

고과당 및 고지방 식이의 섭취가 성장기 동물모델의 골성장과 골성숙에 미치는 영향*

안혜진¹ · 유수연¹ · 박유경^{1,2†}

경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과,¹ 경희대학교 임상영양연구소²

High fructose and high fat diet increased bone volume of trabecular and cortical bone in growing female rats*

Ahn, Hyejin¹ · Yoo, SooYeon¹ · Park, Yoo-Kyoung^{1,2†}

¹Department of Medical Nutrition, Kyung Hee University, Gyeonggi 17104, Korea

²Research Institute of Medical Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 02447, Korea

ABSTRACT

Purpose: The objective of this study was to investigate the effects of a high fructose and fat diet on bone growth and maturation in growing female rats. **Methods:** Three-week-old female SD rats were randomly assigned to four experimental groups; the control group (CON: fed control diet based on AIN-93G, n = 8); the high-fructose diet group (HFrc: fed control diet with 30% fructose, n = 8); the high-fat diet group (Hfat: fed control diet with 45 kcal% fat, n = 8); and the high-fat diet plus high fructose group (HFrc + HFat: fed diets 45 kcal% fat with 30% fructose, n = 8). Each group was assigned their respective diets for the remaining eight weeks. Bone-related parameters (bone mineral density (BMD) and structural parameters, osteocalcin (OC), deoxypyridinoline (DPD)) and morphologic changes of kidney were analyzed at the end of the experiment. **Results:** Final body weights and weight gain were higher in the HFat and HFrc + HFat groups and showed higher tendency in the HFrc group compared with those of the CON group ($p < 0.05$); however, no significant difference in caloric intake was observed among the four experimental groups. The serum OC levels of the HFrc and HFrc + HFat groups were lower than those of the CON and HFat groups ($p < 0.05$). Urinary levels of DPD did not differ among the experimental groups. BV/TV and Tb.N of trabecular bone were higher in the HFrc + HFat group and showed a higher tendency in the HFrc group than those of the CON and HFat groups ($p < 0.05$). Tb.Pf of trabecular bone were lower in the HFrc + HFat group than those in the CON and HFat groups ($p < 0.05$). However, no difference in trabecular BMD was observed among the experimental groups. Cortical bone volume was higher in the HFat and HFrc + HFat groups than in the CON and HFrc groups ($p < 0.05$). No morphology change in kidney was observed among the experimental groups. **Conclusion:** Our study suggests that 8 weeks of high-fructose and high fat intake could improve the bone quality (Structural parameters) of trabecular and cortical bone of tibia in growing female rats.

KEY WORDS: high-fructose diet, high-fat diet, kidney function, bone growth, growing rats

서 론

최근 기호식품을 통한 첨가당의 섭취량이 급격히 증가하고 있는 것으로 나타났으며, 가공식품의 섭취빈도 증가에 따라 과당의 섭취량이 증가하고 있다고 보고되었다.¹⁻³ 특히 성장기 어린이의 음료류 섭취증가는 성장기 과당 섭

취증가의 가장 주요한 원인으로 제시되고 있으며, 가공식품 및 베이킹에 주로 쓰이는 액상과당 또는 고과당시럽 (High fructose corn syrup, HFCS)의 과당 함량 증가 (42% → 55%)도 고과당 섭취에 영향을 주는 것으로 나타났다.¹⁻³ 과당을 공급한 암컷 쥐의 경우 액상과당이 든 먹이를 40주간 먹은 암컷 쥐들이 백설탕을 공급한 암컷 쥐보다 번식률

Received: September 10, 2015 / Revised: September 24, 2015 / Accepted: October 1, 2015

*This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (project No. 00982602)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

†To whom correspondence should be addressed.

tel: +82-31-201-3816, e-mail: ypark@khu.ac.kr

© 2015 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.

은 26%정도 감소하고 폐사율은 2배가량 증가한 것으로 보고된 바 있고,⁴ 사람의 경우에 대사증후군이나 지방간을 촉진시킨다는 내용이 보고된 바 있다.^{5,6} 또한 실험동물에게 고과당 식이나 음수를 공급 (4주~8개월)한 여러 연구에서는 신장무게, BUN (blood urea nitrogen) 및 glomerular filtration rate (GFR)의 상승과 albuminuria가 발생하였고, 이외에도 다양한 신장조직 및 기능의 변화를 유발하였다 고도 보고되었다.⁷⁻⁹

식품 섭취 양상을 분석한 선행연구 결과에 따르면 고지방 식사를 하는 아동이 단맛을 더욱 선호하는 것으로 나타났다. 실제로 성장기 어린이의 고과당 음료의 섭취가 고지방 식사와 양의 상관관계를 보인다고 보고된 바 있다.¹⁻³ 아동들의 이러한 식습관이 청소년기 비만의 원인이 된다고 보고된 바 있으며, 심혈관 질환의 위험을 반영하는 혈중 cholesterol, TG, glucose 등의 농도에 영향을 줄 수 있다는 연구는 많이 진행되어 온 실정이다.^{5,6} 이처럼 국외연구 결과들로 인해 과잉의 과당 섭취가 건강에 미치는 영향에 대한 논란과 연구가 뜨겁게 벌어지고 있지만 고과당 섭취가 골대사에 미치는 영향에 대한 연구는 전무하다.

성장기 (청소년기)는 일생 중 골성장이 가장 활발하여 전체 골량의 40% 가량을 축적하는 골량 획득에 중요한 시기이다.¹⁰ 이 시기의 골량 획득은 최대 골 질량 (peak bone mass, PBM)에 영향을 주어 장년기 후반의 골다공증 및 골

절에 중요한 영향을 주며, 또한 청소년기에는 장골의 길이 성장이 발생하여 평생의 키를 결정하게 되는 시기이기도 하다.¹¹ 골량 획득에는 유전적 요인 및 환경적 요인 (영양 및 생활습관)들이 복합적으로 중요하게 작용하는데, 우리는 환경적 요인의 변화를 통하여 골량에 영향을 줄 수 있으며 올바른 영양섭취는 골량 획득을 증가시킬 수 있다.

청소년기는 최대 골 질량 형성 및 성장발달을 위하여 어느 시기보다도 적절한 영양관리가 중요한 시기임에도, 최근 성장기 아동들이 고과당 및 고지방을 섭취하는 패턴이 골성장과 골 성숙에 미치는 영향에 대한 연구는 부족하다. 선행 임상연구에서는 과당음료 섭취가 증가할수록 낮은 골밀도를 가지는 것으로 보고한 바 있다.^{12,13} 하지만 탄산음료 섭취의 증가가 고과당 섭취의 주된 요인이었고, 이때 성장기 칼슘의 주요 급원인 우유섭취 감소와 식사량 감소가 동반되었기 때문에 골밀도의 저하가 고과당 섭취만의 영향이라 볼 수 없다. 한편, 다른 선행 연구에서는 고과당 식이를 섭취한 동물에서 골밀도가 향상되었다고 보고되었지만 대조군으로 고포도당 식이 섭취군을 이용하였기 때문에 이러한 결과로는 과당이 골밀도에 유의한 영향을 준다고 보기 어렵다.¹⁴ 따라서 식이에 과당을 공급하였을 때 골성장과 골 성숙에 미치는 연구가 필요한 실정이다.

이에 본 연구에서는 일반식이 (based on AIN93-G)를 섭취한 군을 대조군으로 하여 고과당 혹은 고지방을 동반한

Table 1. Ingredient composition of experimental diets

	CON ¹⁾		HFrc ²⁾		HFat ³⁾		HFrc + HFat ⁴⁾	
%	gm	Kcal	gm	Kcal	gm	Kcal	gm	Kcal
Protein	20	20	20	20	24	20	24	20
Carbohydrate	64	64	64	64	41	35	41	35
Fat	7	16	7	16	24	45	24	45
Total		100		100		100		100
Kcal/gm	4.0		4.0		4.8		4.8	
Ingredient	gm	Kcal	gm	Kcal	gm	Kcal	gm	Kcal
Casein, 80 Mesh	200	800	200	800	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12	3	12	3	12
Corn Starch	397.5	1,590	229.5	918	137	548	0	0
Maltodextrin 10	132	528	100	400	100	400	37	148
Sucrose	100	400	0	0	100	400	0	0
Fructose	0	0	300	1200	0	0	300	1200
Cellulose	50	0	50	0	50	0	50	0
Soybean Oil	70	630	70	630	26	234	26	234
t-Butylhydroquinone	0.014	0	0.014	0	0.014	0	0.014	0
Lard	0	0	0	0	174	1,566	174	1,566
Mineral Mix ⁵⁾	35	0	35	0	35	0	35	0
Vitamin Mix ⁶⁾	10	40	10	40	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2.5	0	2.5	0	2.5	0	2.5	0
Total	1,000	4,000	1,000	4,000	837.5	4,000	837.5	4,000

1) CON: rats received control-diet based on AIN-93G (4.0 kcal/g diet)

2) HFrc: rats received 30% fructose-diet based on control-diet (4.0 kcal/g diet)

3) HFat: rats received 45 kcal% fat-diet (4.8 kcal/g diet)

4) HFrc + HFat: rats received 45 kcal% fat-diet with 30% fructose (4.8 kcal/g diet)

고과당 식이의 섭취가 성장기 골성장 및 골 성숙에 미치는 영향에 대해 연구하고자 하였다.

연구방법

실험동물 및 실험식이

본 연구는 경희대학교 동물 보호 및 사용에 관한 가이드 라인과 법규에 따른 승인을 받아 수행되었다 (IACUC, protocol number: KHP-2014-01-1). 총 32마리의 Sprague-Dawley계 3주령 (40~60 g) 암컷 흰쥐 (SLC Inc., Shizuoka, Japan)를 공급받아 사용하였으며, 본 사육실에서 3일의 적응기를 거친 실험 동물은 임의로 8마리씩 각 4개의 실험군-Control (CON), high fructose (HFrc), high fat (HFat) 또는 high fructose + high fat (HFrc + HFat) 식이 섭취군-으로 나누었다. 사육실의 온도는 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 $55 \pm 5\%$ 로 유지하고 매일 광주기와 암주기를 12시간이 되도록 조절 하였고, 실험 기간 동안 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

본 실험에 사용된 모든 실험 식이는 AIN93G 정제식을 기준으로 제조하였으며, 실험식이 조성은 Table 1에 나타내었다. 대조군 (CON)은 표준식이 (D10012G, Research Diets, Inc., USA), 고과당 섭취군 (HFrc)은 30%의 과당을 함유한 식이 (D14010101, Research Diets, Inc., USA), 고 지방 섭취군 (HFat)은 45 kcal%의 지방을 함유한 식이 (D14010102, Research Diets, Inc., USA), 고과당 + 고 지방 섭취군 (HFrc + HFat)은 30%의 과당 + 45 kcal%의 지방을 함유한 식이 (D14010103, Research Diets, Inc., USA)를 각각 공급받았다. 8주의 실험기간 동안 해당 실험 식이를 공급하였으며, 실험동물은 cage당 한마리씩 분리하여 사육하였다.

체중 및 식이섭취량 측정

실험 동물의 식이섭취량은 매일 측정하였고, 체중은 일주일 단위로 일정한 시간에 측정하였다.

생화학 분석

8주간 사육 후, 골대사 관련 지표 측정을 위하여 24시간 요를 수집하였고 12시간 동안 절식시킨 후 마취 하에 심장 채혈을 통하여 혈액을 채취하였다. 혈액 시료로부터 원심 분리기 ($3,000 \times g$ at 4°C)를 이용하여 혈청을 분리하였고, 분석 전까지 -80°C 에서 냉동 보관하였다. 혈청 osteocalcin (OC)과 요 deoxypyridinoline (DPD)의 농도는 commercial kits (Elecsys, Roche, USA)를 이용하여 분석하였다.

신장의 조직병리학적 변화 측정

실험 종료 후 적출한 신장을 10% formalin으로 고정한 후, 흐르는 물에 충분히 수세하고 저농도에서 고농도 (70% → 100%)의 에탄올로 탈수시킨다. 자일렌으로 투명화 과정 (xylene clearance)을 거친 후 파라핀으로 포매하고 (paraffin embedding), 조직 절편기 (microtome 820II, Reichert-Jung, Germany)를 이용하여 5-micron 두께로 절편을 제작하였다. 이를 슬라이드에 부착한 후 자일렌과 에탄올을 이용하여 파라핀을 제거하였다. Hematoxylin으로 핵염색을 한 후 증류수 등을 이용하여 수세하고, eosin을 이용하여 세포질을 염색하였다 (H&E Staining). 슬라이드를 봉입 (Mounting)한 후 광학현미경을 이용하여 $400 \times$ 배율에서 관찰하여 신장조직의 출혈 (interstitial bleeding), 공포화 변성 (vacuolation), 사구체 울혈 (glomerular congestion) 등의 병변을 조직병리학적으로 판독하였다.

미세단층촬영시스템 (Micro-CT) 촬영을 통한 골의 구조적 파라미터 및 골밀도 측정

본 연구에서는 실험 8주차에 쥐의 경골 (tibia, right)을 적출하여 미세단층촬영 시스템 (Micro-CT, SkyScan 1076, Belgium)으로 2D 영상을 획득하였다. 이 획득된 영상으로부터 해면골과 피질골의 미세구조 변화를 정량적으로 평가하기 위하여 소프트웨어 (CT-AN 1.10, SkyScan, Belgium)를 이용하여 구조적 파라미터 (structural parameters) 및 골밀도 (BMD, bone mineral density)를 구하였다. 해면골의 구조적 파라미터로써 관심 영역 안의 해면골 부피비 (BV/TV, bone volume fraction, %), 골 표면적 비 (BS/BV, bone surface to volume, mm), 골소주의 평균 두께 (Tb.Th, trabecular thickness, mm), 단위길이당 평균 개수 (Tb.N, trabecular number, mm), 골 소주간의 평균 거리 (Tb.Sp, trabecular separation, mm), 해면골의 패턴 요소 (Tb.Pf, trabecular pattern factor, mm), 골소주의 형태학적인 특징을 나타내는 구조적 모델지수 (SMI, structure model index)와 골밀도 (BMD, bone mineral density, mg/cm^3)를 구하였고, 피질골에서는 관심 영역 안의 피질골 부피 (BV, bone volume, mm^3), 관성 모멘트 (MMI, mean polar moment of inertia, mm^4), 피질골의 평균 두께 (Cs.Th, cross sectional thickness, mm)와 골밀도 (BMD, bone mineral density, mg/cm^3)를 구하였다.

통계분석

본 실험결과와 통계분석은 Statistical Package for Social Science 22.0 (SPSS INC., Thornwood, USA)를 이용하였고, 모든 실험결과는 Mean \pm SD로 나타내었다. 실험 군 사이의 차이를 평가하기 위하여 일원배치 분산분석 (One-

way ANOVA)으로 통계적인 유의성 ($p < 0.05$)을 확인하였으며, Duncan's multiple range tests를 통하여 사후분석을 하였다.

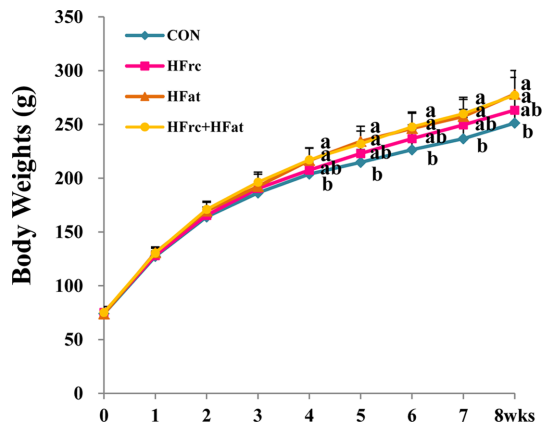


Fig. 1. Changes of body weight of experimental groups during 8 weeks. CON: rats received control-diet based on AIN-93G (4.0 kcal/g diet), HFrc: rats received 30% fructose-diet based on control-diet (4.0 kcal/g diet), HFat: rats received 45 kcal% fat-diet (4.8 kcal/g diet), HFrc + HFat: rats received 45 kcal% fat-diet with 30% fructose (4.8 kcal/g diet)

결 과

체중변화

고과당 및 고지방 식이의 섭취가 실험동물의 체중에 미치는 영향을 Fig. 1에 나타내었다. 실험 종료 시 HFat군 (278.1 ± 22.1 g)과 HFrc + HFat군 (277.2 ± 16.6 g)의 평균 체중은 대조군 (251.3 ± 9.6 g) 보다 유의적으로 높았고 ($p < 0.05$), HFrc군 (263.3 ± 15.0 g)의 평균 체중은 대조군보다 높은 경향을 나타내었다.

신장의 조직병리학적 변화

고과당 및 고지방 식이의 섭취가 실험동물 신장의 조직병리학적 변화에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. 실험 종료 후, 신장 조직에서 출혈 (interstitial bleeding), 공포화 변성 (vacuolation), 사구체 울혈 (glomerular congestion) 등의 조직학적 병변을 판독한 후 점수화한 결과 모든 실험동물에서 병변은 발생하지 않았다 (Data not shown).

골형성 지표와 골 흡수 지표

Table 2에 골형성 지표인 혈청 OC와 골 흡수 지표인 요

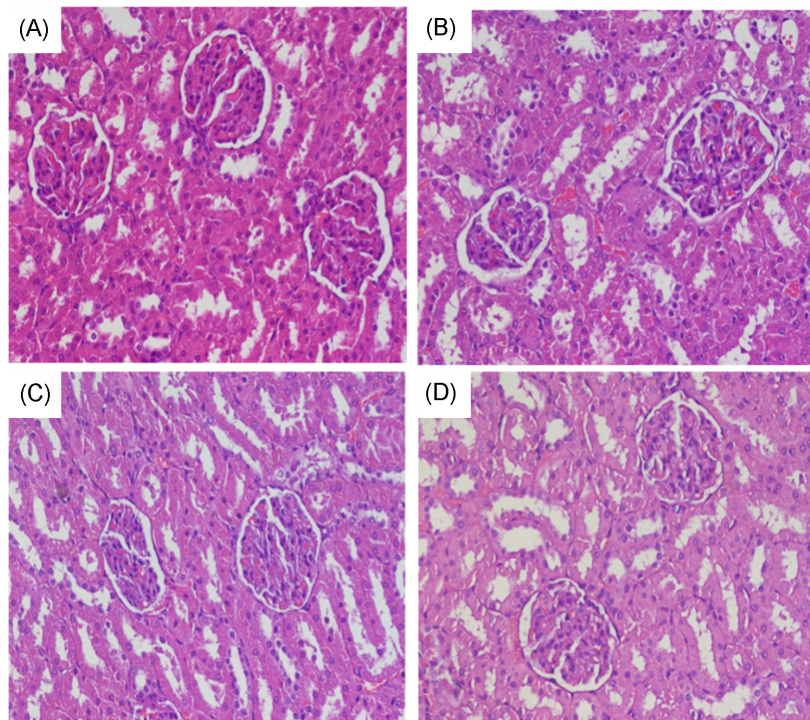


Fig. 2. Photomicrograph of glomerulus in the experimental groups taken at 8 weeks, pertaining to the respective groups (A: CON, B: HFrc, C: HFat, D: HFrc + HFat). All experimental groups showed normal glomeruli and tubules. H&E stained glomeruli $\times 400$. Magnification bars 40 μ m. CON: rats received control-diet based on AIN-93G (4.0 kcal/g diet), HFrc: rats received 30% fructose-diet based on control-diet (4.0 kcal/g diet), HFat: rats received 45 kcal% fat-diet (4.8 kcal/g diet), HFrc + HFat: rats received 45 kcal% fat-diet with 30% fructose (4.8 kcal/g diet)

Table 2. Serum and urinary levels of bone biomarkers

	CON ²⁾ (n = 8)	HFrc ³⁾ (n = 8)	HFat ⁴⁾ (n = 8)	HFrc + HFat ⁵⁾ (n = 8)
Serum OC ⁶⁾ (ng/ml)	17.4 ± 3.7 ^{1)a}	14.7 ± 1.0 ^b	17.5 ± 1.6 ^a	13.6 ± 2.2 ^b
Urinary DPD ⁷⁾ (nmol/mmolCr ⁸⁾)	190.8 ± 71.0	158.2 ± 50.4	183.5 ± 40.5	165.3 ± 28.8

1) Data are presented as means ± SD, statistical difference between the experimental groups based on one-way ANOVA and Duncan's multiple range tests at $p < 0.05$. 2) CON: rats received control-diet based on AIN-93G (4.0 kcal/g diet) 3) HFrc: rats received 30% fructose-diet based on control-diet (4.0 kcal/g diet) 4) HFat: rats received 45 kcal% fat-diet (4.8 kcal/g diet) 5) HFrc + HFat: rats received 45 kcal% fat-diet with 30% fructose (4.8 kcal/g diet) 6) OC: osteocalcin 7) DPD: deoxypyridinoline 8) Cr: creatinine

중 DPD를 측정된 결과를 나타내었다. 혈청 OC 농도는 HFrc (14.7 ± 1.0 ng/ml)군과 HFrc + HFat (13.6 ± 2.2 ng/ml)군이 대조군 (17.4 ± 3.7 ng/ml)보다 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$).

의 BV는 HFat군 과 HFrc + HFat군이 대조군보다 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 이와 같은 그룹간 미세구조와 골화 정도의 차이를 Fig. 3에서 확인할 수 있다.

고 찰

경골 (Tibia)의 구조적 파라미터 (Structural parameters) 및 골밀도 (BMD, Bone mineral density)

경골 중 해면골 (Trabecular bone)과 피질골 (Cortical bone)의 구조적 파라미터와 골밀도의 변화를 Table 3에 나타내었다. 해면골의 BV/TV와 Tb.N는 대조군보다 HFrc + HFat군에서 유의적으로 높았고 ($p < 0.05$), HFrc군에서는 대조군보다 높은 경향을 나타내었다. Tb.Pf 대조군보다 HFrc + HFat군에서 유의적으로 낮았고 ($p < 0.05$), HFrc군에서는 대조군보다 낮은 경향을 나타내었다. 반면, 해면골의 BMD는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 피질골

본 연구는 성장기의 고과당 섭취가 골성장 및 골 성숙에 미치는 영향을 연구하기 위해 수행되었다. 본 연구 결과, 성장기 시기의 30% 고과당 식이의 섭취는 해면골의 부피와 해면골의 수 및 골소주의 연결성을 높여 더 치밀한 구조의 해면골을 형성할 수 있다는 것을 확인하였다.

빠는 다공성 복합물질 (Porous composite materials)로서 정확한 골 강도 (bone strength)를 평가하기 위해서는 골밀도 (BMD, bone density density) 뿐만 아니라 골 구조 (bone architecture)의 특성 또한 중요하다고 알려져 있다.^{10,11}

Table 3. Architectural and mineralization parameters of the experimental groups

	CON ²⁾ (n = 4)	HFrc ³⁾ (n = 4)	HFat ⁴⁾ (n = 4)	HFrc + HFat ⁵⁾ (n = 4)
Trabecular Bone				
BV/TV (%)	13.6 ± 4.3 ^{1)b}	19.4 ± 4.2 ^{ab}	14.4 ± 1.4 ^b	21.9 ± 4.3 ^a
BS/BV (mm)	43.1 ± 2.9	40.4 ± 3.5	42.9 ± 2.3	41.2 ± 6.8
Tb.Th (mm)	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.01
Tb.Sp (mm)	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1
Tb.N (mm)	1.6 ± 0.4 ^b	2.1 ± 0.3 ^{ab}	1.6 ± 0.1 ^b	2.3 ± 0.4 ^a
Tb.Pf (1/mm)	12.5 ± 2.1 ^a	9.7 ± 2.2 ^{ab}	12.6 ± 1.3 ^a	8.1 ± 2.5 ^b
SMI	2.1 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.2 ± 0.1	1.8 ± 0.2
BMD	0.14 ± 0.04	0.15 ± 0.05	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.08
Cortical Bone				
BV (mm ³)	7.9 ± 0.5 ^b	7.7 ± 0.3 ^b	8.6 ± 0.1 ^a	8.5 ± 0.4 ^a
MMI (mm ⁴)	11.3 ± 2.2	10.1 ± 0.8	12.0 ± 1.4	12.0 ± 1.0
Cs.Th (mm)	0.34 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.39 ± 0.02
BMD (g/cm ³)	0.94 ± 0.03	0.96 ± 0.03	0.96 ± 0.03	0.99 ± 0.02

1) Data are presented as means ± SD, statistical difference between the experimental groups based on one-way ANOVA and Duncan's multiple range tests at $p < 0.05$. 2) CON: rats received control-diet based on AIN-93G (4.0 kcal/g diet) 3) HFrc: rats received 30% fructose-diet based on control-diet (4.0 kcal/g diet) 4) HFat: rats received 45 kcal% fat-diet (4.8 kcal/g diet) 5) HFrc + HFat: rats received 45 kcal% fat-diet with 30% fructose (4.8 kcal/g diet), BV/TV (%): bone volume fraction, BS/BV (mm): bone surface to volume, Tb.Th (mm): trabecular thickness, Tb.N (mm): trabecular number, Tb.Sp (mm): trabecular separation, Tb.Pf (mm): trabecular pattern factor, SMI: structure model index, BMD (mg/cm³): bone mineral density, BV (mm³): bone volume, MMI (mm⁴): mean polar moment of inertia, Cs.Th (mm): cross sectional thickness.

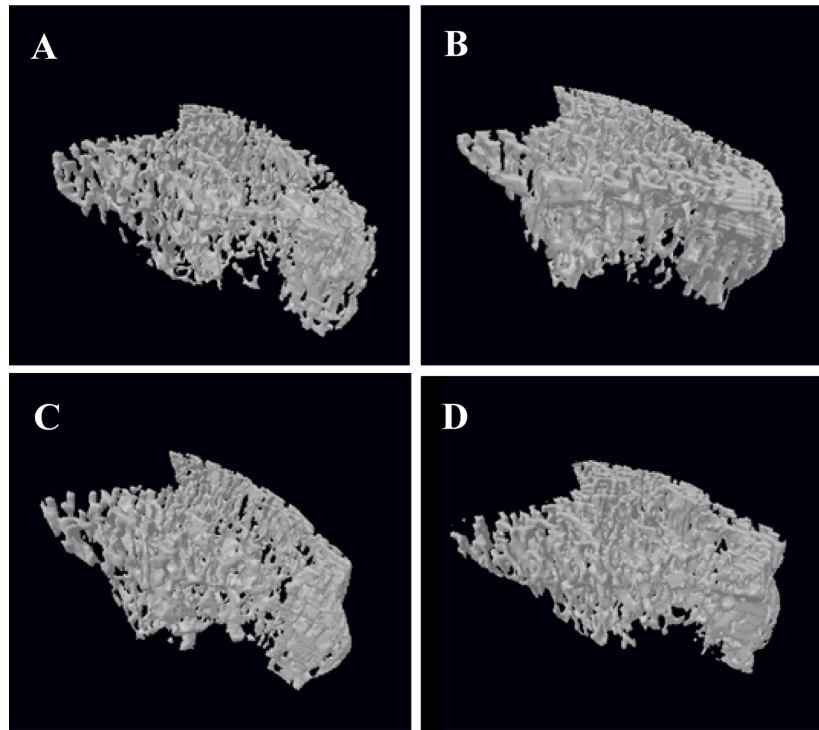


Fig. 3. Representative 3D images of trabecular bone (right tibia) taken at 8 weeks, pertaining to the respective groups (A: CON, B: HFrc, C: HFat, D: HFrc + HFat), obtained with *in vivo* micro-computed tomography (micro-CT). Changes in structural parameters (BV/TV, BS/BV, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N, Tb.Pf, SMI and BMD) of trabecular bone over eight weeks were quantified and shown in Table 3. CON: rats received control-diet based on AIN-93G (4.0 kcal/g diet), HFrc: rats received 30% fructose-diet based on control-diet (4.0 kcal/g diet), HFat: rats received 45 kcal% fat-diet (4.8 kcal/g diet), HFrc + HFat: rats received 45 kcal% fat-diet with 30% fructose (4.8 kcal/g diet)

골의 구조는 골 질 (bone quality)을 나타내며, 골 조직의 단위 면적당 크기 및 골소주의 구조와 배열 등의 구조적 파라미터 (Structural parameters)들을 통하여 평가할 수 있다. 최근 사용되는 미세단층촬영시스템 (Micro-CT)은 골화 정도 및 골밀도를 측정하는데 상당히 유용한 것으로 알려져 있어 해면골의 미세구조를 정량적으로 연구하는데 사용되고 있다. 따라서 본 연구에서는 미세단층촬영시스템을 이용하여 성장기 고과당 섭취에 따른 경골의 미세구조 및 골밀도를 측정하여 골강도를 평가하였다.

해면골 (Trabecular bone)은 골 조직 중 20%를 차지하지만 표면적이 커서 대사활동은 피질골의 8배에 이르는 중요한 부분이다.¹⁵ 본 연구 결과에 따르면 성장기의 고과당 섭취는 일부 해면골의 구조적 파라미터에 유의한 차이를 보였다. 해면골의 부피비 (BV/TV, bone volume fraction)와 단위길이당 골소주의 평균 개수 (Tb.N, trabecular number)가 증가하였으며, 해면골의 패턴요소 (Tb.Pf, trabecular pattern factor)는 감소하였다. 해면골의 패턴요소는 수치가 높을수록 해면골 소주의 연결성이 떨어지며 수치가 낮을수록 연결성이 높은 것을 나타내는 지표로, 이를 통하여 고과당의 섭취가 해면골의 연결성을 높였다는 것을 알 수 있

다. 또한 해면골의 부피비 및 골소주 수의 수치가 높을수록 해면골의 양이 많아 구조적으로 더 치밀한 구조를 가지게 된다. 위 결과들은 고과당 섭취가 골량과 골의 표면적을 높였다는 것을 나타내어 골의 교체율을 변화시킬 수 있음을 반영한다. 또한 Fig. 3에서 제시한 해면골의 영상에서도 고과당을 섭취한 군들이 대조군보다 더 치밀하게 해면골이 채워져 있음을 확인할 수 있었다.

한편 고과당 및 고지방의 섭취가 피질골에 미치는 영향은 해면골과는 차이를 보였다. 피질골은 골 조직의 80%를 차지하지만 해면골에 비해 골 교체가 늦고 체내 환경 변화에 둔감하게 반응하는 부분으로 알려져 있다.¹⁵ 고과당의 섭취는 피질골의 골부피에 영향을 주지 않은 반면, 고지방의 섭취는 피질골 부피를 높였다.

본 연구에서는 골대사의 변화를 관찰하기 위하여 혈액과 소변을 통한 생화학적 표지자 (biochemical markers)를 측정하였다. Osteocalcin (OC)은 조골세포로부터 합성되는 대표적인 골형성 표지자로서 조골세포의 활성 증가와 비례하여 혈중으로 분비되기 때문에 혈중 OC상승은 골형성 작용의 증가를 의미한다.¹⁶ 반면 Deoxy-pyridinoline (DPD)은 파골세포 작용 시 소변으로 분비되는 대표적인

골흡수 표지자이며, 소변 DPD 농도의 증가는 골흡수 작용의 증가를 의미한다.¹⁷ Tsanzi 등의 연구에서는 5주령 암컷 SD-rats에게 8주 동안 13% w/v fructose 공급은 혈청 OC와 ALP (Alkaline phosphatase) 및 소변 DPD에 영향을 주지 않았다고 보고하였다.¹⁸ 한편 Felice 등의 연구에서는 7주령 수컷 SD-rats이 10% w/v fructose를 섭취한 2주 후 혈청 ALP와 소변 type I collagen 농도가 저하되었다고 보고하였다.¹⁹ 본 연구 결과에서는 3주령 암컷 SD-rats의 30% 고과당 식이의 섭취 (8주 동안)는 혈중 OC의 농도를 낮추고 소변 중의 DPD농도에는 영향을 주지 않은 것으로 나타났다. 위 Tsanzi 등의 연구와 Felice 등의 연구에서는 골구조 및 골밀도에 대한 평가가 부족하여 위 같은 골형성 및 골흡수의 변화가 골 강도에 어떤 영향을 주었는지 알 수 없었다.^{18,19} 따라서 위 결과들 만으로는 성장기의 고과당 섭취가 골형성 및 골흡수에 미치는 영향에 대한 결론을 내리기는 어렵고, 추후 많은 연구들을 필요할 것으로 사료된다.

생화학적 지표는 혈액 및 소변 샘플을 채취할 당시의 골대사를 반영하며, 특히 성장기는 골대사가 매우 활발하고 혈중 농도변화도 큰 시기임을 고려한 주의 깊은 관찰과 평가가 필요하다. 성장기 골대사 연구들을 살펴보면, 골밀도와 생화학적 지표가 상반된 결과를 나타내는 경우 많다.^{20,21} 이러한 결과가 나타날 수 있는 이유는 골밀도는 실험기간 동안 꾸준히 발생한 골대사의 결과물이고, 생화학적 지표는 샘플 채취 당시의 골대사 상태를 반영하기 때문이다. 또한 골밀도는 신체 특정 부위만을 측정하는 반면에 생화학적 지표는 신체 내 모든 골대사의 평균치를 나타낸다고 볼 수 있기 때문에 이들의 결과는 다를 수 있다.

본 연구의 생화학 지표에 따르면 고과당 섭취는 골형성을 억제시켰다. 결론적으로 대조군에 비하여 더 치밀한 해면골을 가졌지만 혈액을 채취하던 시기에는 골형성이 억제된 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 고과당의 섭취가 장기적으로 골 건강에 어떠한 영향을 줄지는 더 많은 연구가 필요할 것으로 여겨진다. 골의 형성과 흡수는 그 균형을 유지해야 하며 그 항상성이 깨지면 골 소실을 유발할 수도 있기 때문이다. 또한 우리가 혈액을 채취한 시기는 rat이 약 12주령 되는 시기로 골형성이 감소하는 것으로 알려진 시기도 아니다.²²

이전 많은 연구들에서는 고과당 공급이 실험동물의 신기능에 영향을 줄 수 있다고 보고되었다. Palanisamy 등의 연구 결과에 따르면 9주 동안의 고과당 (63% fructose) 식이섭취는 7주령 wistar rats의 신장의 조직학적 변화를 유발하였고, 이외에도 hypertrophy, glomerular hyperfiltration 및 dysfunction을 일으켰다.⁸ 또한 Dissard 등의 연

구에서는 5주령 C57BL/6 mice에게 8개월 동안 30% 과당이 함유된 음수를 공급한 결과 사구체 여과율 (GFR, glomerular filtration rate)이 증가하였고 albuminuria가 발생하였다고 보고하였다.⁹ 과당 섭취가 신장의 조직학적 변화 및 기능 이상을 유발하는 기전은 요산 (uric acid)의 발생 때문이라고 설명된 바 있다.²³ 소장에서 체내로 흡수된 과당은 대부분 간으로 이동하여 대사되며, 간 세포 내에서 과당은 포도당과는 다른 과정을 거치게 된다. 과당은 간 fructokinase의 작용을 받아 fructose-1-phosphate로 인산화되며, 이 과정에서 과당의 AMP가 발생하고, 축적된 AMP는 AMP deaminase작용을 받아 inosine monophosphate가 되며 결국 과당의 요산을 만들어낸다. 그 결과 사구체 경화증 (glomerulosclerosis)과 세뇨관 간질섬유증 (tubule-interstitial fibrosis) 및 고혈압을 유발하여 신장을 손상시킬 수 있다는 것이다. 하지만 본 연구에서 신장의 출혈 (interstitial bleeding), 공포화 변성 (vacuolation), 사구체 울혈 (glomerular congestion) 등의 병변을 조직병리학적으로 판독한 결과, 모든 실험군에서 병변은 발견되지 않았다 (Fig. 2). 이전 연구들 중 신장의 기능 이상이 발생한 연구는 식이 중 과당의 함량이 60% 이상을 차지하거나 실험기간이 8개월 이상인 경우가 대부분이었던 반면에, 본 연구는 다소 낮은 수준의 30% 과당을 공급한 것과 8주간의 비교적 짧은 연구기간 때문이었을 것이라 판단된다.

본 연구에서는 실험 4주차부터 실험군간의 유의적인 체중차이를 보였다. 고과당 섭취군의 체중은 대조군보다 높은 경향을 나타냈고, 고지방 식이를 섭취한 군에서는 대조군보다 유의적으로 높은 체중이 나타났다. 그리고 이러한 체중 차이는 실험 종료 시까지 유지되었다. 많은 선행 연구들에서 고과당의 섭취는 체중증가를 유발한다고 보고된 바 있다.²⁴⁻²⁶ 하지만 지금까지의 연구들은 식이 중 과당이 60% 이상이거나 또는 음수를 통하여 과당을 추가적으로 공급한 경우가 대부분이었다. 위 연구들에서는 음수로 과당을 공급할 경우에는 식이섭취 이외의 추가적인 열량을 섭취하게 되어 체중증가가 발생할 수 있었고, 고과당 식이의 공급은 식이섭취량을 증가시켜 체중이 증가한 것으로 설명한다. 또한 과당은 체내에서 에너지원으로 사용되기 보다는 fructose-1-phosphate된 후 dehydroxyacetone phosphate (DHAP)를 통하여 중성지방을 합성하는 경로 (lipogenesis)로 대사된다고 알려져 있기 때문에, 고과당의 섭취가 체중증가를 유도할 수 있다는 부분을 뒷받침 해준다. 급격한 체중 증가를 유도한 이전 연구들에 비하여 본 연구에서는 고과당 섭취에 의한 체중 증가 폭이 낮았는데, 이러한 결과에는 추가적인 열량섭취를 통한 과당공급이 아닌 식이 내에 과당을 포함시켰다는 것과 본 연구에 사용된 고과당 식이

의 과당 함량이 30%로 다른 연구들에서 사용된 과당 함량 (약 60%)에 비하여 낮았던 것이 영향을 주었을 것이라 판단된다.

많은 선행 연구들에서 과당이 골대사에 미치는 영향에 대해 연구하였다. 하지만 이전 연구들을 살펴보면 과당 및 액상과당을 단독으로 공급하지 않거나,⁹ 음수에 과당을 희석하여 식이 이외에 추가적인 열량을 공급하는 형태로 과당만의 영향이라고 보기에는 어려움이 있었다.^{18,19} 또한 많은 연구들에서 대조군으로 고포도당 식이 섭취군으로 설정하였는데,^{9,14} 과잉의 포도당 섭취는 골 소실을 유발하는 것으로 알려져 있어서, 고포도당 섭취군에 비하여 고과당 섭취군의 골밀도가 높았다는 것은 고과당이 골형성에 도움을 준다고 판단하기 어려울 수 있다. 따라서 고과당 식이 섭취가 골대사에 미치는 영향을 명확히 규명하기 위해서는 본 연구에서와 같이 일반식이를 섭취하는 군과의 비교가 중요할 것이라 생각된다.

다양한 당류의 섭취가 이러한 골대사에 관여하는 기전을 밝히는 연구 또한 현재 상당 수 진행 중이다. 당류의 섭취가 골형성에 관여할 수 있는 기전 중 하나로 렙틴호르몬을 들 수가 있는데, Hamrick 등의 연구에서는 렙틴호르몬의 결핍이 대퇴골의 BMC, BMD, 및 Th.V를 낮추고, 척추골의 BMC, BMD와 Th.V는 높여, 골의 위치에 따라 다른 영향이 나타남을 보고하였다.²⁷ 설탕 및 포도당의 섭취가 인슐린 분비를 유도하고, 지방세포에서는 포만감을 느끼게 하는 렙틴호르몬을 분비하는 반면, 과당은 인슐린의 영향을 받지 않고 흡수, 대사되는 경로를 거치므로 렙틴호르몬의 분비를 자극하지 않아 다른 당류가 골대사에 미치는 기전과는 상이할 수 있을 것으로 여겨진다. 실제로 본 연구에서는 고과당 섭취에 의하여 경골의 부피가 높아져, 렙틴호르몬을 자극하지 않음으로 긍정적인 결과를 보였다.

한편, 일부 선행연구에서는 과당의 섭취가 신장 기능에 영향을 주는 것으로 보고되기도 하였다.^{28,29} 고과당 섭취는 과량의 요산 생성으로 신장을 손상시켜 CYP27B1 활성화 및 1,25-(OH)₂vitaminD₃ 합성을 저해할 수 있으며,^{28,29} 1,25-(OH)₂vitaminD₃ 합성 저하에 따른 소장세포 Calbindin D9k와 Ca²⁺-Mg²⁺ATPase의 활성 저하는 칼슘흡수량을 낮출 수 있다는 가설도 제시된 바 있다. 고과당 섭취로 인한 신기능 손상이 골형성에 어떠한 영향을 주는지는 아직 밝혀진바 없으나, 본 연구에서는 고과당 섭취에 의한 신기능 손상은 발견되지 않았다.

본 연구의 제한점으로는 다양한 생화학적 지표들을 측정하지 않았다는 것이다. 따라서 성장기 고과당 섭취가 어떠한 기전을 통하여 성장기 골대사에 영향을 미쳤는지는

명확히 밝혀내지 못하였으나, 본 연구는 일반식이 섭취군과 고과당 식이의 섭취군의 골성장을 비교한 유일한 연구로 그 의의가 있다. 성장기 동물 모델은 대사가 활발하여 환경 변화에 적응이 빠른 시기로, 장기간의 연구가 추가적으로 필요하리라 판단되며, 추후에는 과당의 섭취가 골대사에 영향을 미칠 수 있는 요인을 밝히기 위한 연구도 이루어져야 할 것이라 사료된다.

요 약

본 연구는 성장기 동물모델의 고과당 식이섭취가 골성장 (bone growth) 및 성숙 (bone maturation)에 미치는 영향을 연구하기 위해 수행되었다. 이를 평가하기 위해 생화학적 표지자 (biochemical markers), 경골의 구조학적 파라미터 (structural parameters) 및 골밀도 (BMD), 신장의 조직학적 변화를 측정하였고, 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 30% 고과당 섭취 (8주 동안) 및 30% 고과당 + 45 kcal% 고지방 섭취는 경골 내 해면골 (Tibia trabecular bone)의 부피비 (BV/TV), 해면골의 평균 개수 (Tb.N) 및 패턴요소 (Tb.Pf)를 향상시켰다.

2) 45 kcal% 고지방 섭취는 경골 내 피질골 (Tibia trabecular bone)의 부피를 향상시켰다.

3) 30% 고과당 섭취는 신장의 출혈 (interstitial bleeding), 공포화 변성 (vacuolation), 사구체 울혈 (glomerular congestion) 등의 병변을 유발하지 않았다.

4) 30% 고과당 섭취는 혈중 OC 농도를 낮추었고, 요 중 DPD농도에는 영향을 주지 않았다.

5) 8주 동안의 30% 고과당 섭취는 유의한 경향의 체중 증가를 유도하였고, 45 kcal% 고지방 섭취는 유의적인 체중증가를 나타내었다.

본 연구 결과에 따르면 고과당의 섭취는 신기능의 손상 없이 성장기 해면골을 더욱 치밀하게 만드는 것으로 나타났다. 많은 선행연구들을 통하여 설탕이나 포도당의 과잉 섭취가 골 소실을 유발한다고 보고되어 왔으며, 본 연구를 포함한 이전 연구들을 종합해보면 고과당 섭취는 설탕이나 포도당 과잉 섭취가 유발하는 골 소실을 유발하지는 않는 것으로 보인다. 하지만 이러한 결과가 고과당 섭취가 골형성을 돕는다는 것을 의미하지는 않는다. 따라서 본 연구의 결과는 골의 형성 및 성숙에 중요한 시기인 청소년기에 안전한 과당섭취 가이드라인을 위한 초석을 다지는데 참고자료로서 사용될 수 있으며, 설탕이나 포도당 등을 과당으로 대체하여 섭취하는 것이 골 건강에 도움이 될 수 있는지는 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

References

- Kim SD, Moon HK, Park JS, Yang HR, Yi YJ, Han EJ, Lee YC, Shin GY, Kim JH, Chae YZ. The content of macrominerals in beverages, liquid teas, and liquid coffees. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2012; 41(8): 1134-1143.
- Kim SD, Moon HK, Park JS, Lee YC, Shin GY, Jo HB, Kim BS, Kim JH, Chae YZ. Macromineral intake in non-alcoholic beverages for children and adolescents: using the fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES Ⅱ, 2007-2009). *Korean J Nutr* 2013; 46(1): 50-60.
- Chung SJ, Kim JH, Lee JS, Lee DH, Kim SH, Yu CH. A suggestion to develop a nutrition policy on food and nutrition labeling and education systems for fast food and carbonated soft drinks in Korea. *Korean J Nutr* 2004; 37(5): 394-405.
- Ruff JS, Hugentobler SA, Suchy AK, Sosa MM, Tanner RE, Hite ME, Morrison LC, Gieng SH, Shigenaga MK, Potts WK. Compared to sucrose, previous consumption of fructose and glucose monosaccharides reduces survival and fitness of female mice. *J Nutr* 2015; 145(3): 434-441.
- Chung M, Ma J, Patel K, Berger S, Lau J, Lichtenstein AH. Fructose, high-fructose corn syrup, sucrose, and nonalcoholic fatty liver disease or indexes of liver health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2014; 100(3): 833-849.
- Stanhope KL, Bremer AA, Medici V, Nakajima K, Ito Y, Nakano T, Chen G, Fong TH, Lee V, Menorca RI, Keim NL, Havel PJ. Consumption of fructose and high fructose corn syrup increase postprandial triglycerides, LDL-cholesterol, and apolipoprotein-B in young men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(10): E1596-E1605.
- Douard V, Asgerally A, Sabbagh Y, Sugiura S, Shapses SA, Casirola D, Ferraris RP. Dietary fructose inhibits intestinal calcium absorption and induces vitamin D insufficiency in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(2): 261-271.
- Palanisamy N, Viswanathan P, Anuradha CV. Effect of genistein, a soy isoflavone, on whole body insulin sensitivity and renal damage induced by a high-fructose diet. *Ren Fail* 2008; 30(6): 645-654.
- Dissard R, Klein J, Caubet C, Breuil B, Siwy J, Hoffman J, Sicard L, Ducassé L, Rascalou S, Payre B, Buléon M, Mullen W, Mischak H, Tack I, Bascands JL, Buffin-Meyer B, Schanstra JP. Long term metabolic syndrome induced by a high fat high fructose diet leads to minimal renal injury in C57BL/6 mice. *PLoS One* 2013; 8(10): e6703.
- Whiting SJ, Vatanparast H, Baxter-Jones A, Faulkner RA, Mirwald R, Bailey DA. Factors that affect bone mineral accrual in the adolescent growth spurt. *J Nutr* 2004; 134(3): 696S-700S.
- Singh D, Sanyal S, Chattopadhyay N. The role of estrogen in bone growth and formation: changes at puberty. *Cell Health Cytoskeleton* 2011; 3(1): 2-12.
- Kang BS, Park MS, Cho YS, Lee JW. Beverage consumption and related factors among adolescents in the Chungnam urban area. *Korean J Community Nutr* 2006; 11(4): 469-478.
- Song MJ, An EM, Shon HS, Kim SB, Cha YS. A study on the status of beverage consumption of the middle school students in Jeonju. *Korean J Community Nutr* 2005; 10(2): 174-182.
- Bass EF, Baile CA, Lewis RD, Giraudo SQ. Bone quality and strength are greater in growing male rats fed fructose compared with glucose. *Nutr Res* 2013; 33(12): 1063-1071.
- Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3 Suppl 3: S131-S139.
- Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev* 2005; 26(4): 97-122.
- Vasikaran SD. Utility of biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in management of osteoporosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2008; 45(2): 221-258.
- Tsanzi E, Light HR, Tou JC. The effect of feeding different sugar-sweetened beverages to growing female Sprague-Dawley rats on bone mass and strength. *Bone* 2008; 42(5): 960-968.
- Felice JJ, Gangoiti MV, Molinuevo MS, McCarthy AD, Cortizo AM. Effects of a metabolic syndrome induced by a fructose-rich diet on bone metabolism in rats. *Metabolism* 2014; 63(2): 296-305.
- Li YQ, Xing XH, Wang H, Weng XL, Yu SB, Dong GY. Dose-dependent effects of genistein on bone homeostasis in rats' mandibular subchondral bone. *Acta Pharmacol Sin* 2012; 33(1): 66-74.
- Piekarz AV, Ward WE. Effect of neonatal exposure to genistein on bone metabolism in mice at adulthood. *Pediatr Res* 2007; 61(1): 48-53.
- Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Jäger Y, Wuttke W. Bone development in female rats maintained with soy-free or soy-containing food as determined by computer-assisted tomography and serum bone markers. *J Bone Miner Metab* 2008; 26(4): 321-327.
- Kretowicz M, Johnson RJ, Ishimoto T, Nakagawa T, Maniatis J. The impact of fructose on renal function and blood pressure. *Int J Nephrol* 2011; 2011: 315879.
- Mohamed Salih S, Nallasamy P, Muniyandi P, Periyasami V, Carani Venkatraman A. Genistein improves liver function and attenuates non-alcoholic fatty liver disease in a rat model of insulin resistance. *J Diabetes* 2009; 1(4): 278-287.
- Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig DI, Block ER, Herrera-Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290(3): F625-F631.
- Shih CC, Lin CH, Lin WL, Wu JB. Momordica charantia extract on insulin resistance and the skeletal muscle GLUT4 protein in fructose-fed rats. *J Ethnopharmacol* 2009; 123(1): 82-90.
- Hamrick MW, Pennington C, Newton D, Xie D, Isales C. Leptin deficiency produces contrasting phenotypes in bones of the limb and spine. *Bone* 2004; 34(3): 376-383.
- Douard V, Sabbagh Y, Lee J, Patel C, Kemp FW, Bogden JD, Lin S, Ferraris RP. Excessive fructose intake causes 1,25-(OH)(2)D (3)-dependent inhibition of intestinal and renal calcium transport in growing rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 304(12): E1303-E1313.
- Douard V, Suzuki T, Sabbagh Y, Lee J, Shapses S, Lin S, Ferraris RP. Dietary fructose inhibits lactation-induced adaptations in rat 1,25-(OH)(2)D? synthesis and calcium transport. *FASEB J* 2012; 26(2): 707-721.