

칼슘과 비타민 D의 섭취 수준이 성장기 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

이선민¹ · 이연주¹ · 원은숙² · 이상선^{1†}

한양대학교 식품영양학과,¹ 서울우유협동조합²

Effects of calcium and vitamin D intake level on lipid metabolism in growing rats

Lee, Sun-Min¹ · Lee, Yeon-Joo¹ · Won, Eun-Sook² · Lee, Sang-Sun^{1†}

¹Department of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

²R&D Planning Team, R&D Center, Seoul Dairy Co., Ansan-Si, Kyunggi-Do 425-839, Korea

ABSTRACT

Purpose: Association of low intake of calcium (Ca) and inadequate vitamin D (VD) status with higher prevalence rates of obesity has been reported. This study was conducted in order to investigate the effects of different levels of whey Ca and VD intake on lipid metabolism in growing rats. **Methods:** A total of 56 five-week-old male Sprague-Dawley rats were divided into seven groups and fed for five weeks. Ca groups were divided into three levels, low, normal, and high (0.25%, 0.5%, 1%). VD subgroups in the low and high Ca groups were divided into three levels, low, normal, and high (10 IU, 1,000 IU, and 5,000 IU). The effects of Ca and VD on each group were evaluated by two way ANOVA. **Results:** Significantly higher amounts of abdominal fat, visceral fat, and epididymal fat were observed in the Low-Ca groups than in the Normal-Ca and High-Ca groups. Serum leptin levels of Low-Ca groups were higher than those of Normal-Ca and High-Ca groups. The highest serum parathyroid hormone concentration was observed in the low Ca·low VD group. The levels of serum 25(OH)D were significantly increased with increasing dietary VD levels. Significantly higher serum levels of triglycerides, total cholesterol, and HDL-cholesterol were observed in the low Ca groups than in the normal Ca and high Ca groups. **Conclusion:** These results indicate that low calcium intake increased serum lipid level and body fat amount.

KEY WORDS: calcium, vitamin D, 25(OH)D, serum lipid profile, fat mass.

서 론

2011년 국민건강영양조사 결과에 의하면 우리나라 전 연령의 권장섭취량 대비 칼슘섭취량은 72.3%로 낮은 비율을 보였으며 특히 12~18세의 연령에서 칼슘섭취량은 권장섭취량 대비 60% 미만으로 칼슘섭취가 부족한 것으로 조사되었다.¹ 칼슘은 전 연령에 걸쳐 중요한 인자로 지목되고 있으며, 특히 성장기에 중요한 영양소로서 최대 골질량 (peak bone mass)과 체위 향상, 뼈 질환의 예방과 건강 유지에 필수적이다.

최근에는 칼슘에 따른 골 대사와 함께 칼슘과 지질대사와의 관계도 중요시 되고 있다. 1960년대 후반부터 식이 칼슘이나 칼슘보충이 혈중 콜레스테롤과 지질 함량의 저하 효과가 있다는 사실이 보고되면서 골 대사뿐 아니라 지질대사와의 연

관성이 보고되기 시작하였다.^{2,3} 또한 Neri 등⁴은 칼슘과 마그네슘 함량이 적은 연수를 마시는 지역 주민들에게 혈액 순환계 질병 이환율이 높다고 하는 역학적 보고를 통해 식이 칼슘과 혈중 콜레스테롤 수준과의 관련성을 밝혔다.

이러한 칼슘의 혈청 콜레스테롤 저하 효과에 대한 기전은 콜레스테롤이 담즙염의 일부로 담즙을 통해 소장내로 배설이 이루어질 때, 소장 내에서 식이 칼슘이나 섬유질 등이 담즙산염과 결합하여 불용성 염을 생성하게 되고, 콜레스테롤의 생합성의 전구체인 콜릭산 등의 재흡수가 방해되는 것으로 알려져 있다.² 이와 같은 칼슘의 콜레스테롤 저하 효과와 함께 여러 선행연구에서 칼슘의 섭취를 많이 하는 사람이나 동물에서 체내 지방의 축적이 적게 나타났으며, 칼슘이 체내 지질 대사 개선을 보여주는 연구들도 보고되었다.^{5,6} 또한, Carlson

Received: Jan 7, 2014 / Revised: Feb 24, 2014 / Accepted: Mar 19, 2014

[†]To whom correspondence should be addressed.

tel: +82-2-2220-1206, e-mail: leess@hanyang.ac.kr

© 2014 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.

등⁷은 고지혈증 환자를 대상으로 2 g의 칼슘을 경구투여 한 경우 혈청 콜레스테롤이 감소되었으나, 정맥으로 주사했을 때는 변화가 나타나지 않은 것으로 보아 경구 섭취한 칼슘이 혈청 콜레스테롤 저하효과를 나타낸다고 하였다.

비타민 D는 칼슘 흡수를 조절하는 영양소로서 골격의 성장 뿐만 아니라 식품으로 섭취한 칼슘의 흡수를 증가시키고 항상성유지에 중요한 기능을 한다. 신체의 비타민 D의 영양 상태는 간에서 수산화를 거친 혈청 25(OH)D의 혈중 농도로 평가할 수 있으며, 간과 신장에서 생리적으로 활성형이 된 비타민 D의 1,25(OH)₂D는 장에서 칼슘 흡수를 조절하는 가장 중요한 호르몬이다. 1,25(OH)₂D는 장내에 주로 존재하는 비타민 D 수용체 (VDR)를 통해 장세포 내에서 calbindin의 합성을 증가시키고, 소장에서 상피세포의 칼슘 경로를 활성화시켜 세포 내로 칼슘의 이동을 상승시켜 칼슘의 흡수를 증가시킨다.⁸

최근 비타민 D는 비만과 관련하여 활발히 연구되고 있다. 비타민 D와 비만의 관계는 1971년 처음으로 Rosentreich 등⁹ 연구에서 관찰되었는데, 이들은 25(OH)D 농도가 낮은 쥐에게서 체내 지방량이 높다는 상관관계를 보고하였다. 또한 Zemel 등⁶의 연구에서도 1,25(OH)₂D가 식이 칼슘과 함께 체내 지방의 감소효과를 보였다고 보고하였다.

비타민 D는 인체의 골 대사 외에 체내 지방 축적량과 혈중 지질의 농도에 영향을 미치는 중요한 영양소로 인식되고 있다. 그러나 2010년 한국인영양섭취기준에 의하면 우리나라 소아·청소년기의 1일 평균 비타민 D의 섭취량은 권장량의 약 70%인 것으로 나타났다.¹⁰ 또한 우리나라 12~13세의 성장기의 학생을 대상으로 비타민 D와 지질대사를 조사한 연구에서는 비타민 D의 혈중농도와 TG, LDL-C 농도의 관계에서 혈중 비타민 D와 혈중 지질지표가 역의 상관관계가 관찰되었다.¹¹

비타민 D와 함께 칼슘의 수준을 조절하는 PTH도 지질대사에 관여한다는 연구결과가 발표되고 있으며,¹² 이 연구결과에서는 체중과 혈중 PTH가 양의 상관관계가 있다고 하였다. 부갑상선호르몬은 식이 칼슘 수준이 낮거나 혈중 25(OH)D의 농도가 낮을 때 생성된다. 따라서 본 연구에서는 칼슘과 비타민 D의 섭취수준에 따른 PTH의 혈중 농도가 지질대사에 어떠한 영향을 미치는지에 대해 알아보고자 하였다.

최근 성장기를 대상으로 한 칼슘과 비타민 D와의 지질대사 관련성 연구에서는, 단일 영양소로 지질대사의 관련성에 대해서만 연구되어졌고, 두 가지 영양소를 모두 사용한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 성장기 실험동물의 식이 칼슘을 유청칼슘으로 사용하여, 칼슘과 비타민 D의 섭취수준에 따른 혈중 지질농도와 체내 지방무게의 차이를 알아보고자 하였다.

연구 방법

실험 설계 및 실험동물

본 연구에서는 5주령 Sprague Dawley (SD-rat)종 수컷 흰 쥐 (오리엔트바이오, Seongnam, Korea) 56마리를 이용하였다. 모든 실험동물은 1주일동안 적응시킨 후 총 7군으로 나누어 5주 동안 두 마리씩 분리하여 사육하였으며, 약 195 g의 실험동물은 실험 식이에 따라 적정칼슘-적정비타민 D군 (control; CON)을 포함한 저칼슘-저비타민 D군 (low Ca, low VD; LCLD), 저칼슘-적정비타민 D군 (low Ca, normal VD; LCND), 저칼슘-고비타민 D군 (low Ca, high VD; LCHD), 고칼슘-저비타민 D군 (high Ca, low VD; HCLD), 고칼슘-적정비타민 D군 (high Ca, normal VD; HCND), 고칼슘-고비타민 D군 (high Ca, high VD; HCHD) 각 군당 8마리씩 임의배치법 (Randomized complete block design)으로 배정하였다. 실험식이 급여 시작으로부터 5주 후에 동물들을 희생시켰다. 실험기간 동안 12시간 밤낮 주기가 조절되는 환경에서 식이와 물은 자유 급여법 (ad libitum)으로 제공하였다. 실험동물 사육실은 온도 22 ± 2℃, 상대습도 45 ± 5%를 유지하였다.

본 실험은 한양대학교 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee; IACUC, 승인번호: HY-IACUC-12-053A)의 승인을 받아 한양대학교 의과대학 동물 실험실에서 시행하였다.

실험식이 및 체중측정

실험에 사용한 식이는 AIN-93G (American Institute of Nutrition-93 Growth¹³)의 기본 동물용 실험 식이조성을 기준하여 제조하였다 (Table 1). 최근 연구들 중 카제인이나 다른 단백질에 비해 탈지분유의 섭취가 체내 지방축적을 감소시키는 것으로 발표되었다.¹⁴ 따라서 본 연구에서도 카제인 대신 탈지분유를 사용하여 칼슘과 함께 섭취하였을 때 체내 지방 축적 감소가 이루어지는지 알아보려고 하였다. 실험식이에 사용한 탈지분유 (서울우유협동조합) 100 g에는 Na 600 mg, 탄수화물 2.5 g, 당 49 g, 단백질 37 g, Ca 1.1 g, K 1.2 g, P 1 g, 수분 4 g이 포함되어 있다. 따라서 실험식이 조제시 AIN-93G 식이에 탈지분유를 230 g 씩 더하였고, 혼합물의 함량을 동일하게 하기 위하여 casein 85 g, corn starch 25 g, maltodextrin 20 g, sucrose 100 g을 제거하였다. Mineral mixture에 사용된 Ca은 AIN-93G 식이에서 사용되는 calcium carbonate 대신에 유청칼슘을 사용하였다. 이는, 칼슘의 흡수율이 가장 좋은 칼슘과 인의 비 (Ca/P)가 1~2 : 1이라고 알려져 있는데,¹⁵ calcium carbonate를 대신하여 칼슘과 인의 비가 2 : 1인 유청칼

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

Ingredients ¹⁾	CON	LCLD	LCND	LCHD	HCLD	HCND	HCHD
Powdered skim milk	230	230	230	230	230	230	230
Casein	115	115	115	115	115	115	115
L-cystine	3	3	3	3	3	3	3
Corn starch	372	372	372	372	372	372	372
Maltodextrin	112	112	112	112	112	112	112
Cellulose	50	50	50	50	50	50	50
Soybean oil	70	70	70	70	70	70	70
t-Butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Mineral mix	35	35	35	35	35	35	35
Vitamin mix	10	10	10	10	10	10	10
Mineral components							
Total Ca	5	2.5	2.5	2.5	10	10	10
From whey calcium	2.5	0	0	0	7.5	7.5	7.5
From powdered skim milk	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Vitamin components							
Vitamin D ₃ (IU)	1,000	10	1,000	5,000	10	1,000	5,000

1) Experimental diet were based on AIN-93G composition. The amount of casein 85 g, corn starch 25 g, maltodextrin 20 g, sucrose 100 g are removed from the diet to add powdered skim milk 230 g.

숨을 사용하여 칼슘의 흡수율을 높이하고자 하였다. 사용된 유청칼슘 (Probiotec Limited Pty., Australia)은 단백질 3~6%, 회분 76~78%, 유당 1~1.5%, 지방 2% 이하, 칼슘 26~28%, 인 13%로 조성된 것으로 사용하였다. 칼슘은 전체 식이량의 0.25% (LC), 0.5% (NC), 1% (HC)가 되도록 첨가하였으며, 비타민 D는 식이 1 kg에 10 IU (LD), 1,000 IU (ND), 5,000 IU (HD) 함량이 되도록 제조하였다.

실험동물의 체중은 식이를 시작한 날부터 1주일 단위로 동일한 시간에 측정하였다.

시료 수집

실험 최종일에 모든 실험동물을 12시간 동안 절식시킨 후 개별로 체중을 측정하여 Zoletil (Virbac, Korea) 0.9 ml/100 g bw와 Rumpun (동약, 바이엘) 0.03 ml/100 g bw를 복강 투여하여 마취시킨 뒤 시료를 채취하였다. 혈액은 복부 대정맥에서 채취하였으며, 이를 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 그 후 분석 시까지 -80℃에서 냉동 보관하였다. 혈액 채취 후 지방조직은 복부지방 (abdominal fat), 내장지방 (visceral fat), 부고환 주위의 지방 (epididymal fat)을 적출하여 같은 방법으로 세척하여 여과지에 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다.

시료 분석

혈청 지표 분석

혈청의 칼슘과 인의 농도분석은 각각 Ca kit (Roche, Ger-

many), PHOS kit (Roche, Germany), Modular Analytics (PE, Roche, Germany)을 이용하여 각각 비색정량, 자외선 흡광도를 측정하였으며, 25(OH)D는 Liaison 25 OH Vitamin D Total Kit (Diasorin, USA)를 사용하여 화학발광 면역 분석을 하였다. ALP (alkaline phosphatase)는 ALP kit (Roche, Germany), Modular Analytics (PE, Roche, Germany)을 통해 비색정량 하였으며, 부갑상선 호르몬은 ELISA kit (Rat Intact PTH Kit, Immutopics, USA)를 사용하여 Microplate Reader (VERSA Max, Molecular device, USA)로 측정 하였다. 혈중 렙틴의 농도는 Procarta Immunoassay Kit-Polystyrene Beads (BioPlex, BioRad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 분석하였다.

혈청 total cholesterol (T-C), triglyceride (TG), HDL-cholesterol (HDL-C)은 각각 CHOL, TG, HDL-C plus 3rd generation Kit (PE, Roche, Germany)를 사용하여 Modular Analytics (PE, Roche, Germany)을 이용하여 효소 비색 정량하였다. 또한 LDL-cholesterol (LDL-C)은 다음의 Friedewald 법¹⁶⁾에 의해 계산하였다.

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol} - (\text{Triglyceride}/5)$$

통계분석

실험 결과는 SPSS 18.0 (Statistic Package for Social Science 18.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 분

석하였다. 모든 결과는 평균과 표준오차 (mean \pm SE)로 나타내었다. 실험군 간의 유의성은 one-way analysis of variance (ANOVA)를 이용하여 검증하였으며, 식이칼슘과 비타민 D 보충여부에 따른 효과는 two-way ANOVA를 이용하여 검증하였다. 유의적인 영향이 나타났을 때에는 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다. 식이칼슘과 비타민 D 및 혈청 비타민 D, 호르몬과 혈청지질, 지방무게간의 상관관계는 Pearson's correlation coefficient를 이용하여 검증하였다.

결 과

체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

각 실험군의 칼슘과 비타민 D의 섭취 수준차이에 따른 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 (food efficiency ratio: FER)은 Table 2에 제시하였다. 실험식이 급여 시작 시에 CON군 및 모든 실험군의 체중은 평균 196 g으로 유의한 차이가 없었으며, 최종 체중은 LC군에서 다른 군보다 높은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. 일일 체중 증가량을 비교한 결과 LC군의 체중 증가량이 HC군에 비해 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 그러나 비타민 D의 섭취량에 따라서는 유의한 차이가 없는 것으로 보아, 낮은 수준의 칼슘 섭취가 체중 증가를 야기시키는 것으로 나타났다. 식이효율은 LC군에서 다른 군보다 높은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었으며, 비타민 D 섭취에 따른 유의한 차이도 없었다.

지방조직무게 및 혈중 렘틴농도

지방조직의 무게 및 혈중 렘틴농도는 Table 3에 제시하였다. 각 군간 지방조직의 무게와 렘틴의 농도는 비타민 D 섭취량에 따른 유의한 차이는 없었으나, 칼슘 섭취량에 따라서 HC군에 비해 LC군에서 지방조직의 무게가 유의하게 더 높았으며, 혈중 렘틴의 농도 또한 LC군에서 유의하게 높았다 ($p < 0.01$).

칼슘 섭취량에 따른 실험군의 지방조직 무게를 대조군과 비교한 결과 복부지방에서는 LC군에서 CON군에 비해 지방조직의 무게가 유의하게 높았으며 ($p < 0.05$), 내장지방은 LCLD, LCHD군이 CON군에 비해 지방조직의 무게가 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 또한 부고환지방의 경우 LCLD, LCND군이 CON군에 비해 지방조직의 무게가 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 그러나 HC군의 지방조직무게는 CON군과 유의한 차이는 없었다. 또한 칼슘 섭취량에 따른 실험군의 렘틴 농도를 CON군과 비교한 결과 LCLD, LCND군이 CON군에 비해 농도가 유의하게 높았다 ($p < 0.05$).

Table 2. Body weight, weight gain, food intake, food efficiency ratio (FER) of rats fed different level of calcium and vitamin D

	CON ¹⁾			LC		HC		p values ²⁾			
	LD	ND	HD	LD	ND	LD	ND	HD	Ca	VD	Ca \times VD
Initial weight (g)	198.1 \pm 3.32 ³⁾	195.8 \pm 3.67	196.1 \pm 3.31	196.3 \pm 3.07	195.8 \pm 2.74	195.8 \pm 2.73	195.8 \pm 2.73	195.8 \pm 2.61	0.853	0.997	0.997
Final weight (g)	450.9 \pm 12.8	476.2 \pm 10.1	477.9 \pm 21.4	491.9 \pm 19.9	459.5 \pm 11.0	454.9 \pm 11.8	454.9 \pm 11.8	448.3 \pm 13.2	0.062	0.969	0.641
Weight gain (g/day)	6.17 \pm 0.74	6.84 \pm 0.66	6.87 \pm 0.45	7.21 \pm 0.44	6.43 \pm 0.29	6.32 \pm 0.29	6.32 \pm 0.29	6.16 \pm 0.33	0.042	0.968	0.614
Food intake (g/day)	22.6 \pm 0.71	24.3 \pm 0.44	23.5 \pm 0.96	24.4 \pm 1.01	23.8 \pm 0.33	23.2 \pm 0.23	23.2 \pm 0.23	23.4 \pm 0.36	0.331	0.542	0.874
FER ⁴⁾	0.273 \pm 0.007	0.281 \pm 0.008	0.291 \pm 0.12	0.294 \pm 0.008	0.270 \pm 0.01	0.273 \pm 0.01	0.273 \pm 0.01	0.263 \pm 0.01	0.052	0.853	0.640

1) CON: normal Ca normal VD, LC: low Ca, HC: high Ca, LD: low VD, ND: normal VD, HD: high VD 2) Statistical significance was calculated by two-way ANOVA. 3) All values are Mean \pm SEM. 4) Food efficiency ratio = weight gain (g)/food intake (g)

Table 3. Effect of calcium and vitamin D intake on adipose tissue weight and serum level of leptin in rats

	CON ¹⁾			LC			HC			p values ²⁾		
	LD	ND	HD	LD	ND	HD	LD	ND	HD	Ca	VD	Ca × VD
Abdominal fat (g/100 g bw)	2.34 ± 0.17 ^{3)(cd)}	3.58 ± 0.24 ^c	3.49 ± 0.27 ^c	3.16 ± 0.23 ^{bc}	2.46 ± 0.19 ^a	2.33 ± 0.20 ^a	2.51 ± 0.27 ^{ab}	0.001	0.711	0.461		
Visceral fat (g/100 g bw)	0.93 ± 0.10 ^{ab}	1.37 ± 0.13 ^c	1.20 ± 0.81 ^{bc}	1.27 ± 0.13 ^c	0.96 ± 0.08 ^{ab}	0.84 ± 0.07 ^a	0.89 ± 0.09 ^a	0.001	0.307	0.978		
Epididymal fat (g/100 g bw)	1.59 ± 0.10 ^{ab}	2.07 ± 0.14 ^c	2.17 ± 0.14 ^c	1.99 ± 0.21 ^{bc}	1.47 ± 0.09 ^a	1.45 ± 0.13 ^a	1.50 ± 0.15 ^a	0.001	0.906	0.742		
Leptin (pg/ml)	30.5 ± 10.1 ^a	91.4 ± 34.7 ^b	97.6 ± 21.7 ^b	57.2 ± 13.2 ^{ab}	26.3 ± 5.59 ^a	55.7 ± 21.4 ^{ab}	35.5 ± 9.20 ^a	0.007	0.290	0.527		

1) CON: normal Ca normal VD, LC: low Ca, HC: high Ca, LD: low VD, ND: normal VD, HD: high VD 2) Statistical significance was calculated by two- way ANOVA. 3) All values are Mean ± SEM. 4) Different letters means significant difference at p < 0.05 by one way ANOVA with Duncan's multiple range test.

Table 4. Effect of calcium and vitamin D intake on serum ALP activity and level of iPTH, P, calcium, 25(OH)D in rats

	CON ¹⁾			LC			HC			p values ²⁾		
	LD	ND	HD	LD	ND	HD	LD	ND	HD	Ca	VD	Ca × VD
ALP (U/l) ³⁾	107.6 ± 8.09 ⁵⁾	119.8 ± 7.94	114.5 ± 10.51	130.6 ± 7.87	115.0 ± 7.94	115.4 ± 8.33	107.4 ± 6.91	0.326	0.884	0.317		
iPTH (pg/ml) ⁴⁾	138.9 ± 23.6 ^{ab)}	288.8 ± 40.3 ^b	161.3 ± 23.9 ^a	211.0 ± 46.6 ^{ab}	149.3 ± 18.1 ^a	156.5 ± 54.0 ^a	181.6 ± 63.7 ^{ab}	0.372	0.532	0.446		
P (mg/dl)	9.70 ± 0.25	10.20 ± 0.21	9.81 ± 0.31	10.33 ± 0.41	10.55 ± 0.40	10.06 ± 0.38	10.15 ± 0.32	0.751	0.415	0.708		
Ca (mg/dl)	9.74 ± 0.27	10.15 ± 0.13	10.01 ± 0.14	10.11 ± 0.13	9.90 ± 0.12	10.10 ± 0.16	9.75 ± 0.16	0.133	0.716	0.344		
25(OH)D (ng/ml)	26.6 ± 1.79 ^{bc}	5.08 ± 0.50 ^a	22.2 ± 2.79 ^b	50.7 ± 2.92 ^a	4.99 ± 0.31 ^a	30.78 ± 1.93 ^c	37.26 ± 1.16 ^d	0.567	0.001	0.001		

1) CON: normal Ca normal VD, LC: low Ca, HC: high Ca, LD: low VD, ND: normal VD, HD: high VD 2) Statistical significance was calculated by two- way ANOVA. 3) ALP: alkaline phosphatase 4) iPTH: intact parathyroid hormone 5) All values are Mean ± SEM. 6) Different letters means significant difference at p < 0.05 by one way ANOVA with Duncan's multiple range test.

혈중 ALP 활성과, 부갑상선호르몬, 인, 칼슘, 비타민 D 농도

혈중 ALP 활성과, 부갑상선호르몬 및 인, 칼슘, 25(OH)D 농도는 Table 4에 제시하였다. 혈중 ALP의 활성은 실험군 간 유의한 차이가 없었으며, 칼슘과 비타민 D 섭취수준에 대해서도 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 혈중 인의 농도는 모든 군에서 쥐의 정상 인 수준 ($3.11 \sim 11.0 \text{ mg/dl}$)¹⁷ 범위 안에 있었으며 실험군간, 칼슘과 비타민 D의 섭취에 따른 유의한 차이는 없었다. 혈중 칼슘 농도 또한 모든 군에서 항상성을 유지하여 쥐의 정상 칼슘 수준 ($7.2 \sim 13.0 \text{ mg/dl}$)¹⁷ 범위였으며 실험군간 유의한 차이는 없었다. 그러나 실험군간 혈중 25(OH)D의 농도는 식이중 비타민 D 함량이 높을수록 유의하게 증가하는 것으로 나타났다 ($p < 0.001$).

혈중 지질농도

혈중 TG, T-C, HDL-C, LDL-C 농도와 HDL-C/T-C의 비를 Table 5에 제시하였다. 모든 실험군의 혈중 지질농도는 칼슘 섭취량에 따라 유의한 차이가 나타났으나, 비타민 D 섭취량에 따른 유의한 효과는 없었다.

혈중 TG의 농도차이를 분석한 결과 LC군이 HC군보다 혈중 TG의 농도가 유의하게 높았으나 ($p < 0.001$), LC군 내에서 비타민 D 섭취에 따른 혈중 TG농도의 유의한 차이는 없었다. 또한 CON군과의 비교에서는 LCLD군이 CON군에 비해 TG농도가 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 혈중 T-C의 농도는 LC군이 HC군보다 유의하게 높았으나 ($p < 0.001$), LC군 내에서 비타민 D 섭취에 따른 혈중 T-C농도의 유의한 차이는 없었다. 또한 CON군과의 비교에서는 LCHD군이 CON군에 비해 T-C농도가 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 혈중 HDL-C의 농도는 LC군이 HC군보다 유의하게 높았으며 ($p < 0.001$), LCHD군이 다른 실험군보다 유의하게 높았다 ($p < 0.001$). 또한 CON군과의 비교에서는 LC군이 CON군에 비해 HDL-C 농도가 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 혈중 LDL-C의 농도는 LC군이 HC군보다 약간 높았으나, 비타민 D 섭취에 따른 유의한 차이는 없었다. CON군과의 비교에서도 실험군과 유의한 차이가 없었다. HDL-C/T-C의 비는 칼슘과 비타민 D 섭취수준에 따라서 유의한 차이가 없었다.

식이칼슘, 비타민 D, 혈중 호르몬 농도와 지질대사 지표간의 상관관계

식이칼슘, 비타민 D, 혈중 호르몬 농도와 지질대사 지표간의 상관관계를 Table 6에 제시하였다. 칼슘의 섭취와 지질대사의 상관관계에서 혈중 T-C, TG, HDL-C, LDL-C은 각각 유의한 음의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$). 또한 복부지방량, 내장지방량, 부고환지방량도 칼슘의 섭취와 유의한 음의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$). 비타민 D 섭취량과 혈중 HDL-C

Table 5. Effect of calcium and vitamin D on lipid profile in rats

	CON ¹⁾			LC			HC			p values ²⁾		
	LD	ND	HD	LD	ND	HD	LD	ND	HD	Ca	VD	Ca × VD
TG (mg/dl) ³⁾	81.9 ± 17.1^c	76.0 ± 7.92^{bc}	69.3 ± 8.20^{bc}	42.6 ± 5.56^a	46.6 ± 5.11^a	44.6 ± 7.84^a				0.001	0.828	0.719
T-C (mg/dl) ⁴⁾	80.5 ± 2.96^{bc}	92.2 ± 12.41^{bc}	99.0 ± 8.56^c	64.8 ± 8.19^a	67.3 ± 4.32^a	70.6 ± 3.56^{ab}				0.001	0.244	0.658
HDL-C (mg/dl) ⁵⁾	52.1 ± 1.19^b	53.3 ± 3.69^b	60.3 ± 3.36^c	38.9 ± 1.99^a	43.1 ± 0.97^a	45.4 ± 1.36^a				0.001	0.010	0.587
LDL-C (mg/dl) ⁶⁾	14.7 ± 1.4^{ab}	14.4 ± 1.88^{ab}	18.8 ± 8.31^b	10.7 ± 3.53^a	10.7 ± 3.58^a	13.5 ± 3.75^{ab}				0.009	0.064	0.885
HDL-C/T-C	0.65 ± 0.01	0.62 ± 0.04	0.62 ± 0.03	0.64 ± 0.04	0.65 ± 0.03	0.65 ± 0.02				0.803	0.957	0.683

1) CON: normal Ca normal VD, LC: low Ca, HC: high Ca, LD: low VD, ND: normal VD, HD: high VD 2) Statistical significance was calculated by two-way ANOVA. 3) TG: tri-glyceride 4) T-C: total cholesterol 5) HDL-C: high density lipoprotein cholesterol 6) LDL-C: low density lipoprotein cholesterol 7) All values are Mean \pm SEM. 8) Different letters means significant difference at $p < 0.05$ by one way ANOVA with Duncan's multiple range test.

Table 6. Correlation between calcium, vitamin D intake, serum levels of hormones and lipid metabolism index

	Intake		Serum		
	Calcium	VD	25(OH)D	iPTH	Leptin
T-C ¹⁾	-0.491**	0.177	0.208	0.153	0.384**
TG ²⁾	-0.678**	-0.079	-0.019	0.383**	0.389**
HDL-C ³⁾	-0.660**	0.302*	0.316*	0.211	0.261
LDL-C ⁴⁾	-0.380**	0.275	0.261	0.070	-0.070
Abdominal fat ⁵⁾	-0.602**	-0.056	-0.170	0.233	0.634**
Visceral fat	-0.580**	-0.053	-0.164	0.222	0.432**
Epididymal fat	-0.613**	-0.034	-0.043	0.312*	0.617**

1) T-C: total cholesterol 2) TG: triglyceride 3) HDL-C: High density lipoprotein cholesterol 4) LDL-C: Low density lipoprotein cholesterol 5) Abdominal fat, Visceral fat, Epididymal fat (g/100 g b.w)

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ by Pearson's correlation coefficient

농도와는 유의한 양의 상관관계를 보였으며 ($p < 0.05$), 혈중 T-C, LDL-C농도와는 양의 상관관계를 보였으나 유의하지 않았다.

혈중 비타민 D 농도와 혈중 HDL-C의 농도는 유의한 양의 상관관계를 보였다 ($p < 0.05$). 혈중 T-C, LDL-C 농도와는 양의 상관관계를 보였으나 유의하지 않았다. 또한 각 부위별 지방의 무게와는 모두 음의 상관관계를 보였으나 유의하지 않았다. 혈중 iPTH 농도와 혈중 TG의 농도는 유의한 양의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$). 또한 부고환지방 무게에서 유의한 양의 상관관계를 보였다 ($p < 0.05$). 혈중 leptin의 농도와 혈중 T-C, TG의 농도가 유의한 양의 상관관계를 보였으며 ($p < 0.01$), 복부, 내장, 부고환 지방과도 모두 유의한 양의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$).

고 찰

본 연구에서 LC군의 체중 증가량이 HC군에 비해 유의하게 높게 나타나 높은 수준의 칼슘 섭취가 체중 증가폭을 억제시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 8주간 0.5%, 1.5%, 2.5% 칼슘을 섭취시킨 골다공증 모델 흰쥐의 연구에서 2.5% 칼슘을 섭취한 군이 일일 체중 증가량이 유의하게 낮았다고 보고한 Lee와 Lee¹⁸⁾의 연구와 칼슘 섭취량의 증가로 인한 체중 증가량의 감소를 보고한 Sergeev와 Song¹⁹⁾의 연구와 유사한 결과가 나타났다.

반면에 비타민 D에 따른 체중 증가에는 유의한 차이를 보이지 않았는데, 이는 폐경 후의 건강한 여성을 대상으로 25(OH)D의 농도와 체질량지수를 비교한 연구²⁰⁾에서 혈중 25(OH)D의 농도와 체중은 유의한 상관관계가 없다는 연구결과와 유사하였다. 그러나 105명의 평균 8세의 어린이를 대상으로 혈중 25(OH)D의 농도와 비만과 염증지표의 상관관계를 연구한 Feng 등²¹⁾은 비만한 어린이들은 혈중 25(OH)D의 농도와 BMI

가 유의한 역의 상관관계가 있다는 것을 보고하여, 비타민 D의 체중에 미치는 영향에 대해서는 좀 더 연구가 필요한 것으로 사료된다.

본 연구에서 체지방 무게는 칼슘에 의한 영향을 받은 것으로 나타났다. 이 결과는 고지방식이에 칼슘, 리놀렌산을 첨가하여 섭취한 마우스를 이용한 Laraichi 등²²⁾의 연구에서 고지방식이와 함께 칼슘을 섭취한 군이 백색지방의 무게와 렙틴의 농도가 CON군에 비해 유의하게 낮다는 결과와 일치하였다. 또한, 고지방식이를 섭취한 군에서 칼슘을 첨가한 군이 그렇지 않은 군에 비해 백색지방의 무게가 유의하게 낮다는 Parra 등²³⁾의 결과와도 일치했다. 칼슘에 의한 체내 지방조직의 감소 효과는 최근까지도 여러 의견들이 보고되고 있다.²⁴⁾ 여러 연구^{6,25)}에 따르면 낮은 수준의 칼슘섭취는 부갑상선호르몬과 1,25-dihydroxyvitamin D가 상승되어 혈중 칼슘을 상승시키며, 이는 lipogenesis를 촉진시킨다고 보고하였으며, 이를 역으로 하여 높은 수준의 칼슘 섭취는 혈중 PTH와 1,25-dihydroxyvitamin D 농도가 낮아지게 되어 lipolysis를 유도한다고 보고하였다.^{6,25)} 또한, 고칼슘 섭취로 인해 지방세포내로 칼슘유입이 적어지고 지방합성관련 유전자들의 활성화 발현이 감소되어 지질 분해는 증가되고 합성은 감소하게 된다고 보고하였다.²⁶⁾ 이에 따라 본 연구에서도 높은 수준의 칼슘 섭취가 지방의 분해에 관여하여 체지방량이 낮게 나타난 것으로 추정된다.

또한 0.67%, 2.4% 함량의 칼슘군에 탈지분유, 유청단백질, 카제인, 콩 단백질을 섭취시킨 실험에서 높은 수준의 칼슘과 탈지분유를 함께 섭취한 군이 다른 군에 비해 체지방량이 줄었다는 연구결과와도 유사하였다.¹⁴⁾ 이는 칼슘과 함께 탈지분유가 영향을 미친 것으로 사료되며, 카제인의 섭취보다 탈지분유의 섭취가 체내 지방 감소와 관련이 있는 것으로 사료된다.

한편 본 연구에서는 비타민 D섭취와 체지방량 간에는 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 비만한 아동을 대상으

로 한 연구²⁷에서는 혈중 25(OH)D 농도가 낮을 때 체지방량이 유의하게 높은 것으로 나타났다. 본 연구에서는 유의하지는 않았으나 같은 경향성을 보였으므로 비타민 D의 섭취가 체내 지방량에 미치는 영향에 대해서는 앞으로 좀 더 연구가 필요할 것으로 사료된다.

또한, 본 연구에서 렙틴은 칼슘 섭취수준에 영향을 받은 것으로 나타났다. Adipocytokine의 일종인 렙틴은 주로 지방세포에서 생성되며 체지방함량의 지표로서 사용된다. 따라서 혈중 렙틴 농도는 칼슘에 의한 영향보다는 체지방이 많은 군에서 높게, 적은 군에서 낮은 농도로 관찰된 것으로 사료된다.

혈청 ALP 활성은 흔히 골격 형성의 지표로서 사용되며, 칼슘이 결핍되었을 때나 성장기 초기에 수치가 증가한다. 본 연구에서의 ALP 활성은 칼슘의 섭취량에 따른 유의한 차이는 없었다. 그러나 저칼슘군과 고칼슘군의 평균을 비교해보았을 때 저칼슘군의 혈중 ALP 활성이 약 10% 더 높은 것으로 나타났다. 이는 Härmäläinen²⁸의 칼슘 결핍시 혈중 ALP 활성이 증가된다는 결과와 같은 경향을 보였다. 그의 기전으로는 ALP가 조골세포의 활성을 증가시키기 위해 골격 동위효소(isoenzyme)의 분비를 자극시켰기 때문이라고²⁸ 보고하였다. 본 연구결과에서도 성장기 초기이며 저칼슘을 섭취한 군에서 ALP 활성이 증가하였다고 사료된다.

본 실험의 혈중 칼슘 농도는 모두 정상범위로 유의한 차이를 보이지 않았다. 흰쥐 대상의 다양한 연구에서 다른 수준으로 식이 칼슘을 급여한 경우 혈중 칼슘농도에 유의한 차이가 없다고 보고되었으며,²⁹ 이는 부갑상선 호르몬 및 칼시토닌 등의 호르몬에 의해 칼슘의 항상성이 유지되기 때문이다.

부갑상선호르몬농도의 경우 LCLD군에서 높게 나왔다. 이는 칼슘의 섭취수준이 낮고, 비타민 D 섭취수준이 낮을 때 부갑상선호르몬이 생성된다는 이론과 일치했다. 평균 12세의 133명의 비만아동과 23명의 정상체중아이들의 연구¹²에서 체중과 부갑상선호르몬농도의 양의 상관관계를 보고한 연구와 같이, 본 실험 결과에서도 지방의 양이 가장 많은 LC군에서 부갑상선호르몬 농도가 가장 높게 나타났다. 그러나 비만한 아동을 대상으로 혈중 비타민 D 수준과 여러 지표들을 관찰한 연구²⁷에서는 체지방량이 많은 비만아동에게서 혈중 PTH 농도에 유의한 차이가 없다는 연구결과를 보고하였다. 그러므로 혈중 PTH 농도와 지질대사의 관련성에 관해서 좀 더 심도 있는 연구가 필요하다고 본다.

본 연구에서는 혈중 TG, T-C, LDL-C의 농도가 HC군에서 유의하게 낮은 것으로 나타났는데, 이는 Yacowitz 등³의 성숙한 수컷 쥐에게 식이 중 칼슘을 0.08%, 0.2%, 1.2%로 적용시켰을 경우 칼슘 섭취증가에 따라 혈중 콜레스테롤과 TG의 함량이 유의하게 감소하였다는 보고와 일치하였다. 또한 10

개월의 성숙한 암컷 쥐에게 요구량의 50%, 100%, 200%의 칼슘배합을 섭취시킨 Choi의 연구²⁹에서 칼슘 수준의 증가가 혈중 콜레스테롤과 TG의 함량을 감소시키는 효과가 있다고 보고한 결과와 일치하였다. 칼슘 섭취에 따른 혈중 콜레스테롤과 지방감소 현상을 보이는 것은 소화관에서 칼슘이 담즙산과 결합하여 담즙산이 체외로 배설됨으로써 체내의 콜레스테롤 보유량을 감소시킴과 더불어 식이를 통한 지방의 흡수감소를 가져오기 때문인 것³⁰으로 추정된다. 혈중 HDL-C의 경우 고칼슘을 섭취한 군에서 농도가 낮게 나타났는데, 이는 Choi²⁹의 연구에서 성숙쥐에게 칼슘의 함량을 다르게 공급한 결과 고칼슘군이 저칼슘군보다 혈중 HDL-C 농도가 유의하게 낮았다는 것과 일치하였다. 이는 혈중 T-C의 농도가 낮아지면서 HDL-C 농도도 같이 낮아진 것으로 사료된다. 그러나 Jang과 Chyun³¹의 연구에서는 칼슘 요구량의 20%, 100%, 300%로 공급한 난소절제된 흰쥐에서 칼슘 섭취수준이 높은 경우 혈액중의 TG 농도 감소와 HDL-C 농도의 증가 현상을 보고하였다. 이는 칼슘섭취량이 혈중 지질농도에 영향을 미친 것으로 사료되며 식이의 칼슘 농도에 대한 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

한편, 비타민 D 섭취수준에 따라서는 혈중 T-C, TG, LDL-C 농도에 유의한 차이를 나타내지 않았는데, 이는 중국인을 대상으로 비만한 남성과 정상 체중의 남성에게 비타민 D 보충제 50,000 IU를 8주간 제공한 연구³²에서 혈중 T-C, TG, LDL-C 농도에 유의한 차이가 나타나지 않았다는 결과와 일치하였다. 그러나 HDL-C의 농도는 비타민 D 보충제 섭취 후 비만한 남성에서 감소가 나타난 결과³²와 일치하지 않았다.

이상의 혈액 지질지표에 대한 결과를 해석해 볼 때 낮은 수준의 칼슘섭취에서 혈중 지질농도가 높은 것으로 나타났으며, 특히 HDL-C 농도는 고비타민 D군에서 유의하게 증가하였다. 이는 칼슘섭취가 부족할 때 비타민 D보충이 HDL-C의 농도를 상승시켜 혈중 지질대사의 개선 가능성을 제시한 것으로 사료된다. 농도별 칼슘과 비타민 D의 복합섭취에 따라 지질대사에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

본 연구에서 식이칼슘, 비타민 D, 혈중 호르몬 농도와 지질대사 지표간의 상관관계를 분석한 결과 칼슘의 섭취가 증가할수록 혈중 지질 감소 효과뿐만 아니라 체내 지방축적의 감소효과가 있었다. 혈중 비타민 D의 농도와 지질의 관계에서 TG의 농도와 유의하지는 않았으나 음의 상관관계를 보였고, 이는 성장기 학생을 대상으로 한 혈중 비타민 D 농도와 TG, LDL-C농도의 역의 상관관계가 관찰된 Shin 등¹¹의 연구와 일치하였다. 또한 혈중 비타민 D의 농도와 체지방 무게의 상관관계에서는 유의하지는 않지만 음의 상관관계를 보였고, 이는 혈

중 비타민 D의 농도가 낮은 쥐에게서 체내 지방량이 높았다는 상관관계를 보고한 Rosentreich 등⁹의 연구와 일치하였다. 혈중 PTH농도와 지방 무게의 상관관계에서는 부고환지방량과 유의한 양의 상관관계를 보였고, 이는 체중이 높은 비만한 아이들이 혈중 PTH농도가 높다는 연구결과¹²와 유사하였다.

모든 결과를 종합적으로 볼 때, 낮은 수준의 칼슘섭취는 혈중 지질농도와 체내 지방량을 상승시켰으며, 혈중 PTH농도는 체내 지방무게와 양의 상관관계를 보였다. 이는 칼슘의 섭취가 체내 지질대사에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 그러나 적정량과 높은 수준의 칼슘이 지질대사에 큰 차이가 없었으며, 비타민 D의 섭취로 인한 체내 지질대사 개선효과 대해서는 명확한 결론을 내리기 어렵다. 또한 비타민 D의 합성은 햇빛 조사량에 따라, 운동량에 따라 달라질 수 있다. 그러므로 실제 우리나라 소아·청소년을 대상으로 한 칼슘과 비타민 D의 수준별 섭취와 계절별, 신체활동량에 따른 연구가 추가적으로 필요하다고 사료되며, 현재 낮은 수준의 칼슘과 비타민 D를 섭취하는 우리나라 소아·청소년에게 칼슘과 비타민 D의 적정량 섭취를 권장하여 소아·청소년 비만을 개선할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 성장기 흰쥐에서 저·적정·고수준의 칼슘과 비타민 D의 첨가식이 흰쥐의 지질대사에 어떠한 영향을 미치는지 검토하고자 하였다. 56마리의 5주령 된 수컷 흰쥐에게 대조군 (CON; 0.5% Ca, 1,000 IU VD)을 포함하여 식이중의 칼슘의 수준에 따라 저칼슘군 (LC; 0.25%), 고칼슘군 (HC; 1%)으로 설정하였다. 그리고 칼슘 수준에 따라 vitamin D를 저비타민 D군 (LD; 10 IU), 적정비타민 D군 (ND; 1,000 IU), 고비타민 D군 (HD; 5,000 IU)으로 나누어 실험식이를 5주간 급여하였다.

- 1) 체중 증가량은 HC군이 LC군 보다 유의하게 낮았으나 ($p < 0.05$), 비타민 D의 수준에 따라서는 유의한 차이가 없었다.
- 2) 체내 복부지방, 내장지방, 부고환지방의 무게와 렙틴의 농도는 HC군이 LC군보다 유의하게 낮았다 ($p < 0.01$).
- 3) 25(OH)D의 농도는 비타민 D의 섭취수준이 증가할수록 유의하게 높아졌다 ($p < 0.01$). 부갑상선호르몬 농도는 실험군간 비교에서 LCLD군에서 가장 높았다 ($p < 0.05$).
- 4) 혈중 TG, T-C, HDL-C, LDL-C 농도는 HC군이 LC군에 비해 유의하게 낮았으며 ($p < 0.01$), HDL-C 농도의 경우 LCHD군에서 유의하게 높았다 ($p < 0.05$).
- 5) 여러 가지 지표간의 상관성을 분석한 결과 칼슘의 섭취와 혈중 지질성분, 체내 복부, 내장, 부고환지방무게가 모두 유

의한 음의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$). 또한 비타민 D 섭취와 혈중 HDL-C농도가 유의한 양의 상관관계를 보였다 ($p < 0.05$). 혈중 부갑상선호르몬 농도와 혈중 TG농도, 체내 부고환지방과는 유의한 양의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$, $p < 0.05$). 혈중 leptin 농도와 혈중 T-C, TG농도, 체내 복부, 내장, 부고환 지방 무게는 모두 양의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$).

이상과 같은 결과로 볼 때 성장기 흰 쥐의 지질대사에서 낮은 수준의 칼슘 섭취는 체중증가량의 폭을 높임과 동시에 혈중 지질의 증가에 영향을 미치며 뿐만 아니라 체내 지방축적을 증가시키는 것으로 나타났다. 또한 낮은 수준의 칼슘섭취 시 비타민 D 섭취에 의한 지질대사는 HDL-C 농도를 높이는 효과를 나타냈다. 그러므로 체내 지질 대사를 개선하기 위해서는 적정량의 칼슘의 섭취뿐만 아니라 비타민 D 섭취와의 관계를 반드시 고려하여야 할 것으로 사료된다.

References

1. Ministry of Health and Welfare, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea Health Statistics 2011: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES V-2). Cheongwon: Korea Centers for Disease Control and Prevent; 2012.
2. Fleischman AI, Yacowitz H, Hayton T, Bierenbaum ML. Effects of dietary calcium upon lipid metabolism in mature male rats fed beef tallow. *J Nutr* 1966; 88(3): 255-260.
3. Yacowitz H, Fleischman AI, Amsden RT, Bierenbaum ML. Effects of dietary calcium upon lipid metabolism in rats fed saturated or unsaturated fat. *J Nutr* 1967; 92(3): 389-392.
4. Neri LC, Mandel JS, Hewitt D. Relation between mortality and water hardness in Canada. *Lancet* 1972; 1(7757): 931-934.
5. Jacqmain M, Doucet E, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. Calcium intake, body composition, and lipoprotein-lipid concentrations in adults. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(6): 1448-1452.
6. Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo D, Zemel PC. Regulation of adiposity by dietary calcium. *FASEB J* 2000; 14(9): 1132-1138.
7. Carlson LA, Olsson AG, Orö L, Rössner S. Effects of oral calcium upon serum cholesterol and triglycerides in patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1971; 14(3): 391-400.
8. Starkey JD. A role for vitamin D in skeletal muscle development and growth. *J Anim Sci* 2014; 92: 887-892.
9. Rosenstreich SJ, Rich C, Volwiler W. Deposition in and release of vitamin D3 from body fat: evidence for a storage site in the rat. *J Clin Invest* 1971; 50(3): 679-687.
10. The Korean Nutrition Society. Dietary reference intakes for Koreans, 1st Revision. Seoul: The Korean Nutrition Society; 2010.
11. Shin YH, Kim KE, Lee C, Shin HJ, Kang MS, Lee HR, Lee YJ. High prevalence of vitamin D insufficiency or deficiency in young adolescents in Korea. *Eur J Pediatr* 2012; 171(10): 1475-1480.
12. Reinehr T, de Sousa G, Alexy U, Kersting M, Andler W. Vitamin D status and parathyroid hormone in obese children before and after weight loss. *Eur J Endocrinol* 2007; 157(2): 225-232.
13. Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 1997; 127(5 Suppl): 838S-841S.
14. Eller LK, Reimer RA. A high calcium, skim milk powder diet results in a lower fat mass in male, energy-restricted, obese rats more than a low calcium, casein, or soy protein diet. *J Nutr* 2010;

- 140(7): 1234-1241.
15. Avioli LV. Calcium and phosphorus. In: Shils ME, Young VR. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 7th edition. Philadelphia (PA): Lea & Febiger; 1988. p.142-158.
16. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18(6): 499-502.
17. Mitruka BM, Rawnsley HM. Table 5 Chemical components in serum of the normal albino rat. In: *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans*, 2nd edition. New York (NY): Masson; 1981. p.160.
18. Lee JH, Lee YS. Effects of excess calcium and iron supplement on bone loss, nephrocalcinosis and renal function in osteoporotic model rats. *Korean J Nutr* 2000; 33(2): 147-157.
19. Sergeev IN, Song Q. High vitamin D and calcium intakes reduce diet-induced obesity in mice by increasing adipose tissue apoptosis. *Mol Nutr Food Res Epub* 2014 Jan 22; doi: 10.1002/mnfr.201300503. PubMed PMID: 24449427.
20. Jang SY, Lee JY, Bae JM, Lee C, Hong SN, Kim A, Kim HY. 25-hydroxyvitamin D levels and body mass index in healthy postmenopausal women. *Korean J Obstet Gynecol* 2012; 55(6): 378-383.
21. Feng L, Li JR, Yang F. Relationship of serum 25-hydroxyvitamin D with obesity and inflammatory cytokines in children. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2013; 15(10): 875-879.
22. Laraichi S, Parra P, Zamanillo R, El Amarti A, Palou A, Serra F. Dietary supplementation of calcium may counteract obesity in mice mediated by changes in plasma fatty acids. *Lipids* 2013; 48(8): 817-826.
23. Parra P, Bruni G, Palou A, Serra F. Dietary calcium attenuation of body fat gain during high-fat feeding in mice. *J Nutr Biochem* 2008; 19(2): 109-117.
24. Soares MJ, Murhadi LL, Kurpad AV, Chan She Ping-Delfos WL, Piers LS. Mechanistic roles for calcium and vitamin D in the regulation of body weight. *Obes Rev* 2012; 13(7): 592-605.
25. Zemel MB. Nutritional and endocrine modulation of intracellular calcium: implications in obesity, insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem* 1998; 188(1-2): 129-136.
26. Zemel MB. Regulation of adiposity and obesity risk by dietary calcium: mechanisms and implications. *J Am Coll Nutr* 2002; 21(2): 146S-151S.
27. Lenders CM, Feldman HA, Von Scheven E, Merewood A, Sweeney C, Wilson DM, Lee PD, Abrams SH, Gitelman SE, Wertz MS, Klish WJ, Taylor GA, Chen TC, Holick MF; Elizabeth Glaser Pediatric Research Network Obesity Study Group. Relation of body fat indexes to vitamin D status and deficiency among obese adolescents. *Am J Clin Nutr* 2009; 90(3): 459-467.
28. Hämäläinen MM. Bone repair in calcium-deficient rats: comparison of xylitol+calcium carbonate with calcium carbonate, calcium lactate and calcium citrate on the repletion of calcium. *J Nutr* 1994; 124(6): 874-881.
29. Choi MK. Effects of calcium intake on lipid contents and enzyme activity in rats of different ages. *J East Asian Soc Diet Life* 1988; 8(1): 9-19.
30. Denke MA, Fox MM, Schulte MC. Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men. *J Nutr* 1993; 123(6): 1047-1053.
31. Jang SE, Chyun JH. Effects of dietary calcium level and hijikia fusiforme supplementation on bone indices and serum lipid levels in ovariectomized rats. *Korean J Nutr* 2007; 40(5): 419-427.
32. Zhou JC, Zhu YM, Guo P, Chen Z, Xie FZ, Liu XL, He S. Serum 25(OH)D and lipid levels in Chinese obese and normal weight males before and after oral vitamin D supplementation. *Biomed Environ Sci* 2013; 26(10): 801-807.