

## 어유의 n-3 지방산이 흰쥐의 골밀도와 골격대사지표에 미치는 영향\*

윤 군 애<sup>§</sup>

동의대학교 식품영양학과

### Beneficial effect of fish oil on bone mineral density and biomarkers of bone metabolism in rats\*

Yoon, Gun-Ae<sup>§</sup>

Department of Food and Nutrition, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea

#### ABSTRACT

This study evaluated the effect of fish oil rich in n-3 fatty acids on bone characteristics in Sprague-Dawley rats. Weanling male rats were randomized to receive either a diet containing high fish oil (FO), fish oil blended with corn oil (FICO), or soy oil rich in n-6 fatty acids (SO) for 4 weeks. All diets provided 70 g/kg fat based on the AIN-93G diet. Growth and biomarkers of bone metabolism were analyzed, and femur bone characteristics were measured by dual-energy X-ray absorptiometry. After the dietary treatment, no significant differences among the diet groups were observed for serum concentrations of Ca, parathyroid hormone, calcitonin, or osteocalcin. Alkaline phosphatase activity was significantly greater in FO-fed rats compared to that in the FICO and SO groups, whereas no difference in deoxypyridinoline values was observed, supporting the positive effect of a FO diet on bone formation. These results were accompanied by a significant increase in femur bone mineral density (BMD) in FO-fed rats. These findings suggest that providing fish oil rich in n-3 fatty acids correlates with higher alkaline phosphatase activity and BMD values, favoring bone formation in growing rats. (Korean J Nutr 2012; 45(2): 121 ~ 126)

**KEY WORDS:** fish oil, n-3 fatty acids, bone mineral density, bone metabolic biomarkers, bone formation.

## 서 론

평균수명이 길어지고 노인인구의 비율이 증가함에 따라, 건강한 삶을 유지하는 것은 인류의 주요 관심사로 대두되었다. 우리나라의 경우, 65세 이상의 노인인구 비율이 1990년에 5.1%에서 2000년과 2010년에 7.2%와 11.0%까지 증가되었으며, 2030년에는 24.3%, 2060년에는 40.1%를 차지할 것으로 예측되고 있다.<sup>1)</sup> 이러한 노인인구의 증가추세는 골다공증의 증가를 수반할 것으로 우려된다. 골질량은 20~30대에 최고치에 이른 후, 남녀 모두 매년 0.5~1.0%씩 손실된다.<sup>2,3)</sup> 나이 증가에 따른 골질량의 감소와 뼈가 부숴지기 쉬워지는 현상은 골다공증의 주요 위험요소로서 골절로 이어지게 된다. 따라서 노화에 따른 골다공증을 예방하고 건강한 생활을 유지하기 위한 생활양식의 제안이 요구되고 있다. 최근 식이지방이 염증성 질환인 류마티스 관절염, 심혈관질환, 골다공증과 관련이 있는 것으로 지적되고

있는데, n-3지방산은 이들 염증성질환에 유익한 효과가 있는 것으로 나타났다.<sup>2)</sup> 반면에 n-6지방산의 증가는 심혈관질환, 암, 류마티스 관절염 및 뼈의 손실과 양의 상관 관계를 보였다.<sup>4,5)</sup> n-6/n-3 지방산 비율의 증가는 엉덩이뼈의 골밀도를 저하시켰고,<sup>6)</sup> 난소가 절제된 마우스에서 n-3지방산은 파골세포의 생성과 골질량의 감소를 낮추는 효과를 보였다.<sup>7)</sup> 높은 농도의 PGE<sub>2</sub>는 뼈흡수를 유발하는 강력한 인자이며, 어유와 낮은 비율의 n-6/n-3 지방산으로 배양되는 뼈조직에서 PGE<sub>2</sub>의 생성이 감소되었다. Tumor necrosis factor  $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6과 같은 염증을 일으키는 사이토카인은 파골세포의 활성화와 파골세포의 생성을 통해 뼈흡수를 유발하는데 n-3 지방산은 이들 사이토카인을 억제하고 항염증사이토카인인 IL-10을 증가시키는 것으로 나타났다.<sup>7,8)</sup> Green 등에 의하면 어유는 n-6 지방산에 비해 난소 절제된 동물의 골격손실을 방지하고 성장하는 동물에서 골격형성을 촉진하는 것으로 나타났다.<sup>9,10)</sup>

골다공증은 노인 또는 폐경기 여성에서 흔히 나타나는 질환

접수일: 2011년 12월 29일 / 수정일: 2012년 1월 25일 / 채택일: 2012년 2월 25일

\*This work was supported by Dong-Eui University Grant (2010 AA132).

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

E-mail: gayoon@deu.ac.kr

© 2012 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이지만 노년기 골다공증의 발병 위험은 생의 초기에 형성된 최대 골질량과 관련이 있으므로<sup>10)</sup> 골격형성 시기에 뼈형성을 자극하는 것이 노년기에 나타나는 골다공증을 예방하는 수단이 될 수 있을 것이다. 따라서 본 연구는 n-3지방산이 풍부한 어유를 포함한 식이가 성장기 흰쥐의 골격대사에 주는 영향을 파악하고자 하며, 생화학지표로서 혈액 또는 뇨에서 alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OC), deoxypyridinoline (DPD), calcitonin과 parathyroid hormone (PTH) 등을 측정하였고, 뼈의 무기질 함량과 골밀도를 측정하여 식이지방산이 뼈형성에 기여하는 효과를 판정하고자 하였다.

## 연구 방법

### 실험동물 및 식이

이유한 3주령의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 그룹당 6마리씩 세 그룹 (FO, FICO, SO)으로 구분하여 AIN-93G에 따라 정상수준의 Ca 함량을 포함하면서 식이지방 (7% 지방식)을 달린 식이를 4주 동안 공급하였다. SO군은 대조군으로서 AIN-93G에 제시된 대두유를 공급하였고, 어유함량이 높은 FO군 및 FICO군은 옥수수기름과 어유 (보고 F & C 제공)를 혼합하여 사용하였다 (Table 1). 실험식이의 식이 조성은 AIN-93G에 의거하여 배합되었고, 모든 식이는 옥수수유 또는 대두유를 포함하도록 하여 필수지방산이 결핍되지 않도록 하였다. 실험식이와 이온교환수는 자유급식 하였고, 사육에 필요한 기구는 0.4% EDTA로 씻은 후 증류수로 행구어 사용하였다. 실험기간 동안 사료섭취량은 1주일에 2회씩 측정하였고, 체중은 매주 1회 측정하였다.

### 시료수집

실험동물은 희생 전 하룻밤 절식시키고, ethyl ether로 마취시킨 후 단두하여 희생하였다. 채취된 혈액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하고, 분리된 혈청을 냉동 보관하였다. 흰쥐의 대퇴골을 적출하여 골격에 붙어 있는 근육, 인대, 지방 등을 제거하고 무게를 측정하여 보관하였다. 요는 실험 종료 전 대사장서 적응시킨 후 채취하여 100 mL가 되도록 희석하여 분석에 사용하였다.

### 시료분석

#### 골밀도 및 뼈 Ca함량 측정

골밀도는 LUNAR사 (Madison, WI, USA)의 양에너지 방사선 골밀도 측정기 (Dual energy x-ray absorptiometry, DEXA)를 사용하여 측정하였다. 대퇴골은 105 ± 5°C에서 건조하여 건조무게를 측정한 후, 550~600°C의 회화로에서 6~8시간 회화하였다. 회화한 후 총 회분을 얻었고, 회화된 대퇴골을 1N HCl

**Table 1.** Composition of experimental diet (g)

	FO	FICO	SO
Cornstarch	529.4	529.4	529.4
Casein	200.0	200.0	200.0
Lipids	70.0	70.0	70.0
Fish oil	60.0	28.0	-
Corn oil	10.0	42.0	-
Soybean oil	-	-	70.0
Fiber	50.0	50.0	50.0
Mineral mix <sup>1)</sup>	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix <sup>2)</sup>	10.0	10.0	10.0
L-cystine	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014
Sucrose to	1,000	1,000	1,000
n6/n3 ratio	1/3.3	2.1/1	9.4/1

1) AIN-93 mineral mxture 2) AIN-93 vitamin mixture  
FO: high fish oil diet, FICO: fish oil blended with corn oil, SO: soy oil diet

에 용해한 후 1% La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>로 희석하여 원자흡광광도계 (Atomic absorption spectrometer, Perkin Elmer)을 이용하여 칼슘함량을 측정하였다.

#### 혈액 및 요의 생화학적 분석

혈액의 칼슘함량은 칼슘이온이 염기성 조건에서 o-cresolphthalein과 적자색의 복합체를 형성하는 원리를 이용하여, 생성된 복합체의 흡광도를 측정하여 분석하였다. 혈액 중의 alkaline phosphatase의 활성은 kit (ALPAMP, Siemens, USA)를 사용하여 측정하였다. ALP에 의해 기질인 p-nitrophenylphosphate을 분해하여 p-nitrophenol을 생성한 후, 생성된 화합물을 410 nm에서 측정하였다. Osteocalcin은 kit (Osteocalcin-EIA, Biomedical Technology Inc, USA)를 사용하여 enzyme-linked immunosorbent assay하였고, PTH는 kit (PTH, Roche, Switzerland)를 사용하여 전기적화학발광을 이용하여 측정하였다. Calcitonin은 IRMA (Immunoradiometric assay)법에 의거하여 <sup>125</sup>I-Calcitonin kit (ELSA-hCT, CIS, France)로 분석하였다. Deoxypyridinoline (DPD)의 함량은 화학발광 면역분석법에 의거하여 gamma-BCT DPD kit (IDS, USA)를 사용하여 Gamma Counter (PacKard, USA)에서 측정하였다.

#### 통계분석

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 실험군간의 차이는 One way ANOVA를 사용하여 비교하였으며, Duncan's multiple range test에 의해 α = 0.05 수준에서 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

## 연구 결과

### 체중변화와 식이효율

실험군의 체중변화와 식이효율은 Table 2에서와 같다. 실험식이 급여 시작 시의 체중은 70.1~70.2 g으로서, 실험군 간에 체중의 차이가 없었다. 사육기간 동안에 걸쳐 평균 1주일 당 체중증가율도 차이를 보이지 않았으며, 실험 종료 시의 체중은 276.8~289.2 g의 범위로 그룹간에 차이가 없는 것으로 나타났다. 사료섭취량과 사료효율은 각기 116.2~118.6 g과 0.44~0.46인 것으로 나타났고 두 변수 모두 실험군 간에 차이를 보이지 않았다.

### 혈청의 골격대사 관련 지표

혈청에서 측정된 골격대사와 관련된 지표의 측정결과는 Table 3에 나타내었다. 혈청 칼슘농도는 각 실험군 간에 차이를 보이지 않았고, 10.93~11.05 mg/dL의 분포를 보였다. 혈청 칼시토닌과 부갑상선호르몬 모두 실험군에 따른 차이가 없는 것

**Table 2.** Growth and feed intake of rats

	FO	FICO	SO
Initial BW (g)	70.05 ± 3.87 <sup>NS</sup>	70.12 ± 4.04	70.22 ± 4.57
Final BW (g)	289.22 ± 14.51 <sup>NS</sup>	287.05 ± 13.15	276.83 ± 11.59
Weight gain (g/week)	54.79 ± 3.73 <sup>NS</sup>	54.23 ± 2.81	51.65 ± 3.12
Food intake (g/week)	118.64 ± 7.33 <sup>NS</sup>	120.43 ± 4.94	116.23 ± 6.09
FER	0.46 ± 0.03 <sup>NS</sup>	0.45 ± 0.01	0.44 ± 0.01

Values are Mean ± SD

Values within row having same superscript are not significantly different by ANOVA and Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$  NS: not significant, FER: feed efficiency ratio, FO: high fish oil diet, FICO: fish oil blended with corn oil, SO: soy oil diet

**Table 3.** Bone metabolic biomarkers in serum and urine

	FO	FICO	SO
<u>Serum</u>			
Ca (mg/dL)	10.93 ± 0.12 <sup>NS</sup>	10.87 ± 0.19	11.05 ± 0.33
Calcitonin (pg/mL)	1.24 ± 0.25 <sup>NS</sup>	1.35 ± 0.26	1.54 ± 0.40
PTH (pg/mL)	1.20 ± 0.00 <sup>NS</sup>	1.20 ± 0.00	1.35 ± 0.23
Osteocalcin (ng/mL)	86.80 ± 10.28 <sup>NS</sup>	100.84 ± 18.62	109.45 ± 8.68
ALP (IU/L)	355.50 ± 13.07 <sup>a</sup>	285.00 ± 26.40 <sup>b</sup>	304.50 ± 37.64 <sup>b</sup>
<u>Urine</u>			
Deoxypyridinoline (DPD)(nM/mM creatinine)			
	427.81 ± 48.50 <sup>NS</sup>	372.26 ± 75.05	391.09 ± 59.46

Values are Mean ± SD

Values within row having same superscript are not significantly different by ANOVA and Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$  NS: not significant, PTH: parathyroid hormone, ALP: alkaline phosphatase, FO: high fish oil diet, FICO: fish oil blended with corn oil, SO: soy oil diet

으로 나타났다. 오스테오칼신은 SO군이 FO군이나 FICO군보다 다소 높은 경향이나 유의한 차이를 나타내지 못하였다. 반면에 ALP는 FO군이 FICO군과 SO군보다 유의하게 높았고, FICO군과 SO군은 서로 차이를 보이지 않았다.

### 소변의 골격대사 관련 지표

Table 3에 의하면 뼈의 흡수지표인 DPD는 FO군, FICO군, SO군 세 군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다.

### 대퇴골의 무게와 회분 및 칼슘함량

Table 4는 대퇴골의 무게를 나타낸다. 대퇴골의 습윤무게는 실험군 간에 차이를 보여 FO군에서 0.84 g으로 가장 높고, SO군에서 0.74 g으로 가장 낮은 값이었으나 체중 100 g당 대퇴골의 습윤무게는 차이를 보이지 않았다. 대퇴골의 건조무게는 실험군 간에 차이를 보이지 않았고, 체중 100 g당의 무게로 환산한 후의 건조중량도 세 그룹에서 다르지 않았다. Table 5는 대퇴골의 회분함량과 칼슘함량을 나타낸다. 대퇴골 총회분은 FO군에서 높은 경향이나 실험군 간에 차이를 보이지 않으며, 대퇴골 단위중량당으로 환산된 회분함량도 차이가 없는 것으로 나타났다. 대퇴골의 칼슘 함량 또한 FO군, FICO군, SO군의 실험군 간에 유사한 값을 보였다.

**Table 4.** Wet and dry weight of femur

	FO	FICO	SO
<u>Wet weight</u>			
Total (g)	0.84 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.06 <sup>ab</sup>	0.74 ± 0.05 <sup>b</sup>
g/100g BW	0.29 ± 0.01 <sup>NS</sup>	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.02
<u>Dry weight</u>			
Total (g)	0.46 ± 0.01 <sup>NS</sup>	0.45 ± 0.02	0.43 ± 0.02
g/100g BW	0.16 ± 0.01 <sup>NS</sup>	0.16 ± 0.01	0.16 ± 0.01

Values are Mean ± SD

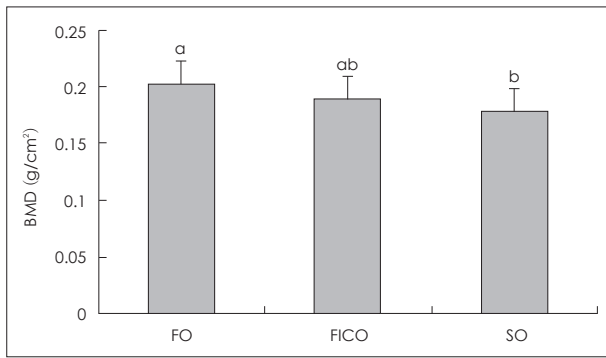
Values within row having same superscript are not significantly different by ANOVA and Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$  NS: not significant, FO: high fish oil diet, FICO: fish oil blended with corn oil, SO: soy oil diet

**Table 5.** Ash and Ca content of femur

	FO	FICO	SO
<u>Bone ash</u>			
Total (mg)	237.20 ± 9.87 <sup>NS</sup>	229.10 ± 8.22	226.13 ± 14.01
mg/g dry femur	520.18 ± 12.06 <sup>NS</sup>	511.92 ± 15.18	520.47 ± 9.41
<u>Bone calcium</u>			
Total (mg)	181.35 ± 11.67 <sup>NS</sup>	177.03 ± 5.91	171.50 ± 13.24
mg/g dry femur	397.77 ± 23.03 <sup>NS</sup>	395.62 ± 12.63	394.60 ± 15.60

Values are Mean ± SD

Values within row having same superscript are not significantly different by ANOVA and Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$  NS: not significant, FO: high fish oil diet, FICO: fish oil blended with corn oil, SO: soy oil diet



**Fig. 1.** Bone mineral density of femur. Bars having different letter are significantly different by ANOVA and Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$ . FO: high fish oil diet, FICO: fish oil blended with corn oil, SO: soy oil diet.

### 대퇴골의 골밀도

대퇴골의 골밀도는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 골밀도의 측정 결과는 실험군 간에 유의한 차이가 있었다. FO군의 대퇴골의 골밀도 ( $0.202 \pm 0.02 \text{ g/cm}^3$ )가 가장 높은 것으로 측정되었고, 골밀도가 가장 낮은 SO군 ( $0.178 \pm 0.02 \text{ g/cm}^3$ )과 유의한 차이를 보였다. FICO군의 골밀도는  $0.189 \pm 0.02 \text{ g/cm}^3$ 으로 SO군에 비해 높은 양상이나 유의한 차이는 아닌 것으로 나타났다.

## 고 찰

장쇄불포화지방산과 이들의 유도체는 생체에서 염증반응, 세포증식과 분화, 시그널유도 (transduction)와 같은 다양한 생리적 과정에 작용할 뿐 아니라 골격대사조절에 중요한 역할을 하므로 골다공증에 효과가 있을 것으로 기대되고 있다.<sup>12)</sup> 흔히 노후에 발병하는 골다공증은 최대 골질량과 관련이 있으므로 골격형성 시기에 뼈형성을 촉진시키려는 노력은 노후 골다공증의 위험을 낮출 수 있을 것으로 예측된다. 뼈의 건강과 관련된 많은 연구는 노화나 폐경기를 모델로 하여 이루어진 반면 성장기를 모델로 하는 연구, 특히 식이지방 및 n-3 지방산이 골격발달에 미치는 영향에 대한 연구는 많지 않다. 본 연구는 n-3지방산이 풍부한 어유의 공급이 성장기 골격대사에 미치는 영향을 알아보고자 혈액과 뇨에서 생화학적 골격대사지표와 대퇴골의 무기질함량과 골밀도를 측정하였다.

신체에서 칼슘의 항상성을 유지시키는 주요 기전은 PTH와 칼시토닌의 작용에 의해 이루어진다. PTH는 뼈의 흡수기능을 담당하는 반면, 칼시토닌은 감상선의 특이화된 C세포라고 하는 간질세포에서 분비되어 혈액칼슘농도의 유지와 뼈흡수를 억제하는 역할을 담당한다.<sup>13)</sup> 본 연구의 실험군들은 혈청 Ca 농도가 유사하였고, 혈중 Ca의 항상성에 관여하는 PTH와 칼시토닌은 실험식이에 따른 차이를 보이지 않았다. 실험군 간에 혈

청 Ca 농도 또는 호르몬의 농도가 다르지 않았던 것은 적정수준의 Ca를 포함한 식이의 공급과 관련이 있을 것으로 보인다. 이유 후 35일 동안 옥수수유와 어유가 혼합된 식이 (7% 지방식)를 섭취한 흰쥐는 대조군인 대두유 식이군과 비교할 때 PTH가 모두  $13.86 \pm 5.61 \text{ nmol/L}$ 로서 차이를 보이지 않았다.<sup>9)</sup>

뼈교체를 나타내는 여러 생화학적 지표는 성장기 그리고 대사질환이나 노화에 따라 골격이 변화하는 시기에 뼈형성과 뼈흡수를 예측하는 유용한 지표로 사용되고 있다.<sup>14)</sup> ALP와 오스테오칼신은 뼈형성을 나타내는 지표로서 광범위하게 연구되고 있는데 ALP는 조골세포의 무기질화와 관련된 활성을 나타내며, 오스테오칼신은 조골세포에서 혈류로 방출되는 단백질이다.<sup>15)</sup> 뼈흡수는 뇨에서 deoxypyridinoline의 측정으로 평가되는데, 뼈의 감소가 일어날 때 pyridinoline과 deoxypyridinoline이 뼈에서 방출되어 뇨로 배설되기 때문이다.<sup>16)</sup> 김 등에 의하면 0.15%의 저 Ca식이를 공급받은 흰쥐에서 DPD의 증가와 함께 낮은 골밀도를 보였으나, 적정량의 Ca 보충식이를 급여함에 따라 정상식이를 공급받은 동물과 유사하게 DPD가 저하됨을 보였을 뿐 아니라 이러한 저하는 Ca 급여와는 무관하게 나타난 것으로 보고하였다.<sup>17)</sup> 본 결과에서 DPD는 실험군 사이에 차이가 없었고, 적정수준의 Ca식이가 급여된 점을 감안할 때 본 실험군들에서 뚜렷한 뼈의 감소는 진행되지 않은 것으로 예측된다.

Bhattacharya에 의하면 10% 옥수수유에 비해 10% 어유를 공급받은 마우스는 골밀도가 높게 유지되었고, 이는 염증을 일으키는 사이토카인의 감소, 오스테오칼신과 ALP의 증가 그리고 파골세포 생성 저하와 관련이 있는 것으로 보고되었다.<sup>18)</sup> 본 실험에서 오스테오칼신은 실험군 간에 차이가 없었으나 ALP는 FO군에서 유의하게 가장 높은 반면, FICO군과 SO군 간에는 차이를 보이지 않았다. 실험군 모두 동일한 수준의 Ca식이가 공급된 점으로 미루어 볼 때, FICO군과 SO군에 비하여 FO군에서 나타난 ALP의 높은 활성은 식이 내 n-3 지방산 함량이 뼈형성에 관련이 있음을 시사한다. 이유한 수컷 SD종에 42일 동안 잇꽃유와 menhaden유를 혼합한 식이를 공급할 때 ALP의 활성은 식이 n-6/n-3 비율 (23.76~1.19)에 따라 음의 상관관계를 보이며  $208.0 \pm 15.0 \sim 281.5 \pm 17.5 \text{ U/L}$ 의 값을 보였으며, n-3 함량이 높은 식이에서 ALP 활성이 증가되고 PGE<sub>2</sub> 생성이 저하되므로 성장하는 흰쥐에서 골격형성에 효과를 보이는 것으로 나타났다.<sup>9)</sup> 동물모델과 세포배양 실험결과에 의하면 EPA는 PGE<sub>2</sub> 생성을 저하시킴으로써 ALP 활성을 자극하는 것으로 보고되었고, 따라서 n-3 지방산은 골격의 모델링이 빠르게 진행되는 성장기 흰쥐에서 골격형성을 자극한다고 제시하였다.<sup>19)</sup>

본 실험에서 오스테오칼신은 식이에 따른 차이가 없었고, 이와 유사하게 대조군으로 대두유와 실험군으로 어유를 공급한 8주령의 동물 ( $5.85 \text{ nmol/L}$ )에서도 차이가 없는 것으로 나타



났다. 오스테오칼신은 생후 3주에 최대값에 이른 후 11주까지 감소하므로 이러한 연령대의 동물에서는 오스테오칼신에 대한 식이효과가 뚜렷하게 나타나지 않을 수 있음이 제시된 바 있다. 또한 뼈형성지표인 오스테오칼신의 급등 현상은 동물의 빠른 성장시기보다 앞서 나타나며, 성장기 흰쥐의 골격형성은 혈청 오스테오칼신의 변화 없이도 관찰될 수 있다고 보고하였다.<sup>8,20)</sup> 본 고의 7주령 쥐의 오스테오칼신은 9주된 동물의 51.3~52.8 µg/L에 비해 높은 값을 보였는데<sup>8)</sup> 이는 연령과 식이 및 분석방법과 분석키트와 관련하여 나타나는 차이로 예측된다. Lee 등에 의하면 동일 시료에 대해 사용된 별개의 오스테오칼신 분석법에 따라 서로 다른 절대값을 보이며, 50%까지의 차이를 보이기도 하는데 이 결과를 표준값에 대한 비율로 나타내거나 Z score를 사용하여 나타낼 때 결과값의 차이는 감소되는 것으로 나타났다.<sup>21)</sup>

골격교체를 나타내는 이러한 여러 생화학지표들은 혈액과 뇨에서 비교적 쉽게 측정되고 뼈형성과 뼈흡수의 질적인 변화를 모니터링하는데 유용하지만 이들 지표들로부터 직접 골밀도를 예측하거나 실제의 칼슘보유정도를 정량화하지는 못한다. 반면에 골밀도측정은 칼슘보유상황이 변화되면서 축적되어 온 결과를 반영하는 지표이다.<sup>22)</sup>

총 장쇄불포화지방산의 섭취와 골밀도는 음의 상관성이 있으며 n-6/n-3 비율이 높은 식이를 섭취한 폐경기의 여성에서 골밀도가 낮았다. 이는 총 장쇄지방산의 높은 섭취보다는 높은 함량의 n-6 섭취가 골질량에 해로울 수 있음을 나타내고 있다.<sup>23)</sup> 일상적으로 n-3 식이지방산의 섭취가 높은 사람들에서 골다공증의 발생률이 낮았고, 혈청인지질의 DHA 농도가 총 골격 및 척추의 골밀도와 정의 상관관계를 보임으로써 특정 n-3 지방산이 뼈형성에 영향을 갖는 것으로 나타났다.<sup>24,25)</sup> 반면 폐경기 여성에게 12개월 동안 alpha-linolenic acid (ALA)가 풍부한 아마인유(flaxseed)를 보충한 후 골밀도는 차이를 보이지 않았는데,<sup>26)</sup> Kruger 등에 의하면 EPA와 DHA와 같은 매우 긴사슬지방산이 골질량에 긍정적인 효과를 보이는 것으로 나타났다.<sup>27)</sup> 다양한 n6/n3 비율의 식이를 공급받은 닭의 경골에서 측정된 BMD, 뼈무기질함량 (BMC), 조직학적 특성은 n-3 지방산에 따른 차이를 보이지 않았는데, 이러한 결과는 n-3 지방산의 급원으로 아마인유가 사용되었기 때문으로 설명되었다.<sup>28)</sup> Sun 등에 의하면 난소 절제된 마우스에 5% 옥수수유와 5% 어유를 먹인 후 sham군과 비교한 결과, 옥수수유를 섭취한 군에서 대퇴부와 요추의 골밀도가 각기 20%와 22.6% 감소한 데 비해 어유군에서는 골밀도가 각기 10% 감소하거나 감소하지 않았다. 이는 어유의 n-3 지방산이 파골세포의 생성과 활성을 억제하기 때문에 난소절제에서 오는 골밀도의 감소를 저하시키기 때문인 것으로 나타났다.<sup>2)</sup> 성장기의 동물에서도 n-3 지방산은 골밀

도에 다양하게 영향을 미치는 것으로 나타난다. 이유 된 흰쥐에게 5주 동안의 대두유 또는 어유의 공급 (7% 지방식이)은 골밀도에 영향을 나타내지 못하였다 (수컷  $175 \pm 8 \text{ mg/cm}^2$ 과  $176 \pm 7 \text{ mg/cm}^2$ ).<sup>29)</sup> 한편 대두유를 급여한 8주령 흰쥐 ( $0.172 \pm 0.010 \text{ g/cm}^2$ )에 비해 어유를 이용한 n-3 장쇄지방산이 높은 식이는  $0.181 \pm 0.008 \text{ g/cm}^2$ 로서 높은 대퇴골 골밀도를 보였다.<sup>9)</sup> DHA가 풍부한 어유를 5주령 수컷 SD종에 6주 동안 공급한 경우의 대퇴골 골밀도는 옥수수유를 공급한 동물에 비해 유의하게 높았다 ( $0.247 \pm 0.002 \text{ g/cm}^2$ 과  $0.238 \pm 0.002 \text{ g/cm}^2$ ).<sup>24)</sup> 본 연구에서 FO군의 골밀도는 가장 높아 SO군에 비해 유의하게 높은 값을 보였고, FICO군과는 유의한 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 어유의 EPA, DHA와 같은 n-3 지방산이 뼈형성 및 골밀도에 긍정적인 효과가 있음을 나타내고 있다.

장쇄지방산의 대사는 라이프스타일과 노화단계에 의해 영향을 받는다. C18 지방산은 n-3 또는 n-6 장쇄지방산으로 전환되지만 이러한 전환율은 노화나 폐경, 흡연과 같은 여러 생활인자들에 의해 감소한다.<sup>12)</sup> 또한 식이 ALA의 6%와 3.8%가 인체에서 각기 EPA와 DHA로 전환되는데 n-6 장쇄지방산이 풍부한 식이를 섭취하면 EPA와 DHA로의 전환이 40~50% 감소하는 것으로 보고되었다.<sup>30)</sup> 따라서 식이 중에 포함되는 C20, C22의 n-3 장쇄지방산 함량의 증가는 뼈형성 및 골격감소의 최소화에 기여할 것으로 기대된다.

## 요 약

본 연구는 n-3 장쇄지방산이 풍부한 어유가 골격대사에 미치는 영향을 알아보고자 이유한 Sprague-Dawley 종 흰쥐 (수컷)에게 4주 동안 FO군, FICO군, SO군의 실험식이를 공급한 후, 혈액과 뇨에서 생화학적 골격대사지표와 대퇴골의 무기질함량 및 골밀도를 측정하였다. 부갑상선호르몬, 칼시토닌, 오스테오칼신은 세 그룹 사이에 차이를 보이지 않았으며, 뼈흡수지표인 deoxypyridinoline도 그룹 간에 차이가 없는 것으로 나타났다. 반면에 골격형성지표인 ALP의 활성은 FO군에서 SO군에 비해 유의하게 높았고, 대퇴골의 골밀도 또한 SO군에 비해 FO군에서 유의하게 높은 값을 보였다. 그러나 FICO군과 SO군 간에는 차이가 없는 것으로 나타났다.

이러한 결과로 볼 때, 본 연구에서 DHA, EPA 급원의 어유 함량이 높은 식이는 ALP활성을 높이고 골밀도를 증대시킴으로써 성장기 흰쥐의 골격형성에 보호적인 효과가 있음을 알 수 있다. 그러나 식이 n-3 장쇄지방산이 골격대사에 미치는 효과를 규정하기 위해서는 적정식이수준이나 적정 n6/n3 비율과 관련된 많은 연구가 요구되며, n-3계 내의 각 지방산이 골격에 주는 작용양상에도 차이가 있을 수 있으므로 이에 대한 다양한

연구의 병행이 필요할 것으로 본다.

#### Literature cited

- 1) Statistics Korea. Population projections for Korea: 2010-2060; 2011
- 2) Sun D, Krishnan A, Zaman K, Lawrence R, Bhattacharya A, Fernandes G. Dietary n-3 fatty acids decrease osteoclastogenesis and loss of bone mass in ovariectomized mice. *J Bone Miner Res* 2003; 18(7): 1206-1216
- 3) Weaver CM. Adolescence: the period of dramatic bone growth. *Endocrine* 2002; 17(1): 43-48
- 4) Watkins BA, Li Y, Lippman HE, Seifert MF. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and skeletal health. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001; 226(6): 485-497
- 5) Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* 2002; 56(8): 365-379
- 6) Weiss LA, Barrett-Connor E, von Mühlen D. Ratio of n-6 to n-3 fatty acids and bone mineral density in older adults: the Rancho Bernardo Study. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(4): 934-938
- 7) Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest* 2005; 115(12): 3318-3325
- 8) Watkins BA, Li Y, Allen KG, Hoffmann WE, Seifert MF. Dietary ratio of (n-6)/(n-3) polyunsaturated fatty acids alters the fatty acid composition of bone compartments and biomarkers of bone formation in rats. *J Nutr* 2000; 130(9): 2274-2284
- 9) Green KH, Wong SC, Weiler HA. The effect of dietary n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on femur mineral density and biomarkers of bone metabolism in healthy, diabetic and dietary-restricted growing rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 71(2): 121-130
- 10) Fernandes G, Lawrence R, Sun D. Protective role of n-3 lipids and soy protein in osteoporosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 68(6): 361-372
- 11) Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C. Peak bone mass. *Osteoporos Int* 2000; 11(12): 985-1009
- 12) Poulsen RC, Moughan PJ, Kruger MC. Long-chain polyunsaturated fatty acids and the regulation of bone metabolism. *Exp Biol Med (Maywood)* 2007; 232(10): 1275-1288
- 13) Austin LA, Heath H 3rd. Calcitonin: physiology and pathophysiology. *N Engl J Med* 1981; 304(5): 269-278
- 14) Weaver CM, Peacock M, Martin BR, McCabe GP, Zhao J, Smith DL, Wastney ME. Quantification of biochemical markers of bone turnover by kinetic measures of bone formation and resorption in young healthy females. *J Bone Miner Res* 1997; 12(10): 1714-1720
- 15) Price PA, Parthamore JG, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 1980; 66(5): 878-883
- 16) Ohishi T, Takahashi M, Kawana K, Aoshima H, Hoshino H, Horiuchi K, Kushida K, Inoue T. Age-related changes of urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in Japanese subjects. *Clin Invest Med* 1993; 16(5): 319-325
- 17) Kim YM, Yoon GA, Hwang HJ, Chi GY, Son BY, Bae SY, Kim IY, Chung JY. Effect of bluefin tuna bone on calcium metabolism of the rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004; 33(1): 101-106
- 18) Bhattacharya A, Rahman M, Sun D, Fernandes G. Effect of fish oil on bone mineral density in aging C57BL/6 female mice. *J Nutr Biochem* 2007; 18(6): 372-379
- 19) Watkins BA, Li Y, Lippman HE, Feng S. Modulatory effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on osteoblast function and bone metabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 68(6): 387-398
- 20) Modrowski D, del Pozo E, Miravet L. Dynamics of circulating osteocalcin in rats during growth and under experimental conditions. *Horm Metab Res* 1992; 24(10): 474-477
- 21) Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin. *Ann Clin Biochem* 2000; 37(Pt 4): 432-446
- 22) Weaver CM. Use of calcium tracers and biomarkers to determine calcium kinetics and bone turnover. *Bone* 1998; 22(5 Suppl): 103S-104S
- 23) Poulsen RC, Kruger MC. Detrimental effect of eicosapentaenoic acid supplementation on bone following ovariectomy in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 75(6): 419-427
- 24) Kruger MC, Schollum LM. Is docosahexaenoic acid more effective than eicosapentaenoic acid for increasing calcium bioavailability? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; 73(5): 327-334
- 25) Kruger MC, Horrobin DF. Calcium metabolism, osteoporosis and essential fatty acids: a review. *Prog Lipid Res* 1997; 36(2-3): 131-151
- 26) Haag M, Magada ON, Claassen N, Böhmer LH, Kruger MC. Omega-3 fatty acids modulate ATPases involved in duodenal Ca absorption. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 68(6): 423-429
- 27) Kruger MC, Coetzer H, de Winter R, Gericke G, van Papendorp DH. Calcium, gamma-linolenic acid and eicosapentaenoic acid supplementation in senile osteoporosis. *Aging (Milano)* 1998; 10(5): 385-394
- 28) Baird HT, Eggett DL, Fullmer S. Varying ratios of omega-6: omega-3 fatty acids on the pre-and postmortem bone mineral density, bone ash, and bone breaking strength of laying chickens. *Poult Sci* 2008; 87(2): 323-328
- 29) Sirois I, Cheung AM, Ward WE. Biomechanical bone strength and bone mass in young male and female rats fed a fish oil diet. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 68(6): 415-421
- 30) Claassen N, Coetzer H, Steinmann CM, Kruger MC. The effect of different n-6/n-3 essential fatty acid ratios on calcium balance and bone in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1995; 53(1): 13-19