

高脂肪食餌에 따른 Acetate-1-¹⁴C 이 흰쥐의 體內脂質에의 編入度

효성여자대학교 가정학과

세종대학 식품공학과*

李 淳 宰 · 朴 洪 球*

Incorporation of Acetate-1-¹⁴C into Lipid of Rats Fed High Fat Diet

Soon Jae Rhee, Hong Koo Park*

Dept. of Home Economics, Hyosung Women's University

*Dept. of Food Technology, King Sejong University**

= ABSTRACT =

The long-term effects of vegetable and animal high fat diet on the lipid metabolism were investigated in male weaning rats. The rats were fed one of four semipurified diet ad libitum: control diet supplied 12% of calories as fat (control group), low fat diet supplied 3% of calories as fat (3% F group), 45% corn oil diet supplied 45% calories from corn oil (45% C group) and 45% butter fat diet supplied 45% calories from butter fat (45% B group). Incorporation of acetate-1-¹⁴C into lipid of liver, serum and adipose tissue as well as exhalation of ¹⁴CO₂ from acetate-1-¹⁴C were observed in rats fed for 4, 8 and 12 weeks.

The weight of epididymal adipose tissue of rats, fed 45% corn oil and 45% butter fat from 4 weeks to 8 weeks were higher, but not different at 12 weeks, compared with those of control group. The weight of abdominal adipose tissue appeared to be similar to those of epididymal adipose tissue. Incorporations of acetate-1-¹⁴C into lipid of liver were remarkably decreased in high fat diet groups, especially in 45% C group, but in 3% F group were increased more than those of control group. Incorporations of acetate-1-¹⁴C into epididymal adipose tissue in 3% F, 45% C and 45% B group at 8 weeks were remarkably increased but not different at 12 weeks, compared with those of control group. The incorporation of acetate-1-¹⁴C into abdominal adipose tissue appeared to be similar to

those of epididymal adipose tissue. Incorporations of acetate-1-¹⁴C into lipid of serum in 45% C and 45% B group were reduced reasonably at 4 and 8 weeks of diet as compared with those of control group.

Exhalation of ¹⁴CO₂ was increased to maximum level at 10 minutes after injection of acetate-1-¹⁴C. Expiration of ¹⁴CO₂ in 45% C and 45% B group were higher than those in 3% F and control group for initial 5 minutes after injection, but expirations of ¹⁴CO₂ did not have significant difference among groups of diet since 10 minutes.

緒 論

脂質 生合成에 대한 研究報告는 主로 meal-fed diet 로 短期間 研究한 것으로 Clarke 등¹⁾이 8% stearic acid와 3% linoleic acid를 각각 添加한 食餌로 7日間 飼育시켜 쥐의 肝臟組織의 代謝에 미치는 食餌脂肪酸의 영향에 대한 報告, Clarke等²⁾이 Poly unsaturated fatty acid(PUFA)로 7日間 meal-fed시킨 쥐의 간장의 fatty acid 合成에 미치는 時間에 따른 變化等에서 脂肪酸合成關係酵素의 活性를 測定하였으며, Hill等³⁾은 0, 1, 2.5, 5, 10, 15% corn oil을 各各 添加한 食餌로 3日間 飼育한 후 ¹⁴C-acetate를 使用하여 肝臟內의 lipogenesis를 研究 報告하였으며, Carlson과 Arnrich⁴⁾는 成熟한 쥐를 Safflower oil과 beef tallow를 각각 20%씩 添加한 食餌로 10日間 meal fed한 후 H-acetate를 注入시켜 肝臟의 lipogenesis를 研究한 報告등이 있다. 또한 脂肪組織의 lipogenesis에서는 飽和脂肪酸이든 不飽和脂肪酸이든 영향이 없다는 보고^{5,6)}와 이와는 반대로 低脂肪食에 脂肪酸을 添加했더니 抑制效果가 있었다는 보고⁷⁾ 등의 異說이 있다. 이와같이 대부분이 meal-fed diet로 短期間 研究한 것이므로 本 실험에서는 앞에서 이미 보고⁸⁾한 간장중의 脂質 변화와 병리조직학적연구에 뒤이어 脂肪의 量과 種類를 달리한 脂肪食餌를 離乳期の 쥐를 대상으로 하여 長期間 自由攝食 시키면서 體內에서 바로 그의 活性化인 acetyl-CoA로 쉽게 전환한 후 酸化되어 에너지를 生産하거나 혹은 다른 物質로의 合成에 이용되는 acetate-1-¹⁴C^{9,10,11)}를 注入한 후 血清, 肝臟 및 脂肪組織에의 編入과 아울러 acetate-1-¹⁴C이 체내에 들어가서 연소된 후 放出되어 나오는 呼氣中의 ¹⁴CO₂로의 排出速度 등을 사육시기별로 4, 8, 12주로 나누어 관찰하였다.

材料 및 方法

1) 動物 및 食餌 : 實驗 動物은 Sprague Dawley種

의 흰쥐 수컷을 使用하였으며, 年後 3週에 離乳된 것을 購入해서 1週間 一定한 條件下에서 豫備飼育한 후 到 體重이 60~65g 되는 것을 無作為로 120마리 選定하여 本 實驗에 使用하였다.

豫備飼育을 한 動物을 食餌中에 함유된 脂肪의 量과 種類에 따라 4群으로 나누어 일정한 環境下에서 1日 2回 實驗食餌와 물을 供給하여 24시간 동안 自由攝取하도록 하였고, 實驗食餌 投與後 4週, 8週 및 12週에 각 食餌群마다 10마리씩 쥐를 사용하여 各種 實驗을 實施하였다.

食餌組成은 全熱量에 대한 脂肪으로부터 얻는 熱量의 比率에 따라 對照群(12%-fat, 이하 C群이라 略함), 低脂肪食餌群(3%-fat, 이하 3F群이라 略함), 植物性高脂肪食餌群(45%-Corn oil, 이하 45% C群이라 略함), 動物性高脂肪食餌群(45%-butter fat, 이하 45% B群이라 略함)으로 하였으며, 對照群과 低脂肪食餌群의 脂肪組成은 P/S (polyunsaturated fatty acid / saturated fatty acid) 比가 1.2:1 이 되도록 corn oil과 butter fat를 混合하였다 (corn oil과 butter fat의 P:S 比는 각각 5.3:1, 0.05:1)¹²⁾. 사료무게당 Calorie density는 對照群과 低脂肪食餌群은 同一칼로리(3.9Kcal/g of diet)로 하였고, 高脂肪食餌群들은 이들 두 食餌群보다 높게 하였다 (4.4Kcal/g of diet). 各 食餌의 組成은 表1과 같다.

2) 血清 및 肝臟의 脂質抽出과 이에 編入된 ¹⁴C의 放射能 測定 : 쥐를 3시간 絶食시킨 후 acetate-1-¹⁴C (sodium salt, 40~60 mci/mmol, The Radio Chemical centre社 製品)을 體重 100g당 4μci에 해당되는 量을 0.15M 食鹽水 0.5ml에 녹여 腹腔內로 注入하고 3시간 후에 ether로 麻醉하고 開腹하여 腹部 大動脈으로부터 血液을 採取하고 肝을 摘出하였다. 血液은 곧 分離하여 血清을 얻었고 摘出した 肝臟은 역시 glass homogenizer를 사용하여 0.15M 食鹽水로써 10%(W/V) 마쇄액을 만들었으며 이 마쇄액과 血清을 Folch法¹³⁾으로 脂質을 抽出하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

(g/1,000g diet)

	Dietary fat level/energy			
	Control	3%-Fat	45%-Corn oil	45%-Butter fat
Corn oil (g) ¹⁾	40	11	220	—
Butter fat (g) ²⁾	12	3	—	220
Corn starch (g) ³⁾	678	763	410	410
Casein (g) ⁴⁾	175	175	198	198
Salt mix. (g) ⁵⁾	40	40	40	40
Vitamin mix. (g) ⁶⁾	5	5	5	5
d-Threonine (g) ⁷⁾	1.5	1.5	1.5	1.5
dl-Methionine (g) ⁷⁾	1.5	1.5	1.5	1.5
Cellulose (g) ⁸⁾	42	0	124	124
Kcal/g	3.9	3.9	4.4	4.4
Distribution	% of Energy			
Fat	12	3	45	45
Starch	70	79	37	37
Protein	18	18	18	18

1) Refined corn oil, Seoul Food INC.

2) Berkshire Butter fats, Berkshire Food, U.S.A.

3) Samsung Food INC.

4) Lactic Casein, 30mesh, Newzealand.

5) Salt mixture : per 1kg of diet : CaCO₃, 30.0g ; CaHPO₄ · 2H₂O, 7.5g ; K₂HPO₄, 32.2g ; NaCl, 16.7g ; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2g ; ferric citrate, 2.75g ; MnSO₄, 0.51g ; KI, 70mg ; CuCl₂ · 5H₂O, 35mg ; ZnCl₂, 25mg ; CoCl₂ · 5H₂O, 5mg ; (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O, 5mg.

6) Vitamin Mixture : per 1kg of diet ; thiamine-HCl, 20mg ; riboflavin, 20mg ; Pyridoxine, 20mg ; nicotinic acid, 90mg ; d-calcium pantothenate, 60mg ; folic acid, 10mg ; biotin, 1mg ; menadione, 45mg ; vitamin B₁₂ (0.1% triturate in mannitol), 20mg ; retinyl acetate, 2,000 IU ; cholecalciferol, 1,000 IU ; dl-tocopheryl acetate, 0.1g ; choline, 1.5g ; inositol, 0.1g ; vitamin C, 0.9g ; p-amino-benzoic acid, 0.1g.

7) Wako pure chemicals Co.

8) CMC(Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber).

3) 지방조직 중량 및 지방조직추출과 이에 編入된 ¹⁴C의 放射能 測定: 복부 및 부고환 脂肪組織을 각각 적출하여 무게를 秤量한 후 組織 1g에 20倍量の chloroform을 加하여 glass homogenizer로써 마쇄하고 2~5℃의 冷室에서 3일간 가끔 攪拌한 후 다시 20 ml의 증류수를 加하고 때때로 흔들면서 48시간 冷室에 보존하였다가 chloroform層을 分離하였다. 이와같이 하여 얻은 각각의 脂質抽出液을 planchet에 一定量 옮겨서 低溫乾燥시키고 그 무게를 秤量하여 總脂質量을 算出하고 gas flow counter (Nuclear Chicago 社製, 美國, model No. 480)로써 그 放射能을 測定하였다. 그리고 planchet 內에 담겨진 脂質量에 따른 방사능의

自己吸收曲線을 작성하여 測定值를 補正하였다 (圖 1).

4) 呼氣中の ¹⁴CO₂ 測定: 거의 같은 무게의 쥐를 3時間 絶食시킨 뒤에 acetate-1-¹⁴C (sodium salt, 40~60mci/mmol, The Radiochemical centre 社製品)을 體重 100g當 4μci에 해당되는 量을 0.15M食鹽水 0.5ml에 녹여 腹腔內로 注入하고 곧 쥐를 metabolic cage에 넣고 3시간 동안 排出되는 呼氣中の 炭酸가스를 水酸化바륨으로 捕捉하였다. 이때 水酸化바륨을 넣은 管의 液層높이를 25cm로 하여 그 管을 연결했으며, fritted disc (Thomas 社製, 美國)를 사용하여 氣泡를 잘 分散시켜서 炭酸가스의 損失을 막았다. 沈澱된 炭酸바륨은 濾過紙 위에 모아 건조시켜서 그 放射能을 gas

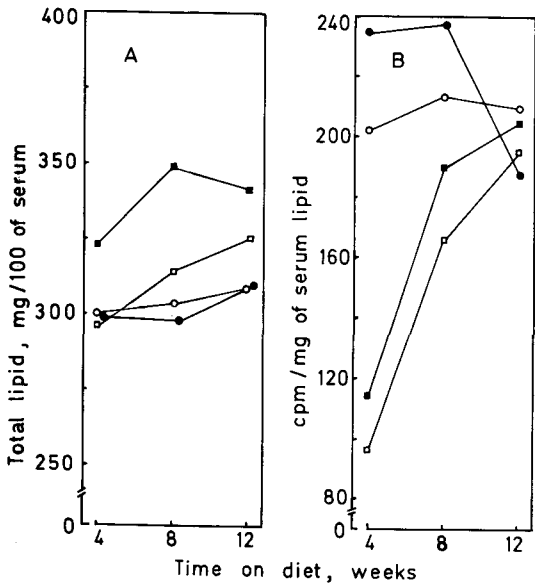


Fig. 1. Total contents of lipid(A) and incorporation of acetate-1-¹⁴C into lipid(B) in serum of rats fed different levels and types of lipid for 4, 8, and 12 weeks.
 ○ - ○, control(12% - fat); ● - ●, 3% - fat; □ - □, 45% - corn oil; ■ - ■, 45% - butter fat diet.

flow counter (Nuclear Chicago 社製, 美國, model No. 480) 로써 測定하였다. 그리고 planchet 內에 담겨진 脂質量에 따른 放射能의 自己吸收曲線을 作成하고 이것으로써 測定值를 補正하였다.

結 果

1) Acetate-1-¹⁴C의 肝脂質에의 編入度

食餌脂肪의 含量과 종류가 投與期間에 따른 acetate-1-¹⁴C의 肝脂質內의 編入에 있어서 어떠한 영향을 미치는가를 調査하기 위하여 飼育한 쥐를 6시간 絶食시킨 뒤 acetate-1-¹⁴C를 腹腔內로 投與하고 3時間 뒤 肝脂質에의 編入度를 測定한 결과는 表 2와 같다.

各 食餌群別로 肝脂質에의 ¹⁴C의 編入度를 보면 4주째는 對照群에 비해 3% F群은 유의적으로 높았고 (p < 0.01), 高脂肪食餌인 45% C群과 45% B群은 현저하게 낮았으며 (p < 0.001), 이중에서도 45% C群이 더욱 현저히 낮았다. 그리고 兩群의 이러한 低下 현상은 實驗 8주에 가장 현저하였으며, 12주째는 8주와 같은 경향을 나타내었다. 이로 보아 肝臟에서의 脂質合成은 高脂肪食餌에 의해 현저하게 抑制됨을 알 수 있다.

또한 成長期間에 따른 acetate-1-¹⁴C의 脂質에의 編入 樣相을 보면 各 食餌群에 따라 차이는 있으나 成長함에 따라 脂質合成이 약간 감소되는 경향이였으며, 특히 3% F群은 12주에 4, 8주 때보다 현저히 감소되어 대조군과 같은 정도로 合成되었었다. 그리고 全實驗群에서 이미 보고⁸⁾한 肝臟의 總脂質量과 본 實驗에서의 acetate-1-¹⁴C의 編入度를 비교해 보면 總脂質量이 증가된 경우는 대체로 ¹⁴C의 編入率이 감소되어 서로 상반되는 경향을 보였다.

2) 脂肪組織의 重量변동 및 Acetate-1-¹⁴C의 脂肪組織에의 編入度

副辜丸 脂肪組織의 重量增加를 보면 (表 3), 實驗初期 때보다 實驗 4주에는 對照群, 3% F群, 45% C群, 45% B群에서 각각 15.9, 16.5, 18.5, 21.2배로 모든 식이군이 큰 증가를 하였으며, 그 중에서 45% B群과 45% C群은 對照群에 비해 높은 증가를 보였으며 (p < 0.05) 또 45% C群에 비해 45% B群이 더 높았다 (p < 0.05).

Table 2. Incorporation of acetate-1-¹⁴C into lipid in liver of rats fed different levels and types of fat for 4, 8, and 12 weeks

Group	Control	3% - Fat	45% - Corn oil	45% - Butter fat
Weeks	cpm/mg of lipid			
4	81.8 ± 3.1 ^{* a,1}	94.2 ± 3.7 ^{** b,1}	37.3 ± 3.3 ^{*** a,1}	47.6 ± 3.5 ^{d,1}
8	80.0 ± 2.5 ^{a,1}	97.7 ± 5.2 ^{b,1}	25.7 ± 2.5 ^{a,2}	38.9 ± 2.2 ^{d,2}
12	74.2 ± 2.3 ^{a,1}	75.5 ± 3.4 ^{a,2}	29.2 ± 1.4 ^{b,2}	36.4 ± 2.3 ^{c,2}

* All values are mean ± SE of ten rats.

** Values in a row (diet group) with different superscript letters (a, b, c, d) are significantly different ("Z" test, p < 0.05).

*** Values in a column (feeding period of diet) with different superscript numbers (1, 2, 3) are significantly different ("Z" test, p < 0.05).

實驗 8 週제는 食餌群別로는 4 주째와 비슷한 경향이 있으나, 各群의 飼育期間別로 보았을 때 對照群, 3% F群, 45% C群, 45% B群에서 각각 實驗 4 週에 비해 1.5, 1.4, 1.5 및 1.4 배로 群別間에 큰 差異없이 增加했다.

實驗 12 週제는 8 週에 비해 각각 1.9, 2.2, 1.6, 1.6 배로 3% F群이 이 期間中 가장 많이 增加하여 대조군보다 높았으며 대체로 4 週에서 8 週사이보다 8 週에서 12 週 사이가 더 많이 증가하는 경향을 보였다. 한편 腹部 脂肪組織量은 (表 3) 各群別 差異는 4 週째와 같은 경향이였다. 그러나 實驗 12 週에 와서는 群別間的 差異가 줄어들면서 副辜丸 脂肪組織과 비슷한 경향으로 나타났다. 또 飼育期間別 腹部 脂肪組織의 重量增加를 보면 實驗 4 週에는 對照群, 3% F群, 45% C群, 45% B群이 각각 15, 14, 34, 50 배로 급격히 증가하였으며 그 중에서도 45% B群과 45% C群은 더 많은 증가를 하여 대조군에 비해 45% C群의 것은 약 2 배 ($p < 0.001$), 45% B群의 것은 약 3 배나 많았다 ($p < 0.01$).

實驗 8 週제는 4 週에 비해 各群 共히 2 배로 增加했으며 各群別 差異는 4 週와 같은 경향이였다. 8 週에서 12 週 사이에는 對照群, 3% F群, 45% C群, 45% B群에서 각각 4.4, 4.6, 1.9, 1.5 배로 副辜丸 脂肪組織 重量增加와 같은 경향을 나타내지만 그 增加幅이 더 크며 특히 이 期間中 對照群과 3% F群이 더 많이 增加하고

45% C群과 45% B群의 增加 比率이 對照群과 3% F群에 비해 훨씬 낮았다.

腹部脂肪組織과 副辜丸脂肪組織中の 脂質에의 acetate-1-¹⁴C의 編入 樣相에 미치는 高低脂肪食의 長期投與의 影響을 조사한 結果는 表 4 와 같다.

副辜丸脂肪組織에서 飼育 4 週 때 ¹⁴C의 脂質에의 編入은 對照群에 비해 3% F群과 45% C群은 別 差異가 없으나 45% B群은 높게 나타났으며 ($p < 0.001$), 8 週째에는 對照群, 45% C群 및 45% B群에서 4 週에 비해 각각 2.7, 5.1, 3.7 및 1.7 배로 ¹⁴C의 編入이 증가되었고, 各群間的 差異를 對照群과 비교해 보면 3群 모두 높았으나 3% F群이 가장 현저하였다 ($p < 0.001$).

長期投與한 12 週제의 ¹⁴C의 編入은 전반적으로 鈍化되어 대체로 4 週째 수준을 유지했으나, 45% B群은 4 週째에 비해 감소를 하였으며 ($p < 0.001$), 他群들과 비교하여도 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$).

이와 같이 45% B群이 acetate의 編入率이 현저히 높았으나, 實驗 12 週에는 오히려 他群에 비해 acetate의 編入率이 낮았다.

腹部脂肪組織에서 acetate-1-¹⁴C의 脂質에의 編入은 副辜丸脂肪組織에서와 비슷한 경향을 나타내었다. 그리고 acetate-1-¹⁴C의 肝臟脂質에의 編入率과 腹部 및 副辜丸脂質에의 編入率을 비교해 보면, 특히 8 週째에 모든 食餌群에서 肝臟脂質의 ¹⁴C 編入率은 감소되는

Table 3. Weights of epididymal and abdominal adipose tissue of rats fed different levels and types of fat for 4, 8 and 12 weeks

Group		Control	3% - Fat	45% - Corn oil	45% - Butter fat
Organs	Weeks				
Epidiymal Adp. T. (g)	0	0.17 ± 0.04 ^{a,1} *	0.17 ± 0.04 ^{a,1} **	0.17 ± 0.04 ^{a,1} ***	0.17 ± 0.04 ^{a,1}
	4	2.74 ± 0.10 ^{a,2}	2.80 ± 0.12 ^{a,2}	3.10 ± 0.17 ^{b,2}	3.59 ± 0.19 ^{c,2}
	8	4.12 ± 0.13 ^{a,3}	4.00 ± 0.26 ^{a,3}	4.70 ± 0.15 ^{b,3}	5.18 ± 0.16 ^{c,3}
	12	7.61 ± 0.46 ^{a,4}	8.90 ± 0.28 ^{b,4}	7.66 ± 0.49 ^{a,b,4}	8.22 ± 0.46 ^{a,b,4}
Abdominal Adp. T. (g)	0	0.05 ± 0.01 ^{a,1}	0.05 ± 0.01 ^{a,1}	0.05 ± 0.01 ^{a,1}	0.05 ± 0.01 ^{a,1}
	4	0.83 ± 0.07 ^{a,2}	0.71 ± 0.05 ^{a,2}	1.71 ± 0.12 ^{b,2}	2.53 ± 0.21 ^{c,2}
	8	1.60 ± 0.16 ^{a,3}	1.70 ± 0.05 ^{a,3}	3.49 ± 0.18 ^{b,3}	4.67 ± 0.29 ^{c,3}
	12	7.04 ± 0.40 ^{a,4}	7.81 ± 0.63 ^{a,4}	6.83 ± 0.62 ^{a,4}	7.22 ± 0.51 ^{a,4}

* All values are mean ± SE of ten rats.

** Values in a row (diet group) with different superscript letters (a, b, c) are significantly different ("Z" test, $p < 0.05$).

*** Values in a column (feeding period of diet) with different superscript numbers (1, 2, 3, 4) are significantly different ("Z" test, $p < 0.05$).

반면에 腹部 및 副辜丸脂肪組織의 그 編入度는 현저히 증가하여 서로 상반되는 경향을 보였다.

3) 血清脂質의 含量과 이에 대한 acetate-1-¹⁴C의 編入度

高低脂肪食餌의 長期投與가 血清脂質含量과 이에의 acetate-1-¹⁴C의 編入에 대해서 어떠한 영향을 미치는가를 조사한 결과는 圖 1 과 같다. 飼育 4 주째 各食餌群의 血清 總脂質量은 45%B群이 다소 높았으나 유의적 차이는 없었고, 다른 群들도 對照群에 비해 별차이는 없었다. 8 주째는 3%F群과 45%C群은 對照群과 別差없으나 45%B群은 높았으며 (p < 0.001), 12 주

째는 45%C群과 45%B群은 높았고 (p < 0.01), 이 중에서도 45%B群이 45%C群보다 더 현저하였다 (p < 0.05)

血清脂質에의 acetate-1-¹⁴C의 編入度는 實驗 4 주째 對照群에 비해서 3%F群에서는 別差異가 없었으나, 45%C群과 45%B群에서는 對照群의 約 半밖에 되지 않았다. 이들 兩高脂肪食餌群은 4 주 이후 점차 증가되어 8 주째에 45%B群은 對照群에 비해 약간 낮았으나 유의적인 차이는 나타나지 않았고, 45%C群은 유의적으로 낮았으며, 3%F群과 비교해 보면 45%C群 및 45%B群 두群 모두 낮았다 (p < 0.05). 12 주 때에는 各群에서 ¹⁴C의 編入度가 유의적인 차이는 없었지만

Table 4. Incorporation of acetate-1-¹⁴C into lipid of epididymal and abdominal adipose tissue in rats fed different levels and types of fat for various periods

Group	Control	3 % - Fat	45 % - Corn oil	45 % - Butter fat
Weeks	Synthesis of epididymal adipose tissue (cpm/ mg of lipid)			
4	21.60 ± 1.16 ^{a,1} *	22.10 ± 1.07 ^{a,1} **	20.01 ± 0.90 ^{a,1} ***	40.15 ± 0.86 ^{b,1}
8	57.50 ± 2.20 ^{a,2}	112.20 ± 4.26 ^{b,2}	73.40 ± 2.93 ^{c,2}	66.60 ± 2.62 ^{c,2}
12	25.85 ± 1.38 ^{a,1}	24.95 ± 1.34 ^{a,1}	23.20 ± 1.53 ^{a,1}	19.12 ± 0.97 ^{b,3}
	Synthesis of abdominal adipose tissue (cpm/ mg of lipid)			
4	25.65 ± 1.33 ^{a,1}	24.80 ± 1.46 ^{a,1}	26.30 ± 1.29 ^{a,1}	41.25 ± 1.51 ^{b,1}
8	59.85 ± 2.17 ^{a,2}	133.00 ± 4.40 ^{b,2}	82.50 ± 1.95 ^{c,2}	78.05 ± 2.13 ^{c,2}
12	26.15 ± 0.99 ^{a,1}	25.10 ± 1.26 ^{a,1}	27.20 ± 1.65 ^{a,1}	20.05 ± 1.15 ^{b,3}

* All values are mean ± SE of ten rats.

** Values in a row (diet group) with different superscript letters (a, b, c) are significantly different ("Z" test, p < 0.05).

*** Values in a column (feeding period of diet) with different superscript numbers (1, 2, 3) are significantly different ("Z" test, p < 0.05).

Table 5. Exhaled ¹⁴CO₂ from rats fed different levels and types of fat for 8 weeks after intraperitoneal injection of acetate-1-¹⁴C

Group	Control	3 % - Fat	45 % - Corn oil	45 % - Butter fat
Time	Radioactivity of ¹⁴ CO ₂ (cpm × 10 ⁻³)			
0 - 5	181 ± 10 ^a *	157 ± 8 ^a **	219 ± 9 ^b	227 ± 7 ^b
0 - 30	1,652 ± 26	1,395 ± 31	1,493 ± 92	1,578 ± 83
0 - 60	2,245 ± 40	1,984 ± 16	2,006 ± 141	2,202 ± 32
0 - 120	2,701 ± 31	2,458 ± 90	2,389 ± 135	2,512 ± 125
0 - 180	2,820 ± 37	2,600 ± 39	2,494 ± 187	2,629 ± 135

* All values are mean ± SE of five rats.

** Values in a row (diet group) with different superscript letters (a, b) are significantly different ("Z" test, p < 0.05).

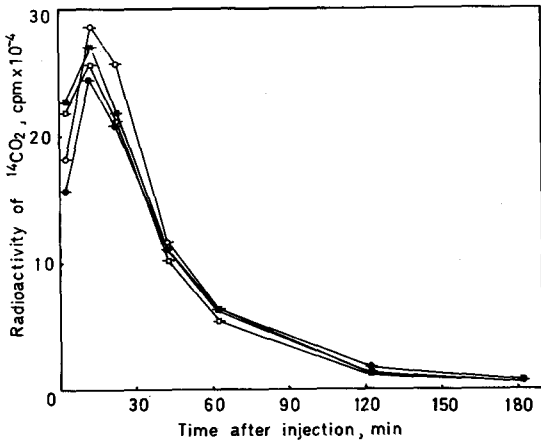


Fig. 2. Time course of exhaled ¹⁴CO₂ from rats fed different levels and forms of lipid diets for 8 weeks after intraperitoneal injection of acetate-1-¹⁴C.
○ - ○, control (12% - fat); ● - ●, 3% - fat; □ - □, 45% - corn oil; ■ - ■, 45% - butter fat diet.

3%F群이 다소 낮았다. 이와 같이 高脂肪食餌를 投與하면 實驗 4 주까지는 血清脂質에의 acetate-1-¹⁴C의 編入도가 현저히 낮았으나 8 주부터 점차 증가하는 경향을 나타내었다.

4) Acetate-1-¹⁴C의 呼氣中 ¹⁴CO₂로의 排出

高低脂肪食으로 8週間 飼育한 뒤 acetate-1-¹⁴C를 腹腔內로 注入하여 燃燒되어 排出되는 呼氣中の ¹⁴CO₂를 炭酸바륨 (Ba¹⁴CO₃) 型으로 捕捉하여 그 放射能을 時間別로 측정된 결과는 圖 2와 같으며 일정시간 排出되어 나오는 放射能의 總量을 算出한 값은 表 5와 같다. 즉 ¹⁴CO₂의 排出樣相은 acetate-1-¹⁴C 注入후 各群 共히 처음 10분만에 最高值를 나타내었으며, 또한 처음 5분간 排出量을 보면 對照群에 比하여 3%F群의 것은 다소 낮았으나 有意적 差이는 아니었고, 45%C群과 45%B群에서는 有意하게 많았다 (p < 0.01). 그러나 10分 이후 排出量은 各群間에 有意적 差異가 없었다. 이와 같이 生體에 注入된 acetate는 그 燃燒가 아주 빨라 곧 最高值에 達하였으며, 30分 이후 부터는 급속히 감소하는 경향을 보였다.

考 察

脂肪酸 生合成의 制御에는 短期調節과 長期調節의 機構가 重要하다. 前者는 酵素活性的의 調節에 의한 制御

機構이며, 後者는 酵素의 量을 制御하는 機構로 適應調節 (adaptive control) 이라고도 한다. 脂肪酸合成에서 長期調節 즉 適應調節의 變化는 外部의 자극(營養이나 hormone)나 發育相에 따라 일어나며 이때의 調節機能은 脂肪酸合成에 關여하는 酵素蛋白의 生合成 및 分解를 조절하므로써 이루어진다¹⁴⁾. Allman과 Gibson¹⁵⁾, Clarke 등⁶⁾, Bartley 등¹⁶⁾은 食餌 內에 linolate 혹은 PUFA를 첨가하면 肝臟의 lipogenesis가 감소되며, 이때 脂肪酸合成의 감소와 脂肪酸合成에 關여하는 酵素 즉 acetyl CoA carboxylase, malic enzyme, glucose-6-phosphate dehydrogenase, citrate cleavage lyase 및 fatty acid synthetase와는 서로 밀접한 關係가 있다고 하였다.

이러한 脂肪酸의 첨가로 인한 lipogenesis 감소에 대하여 Gozukara¹⁷⁾는 食餌內 脂肪의 첨가로 인해 炭水化合物의 吸收 감소에 기인한다고 보고하였으나, 그와는 반대로 Carroza¹⁸⁾, Clarke⁶⁾ 등은 炭水化合物의 吸收와는 獨立的으로 작용하며, PUFA의 첨가로 인한 감소는 lipogenesis 관련 酵素의 活性的의 감소에 의한 것으로 이들 酵素 活性的의 抑制는 營養 및 insulin, glucagon, thyroid hormone, growth hormone 등의 影響을 받는다고 하였다.

그러나 Toussant 등¹⁹⁾, Iritani 등²⁰⁾은 이러한 PUFA에 의한 脂肪酸合成이 감소하는 현상은 脂肪酸合成에 allosteric enzyme인 acetyl CoA carboxylase와 fatty acid synthetase 酵素의 生合成速度 抑制 및 分解速度 촉진으로 酵素量을 감소시키는데 있으며, 이때 이 두 酵素의 量이 동시에 特異的으로 감소함에 따라 脂肪酸合成의 절대속도도 抑制되었다고 하였다. 이와같은 PUFA의 長期調節에 대해 Flick²¹⁾도 역시 같은 의견을 제시하였다.

本 實驗에서 acetate-1-¹⁴C의 肝脂質에의 編入度를 관찰한 결과 45%C群이 他群에 比해 실험 全期間에 걸쳐 현저히 낮았던 것은 이들¹⁴⁾¹⁹⁾⁻²¹⁾의 보고에서와 같이 45%C群의 옥수수油 중에 多量 함유된 PUFA에 의한 長期調節에 의한 것이라 생각된다. 또한 本 실험에서 飽和脂肪酸가 많이 함유된 45%B食餌를 한 群에서도 45%C群보다는 덜 현저하나 역시 감소하였다. 한편 Carroza¹⁸⁾, Toussant 등¹⁹⁾이 脂肪含量에 따른 脂肪合成에 미치는 실험에서 22kcal% 이상의 牛脂나 palmitin을 첨가했을 때는 肝臟의 脂肪酸合成이 감소하였다고 한다. 이러한 점으로 보아 飽和脂肪酸도 그 정도는 약하나 Flick의 보고²¹⁾와 같이 지방함성을 다소 감소시킨다고 생각된다.

炭水化合物이 多量 함유된 食餌를 실험동물에 投與했을 때 肝臟의 脂肪酸合成 酵素들의 活性이 증가되고, 따라서 脂肪合成이 상승되며 특히 多糖類보다도 單糖類인 fructose나 sucrose를 投與하면 그 効果가 증가된다는 사실은 잘 알려져 있다²²⁾. 본 실험에서 3%F群의 acetate-1-¹⁴C의 肝脂質에의 編入率이 高脂肪食餌群보다 월등히 높았다. 그러나 대조군보다는 크게 높지 않은 것은 糖質給源으로써 淀粉을 사용한 것이 그 원인이라 생각된다. 그리고 3%F群이 12주째에 와서는 4 및 8주에 비해 현저히 감소된 것은 이 時期에 肝臟內의 總脂質이 증가되므로 인한 生體內 調節作用으로서 脂肪酸合成의 抑制效果가 그 원인의 하나가 아닌가 생각된다.

또 전반적으로 쥐가 成長함에 따라 肝脂質에의 acetate-1-¹⁴C의 編入度가 다소 감소하는 경향을 볼 수 있었는데, 이는 成長期의 쥐에 있어서 長期間 投與한 各食餌에 대하여 體內適應調節에¹⁴⁾¹⁹⁾²¹⁾ 의하여 肝臟의 lipogenesis가 어느 정도 감소되는 것으로 생각된다.

脂肪組織은 脂肪의 貯藏과 그 分解에 의하여 體內에서 脂質需給의 重要한 役割을 담당하고 있으며¹⁴⁾²³⁾ 이곳의 脂肪蓄積은 de novo 合成보다는 脂肪攝取에 의한 것으로 믿고 있으며, 한편 Paik 및 Yearick²⁴⁾은 脂肪組織에서의 脂質合成에 대한 調節機轉의 하나로서 lipoprotein lipase (LPL)와 hormone sensitive lipase (HSL)의 活性化와 血清의 脂肪濃度가 상호 有意하게 관련한다고 했다.

本 實驗에서 脂肪組織에서의 acetate-1-¹⁴C의 脂質에의 編入樣相은 副睪丸脂肪組織과 腹部脂肪組織에서 飼育時期別로나 食餌群別로 보아도 비슷하였다. 즉 모든 食餌群에서 食餌投與 4주에 비해 8주에 脂肪組織에서의 acetate의 脂質에의 編入이 현저히 증가하였다가 12주에는 4주 정도로 현저히 감소하였다. 이러한 것은 역시 多量の 脂質을 12주간 長期 投與 함으로써 體內 長期調節에 의한 것으로 생각된다.

食餌群別로 脂肪組織에서의 acetate 編入度를 보면 45%C群 및 45%B群 모두가 대조군에 비해서 抑制되지 않았으며, 이는 Clarke 등⁶⁾이 不飽和脂肪酸이던 飽和脂肪酸이던 脂肪組織의 lipogenesis를 抑制하는 效果가 없다는 보고와 일치하며, 3%F群은 高糖質食餌로 인한 脂肪組織에서의 lipogenesis 上昇效果만 나타났다.

이러한 acetate 編入度를 脂肪組織重量 증가와 관련시켜 보면 副睪丸 및 腹部脂肪組織 重量이 實驗 4주에 비해 8주에 그렇게 높지 않고 12주에 크게 높은 것은 8주 정도에서 脂肪合成과 蓄積이 활발하게 일어나기

시작했기 때문으로 생각된다. 그리고 이러한 경향은 低脂肪食餌를 한 3%F群에서 더욱 현저하게 나타났는데, 이 기간 동안 3%F群에서 肝重量에는 대조군과 별 차이가 없었으나, 脂肪組織 重量이 他群에 비해 급격히 상승한 것은 肝의 lipogenesis의 영향과 아울러 많은 食餌糖質이 生活 에너지로 소모하고 남은 것이 脂肪組織에 脂肪형태로 蓄積된 것으로 간주된다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 본 실험의 食餌投與期間中 8주부터 12주 사이에 脂肪組織의 脂肪合成과 脂肪蓄積이 가장 왕성한 時期라는 것을 알 수 있다.

各 食餌群 사이에서 脂肪組織의 lipogenesis의 차이를 一關性 있게 정리하기는 대단히 어려운 것 같다. 이것은 各 食餌群에서 8週를 頂點으로 하여 lipogenesis가 상승하다가 감소하기 때문이다. 특히 低脂肪食餌를 한 3%F群은 8주째 가장 급격한 상승을 하였고, 45%B群은 이미 4주에 그 合成 및 脂肪蓄積이 현저히 他群에 비해 높았고, 12주에는 오히려 他群에 비해 合成이 감소하는 경향이였다. 이러한 脂肪組織에서의 食餌群間의 차이는 食餌投與 期間에 따라 차이가 있음을 알 수 있다. 그러므로 이때까지의 여러가지 異說이 많은 것은 脂肪組織의 lipogenesis가 어느 특정 時期에 상승하는 경향에 의해 빚어진 결과로 추측된다.

絶食狀態에서 acetate를 投與하면 이것은 곧 脂質로 合成되어서 血流로 많이 流出되어 운반되며 활발히 各組織에 攝取되어서 利用되어진다고 하겠다. 즉 吸收된 acetate는 주로 門脈을 통해서 肝으로 운반되어 그곳에서 脂質로 合成되며 絶食時에는 더욱 血流로 내보내지게 되고²²⁾²⁵⁾, 肝外 組織 특히 脂肪組織 등에서는 lipoprotein lipase의 活性低下가 絶食時에 일어나기 때문에²⁴⁾²⁶⁾ 血清脂質의 消耗가 느리게 됨으로 投與한 acetate-1-¹⁴C이 編入된 脂質의 血中 濃度가 증가되는 것으로 생각된다. 따라서 血清中の 脂質은 食物中の 脂質의 量, 腸管에서의 吸收, 肝臟에서의 合成, 肝臟으로부터의 放出, 脂肪組織에서의 合成, 流入 및 放出 등등 여러가지 因子에 의해 左右된다. 이런 점으로 보아 본 실험에서 측정된 血清中の ¹⁴C이 編入된 脂質은 그 根源이 肝臟과 脂肪組織일 것이다.

本 實驗에서 血清 脂質로의 acetate-1-¹⁴C의 編入은 肝臟脂質로의 編入 樣相과 일치하지 않은 점은 脂肪組織에서도 영향을 미치지 때문일 것으로 생각된다. 그리고 低脂肪食餌群이 高脂肪食餌群보다 食餌投與 8주째에 그 編入率이 현저히 높은 것은 食餌中の 糖質이 脂肪으로의 轉換이 왕성해지기 때문이라 생각되며, 또 低脂肪食餌群이 12주에 와서 그 編入率이 현저히

減少되는 것은 肝臟 및 血清 脂質의 含量이 증가함으로 인하여 肝臟에서 合成이 감소되고 그 流出이 저하됨에 기인할 것이라 생각된다.

Hill 등³⁾은 3日間의 無脂肪食餌群과 15% 옥수수油 食餌群의 肝切片을 사용한 實驗에서 acetate-¹⁴C로부터의 연소와 CO₂와 放出 및 脂肪酸으로의 編入을 調査하였던 바 脂肪食餌가 ¹⁴C의 脂肪酸 編入은 抑制하지만 CO₂의 放出에는 영향을 미치지 못했다고 보고하였다. 또 Favarger²⁷⁾의 보고에 의하면, acetate의 燃燒를 위한 구연산회로는 넓게 개방되어 있어서 처음 3分內에 放出되는 CO₂는 大部分이 바로 구연산 回路를 통한 연소로 나오는 것이라 했다. 또 acetate 注入 후 처음 3分 동안 acetate 연소는 副辜丸 脂肪組織에서보다 肝組織에서 더 왕성하게 일어났다고 한다. 本實驗의 8週 飼育한 쥐에서 acetate-1-¹⁴C 注入 후 처음 5분동안 ¹⁴CO₂ 放出이 高脂肪食餌群에서 높고 低脂肪食에서 다소 낮은 것으로 나타났으며 10分後 放出되는 ¹⁴CO₂ 量은 食餌群間에 有意의인 差異가 없었다.

앞에서 언급한 바와 같이 脂肪組織의 lipogenesis와 acetate-1-¹⁴C로부터 ¹⁴CO₂의 放出과의 關係는 無視될 수 있으며, 高脂肪食餌를 했을 경우 肝臟에서 lipogenesis가 낮은 것과 CO₂ 放出량이 높은 것과는 서로 相關關係가 있는 것 같다. 또 高脂肪食餌를 한 肝組織에서 lipogenesis가 낮고 肝의 總脂質含量이 많기 때문에 注入된 acetate-1-¹⁴C가 脂質로 合成되어 β-酸化를 거쳐 CO₂로 放出되지 않고, 바로 구연산 回路에서 연소되어 CO₂로 放出되기 때문에 acetate 注入後 처음 5分동안 對照群과 低脂肪食餌群에 비해 高脂肪食餌에서 ¹⁴CO₂ 放出량이 많았던 것으로 생각된다. 또 10分 以後부터 食餌群間에 ¹⁴CO₂의 放出량이 食餌中の 脂肪含量과 關係없는 것은 acetate-¹⁴C의 주입에 無關하다는 보고³⁾²⁸⁾와도 一致된다. 이러한 結果는 acetate-1-¹⁴C 注入後 10分以上이 지나고 放出되는 ¹⁴CO₂는 바로 구연산 回路에서 연소된 것과 脂質로 合成되어 β-酸化를 거쳐 放出되는 것이 混合되어 있기 때문인 것으로 사려된다. 앞의 보고⁸⁾에서 이미 서술한 바와 같이 脂質의 이상적인 攝取를 위하여 앞으로 더 구체적이고 과학적인 研究가 必要하겠다.

要 約

植物性高脂肪食餌 (45%-corn oil 食餌 : 45%C群) 및 動物性高脂肪食餌 (45%-butter fat 食餌 : 45%B群) 와

低脂肪食餌 (3%-fat 食餌 : 3%F群)를 自由攝食으로 飼育하면서 4, 8 및 12주에 각각 쥐를 사용하여 acetate-1-¹⁴C를 注入한 후 肝臟, 血清 및 脂肪組織등의 脂質에의 編入도와 注入된 acetate-1-¹⁴C이 呼氣中 ¹⁴CO₂로의 排出등을 측정 한 結果는 다음과 같다.

副辜丸脂肪組織重量은 實驗 4, 8주에 45%C群 및 45%B群이 대조군에 비해 컸으나 12주에 와서는 차이가 없었다. 腹部脂肪組織 重量도 역시 副辜丸脂肪組織과 비슷한 경향이였다.

Acetate-1-¹⁴C의 肝脂質에의 編入도를 보면 45%C群 및 45%B群은 實驗 全期間 동안 대조군 및 3%F群에 비해 현저하게 낮았으며, 그중에서도 45%C群이 더 현저하였다. 그러나 3%F群은 대조군에 비해 높았다. 副辜丸脂肪組織에서의 acetate-1-¹⁴C의 編入도는 實驗 8주에 모든 群이 4, 12주 때보다 현저히 높았고, 또 3群 모두 대조군보다 유의적으로 높았다. 腹部脂肪組織 역시 副辜丸脂肪組織에서의 編入도와 비슷한 경향이였다. Acetate-1-¹⁴C의 血清脂質에의 編入도는 實驗 4, 8주에는 대조군에 비해 45%C群 및 45%B群이 현저히 낮았다.

Acetate-1-¹⁴C의 呼氣中の ¹⁴CO₂로의 排出을 acetate-1-¹⁴C 注入 후 180分 동안 관찰한 結果 各群 共히 5내지 10分 동안 最高值에 달하였으며, 30분 이후 부터는 급속히 감소하였다. 그리고 처음 5分間은 45%C群 및 45%B群이 대조군과 3%F群에 비해 유의적으로 높았다.

REFERENCES

- 1) Clacke, S.D., Romsos, D.R. & Leveille, G.A.: *Specific inhibition of hepatic fatty acid synthesis exerted by dietary linoleate and linolenate in essential fatty acid adequate rats. Lipids 11: 485-490, 1976.*
- 2) Clark, S.D., Romsos, D.R. & Leveille, G.A.: *Time sequence of changes in hepatic fatty acid synthesis in rats meal-fed polyunsaturated fatty acids. J. Nutr. 107:1468-1476, 1977.*
- 3) Hill, R., Linazasoro, J.M., Chevalier, F. & Chalkoff, I.L.: *Regulation of hepatic lipogenesis: The influence of dietary fats. J. Biol. Chem. 233: 305-310, 1958.*
- 4) Carlson, S. & Arnrich, L.: *Influence of dietary*

- lipid and meal pattern on body composition and lipogenesis in adult rats. *J. Nutr.* 108:1162-1169, 1978.
- 5) Clarke, S.D., Romsos, D.R. & Leveille, G.A.: Influence of dietary fatty acids on liver and adipose tissue lipogenesis and on liver metabolites in meal-fed rats. *J. Nutr.* 107:1277-1287, 1977.
- 6) Clarke, S.D., Romsos, D.R. & Leveille, G.A.: Differential effects of dietary methyl esters of long-chain saturated and polyunsaturated fatty acids on rat liver and adipose tissue lipogenesis. *J. Nutr.* 107:1170-1181, 1977.
- 7) Waterman, R.A., Romsos, D.R., Tsai, A.C., Miller, E.R. & Leveille, G.A.: Effects of dietary safflower oil and tallow on growth, plasma lipids and lipogenesis in rats, pigs and chicks. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 150:347-351, 1975.
- 8) 이순재 · 박홍구: 高脂肪食餌가 흰쥐의 간장내에 미치는 영향, 한국영양학회지:17(2): 113-125, 1984.
- 9) Ballard, F.J. & Hanson, R.W.: Changes in lipid synthesis in rat liver during development. *Biochem. J.* 102:952-958, 1967.
- 10) Taylor, C.B., Bailey, E. & Bartley, W.: Changes in hepatic lipogenesis during development of the rat. *Biochem. J.* 105:717-719, 1967.
- 11) Bahl, S. & Veinkitasubramanian, T.A.: Mechanism of lipid accumulation in rats fed wheat diets. *J. Nutr.* 107:1385-1393, 1977.
- 12) Mitchell, H.S., Rynbergen, H.J., Anderson, L. & Dibble, M.V.: *Nutrition in health and disease*. sixteenth ed. New York, Lippincott Co. chapter 3, 29, 32, 1976.
- 13) Folch, J., Lee, M. & Solane Stanley, G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-500, 1957.
- 14) Bloch, K. & Vance, D.: Control mechanisms in the synthesis of saturated fatty acids. *Ann. Rev. Biochem.* 46:263-278, 1977.
- 15) Allmann, D.W. & Gibson, D.M.: Fatty acid synthesis during early linoleic acid deficiency in the mouse. *J. Lipid Res.* 6:51-62, 1965.
- 16) Bartley, W., Dean, B., Taylor, C.B. & Bailey, E.: The effect of some enzymes of rat tissue of diets low in fat content. *Biochem. J.* 103:550-555, 1967.
- 17) Gozukara, E.M., Frolich, M. & Holten, D.: The effect of unsaturated fatty acids on the rat of synthesis of rat liver glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta.*, 286:155-163, 1972.
- 18) Carroza, G., Livrea, G. Caponetti, R. & Manasseri, L.: Response of rat hepatic fatty acid synthesis and activities of related enzymes to changes in level of dietary fat. *J. Nutr.* 109:162-170, 1979.
- 19) Toussant, M.J., Wilson, M.D. & Clarke, S.D.: Coordinate suppression of liver acetyl-coA carboxylase and fatty acid synthetase by polyunsaturated fat. *J. Nutr.*, 111:146-153, 1981.
- 20) Iritani, N., Fukuda, E. & Inoguchi, K.: Reduction of lipogenic enzyme by shelfish triglycerides in rat liver. *J. Nutr.* 110:1664-1670, 1980.
- 21) Flick, P.K., Chen, J. & Vagelos, P.R.: Effect of dietary linoleate on synthesis and degradation of fatty acid synthetase from rat liver. *J. Biol. Chem.* 252:4242-4249, 1977.
- 22) Bruckdofer, K.R., Khan, I.H. & Yudkin, J.: Fatty acid synthetase activity in the liver and adipose tissue of rats fed with various carbohydrates. *Biochem. J.* 129:439-446, 1972.
- 23) Call, D.L. & Sanchez, A.M.: Trends in fat disappearance in the United States. 1960-65. *J. Nutr.* 93:1-28, 1967.
- 24) Paik, H.S. & Yearick, E.S.: The influence of dietary fat and meal frequency on lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in rat adipose tissue. *J. Nutr.* 108:1978-1805, 1978.
- 25) Harper, H.A., Rodwell, V.W. & Mayes, R.A.: *Metabolism of lipid: Review of Physiological chemistry* 17th. pp. 321-384, Lange Medical

Publication, California, 1979.

- 26) DeGasquet, P. & Pequignot, E.: *Lipoprotein lipase activities in adipose tissue, heart, and diaphragm of the genetically obese mouse. Biochem. J.* 127:445-447, 1972.
- 27) Favarger, P.Y. & Favarger, P.: *Production of CO₂ in the living mouse immediately after injection of 1-or 2-¹⁴C-acetate. Biochemie,* 57: 623-628, 1975.
- 28) Brice, E.G. & Okey, R.: *The effect of fat intake on incorporation of acetate-2-C¹⁴ into liver lipid and expired carbon dioxide. J. Biol. Chem.* 218:107-114, 1956.