

## 고지방식이 공급에 따른 성장기 마우스의 골의 형태학적 미세구조와 염증지표 변화\*

김미성<sup>1</sup> · 이현아<sup>2</sup> · 김옥진<sup>2</sup> · 손정민<sup>1§</sup>

원광대학교 식품영양학과,<sup>1</sup> 원광대학교 동물자원개발연구센터<sup>2</sup>

### Relationship between Bone Morphological Microstructure and Inflammatory Markers in Growing Mice Fed a High Fat Diet\*

Kim, Mi-Sung<sup>1</sup> · Lee, Hyun-A<sup>2</sup> · Kim, Ok-Jin<sup>2</sup> · Sohn, Cheong-Min<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

<sup>2</sup>Center for Animal Resources Development, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

#### ABSTRACT

Obesity not only reduces bone mineral density but also increases inflammatory markers. Therefore, we examined the change in inflammatory markers and morphological microstructure of the bones using a mouse model fed a high-fat diet. C57BL/6J 4-week-old male mice were divided into a control group (n = 6) and a experimental group (n = 6); the control group was provided with 10% Kcal fat diet, and the high-fat diet group was provided with 45% Kcal fat diet for 12 weeks using the free provision method. Blood was analyzed for inflammatory markers, and micro-computed tomography was used to measure the morphological microstructure of the femoral bone. The weight increases in the control group and high-fat diet group were  $5.85 \pm 1.84$  g and  $16.06 \pm 5.64$  g, respectively ( $p < 0.01$ ), glucose was  $115.00 \pm 16.88$  mg/dL and  $188.33 \pm 13.29$  mg/dL ( $p < 0.01$ ), and triglycerides were  $65.00 \pm 6.19$  mg/dL and  $103.33 \pm 8.02$  mg/dL ( $p < 0.05$ ) respectively. Leptin and interleukin (IL)-6 were significantly higher in the high-fat diet group than that in the control group ( $p < 0.01$ ). As a result of a biochemical index analysis of bone metabolism, osteocalcin tended to be lower in the high-fat diet group, whereas CTx was significantly higher in the high-fat diet group compared to that in the control group ( $p < 0.01$ ). The thickness of the bony trabecula was significantly narrower in the high-fat diet group than that in the control group ( $p < 0.05$ ), and the gap in the bony trabecula was significantly wider in the high-fat diet group than that in the control group ( $p < 0.05$ ). IL-6 and the gap in the bone trabecula, which was a morphological microstructure of the bones, showed a positive correlation ( $p < 0.05$ ). Taken together, inducing obesity through a high-fat diet in mice during the growth phase caused a change in bone microstructure and was correlated with the inflammation index. Accordingly, restriction of excessive fat intake may be needed to suppress the inflammatory reactions and promote normal bone formation. (Korean J Nutr 2011; 44(6): 481 ~ 487)

**KEY WORDS:** high fat diet, inflammation markers, bone morphological microstructure.

## 서 론

국내의 2009년도 국민건강영양조사결과에 따르면 총 에너지 섭취량 중 지방 과잉 섭취자 비율은 2007년 전체 3.5%에서 2009년 4.7%로 증가되는 추세를 보이고 있다. 또한 비만

인 환자의 영양소 섭취 패턴을 평가한 연구에서도 비만인의 지방 섭취율이 열량 대비 25%로 조사되어 지방 섭취의 증가는 비만 유병률을 증가시키는 요인으로 보고되고 있다.<sup>1,2)</sup>

골은 젊은 성인기에 최대골질량에 도달하며, 이는 성인기 이후의 골다공증 예방에 중요한 요인으로 작용한다. 또한 청소년기의 골 상태에 영향을 미치는 질환의 발병은 향후 최대골질량의 저하를 유발하거나 노년기의 골절을 증가시키는 위험 요인으로 작용한다고 보고되고 있다.<sup>3)</sup> 특히 소아비만과 골절의 상관성에 대한 여러 연구가 보고되고 있어 소아비만이 골 형성의 저해 요인으로 작용함이 제시되고 있다. 그러나 일부 연구 결과에서는 동일 연령의 어린이와 청소년의 골질량

접수일: 2011년 10월 8일 / 수정일: 2011년 11월 12일

채택일: 2011년 11월 17일

\*This work was supported by grants from Wonkwang University in 2011.

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ccha@wku.ac.kr

은 비만인군이 정상체중군 보다 높다고 보고하여, 성장기 동안 지방과잉축적이 골형성에 미치는 영향에 대한 연구가 더 필요하다.<sup>4-8)</sup>

지방세포는 다양한 사이토카인을 생산 및 분비하는 내재성 면역기관의 일부로 저장세포 외의 기능으로도 알려졌다.<sup>9)</sup> 최근 연구에 의하면 아디포넥틴은 골수 및 뼈에서 발견되는 것으로 밝혀져 염증지표 물질 이외의 골과 관련된 것으로 보고되었다.<sup>10,11)</sup> C-reactive protein (CRP)는 염증지표의 대표적인 물질로서 지방세포에서 발견되어 아디포넥틴의 농도가 증가할수록 감소하는 역상관성을 나타냈다.<sup>12)</sup> 건강한 성인 여성을 대상으로 한 연구에서는 High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP)가 증가할수록 골밀도가 낮게 나타났으며, 대사증후군을 대상으로 한 연구에서도 동일한 결과를 보여,<sup>13,14)</sup> hs-CRP가 골밀도에 영향을 미치는 것으로 조사되었다. 염증성 사이토카인에 의해 간에서 합성되는 Interleukin-6 (IL-6)는 골대사에서 파골세포를 생성시켜 골소실을 촉진하는 사이토카인으로, 폐경 전 성인 여성을 대상으로 한 연구에서 IL-6가 증가할수록 골소실량이 증가되는 결과를 보였다.<sup>15,16)</sup> 따라서 아디포카인은 파골세포 분화 및 활성증가를 유발하여 골 형성에 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다.<sup>17)</sup>

골 관련 연구는 골밀도를 중심으로 많이 진행되었으나, 골 건강 및 골 강도는 골질량 이외에도 골의 미세구조도 중요한 요인이므로 보고되고 있어, 골밀도와 골의 미세구조인 골소수 수와 간격과의 상관성이 조사되고 있다.<sup>18-22)</sup>

따라서 본 연구에서는 성장기 쥐 모델을 이용하여 고지방식을 제공한 후 염증지표와 골밀도 및 골의 형태학적 미세구조의 변화에 대해 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 실험동물과 실험식이

본 연구는 원광대학교 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committees; IACUC) 승인 후 진행하였다. 실험동물은 C57BL/6J 4주령 수컷 마우스를 공급받은 후 (Central Lab Animal Inc, Korea), 환경에 적응시키기 위해 일주일간 순환 시켜 난괴법 (Randomized Block Design)에 의해 고지방식이군 (n = 6)과 대조군 (n = 6)으로 분류하였다. 콩기름과 라드가 함유된 pellet 타입의 45% Kcal fat 고지방식이와 10% Kcal fat 대조식이를 구입하여 12주 동안 자유급식 방법으로 제공하였다. 동물사육 온도는  $23.5 \pm 1^\circ\text{C}$  습도  $60 \pm 3\%$ 로 항온항습조를 이용하였고, 명암은 12시간 주기 (8 : 00~20 : 00)로 자동조절 장치를 사용하였다. 체중은 일주일에 1회 측정하였으며, 식이섭취효율은 (Food Efficiency

Ratio; FER) 실험시작일 부터 종료일까지 총 실험기간 동안의 체중 증가량을 실험기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다.

### 혈액 채취 및 지방조직 분리

12주 후 실험동물을 12시간 절식 시킨 후 에테르 마취 후 대동맥과 안와정맥에서 혈액을 채취 후 상온에서 30분 방치 후 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리 후 분석 전까지  $-70^\circ\text{C}$ 에서 보관하였다. 희생된 실험동물에서 부고환지방, 신장주변지방 및 장간막지방을 적출하여 생리식염수 (0.9% NaCl)를 이용하여 세척한 후 여과지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다.

### 생화학적 분석

혈당, 중성지방, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤은 자동생화학 검사기 BS-220 (Mindray, China)를 이용하여 측정하였다. 인슐린 (Mercodia, Sweden), 랩틴 (Biovendor, Germany), IL-6 (eBioscience, Austria), CRP (Life diagnostics, USA), 아디포넥틴 (Biovendor, Germany), 오스테오칼신 (Biomedical technologies, USA), Type I collagen C-telopeptide (Ratlaps, Denmark)은 전용 Kit를 이용하여 Elisa reader (Molecular devices, USA)로 측정하였다.

### 골 측정

Micro-CT (Skyscan 1172, Belgium)을 이용하여 60 kA의 전압과 167  $\mu\text{A}$ 의 전류의 X-선을 방사하여 0.5 mm 알루미늄 필터를 거쳐 시료를 투과하는 방식으로 미세영상이미지를 획득하였다. 획득된 미세영상 이미지는 Nercon Ver 1.3 (Skyscan)을 이용하여 gray scale level로 재건하였으며, 재건된 2차원 영상은 CTAn (SkyScan) 소프트웨어를 이용하여 3차원 모델을 재구성하였다. CTAn 소프트웨어에서는 측정된 대퇴부 뼈를 성장판에서 0.5 mm 떨어진 곳에서부터 4 mm까지 관심영역 (Region of Interest; ROI)를 적용하여 분석하였다. 골밀도 (bone mineral density; BMD)와 골의 형태학적 미세구조인 골 부피 (bone volume; BV), 골 표면적 비 (bone specific surface; BS/BV), 관심용적내의 골 부피비 (percent bone volume; BV/TV), 골소주의 두께 (trabecular thickness; Tb.Th), 골소주의 수 (trabecular number; Tb.n), 골소주의 간격 (trabecular separation; Tb.Sp), 구조형태지수 (structure model index; SMI), 연결정도 (connectivity density), 단면적 (cross-sectional area)을 측정하였다.

### 통계처리

본 연구 결과는 Statistical Package for the Social Science (SPSS) Ver 12.0을 이용하여 분석하였다. 실험분석 결과는 평균 (Mean)과 표준오차 (Standard error)로 표시였으며, 고지

방식이군과 대조군의 차이는 Mann-whitney test로 검정하였다. 골밀도와 골 미세구조와 염증지표의 상관성은 Spearman rank correlation coefficient 로 검증하였으며, 모든 유의수준은  $p < 0.05$  이하에서 실시하였다.

## 결 과

### 실험동물 체중과 식이섭취

실험동물의 식이섭취와 체중은 Table 1에 나타냈으며, 체중 증가는 Fig. 1과 같다. 실험 시작 체중은 대조군과 고지방식이군의 차이가 나타나지 않았으나 실험 종료 후 고지방식이군의 체중이 대조군에 비해 유의적으로 체중이 증가되었다 ( $p < 0.01$ ). 식이섭취효율은 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.01$ ).

### 지방 조직량 측정

지방 조직의 무게를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 부고환 주변지방량, 신장주변지방량 및 장간막지방량은 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.01$ ).

### 염증 지표 및 생화학적 골대사 지표

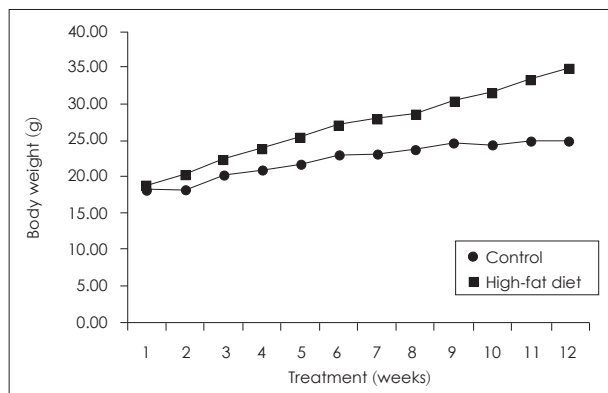
고지방식이군과 대조군의 혈중 생화학지표와 혈중 염증지표 분석 결과는 Table 3과 같다. 혈당과 중성지방은 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.01$ ). 인슐린은

**Table 1.** Body weight and food efficiency ratio of control and high-fat diet mice

Variables	Control (n = 6)	HFD (n = 6) <sup>1)</sup>	p-value
Beginning weight (g)	17.96 ± 1.19	18.83 ± 0.45 <sup>2)</sup>	0.936
Final weight (g)	24.68 ± 2.02	34.90 ± 2.54	0.004**
Gain weight (g)	5.85 ± 1.84	16.06 ± 5.64	0.004**
FER <sup>3)</sup>	6.92 ± 2.21	20.38 ± 5.11	0.004**

1) HFD: high-fat diet mice 2) Mean ± SE 3) FER: food efficiency ratio

\*\* :  $p < 0.01$  by Mann-whitney test



**Fig. 1.** Results were gain weight of control and high-fat diet mice.

고지방식이군에서 높게 나타났으나 유의적이지는 않았다. 렙틴은 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났으며 ( $p < 0.01$ ), 혈중 염증지표인 IL-6는 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났고 ( $p < 0.01$ ), 아디포넥틴은 고지방식이군에서 낮은 경향을 보였다. CRP는 고지방식이군에서 높게 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 혈중 골대사 지표인 Type I collagen C-telopeptide (CTx)는 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났으며 ( $p < 0.01$ ), 오스테오칼신은 고지방식이군에서 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

### 골밀도 및 골의 형태학적 미세구조

Micro-CT를 이용하여 대퇴부의 골밀도와 골의 형태학적 미세구조 분석 결과는 Table 4에 나타내었으며, 단면 이미지는 Fig. 2와 같다. 골밀도는 고지방식이군이 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 없었으며, 골소주의 두께는 고지방식이군이 유의적으로 얇게 나타났으며, 골소주의 간격은 고지방식이군에서 유의적으로 넓게 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 골 부피와 관심용적내의 골 부피비는 고지방식이군에서 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 없었다. 연결 정도와 단면적은 고지방식이군에서 낮게 측정되었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

### 골의 형태학적 미세구조와 염증지표와의 상관관계

골의 형태학적 미세구조와 염증지표와의 상관관계는 Table

**Table 2.** Body fat weight of control and high-fat diet mice

Variables	Control (n = 6)	HFD (n = 6) <sup>1)</sup>	p-value
Epididymal fat (g)	0.28 ± 0.08	1.75 ± 0.33 <sup>2)</sup>	0.004**
Peri-renal fat (g)	0.57 ± 0.17	1.05 ± 0.04	0.004**
Mesenteric fat (g)	0.59 ± 0.17	1.47 ± 0.11	0.004**

1) HFD: high-fat diet mice 2) Mean ± SE

\*\* :  $p < 0.01$  by Mann-whitney test

**Table 3.** Biochemical indices of control and high-fat diet mice

Variables	Control (n = 6)	HFD (n = 6) <sup>1)</sup>	p-value
Glucose (mg/dL)	115.00 ± 16.88	188.33 ± 13.29 <sup>2)</sup>	0.007**
T-Chol (mg/dL) <sup>3)</sup>	113.00 ± 3.33	125.00 ± 5.62	0.102
TG (mg/dL) <sup>4)</sup>	65.00 ± 6.19	103.33 ± 8.02	0.012*
HDL-Chol (mg/dL) <sup>5)</sup>	83.00 ± 7.60	75.00 ± 4.28	0.327
Insulin (ug/L)	1.16 ± 0.01	1.20 ± 0.05	0.748
Leptin (ng/mL)	1.80 ± 0.02	6.00 ± 0.12	0.004**
Adiponectin (ug/mL)	37.71 ± 3.22	32.44 ± 1.94	0.150
Interleukin-6 (pg/mL)	10.37 ± 4.98	95.25 ± 13.33	0.004**
C-reactive protein (ug/mL)	6.70 ± 0.65	6.89 ± 0.46	0.810
Osteocalcin (ng/mL)	21.73 ± 2.52	19.04 ± 1.05	0.199
CTx (ng/mL) <sup>6)</sup>	55.98 ± 0.57	90.93 ± 2.02	0.004**

1) HFD: high-fat diet mice 2) Mean ± SE 3) T-Chol: total cholesterol 4) TG: triglyceride 5) HDL-Chol: high density lipoprotein-cholesterol 6) CTx: type I collagen C-telopeptide

\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$  by Mann-whitney test

**Table 4.** Bone mineral density and bone morphological microstructure of control and high-fat diet mice

Variables	Control (n = 6)	HFD (n = 6) <sup>1)</sup>	p-value
BMD (g/cm <sup>2</sup> ) <sup>3)</sup>	0.08 ± 0.03	0.08 ± 0.00 <sup>2)</sup>	0.201
BV (mm <sup>3</sup> ) <sup>4)</sup>	5.51 ± 0.62	5.34 ± 0.55	0.584
BV/TV (%) <sup>5)</sup>	65.60 ± 12.50	53.57 ± 10.68	0.114
BS/BV (1/mm) <sup>6)</sup>	23.03 ± 5.20	26.84 ± 5.14	0.201
Tb.Th (mm) <sup>7)</sup>	0.17 ± 0.21	0.16 ± 0.19	0.045*
Tb.n <sup>8)</sup>	3.64 ± 0.49	3.27 ± 0.41	0.068
Tb.Sp (mm) <sup>9)</sup>	0.13 ± 0.20	0.17 ± 0.30	0.028*
SMI <sup>10)</sup>	-0.79 ± 1.64	0.49 ± 0.87	0.100
Connectivity density (1/mm <sup>3</sup> )	207.55 ± 42.26	184.78 ± 40.81	0.361
Cross-sectional area (1/mm <sup>2</sup> )	0.69 ± 0.17	0.65 ± 0.23	0.715

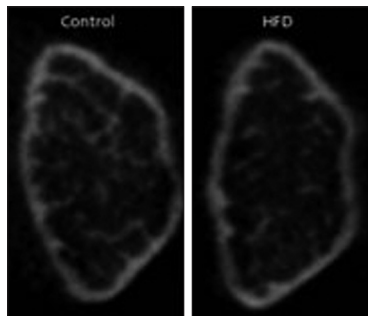
1) HFD: high-fat diet 2) Mean ± SE 3) BMD: bone mineral density 4) BV: bone volume 5) BV/TV: percent bone volume 6) BS/BV: bone specific surface 7) Tb.Th: trabecular thickness 8) Tb.n: trabecular number 9) Tb.Sp: trabecular separation 10) SMI: structure model index

\*: p < 0.05 by Mann-whitney test

**Table 5.** Correlation of bone mineral density and bone morphological microstructure with inflammatory markers

	BMD <sup>1)</sup>		Tb.Th <sup>2)</sup>		Tb.Sp <sup>3)</sup>		Tb.n <sup>4)</sup>	
	r	p	r	p	r	p	r <sup>5)</sup>	p
C-reactive protein	0.091	0.803	0.200	0.580	-0.236	0.511	0.491	0.150
Adiponectin	-0.042	0.907	0.200	0.580	-0.164	0.651	0.358	0.310
Interleukin-6	-0.309	0.385	-0.576	0.082	0.624	0.050	-0.588	0.074

1) BMD: bone mineral density 2) Tb.Th: trabecular thickness 3) Tb.Sp: trabecular separation 4) Tb.n: trabecular number 5) Spearman rank correlation coefficient

**Fig. 2.** Micro-CT scout image of control and high-fat diet mice.

5와 같다. 골밀도는 염증지표와 상관성이 나타나지 않았으나 골의 형태학적 미세구조인 골소주의 간격과 IL-6가 양의 상관성을 보였다 (p < 0.05).

## 고 찰

성장기 마우스 모델을 이용한 본 연구결과 실험동물의 고지방식이 급여는 초기체중의 차이는 없었으나 12주 동안의 식이 제공 종료 후 대조군에 비해 고지방식이군이 약 3배의 체중 증가율을 보였으며, 혈당과 인슐린 및 렙틴도 대조군에 비해 높게 나타나 선행연구와 유사한 결과를 보여주었다.<sup>23-25)</sup> 동종의 동물모델을 대상으로 한 연구 결과 중성지방은 130.26 mL/

dL로 조사되었고 20% 지방과 1%의 콜레스테롤 식이를 한 연구에서는 96 mL/dL 보고되었으며, 본 연구에서 고지방식이군의 중성지방은 103.33 mL/dL로 조사 되었다. Kim 등의 연구에서는 HDL-콜레스테롤은 71.71 mL/dL로 본연구의 고지방식이군의 75 mL/dL과 유사한 결과가 나타났다.<sup>26,27)</sup>

지방조직은 내분비 기관으로 대사 작용과 염증반응에 관여하며, 지방조직에서 분비되는 아디포사이토카인은 당과 지질 대사를 조절하고 인슐린감수성을 증가시킨다고 보고되고 있다.<sup>28-32)</sup> 비만성인을 대상으로 한 Yamamoto 등의 연구에서 혈중 아디포넥틴은 비만할수록 낮았으며,<sup>33)</sup> 소아비만아를 대상으로 한 연구에서도 혈중 아디포넥틴의 농도가 낮게 나타났다.<sup>34)</sup> 본 연구에서는 고지방식으로 인한 성장기 비만마우스의 아디포넥틴이 유의적이지는 않으나 농도가 낮은 경향을 보였다. 비만인에서 전신염증을 유발하는 IL-6과 CRP가 증가되어, 소아비만아를 대상으로 한 연구에서도 CRP가 증가되는 결과를 보였다. 본 연구결과에서도 염증지표인 IL-6는 고지방식이군에서 높게 나타나 성장기 고지방식으로 인한 비만은 전신염증을 유발한 것으로 사료된다.<sup>35-38)</sup>

골대사는 골형성과 골흡수를 통하여 진행된다. CTx는 골흡수 표지자이며, 오스테오칼신은 혈중 골의 골형성 표지자로 조골세포에서 생성되어 파골세포의 분화와 골재형성에 필수적인 역할을 한다.<sup>39-42)</sup> Ma의 마우스를 대상으로 한 연구에



서 오스테오칼신은 고지방식이군에서는 55.34 ng/mL, 대조군에서는 55.58 ng/mL 두 군간 차이가 나타나지 않았으며, 본 연구의 마우스에서도 고지방식이군에서는 19.04 ng/mL, 대조군 21.73 ng/mL로 유의적인 차이는 나타나지 않았다.<sup>43)</sup> Patsch 등의 연구에서 고지방식이를 공급받은 마우스에서 CTx는 33.2 ng/mL로 대조군 23.2 ng/mL보다 높게 나타났으며,<sup>24)</sup> 본 연구결과에서도 CTx는 고지방식이를 공급받은 군에서 높게 나타나 선행연구와 일치하는 결과를 보였다. 이에 고지방식이가 골의 생화학적인 골 흡수 지표에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

최근 비만과 골에 대한 연구 결과에서 지방량이 증가할수록 골밀도가 감소하였으며, 혈중 콜레스테롤과 중성지방, LDL-콜레스테롤과 골 무기질 함량은 음의 상관성을 보였다.<sup>44)</sup> 또한 골다공증 유병률과 관련한 요인을 분석한 연구결과에서 BMI와 허리둘레가 증가할수록 골다공증의 위험도가 증가하는 것을 볼 수 있었다.<sup>45)</sup> 비만청소년을 대상으로 한 Oh & Sohn의 연구결과에서도 비만할수록 골밀도가 낮게 나타났다.<sup>5)</sup> Parhami 등의 연구에서는 7개월 동안 고지방식이를 한 마우스에서는 낮은 골밀도와 골 무기질 함량이 조사되었다.<sup>46)</sup> 하지만 본 연구에서는 고지방식이를 급여한 마우스에서 골밀도는 대조군과의 차이는 보이지 않았다. 이는 본 실험 동물의 식이제공 기간이 12주로 단기간 진행된 결과로 사료된다. 본 연구에서는 성장기마우스의 대퇴부 골소주의 수는 고지방식이군이 대조군에 비해 적게 나타났고, 골소주의 간격은 넓게 나타나 선행 연구와 유사한 결과를 보였다. 이는 성장 단계의 마우스에서 골밀도에서는 차이가 유의적이지는 않으나 골의 형태학적 미세구조의 변화를 유발한 것으로 성장기의 과잉의 지방 공급은 골성장에 장애를 줄 것으로 사료된다.<sup>47)</sup>

지방세포와 조골세포는 간엽중기세포에서 유래하며 지방세포가 증가함에 따라 조골세포가 감소되어 골소실이 유발된다고 보고되고 있다.<sup>48)</sup> 비만 대사증후군환자를 대상으로 한 Lee 등의 연구에서 염증지표인 hs-CRP가 증가함에 따라 골밀도가 감소되는 연구결과를 보였으며,<sup>14)</sup> Kim 등의 젊은 성인여성을 대상으로 한 연구에서도 동일한 결과가 나타났다.<sup>13)</sup> 또한 최근 Lorentzon 등의 연구에서는 IL-6와 골밀도 사이에 유의한 음의 상관관계가 있었다.<sup>49)</sup> 본 연구에서도 골의 형태학적 미세구조인 골소주의 간격이 넓어질수록 IL-6가 증가하였으며, 골소주의 두께와 골소주의 수는 IL-6과 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 감소하는 경향은 보여 성장기 마우스에서 골의 형태학적 미세구조와 염증지표간의 상관성이 있는 결과를 보였다. 이는 성인뿐만 아니라 골 성장기에 있는 소아 청소년들에 있어 염증지표 증가에 따른 골의

형태학적 미세구조의 변화를 유발한 것으로 사료된다. 따라서 성장기에 골 형성을 위하여 과다한 지방섭취를 제한하여야 하겠다.

## 요 약

본 연구에서는 성장기 마우스 모델을 이용하여 고지방식이를 제공한 후 이에 따른 염증지표와 골의 형태학적 미세구조의 변화를 살펴보았다. C57BL/6J 4주령 수컷 마우스를 난괴법에 의해 대조군 (n = 6)과 실험군 (n = 6)로 분류하여 대조군에는 10% Kcal fat 식이와 고지방식이군에는 45% Kcal fat 식이를 12주 동안 자유급식 방법으로 제공하였다. 혈액검사와 염증지표를 분석하였으며 micro-CT를 이용하여 대퇴부 뼈의 형태학적 미세구조를 측정하였다.

대조군과 고지방식이군의 체중 증가는 각각  $5.85 \pm 1.84$  g,  $16.06 \pm 5.64$  g로 유의한 차이를 보였으며 ( $p < 0.01$ ), 혈당은 각각  $115.00 \pm 16.88$  mg/dL,  $188.33 \pm 13.29$  mg/dL ( $p < 0.01$ ), 중성지방은 각각  $65.00 \pm 6.19$  mg/dL,  $103.33 \pm 8.02$  mg/dL ( $p < 0.05$ )로 나타났다. 렙틴과 IL-6는 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.01$ ). 골대사의 생화학적 지표 분석 결과 오스테오칼신은 고지방식이군에서 낮게 나타났으나 유의적이지 않았으며, CTx는 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.01$ ). 골밀도는 고지방식이군에서 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그러나 골의 형태학적 미세구조 분석결과 골소주의 두께는 고지방식이군이 대조군보다 유의적으로 좁게 나타났으며 ( $p < 0.05$ ), 골소주의 간격은 고지방식이군이 유의적으로 넓게 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 골의 형태학적 미세구조인 골소주의 간격과 IL-6가 양의 상관성이 나타났다 ( $p < 0.05$ ).

본 연구결과 최대골밀도가 형성되는 단계의 성장기 마우스에서 고지방식이 공급을 통한 비만 유도 현상은 골소주의 수와 골소주가 차지하는 비율의 변화를 유발하여 골 미세구조에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 염증지표와 상관성이 나타났다. 이에 성장기에 염증지표 증가를 억제하고 정상적인 골형성을 위하여 과잉의 지방섭취 제한이 필요할 것으로 사료된다.

## Literature cited

- 1) Ministry of Health and Welfare. Korea national health and nutrition examination survey report (KNHANES IV); 2009
- 2) Kim SH, Kim JY, Ryu KA, Sohn CM. Evaluation of the dietary diversity and nutrient intakes in obese adults. *Korean J Community Nutr* 2007; 12(5): 583-591

- 3) Recker RR, Heaney RP. Peak bone mineral density in young women. *JAMA* 1993; 270(24): 2926-2927
- 4) Goulding A, Jones IE, Taylor RW, Manning PJ, Williams SM. More broken bones: a 4-year double cohort study of young girls with and without distal forearm fractures. *J Bone Miner Res* 2000; 15(10): 2011-2018
- 5) Oh YK, Sohn C. Comparative study on nutrients intake, physical activities and bone mineral density of specialized game high school students according to obesity level. *Korean J Community Nutr* 2010; 15(3): 393-402
- 6) El Hage R, Moussa E, Jacob C. Bone mineral content and density in obese, overweight, and normal-weighted sedentary adolescent girls. *J Adolesc Health* 2010; 47(6): 591-595
- 7) Ducher G, Bass SL, Naughton GA, Eser P, Telford RD, Daly RM. Overweight children have a greater proportion of fat mass relative to muscle mass in the upper limbs than in the lower limbs: implications for bone strength at the distal forearm. *Am J Clin Nutr* 2009; 90(4): 1104-1111
- 8) Leonard MB, Shults J, Wilson BA, Tershakovec AM, Zemel BS. Obesity during childhood and adolescence augments bone mass and bone dimensions. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(2): 514-523
- 9) Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(8): 327-332
- 10) Berner HS, Lyngstadaas SP, Spahr A, Monjo M, Thommesen L, Drevon CA, Syversen U, Reseland JE. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. *Bone* 2004; 35(4): 842-849
- 11) Zoico E, Zamboni M, Di Francesco V, Mazzali G, Fantin F, De Pergola G, Zivelonghi A, Adami S, Bosello O. Relation between adiponectin and bone mineral density in elderly post-menopausal women: role of body composition, leptin, insulin resistance, and dehydroepiandrosterone sulfate. *J Endocrinol Invest* 2008; 31(4): 297-302
- 12) Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, Okamoto Y, Ohashi K, Nagaretani H, Kishida K, Nishizawa H, Maeda N, Kobayashi H, Hiraoka H, Matsuzawa Y. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003; 107(5): 671-674
- 13) Kim M, Kim H, Sohn C. Relationship between vitamin K status, bone mineral density, and hs-CRP in young Korean women. *Nutr Res Pract* 2010; 4(6): 507-514
- 14) Lee Y, Kim M, Choi K, Kim J, Bae W, Kim S, Sohn C. Relationship between inflammation biomarkers, antioxidant vitamins, and bone mineral density in patients with metabolic syndrome. *Nutr Res Pract* 2011; 5(2): 150-156
- 15) Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 2001; 158(3): 1039-1051
- 16) Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 1995; 332(5): 305-311
- 17) Russell M, Mendes N, Miller KK, Rosen CJ, Lee H, Klibanski A, Misra M. Visceral fat is a negative predictor of bone density measures in obese adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(3): 1247-1255
- 18) Ciarelli MJ, Goldstein SA, Kuhn JL, Cody DD, Brown MB. Evaluation of orthogonal mechanical properties and density of human trabecular bone from the major metaphyseal regions with materials testing and computed tomography. *J Orthop Res* 1991; 9(5): 674-682
- 19) Kumasaka S, Kawamata R, Okada T, Miyake M, Kashima I. Relationship between bone mineral density and bone stiffness in bone fracture. *Oral Radiol* 2005; 21(1): 38-40
- 20) Thomsen JS, Ebbesen EN, Mosekilde L. Relationships between static histomorphometry and bone strength measurements in human iliac crest bone biopsies. *Bone* 1998; 22(2): 153-163
- 21) Lee CJ, Lee W, Lee BD. Morphometric analysis of bone in the ovariectomized rat using in vivo micro-CT. *Korean J Oral Maxillofac Radiol* 2008; 38(1): 29-37
- 22) Song YH, Lee W, Lee CJ, Ji JH, Lee BD. Study of bony trabecular characteristics using bone morphometry and micro-CT. *Korean J Oral Maxillofac Radiol* 2007; 37(1): 27-33
- 23) Kim A, Park T. Diet-induced obesity regulates the galanin-mediated signaling cascade in the adipose tissue of mice. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54(9): 1361-1370
- 24) Patsch JM, Kiefer FW, Varga P, Pail P, Rauner M, Stupphann D, Resch H, Moser D, Zysset PK, Stulnig TM, Pietschmann P. Increased bone resorption and impaired bone microarchitecture in short-term and extended high-fat diet-induced obesity. *Metabolism* 2011; 60(2): 243-249
- 25) Shih CC, Lin CH, Lin WL. Effects of Momordica charantia on insulin resistance and visceral obesity in mice on high-fat diet. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 81(2): 134-143
- 26) Lee JH, Son CW, Kim MY, Kim MH, Kim HR, Kwak ES, Kim S, Kim MR. Red beet (*Beta vulgaris* L.) leaf supplementation improves antioxidant status in C57BL/6J mice fed high fat high cholesterol diet. *Nutr Res Pract* 2009; 3(2): 114-121
- 27) Kim MA, Jeong YS, Chun GT, Cha YS. Antihyperlipidemic and glycemic control effects of mycelia of *Inonotus obliquus* including protein-bound polysaccharides extract in C57BL/6J mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2009; 38(6): 667-673
- 28) Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology* 2005; 42(5): 987-1000
- 29) Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol* 2003; 148(3): 293-300
- 30) Asayama K, Hayashibe H, Dobashi K, Uchida N, Nakane T, Koda K, Shirahata A, Taniyama M. Decrease in serum adiponectin level due to obesity and visceral fat accumulation in children. *Obes Res* 2003; 11(9): 1072-1079
- 31) Bacha F, Saad R, Gungor N, Arslanian SA. Adiponectin in youth: relationship to visceral adiposity, insulin sensitivity, and beta-cell function. *Diabetes Care* 2004; 27(2): 547-552
- 32) Fasshauer M, Paschke R, Stumvoll M. Adiponectin, obesity, and cardiovascular disease. *Biochimie* 2004; 86(11): 779-784
- 33) Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishii T, Nishikai K, Saruta T. Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond)* 2002; 103(2): 137-142
- 34) Weiss R, Dufour S, Grossmann A, Petersen K, Dziura J, Taksali SE, Shulman G, Caprio S. Low adiponectin levels in adolescent obesity: a marker of increased intramyocellular lipid accumulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(5): 2014-2018
- 35) Feingold KR, Grunfeld C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes* 1992; 41 Suppl 2: 97-101
- 36) Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; 92(3): 347-355
- 37) Ahn KY, Choi YS, Lee DW, Kim KY, Kim JH, Sung HN, Choi KM, Kim SM, Lee CB. Relationship between C-reactive protein and obesity in children. *Korean J Obes* 2009; 18(4): 131-137
- 38) Bistrian BR, Khaothiar L. Chronic systemic inflammation in overweight and obese adults. *JAMA* 2000; 283(17): 2235-2236
- 39) Rosen HN, Moses AC, Garber J, Iloputaife ID, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL. Serum CTX: a new marker of bone resorption

- that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy. *Calcif Tissue Int* 2000; 66(2): 100-103
- 40) Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Edouard C, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1984; 1(8386): 1091-1093
  - 41) Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C, Smith E, Bonadio J, Goldstein S, Gundberg C, Bradley A, Karsenty G. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature* 1996; 382(6590): 448-452
  - 42) Kim HS. Biochemical marker of bone metabolism. *J Korean Soc Pediatr Endocrinol* 2006; 11(2): 131-137
  - 43) Ma H, Torvinen S, Silvennoinen M, Rinnankoski-Tuikka R, Kainulainen H, Morko J, Peng Z, Kujala UM, Rahkila P, Suominen H. Effects of diet-induced obesity and voluntary wheel running on bone properties in young male C57BL/6J mice. *Calcif Tissue Int* 2010; 86(5): 411-419
  - 44) Hsu YH, Venners SA, Terwedow HA, Feng Y, Niu T, Li Z, Laird N, Brain JD, Cummings SR, Bouxsein ML, Rosen CJ, Xu X. Relation of body composition, fat mass, and serum lipids to osteoporotic fractures and bone mineral density in Chinese men and women. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(1): 146-154
  - 45) Park SJ, Ahn Y, Min HS, Oh KS, Park C, Cho NH, Kimm K. Osteoporosis prevalence of radius and tibia and related factors using multiple bone sites quantitative ultrasound measurement of the Korean health and genome study cohort women. *Korean J Community Nutr* 2005; 10(4): 536-545
  - 46) Parhami F, Tintut Y, Beamer WG, Gharavi N, Goodman W, Demmer LL. Atherogenic high-fat diet reduces bone mineralization in mice. *J Bone Miner Res* 2001; 16(1): 182-188
  - 47) Cao JJ, Gregoire BR, Gao H. High-fat diet decreases cancellous bone mass but has no effect on cortical bone mass in the tibia in mice. *Bone* 2009; 44(6): 1097-1104
  - 48) Ali AA, Weinstein RS, Stewart SA, Parfitt AM, Manolagas SC, Jilka RL. Rosiglitazone causes bone loss in mice by suppressing osteoblast differentiation and bone formation. *Endocrinology* 2005; 146(3): 1226-1235
  - 49) Lorentzon M, Lorentzon R, Nordström P. Interleukin-6 gene polymorphism is related to bone mineral density during and after puberty in healthy white males: a cross-sectional and longitudinal study. *J Bone Miner Res* 2000; 15(10): 1944-1949