5	4	621.6±14.4 <sup>cA</sup>	30.50±0.22 <sup>A</sup>	7.65±0.72 <sup>cA</sup>
1.0	4	618.3±17.0 <sup>cA</sup>	30.17±0.31 <sup>A</sup>	7.97±0.70 <sup>cA</sup>
1.5	4	586.2±15.7 <sup>bcA</sup>	30.34±0.13 <sup>A</sup>	7.70±0.10 <sup>cA</sup>
0.1	8	537.2±16.8 <sup>aAB</sup>	32.48±0.48 <sup>NSB</sup>	7.24±0.29 <sup>aB</sup>
0.2	8	680.0±25.0 <sup>bB</sup>	33.50±0.43 <sup>B</sup>	8.70±0.68 <sup>abB</sup>
0.5	8	751.5±30.1 <sup>bB</sup>	33.66±0.49 <sup>B</sup>	9.87±0.37 <sup>abB</sup>
1.0	8	778.3±25.4 <sup>bB</sup>	33.50±0.34 <sup>B</sup>	9.51±0.35 <sup>abB</sup>
1.5	8	694.3±28.4 <sup>bB</sup>	33.43±0.39 <sup>B</sup>	10.18±0.09 <sup>bB</sup>
0.1	12	596.0±30.5 <sup>aB</sup>	34.22±0.36 <sup>NSC</sup>	7.30±0.18 <sup>aB</sup>
0.2	12	734.0±18.6 <sup>bB</sup>	34.60±0.24 <sup>B</sup>	7.58±0.23 <sup>abB</sup>
0.5	12	773.3±19.6 <sup>bB</sup>	34.50±0.22 <sup>B</sup>	11.57±1.42 <sup>abB</sup>
1.0	12	821.6±47.7 <sup>bB</sup>	34.83±0.70 <sup>B</sup>	10.51±0.71 <sup>abB</sup>
1.5	12	713.9±10.5 <sup>abB</sup>	34.84±0.16 <sup>C</sup>	10.21±0.12 <sup>abB</sup>

<sup>1)</sup> Mean±SEM of 6 rats per group

<sup>NS</sup> Not significant at p>0.05 according to different Ca levels within the same period

<sup>a-c</sup> Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to Ca levels within the same period

<sup>A-C</sup> Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to periods within the same calcium level

이 골격의 길이를 결정하지는 못한 것은 Bell과 Orr(14)이 8주 동안 0.075~1.390%의 칼슘을 쥐에게 공급한 결과 길이에 변화가 없었던 것과 비슷하였으며, 4주에서 12주로 갈수록 길이가 증가한 것은 Peterson 등(9)에 의하면 무기질화와 연골세포 생성률이 증가하였기 때문이라고 하였다.

파단력은 칼슘 수준이 0.2% 이하에서 유의하게 낮았으나, 그 이상의 섭취 수준에서는 차이가 없었으며, 4주 보다 8, 12주에 더 증가하였고 8주 이후에는 차이가 없었다. 이것은 이유한 암쥐에서(10) 뼈 파단력이 저칼슘군(0.1%)에 비해 정상 칼슘군(0.5%)에서 더 증가하였다는 것과 같은 양상이었으며, Bell과 Orr(14)이 칼슘 수준이 0.5%까지는 칼슘 함량이 증가함에 따라 파단력이 증가하였으나, 그 이상의 고칼슘 섭취시에는 더 이상 강하지 않았다는 결과와도 비슷한 경향이였다.

#### 대퇴골의 회분과 칼슘 함량

대퇴골의 회분 함량은 Table 6과 같이 4주에는 식이 칼슘 수준이 0.2% 이하 군에서 0.5% 이상을 섭취한 군 보다 50% 이상 유의하게 낮았으며 0.5%, 1.0%, 1.5%군에서는 차이를 보이지 않았다. 12주에서는 0.1%군을 제외하고 0.2% 이상에서는 거의 차이가 없었다. 또한 칼슘 섭취수준이 동일한 경우 4주 보다 8, 12주가 될수록 회분 함량이 증가하였다. 이상의 결과는 Anderson 등(23)

이 수유를 하는 쥐에게 0.1%와 0.4%의 칼슘을 공급한 결과 저칼슘 섭취시 대퇴골의 회분 함량이 감소되었다는 결과와 비슷하였고, 8주 이후 회분 함량에 차이가 없었던 것은 쥐의 경우 골격 무기질 함량이 6~9주에 극적으로 증가하기 때문이다(10).

Ash/length 함량은 모든 기간에서 칼슘 섭취수준이 증가할수록 증가하였고, 칼슘 섭취수준이 동일한 경우 4주 보다 8, 12주가 될수록 증가하였다. 이것은 4개월 된 albino rats에게 0.35%, 1.0%의 칼슘을 2, 4, 6개월 동안 공급한 결과 저칼슘을 섭취하였을 때 ash/length의 함량이 감소한 것과 비슷한 경향을 보였다.

대퇴골의 칼슘 함량은 Table 7과 같이 4주의 경우 0.1%군이 최저값을 보였고 1.5%군에서 최고값을 나타내었으며, 식이칼슘 수준에 따라 증가하였다. 12주의 경우는 1.5%군에서만 유의하게 높은 값을 보일 뿐 칼슘 섭취수준에 따라 칼슘의 함량, Ca/length이 차이가 없었다. 또한 칼슘 수준이 동일한 경우 4주 보다 8, 12주가 될수록 칼슘 함량이 증가하였으며 8주 이후에는 차이가 없었다. Ca/length 함량이 칼슘 수준에 따라 증가된 것은 길이는 변화가 없었지만(Table 5), Table 7과 같이 칼슘 섭취수준이 증가함에 따라 대퇴골의 칼슘 함량이 증가하였기 때문이다. 이것은 Hämaläinen (17), Peterson 등(9)이 칼슘 결핍이나 저칼슘 식이를 주었을 때 대퇴골의 칼슘 함량이 감소되었다는 결과와 일치하였다.

Table 6. Ash contents in femur

Ca levels(%)	Weeks	Ash		Ash/Length(mg/mm)
		Total mg	mg/g wet wt.	
0.1	4	85.3 ± 4.0 <sup>1)aa</sup>	179.8 ± 4.9 <sup>aA</sup>	2.87 ± 0.10 <sup>aA</sup>
0.2	4	146.9 ± 5.4 <sup>bA</sup>	268.3 ± 7.4 <sup>bA</sup>	4.90 ± 0.16 <sup>bA</sup>
0.5	4	211.6 ± 10.6 <sup>cA</sup>	339.6 ± 11.4 <sup>cA</sup>	6.93 ± 0.31 <sup>cA</sup>
1.0	4	227.7 ± 18.9 <sup>cA</sup>	368.6 ± 31.0 <sup>cA</sup>	7.56 ± 0.66 <sup>dA</sup>
1.5	4	189.7 ± 5.8 <sup>cA</sup>	323.6 ± 4.5 <sup>bca</sup>	6.25 ± 0.18 <sup>cA</sup>
0.1	8	153.7 ± 5.8 <sup>ab</sup>	286.6 ± 9.5 <sup>aB</sup>	4.74 ± 0.16 <sup>aB</sup>
0.2	8	239.6 ± 6.8 <sup>bb</sup>	355.0 ± 17.2 <sup>bb</sup>	7.15 ± 0.17 <sup>bb</sup>
0.5	8	288.3 ± 14.4 <sup>bb</sup>	385.3 ± 18.7 <sup>baB</sup>	8.85 ± 0.29 <sup>cb</sup>
1.0	8	313.8 ± 15.0 <sup>cb</sup>	402.7 ± 10.9 <sup>ba</sup>	9.36 ± 0.41 <sup>cb</sup>
1.5	8	274.6 ± 13.9 <sup>bb</sup>	394.9 ± 5.8 <sup>bb</sup>	8.20 ± 0.32 <sup>bcB</sup>
0.1	12	175.6 ± 11.4 <sup>ab</sup>	294.0 ± 7.6 <sup>ab</sup>	5.13 ± 0.30 <sup>ab</sup>
0.2	12	290.4 ± 9.6 <sup>bc</sup>	396.5 ± 15.5 <sup>bb</sup>	8.40 ± 0.30 <sup>bc</sup>
0.5	12	338.3 ± 15.7 <sup>bcB</sup>	436.6 ± 11.3 <sup>bb</sup>	9.80 ± 0.40 <sup>cb</sup>
1.0	12	348.9 ± 14.2 <sup>cb</sup>	427.2 ± 12.1 <sup>ba</sup>	10.00 ± 0.24 <sup>cb</sup>
1.5	12	313.8 ± 5.9 <sup>bcB</sup>	439.6 ± 7.8 <sup>bc</sup>	9.01 ± 0.15 <sup>bcB</sup>

<sup>1)</sup> Mean ± SEM of 6 rats per group

<sup>a-c</sup> Values with different superscript within the column are significantly different at  $p < 0.05$  according to Ca levels within the same period

<sup>A-C</sup> Values with different superscript within the column are significantly different at  $p < 0.05$  according to periods within the same calcium level

Table 7. Calcium contents in femur

Ca levels(%)	Weeks	Calcium		Ca/Length(mg/mm)
		Total mg	mg/g wet wt.	
0.1	4	34.30±1.35 <sup>1)abA</sup>	73.32±1.31 <sup>aA</sup>	1.15±0.03 <sup>abA</sup>
0.2	4	52.86±1.14 <sup>ba</sup>	96.62±1.84 <sup>ba</sup>	1.76±0.02 <sup>ba</sup>
0.5	4	62.10±1.35 <sup>bcA</sup>	99.97±1.49 <sup>ba</sup>	2.04±0.04 <sup>bcA</sup>
1.0	4	62.66±1.94 <sup>cA</sup>	101.37±1.93 <sup>ba</sup>	2.08±0.07 <sup>cA</sup>
1.5	4	82.44±3.25 <sup>da</sup>	140.55±3.90 <sup>cA</sup>	2.72±0.10 <sup>da</sup>
0.1	8	74.33±2.21 <sup>ab</sup>	138.94±5.44 <sup>bb</sup>	2.29±0.07 <sup>ab</sup>
0.2	8	68.80±4.56 <sup>ab</sup>	102.12±8.46 <sup>aA</sup>	2.05±0.12 <sup>aAB</sup>
0.5	8	103.80±6.25 <sup>bc</sup>	140.49±4.79 <sup>bb</sup>	3.09±0.21 <sup>bb</sup>
1.0	8	80.45±2.18 <sup>ab</sup>	103.61±2.59 <sup>aA</sup>	2.40±0.05 <sup>ab</sup>
1.5	8	114.68±5.49 <sup>bb</sup>	165.08±2.89 <sup>bb</sup>	3.42±0.13 <sup>bb</sup>
0.1	12	75.82±4.37 <sup>ab</sup>	127.10±2.47 <sup>bb</sup>	2.21±0.11 <sup>ab</sup>
0.2	12	76.24±2.92 <sup>ab</sup>	104.30±5.79 <sup>aA</sup>	2.21±0.09 <sup>ab</sup>
0.5	12	85.51±2.12 <sup>ab</sup>	110.61±1.14 <sup>abA</sup>	2.48±0.05 <sup>aA</sup>
1.0	12	83.18±1.80 <sup>ab</sup>	102.57±4.97 <sup>aA</sup>	2.39±0.04 <sup>ab</sup>
1.5	12	132.81±2.81 <sup>bb</sup>	186.12±5.26 <sup>cC</sup>	3.81±0.08 <sup>bb</sup>

<sup>1)</sup> Mean±SEM of 6 rats per group

<sup>a-c</sup> Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to Ca levels within the same period

<sup>A-C</sup> Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05 according to periods within the same calcium level

## 요 약

칼슘 섭취수준에 따른 성장기의 최대 골질량 형성과 골격대사의 관계를 알아보기 위하여 갖 이유한 3주령의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley female rats)에게 식이 중 칼슘 함량을 각각 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0%, 1.5%로한 실험식이물 4주, 8주, 12주 동안 급여한 후, 성장기 동안의 성장, 골격성장, 골질량, 칼슘대사 및 골격대사 관련인자 등을 측정하였다. 그 결과 일반적 성장의 지표인 체중은 식이칼슘 섭취수준에 따라 변화가 없었으나, 4, 8, 12주로 기간이 지남에 따라 증가하였고, 골격성장을 나타내는 뼈무게, 길이는 성장이 plateau에 도달하는 12주까지 지속적으로 일어났다. 뼈무게는 0.1%군을 제외하고는 차이가 없었으나 4, 8, 12주 순으로 증가하였고 8주 이후에는 차이는 없었다. 뼈길이는 칼슘 섭취수준에 따른 영향을 받지 않았고 유전적인 범위내에서 성장이 이루어졌다고 볼 수 있으며, 0.1%, 1.5%군에서 4, 8, 12주 순으로 증가하였다. 파단력, 회분 및 칼슘 함량 등의 뼈 성장 관련 수치들은 0.5%수준 이하에서 칼슘 함량이 증가함에 따라 증가하였으나 1.0%, 1.5%군은 0.5%군과 차이가 없었다. 그러나 뼈중 칼슘 함량은 1.5%수준에서 높았다. 그리고 골격형성 지표인 Al-pase활성과 골격분해 지표인 OHP 농도는 성장 초기인 4주와 칼슘 함량이 낮은 0.1%, 0.2%군에서 증가하였다. 이상의 결과로 볼 때 뼈무게, 길이, 파단력, 회분 및

칼슘 함량 등이 8주와 12주에 차이가 없고, 흰쥐의 최대 골질량이 3개월에 이루어진다는 타 연구의 결과를 고려할 때, 섭취한 칼슘량에 따라 대략 생후 12주 이내에 형성하는 것으로 볼 수 있었다. 또 성장기 동안의 골질량 및 골격 구성성분이 칼슘 섭취수준에 따라 직선적으로 증가되지 않지만, 칼슘 섭취가 골격성장 및 골격대사에 매우 중요한 인자임이 밝혀졌다.

## 문 헌

1. Matkovic, V. : Calcium intake and peak bone mass. *New Engl. J. Med.*, **327**, 119(1992)
2. Kröger, H., Kotaniemi, A., Kröger, L. and Alhava, E. : Development of bone mass and bone density of the spine and femoral neck—a prospective study of 65 children and adolescents. *Bone Miner.*, **23**, 171(1993)
3. Thenitz, G., Buchs, B., Rizzoli, R., Slosman, D. and Clavien, H. : Longitudinal monitoring of bone mass accumulation in healthy adolescents: Evidence for a marked reduction after 16 years of age at the levels of Lumbar spine and femoral neck in female subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **75**, 1060(1992)
4. Heaney, R. P. : Nutritional factors in osteoporosis. *Am. Rev. Nutr.*, **13**, 287(1993)
5. Matkovic, V., Kostial, K., Simonovic, I., Buzina, R., Brodarec, A. and Nordin, B. E. C. : Bone status and fracture rates in two regions of Yugoslavia. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 540(1979)
6. Sandler, R. B., Slemenda, C. and Laporte, R. E. :

- Postmenopausal bone density and milk consumption in children and adolescence. *Am. J. Clin. Nutr.*, **42**, 270 (1985)
7. Johnston, C. C., Miller, J. Z., Slemenda, C. W., Reister, T. K., Hui, S., Christian, J. C. and Peacock, M. : Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *New Engl. J. Med.*, **327**, 82(1992)
  8. Sentipal, J. M., Wardlaw, G. M., Mahan, J. and Matkovic, V. : Influence of calcium intake and growth indexes on vertebral bone mineral density young females. *Am. J. Clin. Nutr.*, **54**, 425(1991)
  9. Peterson, C. A., Eurell, J. A. C. and Erdman, J. R. : Alterations in calcium intake on peak bone mass in the female rat. *J. Bone Miner. Res.*, **10**, 81(1995)
  10. Thomas, M. L., Simmons, D. J., Kidder, L. and Ibarra, M. J. : Calcium metabolism and bone mineralization in female rats fed diets marginally sufficient in calcium : effects of increased dietary calcium intake. *Bone Miner.*, **12**, 1(1991)
  11. Matkovic, V., Kostial, K., Sinonovic, I., Brodarec, A. and Buzina, R. : Influence of calcium intake, age and sex on bone. *Calif. Tissue Res.*, **22**, 293(1977)
  12. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutrition studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340(1977)
  13. Bergman, I. B. and Loxley, R. : Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal. Chem.*, **35**, 1961(1963)
  14. Bell, G. H. and Orr, J. : Strength and size of bone in relation to calcium intake. *J. Physiol.*, **100**, 299(1941)
  15. Stauffer, M., Baylink, D., Wergedal, J. and Rich, C. : Decreased bone formation, mineralization and enhanced resorption in calcium-deficient rats. *Am. J. Physiol.*, **225**, 269(1973)
  16. Mitruka, B. M. and Rawnsley, H. M. : Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans(2nd ed.). Masson publishing USA Inc., p.160(1981)
  17. Hämmäläinen, M. M. : Bone repair in calcium-deficient rats : Comparison of xyritol + Calcium carbonate with calcium carbonate, calcium lactate and calcium citrate on the replacement of calcium. *J. Nutr.*, **124**, 874(1994)
  18. Pickering, R. G. and Pickering, C. E. : Studies of rat alkaline phosphatase. *Arch. Toxicol.*, **39**, 267(1978)
  19. Sinha, R., Smith, J. C. and Soares, J. H. : The effect of dietary calcium on bone metabolism in young and aged female rats using a short-term *in vivo* model. *J. Nutr.*, **118**, 1217(1988)
  20. Dull, T. A. and Henneman, P. H. : Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bone. *New Engl. J. Med.*, **268**, 132(1963)
  21. Hodgkinson, A. and Thompson, T. : Measurement of the fasting urinary hydroxyproline : creatinine ratio in normal adults and its variation with age and sex. *J. Clin. Pathol.*, **35**, 807(1982)
  22. Nobbs, B. T., Walker, A. W. and Davies, T. J. : A simplified method for the estimation of urinary total hydroxyproline. *Clin. Achem. Acta*, **64**, 219(1975)
  23. Anderson, J. J. B., Garner, S. C., Mar, M. H., Boass, A., Toverud, S. U. and Parikh, I. : The ovariectomized, lactating rat as an experimental model for osteopenia : calcium metabolism and bone changes. *Bone Miner.*, **11**, 43(1990)

(1997년 3월 5일 접수)