

## 高脂肪食餌에 따른 흰쥐의 肝臟內 脂質含量變化와 病理組織學的 所見

李 淳 宰・朴 洪 球\*

효성여자대학교 가정학과

\* 세종대학 식품공학과

### Changes of Lipid Content and Histochemical Observation in Liver 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). The weights of liver, content of triacylglycerol (TG), total cholesterol and phospholipid (PL) in liver were investigated.

The weight of liver of rats, fed 45% corn oil at 12 weeks and fed 45% butter fat for all period of diet were higher than that of control group. The contents of TG in liver of rats, fed 45% corn oil from 8 weeks and fed 45% butter fat for all period of diet were higher than that of control group. The levels of TG in liver of rats fed 45% butter fat were higher than those of rats fed 45% corn oil. The contents of total lipid and cholesterol in liver of rats were increased with similar trend of TG level, but contents of PL in liver had no relation with the levels and types of dietary fat and feeding periods.

The liver of rats were observed histochemically by light microscope. Mild to severe level of fatty changes in liver of 45% C and 45% B group were observed at 8 and 12

weeks of diet. The liver of rats in control group appeared to be healthy and normal electron-microscopically, but in fatty degenerated hepatocytes of 45% C and 45% B group, nuclear membranes were irregular and a great number of intracytoplasmic fat vacuoles in cells were variable in size and low in electron density. The numbers of lysosome were increased and secondary lysosomes among them were observed on electron microscope.

## 緒 論

지방質은 必須脂肪酸을 提供할 뿐만 아니라 高에너지源으로써 또한 效率의인 에너지 貯藏源으로써 動物이 生存하는데 必須의으로 攝取해야 하는 重要한 物質이다. 특히 乳兒期나 小兒期에 脂肪을 不足하게 攝取했을 때는 成長障害가 惹起되어 短軀으로서 고정되며<sup>12)</sup> 또한 腦細胞 機能障害를 일으키기도 한다. 腦細胞의 機能障害가 일어나면 知能低下가 나타나는 結果를 가져오기도 하나<sup>34,5)</sup>, 이에 못지 않게 脂肪의 過多 攝取時도 여러가지 症狀이 나타나므로 近年에 이르러 이에 對한 關心을 더욱 기울이게 되었다<sup>6,7)</sup>. 卽 脂肪의 과잉섭취는 一般的으로 脂質代謝에 異常을 招來하여 血液과 組織에서의 脂質成分에 變化가 일어나게 하고 肝 등 臟器組織에 脂肪沈着을 일으켜서 肥滿症과 高血壓, 高脂血症, 動脈硬化症, 脂肪肝, 心臟疾患 등 心脈管系의 질환을 유발케 하며<sup>7)-13)</sup>, 이로 인한 死亡率도 脂質 攝取가 많은 歐美에서 東洋보다 훨씬 높다고 한다<sup>13)(14)(15)</sup>.

따라서 高低脂肪食을 攝取할 경우에 올 수 있는 代謝 異常과 이에 隨伴되는 症狀들을 時急히 究明해야 하며, 또한 動物性, 植物性脂肪 供給源의 차이에 따른 영향도 充分히 檢討되어야 할 것이다. 最近 食餌中の 脂肪含量이 生體에 미치는 影響에 關해서 적지 않은 報告가 나와 있으며<sup>16)-22)</sup>, 특히 離乳期이후의 成長過程에서 食餌脂肪이 脂質代謝에 미치는 영향을 短期間 관찰한 報文은 많이 있다<sup>23)-26)</sup>. 그러나 高低脂肪食餌가 脂質代謝에 미치는 영향에 대해 12주의 長期間동안 시기별로 조사한 것은 볼 수 없다. 그러므로 本實驗에서는 脂肪의 量과 種類를 달리한 脂肪食餌를 離乳期의 쥐를 대상으로 하여 長期間 自由攝取시키면서 4, 8 및 12주에 각각 쥐를 희생하여 肝臟의 重量變動, 肝臟의 脂質變動을 관찰함과 아울러 肝臟의 病理組織學的 變化를 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, 生後 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 후에 體重이 60~65g 되는 것을 無作為로 120마리 선정하여 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 一定한 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, 每週 같은요일 같은시간에 2회 體重을 秤量하고, 實驗食餌 投與後 4週, 8週 및 12週에 각 食餌群마다 10마리씩 쥐를 犧牲시켜 各種 實驗을 實施하였다.

食餌組成은 全熱量에 대한 脂肪으로 부터 얻는 熱量의 比率에 따라 對照群(12%-fat, 이하 C群이라 약함) 低脂肪食餌群(3%-fat, 이하 3F群이라 약함), 植物性高脂肪食餌群(45%-Corn oil, 이하 45% C群이라 약함), 動物性高脂肪食餌群(45%-butter fat, 이하 45% B群이라 약함)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)비가 1.2:1이 되도록 corn oil과 butter fat를 混合하였다(Corn oil과 butter fat의 P:S比는 각각 5.3:1, 0.05:1)<sup>14)</sup>. 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 Table 1과 같다.

2) 肝臟中 各種脂質 定量: 6시간 絶食시킨 쥐를 犧牲시켜 摘出した 肝臟을 무게를 측정 한 후 glass homogenizer를 사용하여 0.15M 食鹽水로서 10%(W/V) 마쇄액을 만든 후 마쇄액을 chloroform-methanol(2:1) 混合液으로써 脂質을 抽出하는 Folch法<sup>27)</sup>에 의해 脂質을 抽出하고 이 抽出液을 사용하여 各種脂質을 定量하였다.

Triacylglycerol(以下 TG라 略함)의 定量에는 上記 chloroform-methanol 추출액 0.5 ml를 hot plate로 溫度 85°C 이하에서 건조시킨후 이것을 glycerokinase 및 glycerol-3-phosphate oxidase를 觸媒로 하여 4-ami-

Table 1. Composition of experimental diets (g/1,000 g diet)

	Dietary fat level/energy			
	Control	3%-Fat	45%-Corn oil	45%-Butter fat
Corn oil <sup>1)</sup>	40	11	220	—
Butter fat <sup>2)</sup>	12	3	—	220
Corn starch <sup>3)</sup>	678	763	410	410
Casein <sup>4)</sup>	175	175	198	198
Salt mix. <sup>5)</sup>	40	40	40	40
Vitamin mix. <sup>6)</sup>	5	5	5	5
ℓ-Threonine <sup>7)</sup>	1.5	1.5	1.5	1.5
dl-Methionine <sup>7)</sup>	1.5	1.5	1.5	1.5
Cellulose <sup>8)</sup>	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, 30 mesh, Newzealand.

5) Salt mixture: per 1kg of diet: CaCO<sub>3</sub>, 30.0g; CaHPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 7.5g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 32.2g; NaCl, 16.7g; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 10.2g; ferric citrate, 2.75g; MnSO<sub>4</sub>, 0.51g; KI, 70mg; CuCl<sub>2</sub> · 5H<sub>2</sub>O, 35mg; ZnCl<sub>2</sub>, 25mg; CoCl<sub>2</sub> · 5H<sub>2</sub>O, 5mg; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O, 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 B<sub>12</sub>(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-aminobenzoic acid, 0.1g

7) Wako pure chemicals Co.

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

no-antipyrine과 cholrophenol을 縮合시켜서 생기는 quinone 化合物의 赤色을 505nm에서 흡광도를 측정하여 定量하는 榮研社(日本, 東京)의 kit 試藥인 Triglyzime-GP<sup>28)</sup>를 사용하였다.

總 cholesterol 定量은 上記 chloroform-methanol 추출액 2ml를 건조한 후 Zak 등의 法<sup>29)</sup>에 의해 定量하였다.

磷脂質의 定量은 上記 chloroform-methanol 추출액 0.5ml에 過鹽素酸을 加하여 濕性攪化시켜 遊離되어 나오는 磷을 Fiske-SubbaRow法<sup>30)</sup>으로써 比色하는 Naito法을 應用한 榮研社의 kit 試藥을 使用하였다.

3) 肝組織에 대한 顯微鏡의 檢索: 肝組織에 대한 光學顯微鏡의 檢索을 하기 위하여 각 實驗動物을 6시

간 절식시킨 후 犧牲시켜 간장을 적출하여 適當한 크기의 肝切片을 10% 中性 formalin液에 10시간 固定하고 80% 및 95% ethanol에 各各 2時間 通過시켜서 脫水하고 chloroform으로 3時間 處理한 후 paraffin 包埋를 하였다. 이것을 6μm 두께로 薄切하여 그切片을 hematoxylin-eosin 染色<sup>31)</sup>을 하는 한편 肝細胞의 脂肪顆粒의 觀察을 위해서는 肝組織을 10μm 두께로 冷凍薄切하여 0.5% oil red-O ethanol 液에 10분간 담근 뒤에 세척하고 hematoxylin, 0.3% 鹽酸, ethanol 및 암모니아水の 順으로 담구어서 oil red-O 染色<sup>32)</sup>을 하였다.

電子顯微鏡의 檢索을 위하여는 肝을 摘出하는 卽時 1mm<sup>3</sup>로 잘라서 0~4℃의 2.5% glutaraldehyde in 0.1

M phosphate buffer (pH 7.4) 溶液에 2時間 넣어 前 固定하고 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) 液으로써 40分間 3回 씻은 뒤에 0~4℃의 1% osmium tetroxide 용액에 2時間 後固定하여 다시 0.1M phosphate buffer 液으로써 5分間 3回 씻은 다음 系列 ethanol 즉 50%, 70%, 80%液에 各各 20分씩, 95% ethanol液에 30分, 그리고 無水 ethanol에 60分씩 通過시켜서 脫水 하였다. 이것을 propylene oxide에 10分間씩 3回 反復하여 浸入시키고 Luft法<sup>33)</sup>에 의해서 epon 混合物로써 重合, 包埋하여 gelatin capsule에 넣어서 35℃에서 12時間, 60℃에서 48시간 加溫하여 硬化시켰다. 硬化된 組織은 ultramicrotome으로써 1μm 두께로 薄切(semi-thin section)하여 methylene blue로써 單染色하여 光學顯微鏡으로써 觀察部位를 確認한 後에 Porter-Blum MT-2B 超薄切器로써 400~600Å로 薄切하고 그 切片을 Reynolds 方法<sup>34)</sup>에 따라 lead nitrate와 uranyl acetate로써 二重電子染色을 하여 Hitachi HU-11C 電子顯微鏡으로써 觀察하였다.

結 果

1) 體重 및 肝重量 變動

實驗 12週 동안 흰쥐의 週別 體重增加率 (觀察時의 體重, W/實驗初의 體重, W<sub>0</sub>)은 Fig. 1과 같다. 卽 實驗 初 體重의 3倍가 되는 5週째까지는 各群 모두저의 直線의인 體重增加를 보였다. 그러나 이들 群間에는 別 다른 差異는 없었으나 45%B群에서는 증가속도가 他 群에 比해서 약간 낮은 경향이 있었다. 그리고 실험 12 週間을 통해서 對照群의 成長이 가장 良好한 편이었으며 다음은 3% F群 즉 低脂肪食餌群이었고 高脂肪食인 45%B群의 成長이 다소 低調한 편이었다.

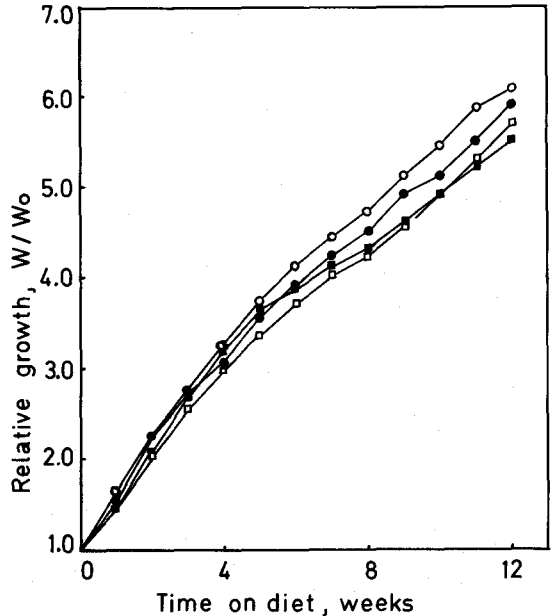


Fig. 1. Relative variations in the body weights of rats fed control(12%-fat, O-O), 3%-fat (●-●), 45%-corn oil (□-□), and 45%-butter fat diet (■-■). W/W<sub>0</sub>, ratio of the body weight (W) to the initial body weight (W<sub>0</sub>).

食餌造成에 따른 肝重量變化를 實驗 4, 8 및 12週에 걸쳐 觀察한 結果는 Table 2와 같다.

食餌群別 肝重量에 대한 영향을 보면 實驗 4週에는 對照群과 3%F群, 45%C群에 서로 別差異를 보이지 않았으나 45%B群은 他群에 比해 높았다 (p < 0.01).

또 實驗 8週에는 對照群과 3%F群의 肝重量增加는 비슷하였으나 45%C群과 45%B群은 高脂肪食으로 인한 肝의 重量增加 현상이 현저하였다 (p < 0.05). 實驗

Table 2. Weights of 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
Organs				
Weeks				
0	3.19 ± 0.20 <sup>a,1</sup>	3.19 ± 0.20 <sup>a,1</sup>	3.19 ± 0.20 <sup>a,1</sup>	3.19 ± 0.20 <sup>a,1</sup>
4	6.70 ± 0.37 <sup>a,2</sup>	6.80 ± 0.40 <sup>a,2</sup>	7.03 ± 0.21 <sup>a,2</sup>	7.90 ± 0.28 <sup>b,2</sup>
8	8.03 ± 0.18 <sup>a,3</sup>	8.09 ± 0.32 <sup>a,3</sup>	8.81 ± 0.24 <sup>b,3</sup>	9.13 ± 0.23 <sup>b,3</sup>
12	10.00 ± 0.31 <sup>a,4</sup>	10.20 ± 0.31 <sup>a,4</sup>	11.07 ± 0.35 <sup>b,4</sup>	11.30 ± 0.33 <sup>b,4</sup>

\* 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).

12주에도 역시 8주 때와 같은 경향이였다.

12週間 飼育한 쥐의 體重에 대한 肝重量의 比도 이  
와 같은 경향으로 對照群에 비해 3%F群의 것은 別差  
가 없으나 45%(群과 45%B群의 比率는 컸다. 즉 兩高  
脂肪食餌殖은 他群에 비해 肝臟이 肥大되었다는 事實  
을 알 수 있다 (Table 3).

2) 肝臟內 各種 脂質含量 變動

高低脂肪食餌의 長期投與가 肝脂質 成分에 어떠한 영  
향을 미치는가를 調査하기 위하여 實驗食餌를 投與한  
후 4, 8 및 12週에 各 食餌群의 肝臟內 總脂質, TG, 總  
cholesterol 및 磷脂質의 含量을 調査해 본 結果는 Table  
4와 같다.

Table 3. Effect of diet fat on the weights of body and liver of rats fed for 12 weeks

Group	Control	3%-Fat	45%-Corn oil	45%-Butter fat
Initial body wt. (g)	60.7	61.5	62.7	63.8
Final body wt. (g)	373.0	361.5	359.1	353.5
Weight gain (g)	321.3	300.0	296.4	289.7
Liver/body wt. (%)	2.68	2.82	3.06	3.20

Table 4. Lipid composition in liver of rats fed by different levels and types of fat for 4, 8 and 12 weeks

Group	Control	3%-Fat	45%-Corn oil	45%-Butter fat
Weeks		Total lipid (mg/g of liver wet wt.)		69 ± 5.5 <sup>a1</sup>
0	69 ± 5.6 <sup>a,1</sup> *	69 ± 5.6 <sup>a,1</sup> **	69 ± 5.6 <sup>a,1</sup> ***	121 ± 8.3 <sup>b,2</sup>
4	76 ± 4.0 <sup>a,1</sup>	72 ± 3.3 <sup>a,1</sup>	82 ± 4.5 <sup>a,1</sup>	132 ± 5.6 <sup>c,2</sup>
8	73 ± 4.0 <sup>a,1</sup>	75 ± 3.4 <sup>a,1</sup>	102 ± 5.4 <sup>b,2</sup>	130 ± 4.3 <sup>c,2</sup>
12	82 ± 4.8 <sup>a,1</sup>	92 ± 4.5 <sup>a,2</sup>	114 ± 3.0 <sup>b,2</sup>	
		TG (mg/g of liver wet wt.)		
0	29.87 ± 5.30 <sup>a,1</sup>	29.87 ± 5.30 <sup>a,1</sup>	29.87 ± 5.30 <sup>a,1</sup>	29.87 ± 5.30 <sup>a,1</sup>
4	32.98 ± 2.26 <sup>a,1</sup>	35.52 ± 2.21 <sup>a,1</sup>	36.11 ± 1.95 <sup>a,1</sup>	43.03 ± 2.78 <sup>b,2</sup>
8	34.38 ± 2.38 <sup>a,1</sup>	37.61 ± 2.90 <sup>a,1</sup>	46.83 ± 2.95 <sup>b,2</sup>	58.08 ± 3.10 <sup>c,3</sup>
12	36.30 ± 3.25 <sup>a,1</sup>	40.87 ± 3.08 <sup>a,b,1</sup>	42.01 ± 1.60 <sup>b,2</sup>	50.32 ± 1.80 <sup>c,3</sup>
		Total cholesterol (mg/g of liver wet wt.)		
0	6.33 ± 0.69 <sup>a,1</sup>	6.33 ± 0.69 <sup>a,1</sup>	6.33 ± 0.69 <sup>a,1</sup>	6.33 ± 0.69 <sup>a,1</sup>
4	7.42 ± 0.55 <sup>a,1</sup>	7.52 ± 0.55 <sup>a,1</sup>	8.01 ± 0.53 <sup>a,1</sup>	10.31 ± 0.83 <sup>b,2</sup>
8	6.79 ± 0.38 <sup>a,1</sup>	7.66 ± 0.53 <sup>a,1</sup>	12.30 ± 0.74 <sup>b,2</sup>	15.01 ± 0.73 <sup>c,3</sup>
12	7.07 ± 0.54 <sup>a,1</sup>	7.43 ± 0.50 <sup>a,1</sup>	11.32 ± 0.80 <sup>b,2</sup>	14.70 ± 0.45 <sup>c,3</sup>
		PL (mg/g of liver wet wt.)		
0	19.41 ± 0.92 <sup>a,1</sup>	19.41 ± 0.92 <sup>a,1</sup>	19.41 ± 0.92 <sup>a,1</sup>	19.41 ± 0.92 <sup>a,1</sup>
4	18.69 ± 0.60 <sup>a,1</sup>	18.01 ± 0.69 <sup>a,1</sup>	19.57 ± 1.35 <sup>a,1</sup>	20.21 ± 1.20 <sup>a,1</sup>
8	18.88 ± 0.87 <sup>a,1</sup>	18.37 ± 0.83 <sup>a,1</sup>	20.86 ± 1.38 <sup>a,1</sup>	20.84 ± 1.40 <sup>a,1</sup>
12	18.52 ± 0.96 <sup>a,1</sup>	19.07 ± 0.88 <sup>a,1</sup>	20.20 ± 0.98 <sup>a,1</sup>	18.04 ± 0.76 <sup>a,1</sup>

\* 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).

즉 TG 含量變化를 보면 對照群에서는 成長過程에서 뚜렷한 變動이 없었고, 3% F群 역시 대조군과 별 차이가 없었는데 비하여 45% C群은 4週째는 對照群에 비해 差異가 없었으나 8週와 12週에 각각 36%, 16%씩 높았으며( $p < 0.01$ ), 45% B群은 45% C群보다는 빨리, 즉 4週부터 높아져서 4週에는 30%, 8週에는 69%, 12週에는 39%로 增加되었다. 이는 옥수수油食餌보다는 버터脂肪食餌投與가 TG 蓄積을 助長시킬을 알 수 있다.

그리고 總 cholesterol의 含量 變動도 TG와 類似하였다. 卽 對照群의 値가 0, 4, 8, 12週에서 각각 6.33, 7.42, 6.79 및 7.07 mg/g, 또 3% F群은 6.33, 7.52, 7.66 및 7.43으로써 두群 모두가 별로 變動이 없었는데 비해서 45% C群은 6.33, 8.01, 12.30 및 11.32 mg/g으로써 4週에는 對照群에 비해 약간 높았으나 유의적 차이는 아니었고, 8週 및 12週에는 각각 81%, 60%씩 높았다( $p < 0.001$ ). 그리고 45% B群에서의 그 값은 6.33, 10.31, 15.01 및 14.70 mg/g으로써 對照群에 비하여 4, 8, 12週에서 각각 39%, 121%, 108%씩 4週째부터 현저하게 增加되어 8週째에 가장 높았다. 또한 同같은 高脂肪食餌인 45% C群과 45% B群을 比較해 보면 45% B群이 45% C群보다 各時期에서 더 有意的으로 높았다( $p <$

0.05). 그러나 이들 脂質과는 달리 磷脂質의 含量은 飼育期間에 따라 變動이 없었으며, 또한 他食餌群間에도 對照群과 유의적인 차이가 없었다.

그리고 肝의 總脂質 含量을 보면 對照群은 0, 4, 8週에 비해 12週에 다소 增加했으나 유의적인 차이가 없었고, 3% F群은 對照群과 比較하면 차이가 없으나, 飼育期間別로 보면 4, 8週 때보다 12週 尤의적으로 增加했다( $p < 0.05$ ). 45% C群은 4週째는 대조군과 차이가 없었으나, 8週째부터 12週째까지 현저히 增加하여 대조군보다 많았다( $p < 0.001$ ). 45% B群은 飼育全期間을 통하여 다른群들에 비해 肝의 總脂質 含量이 많으며 飼育期間別 尤의적 차이는 없었다.

### 3) 肝臟의 病理組織學的 所見

高低脂肪食餌가 肝臟組織에 어떠한 變化를 招來하는가를 觀察하기 위하여 實驗食餌로써 飼育하여 4週, 8週 및 12週에 各食餌群의 肝臟에 대한 肉眼的 所見과 光學顯微鏡 및 電子顯微鏡으로써 그 組織像을 調査하여 보았다.

肝에 對한 肉眼的인 所見은 對照群의 肝은 全飼育期間을 통하여 赤褐色이며 그 表面은 平滑하고 水分에 의한 潤氣를 나타내며 탄력성이 있었다. 3% F群의 肝도 對照群의 것과 같았다. 그러나 高脂肪食餌群의 肝中の 일부는 8週 때부터 多少 黃褐色을 띄며 그 表面은 油

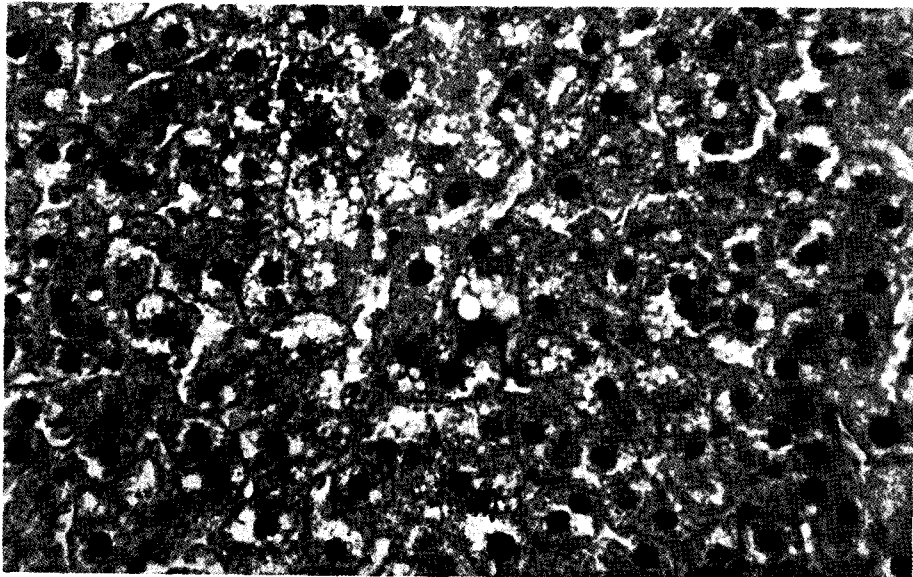


Fig. 2. Hepatocytes of rat, fed 45%-butter fat diet for 12 weeks. The hepatocytes contain numerous intracytoplasmic fat vacuoles and show bubbly appearance. Hematoxylin-eosin stain. Bar marker, 5  $\mu$ m.

脂가 滿出되어 나오는 듯 기름끼에 덮혀 있었다. 그리고 肝臟의 크기가 약간 증대되었으며, 탄력성이 적어지고 그 緣邊線이 多少 鈍化되었다.

肝臟을 光學顯微鏡으로 觀察한 결과 對照群에서는 4, 8 및 12週에서 中心靜脈 및 洞樣血管에 輕한 充血이 있었을 뿐 小葉의 構造的 변화나 肝細胞의 이상은 없었다. 3%F群에서는 4주 및 8주까지는 對照群의 所見과 일치되었으며 12주째에는 대부분 아무런 변화가 없었으나 일부 輕한 脂肪變性이 觀察되었다. 45%C群에서는 實驗 4주째는 아무런 변화가 없었으나 8주째는 가벼운 정도에서 中程度의 脂肪變性이 있었고 12주에는 심한 程度까지 나타났다. 그러나 脂肪變性의 經時的인 정도는 일정한 상관관계를 보이지 않았다. 45%B群은 4주째에 輕한 정도의 脂肪變性이 일부 肝細胞에서 일어나 있었으며, 8주에는 輕한 程度에서 심한 程度의 脂肪變性이 일어나 있었고 12주째에도 지속되었다. 그러나 脂肪變性의 程度에 대한 經時的인 관계는 일정하지 않았다 (Fig. 2).

이상의 소견을 요약하면 Table 5와 같다.

肝臟의 電子顯微鏡的 觀察에서는 對照群에서는 둥근核이 細胞의 中央에 위치해 있고, 細胞質내에는 원형 혹은 난원형의 mitochondria가 고르게 분포해 있으며, mitochondria 가까이 層狀의 rough-surfaced endoplasmic reticulum(RER)이 잘 발달해 있었다. 糖源顆粒과 小胞狀의 smooth-surfaced endoplasmic reticulum(SER)이 細胞質 전반에 걸쳐 고르게 분포되어 있었으며 간혹 lysosome이 발견되었다. 그리고 Golgi장치는 核가까이에 잘 나타나 있으나 脂肪空胞는 발견되지 않았다(Fig. 3). 45%C群 및 45%B群에서 肝의 脂肪變性이 일어난 個體에 있어서 그 정도의 차이는 있으나 변화가 일어난 細胞小器官들은 대체로 동일하므로 같이 기술하기로 한다. 脂肪變性이 일어난 肝細胞에서는 核膜이 不規則하며 細胞質내에 크기가 다르고, 電子密度가 낮은 脂肪空胞가 다수 분포해 있었다. 그리고 lysosome의 수가 증가되어 있었으며, 이들 중에는 secondary lysosome로 觀察되었다. 그외의 細胞小器官들 즉 mitochondria, RER, Golgi 장치, SER과 糖源顆粒 등의 構造的 및 量的變化는 볼 수 없었다(Fig. 4,5).

Table 5. Fatty changes of rat liver induced by feeding different levels and types of fat for 4, 8 and 12 weeks

Groups	Weeks	Control			3%-Fat			45%-Corn oil			45%-Butter fat		
		4	8	12	4	8	12	4	8	12	4	8	12
Rat No.	1	N	N	+	N	N	+	N	+	N	N	+	+
	2	N	N	N	N	N	N	N	+	+	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	+	N	+	+	N	+	+
	4	N	N	N	N	N	N	N	N	N	+	N	+
	5	N	N	N	N	N	N	N	+	N	N	+	N
	6	N	N	N	N	N	N	N	N	+	N	+	N
	7	N	N	N	N	N	N	N	N	N	+	N	+
	8	N	N	N	N	N	N	N	N	+	N	N	+
	9	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	+	N
	10	N	-	N	-	N	N	N	N	N	N	+	N

\* Fatty changes in rat liver were observed histologically.

Remark : N, Normal ; +, mild degree ; +, moderate degree ; #, Severe degree.

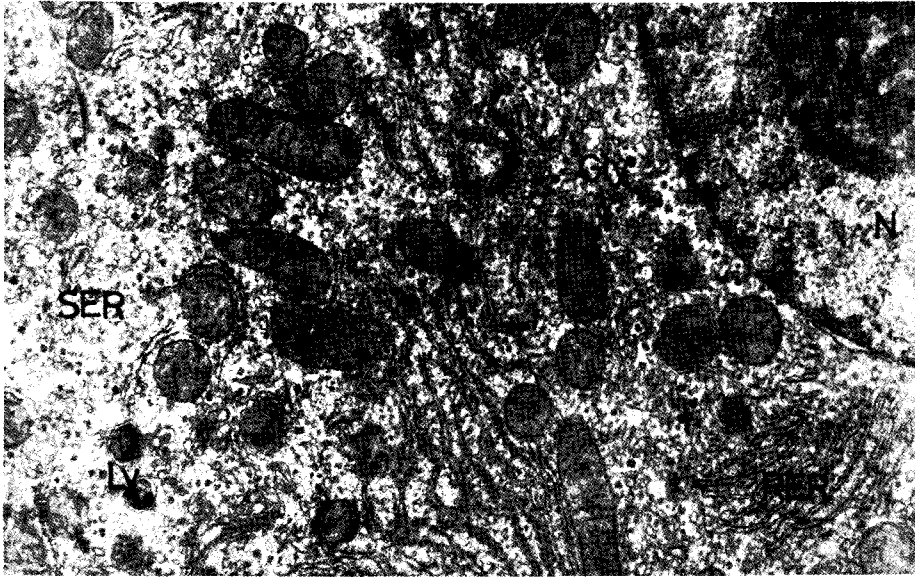


Fig. 3. Hepatocytes of rat, fed control diet for 12 weeks. The nucleus(N) contains a prominent nucleolus(Nu). Round or elongated mitochondria(M) are well demonstrated. Rough surfaced endoplasmic reticulums(RER) show lamellar pattern. Small vesicular smoothsurfaced endoplasmic reticulums(RER) and glycogen particles(GLY) are widely scattered. Also noted are primary lysosomes(LY). Bar marker, 0.1  $\mu$ m.

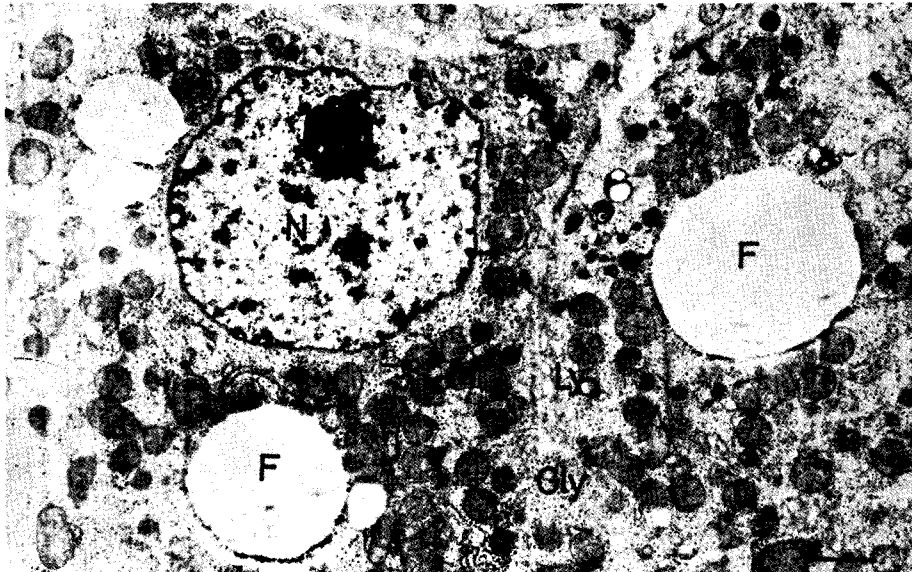


Fig. 4. Hepatocytes of rat, fed 45%-corn oil diet for 12 weeks. Large electrolucent fat droplets(F) are seen in the cytoplasm. Glycogen particles(GLY) and mitochondria(M) are not altered. Primary and secondary lysosomes(LY) are scattered. Bar marker, 0.15  $\mu$ m.



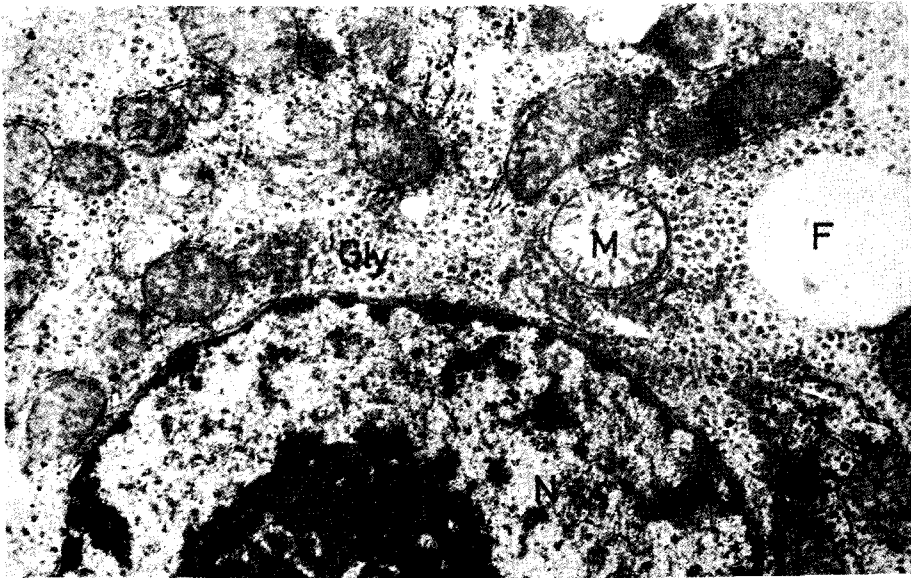


Fig. 5. Hepatocytes of rat, fed 45%--butter fat diet for 12 weeks. The fat droplets (F) are scattered. The glycogen particles (GLY) are slightly increased in amount. Mitochondria (M) and nucleus (N) are relatively intact. Bar marker, 0.1 $\mu$ m.

### 考 察

食餌內의 脂肪의 種類 및 含量이 飼育期間에 따라 肝臟內에 어떠한 영향을 미치는가를 調査하기 위한 試圖로써, 특히 動物性高脂肪食餌나 植物性高脂肪食餌의 長期投與가 離乳期 이후의 成熟過程에 어떠한 영향을 미치는가를 보기 위하여 本實驗을 行하였다.

本實驗에서 12주간 體重의 變動을 관찰했을 때 高脂肪食餌群 및 低脂肪食餌群이 다같이 큰 差異없이 높은 증가율을 보였으나 6주부터는 그 증가율이 다소 저조하였다. 45%의 高脂肪食餌와 5% 脂肪食餌를 投與하여 12주간 체중변동을 관찰한 金<sup>20)</sup>의 보고도 역시 本實驗結果와 비슷하였으며, 특히 全實驗群이 實驗食餌投與 後 7주부터 그 成長度가 低調하였다고 한다.

이러한 結果로 보아 高脂肪 및 低脂肪食餌를 投與했을 때 成長速度가 正常食餌群과 큰 차이를 나타내지 않았으며, 또 成長過程중에서 生後 8週까지는 하루 5.5g 씩 體重이 증가하나 그 이후 부터는 하루 3g씩 成長한다는 報告<sup>36)</sup>와 本實驗에서의 結果로 볼 때 食餌內容에 관계없이 成長初期인 生後 8내지 9週까지는 그 成長速度가 대체로 빠르며 이후 다소 떨어지는 경향임을 알 수 있다.

本實驗에서 肝重量이 증가된 食餌群은 高脂肪食餌群으로 특히 45%B群은 4주째부터, 그리고 45%C群은 8주째부터 대조군과 3%F群보다 현저한 증가를 보았다. 이는 이 時期부터 肝의 總脂質量과 TG 含量이 증가되고 또한 脂肪肝이 형성되는 점과 일치되고 있다. 또한 動物性高脂肪食餌群이 植物性高脂肪食餌群보다 그 증가의 時期가 빠른 것은 肝의 脂肪蓄積과 關係가 깊은 것으로 생각되며, Chen<sup>35)</sup>, Suzuki 等<sup>37) 38)</sup>도 2週間 高脂肪食餌와 高炭水化物食餌를 投與했을 때 高脂肪食餌群이 肝重量이 높았다고 하였으며 이는 總脂質含量 증가가 그 원인이라 하였다. 本實驗에서 高脂肪食餌를 投與했을 경우 肝의 總脂質 및 TG 含量과 함께 肝重量이 빨리 증가하는 것은 역시 이들의 보고와 일치한다.

또한 本實驗에서 高脂肪食餌를 投與했을 때 肝臟의 TG 含量이 總脂質含量의 증가와 같은 時期에 증가되는 것은 食餌脂肪으로부터 體內에 흡수된 TG 량이 증가되어 肝臟에 多量 蓄積됨에 기인한 것이라 생각된다. 또 本實驗에서 같은 량이지만 動物性高脂肪食餌를 投與한 45%B群이 植物性高脂肪食餌를 投與한 45%C群보다 빨리 肝臟의 TG와 總脂質量이 증가되는 것은 食餌中 不飽和脂肪酸를 多量 添加했을 때보다 飽和脂肪酸를 多量 添加했을 때 肝臟의 TG 및 總脂質含量이 더욱

증가된다는 보고<sup>15)39)40)</sup>와 일치한다.

本實驗에서 肝臟 總 cholesterol 含量은 高脂肪食 群이 모두 높았고 그 중에서도 動物性高脂肪食群이 더 현저하였다. 이러한 결과는 動物性脂肪은 주로 cholesterol 및 飽和脂肪酸의 含量過多로 인해 血清 및 肝臟 中の cholesterol 含量을 증가시킨다는 사실을 이미 보고<sup>14)15)17)41)</sup>한 바 있으며, 45% C群이 45% B群과 같은 에너지량의 高脂肪食이지만 45% B群에 비해 肝의 cholesterol 含量이 多量의 必須脂肪酸이 HDL (high density lipoprotein)의 구성원으로써 小腸으로의 cholesterol 排泄를 자극하고 cholesterol이 膽汁酸으로 酸化되는 것을 자극하기 때문이라고 하겠다<sup>21)40)42)</sup>. 그러나 45% C群을 대조군과 비교했을 때 실험 4주에는 차이가 없었으나 실험 8주부터 12주에는 대조군에 비해 높았다. 이것은 Poling<sup>43)</sup>, 李等<sup>39)</sup>의 報告에서 PUFA 라도 過量 攝取時는 毒性을 가져올 수 있다는 事實과 Kinsell 等<sup>44)</sup>에서 必須脂肪酸이라도 過剩을 攝取하면 cholesterol을 過剩 生産하게 되고 나아가서 體內 脂肪蓄積도 가져올 수 있다는 報告 등으로 미루어 보아 植物油 일지라도 多量을 長期間 投與한다면 體內 cholesterol 蓄積이 올 수 있음을 알 수 있다.

本實驗에서의 肝臟의 PL은 食餌群別이나 飼育期間別로 別차이를 나타내지 않았는데 이는 Chen<sup>36)</sup>의 보고와 일치되고 있다. 그러나 Suzuki 등<sup>37)38)</sup>의 報告에 의하면 高脂肪食餌를 2주간 投與했을 때 肝臟의 PL이 증가되었다고 하였으며 그 원인은 밝히지 못하였다. 그리고 이 결과는 本實驗에서 관찰한 期間보다 짧았다는 점에서 차이가 있지 않나 생각된다. 磷脂質은 脂質運搬에 크게 관여하는 脂質으로써 이의 合成 또는 供給장애가 있을 때 脂肪肝등의 원인이 되는 것으로 알려져 있다<sup>22)41)</sup>. 本實驗에서 動物性高脂肪食餌를 投與했을 때 비교적 일찍이 脂肪肝이 형성되기 시작했는데 이는 肝臟에서 脂肪이 蓄積되는 速度보다 磷脂質의 合成이 못 미치는 것에 기인한 것이 아닌가 생각된다.

本實驗에서의 肝臟의 組織學的 所見을 앞에서 언급한 여러가지 實驗結果와 連關시켜 보면, 3% F群은 비록 低脂肪食이지만 P/S 비율을 적절히 해줌으로써 肝의 脂肪合成은 높았으나 肝으로부터 脂質流出에 큰 장애가 없어서 對照群에 비해 큰 차이가 없었고, 12주째에 가서야 일부 위에서 약한 정도의 脂肪變性이 있는 쥐를 찾아볼 수 있으므로 이는 李等<sup>39)</sup>이 脂質의 含量과 더불어 P/S 비도 重要하다고 강조한 理論을 뒷받침하고 있다. 옥수수油 속에 含有된 多量의 PUFA는 生物

學的 活性이 큰 prostaglandin E의 前驅物質으로써 體內的 여러 生理作用에 重要하며<sup>45)46)</sup>, cholesterol, TG 含量을 내려주기 때문에 動脈硬化症치료 및 예방 效果가 있다고 하여 많이 권장되고 있는 實情이다<sup>47)~50)</sup>. 그러나 本實驗의 結果로 미루어 보면 PUFA를 많이 함유한 植物油일지라도 成長期의 쥐에서 過剩投與하면 單期間에는 別影響이 없으나 長期間 投與할 경우 肝臟中の TG, cholesterol 등을 높이고, 또 8내지 12주에 가서는 40% 정도의 쥐가 약한 程度에서 심한 程度의 脂肪變性이 왔다. 그러나 單期間中에는 肝臟 中の TG, cholesterol 含量이 有意적으로 낮으므로 植物性脂肪은 動物性脂肪에 비해서 高脂肪食餌로 인한 體內的 지방축적 등 代謝에 미치는 영향이 훨씬 적었다.

이러한 本實驗의 結果로 미루어 볼 때 植物油일지라도 過剩攝取하면 體内に 여러가지 障礙를 일으킬 가능성이 있다고 본다.

45% B群은 특히 8주부터 대조군에 비해 肝臟의 여러 가지 脂質含量이 높고 50내지 60%의 肝臟에 약한 程度에서 심한 程度의 脂肪變性이 일어났다. 肝臟中の 各種 脂質 含量으로 보나 또는 組織學的으로 보나 多量 攝取하면 쥐에 있어서 좋지 못한 영향을 가져왔다.

그러므로 脂質을 攝取함에 있어 過剩을 避하고 適切한 量을 攝取해야 할 것이며 또 PUFA의 절대량보다는 P/S比率 즉 食餌脂肪組成의 質의인 面을 아울러 改善함이 重要하다고 볼 수 있다.

## 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 12週에 각각 쥐를 희생하여 肝重量, 肝臟內的 triacylglycerol (TG), cholesterol, 磷脂質(PL)을 측정하는 한편 肝臟의 病理組織學的 所見등을 관찰하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

肝重量의 증가는 45% C群은 12주에, 45% B群은 實驗全期間 동안 대조군에 비해 높았다. 肝臟內 TG함량에 있어서는 45% C群은 8주부터, 45% B群은 實驗全期間 동안 대조군에 비해 높았으며, 45% B群이 더 현저하였다.

肝臟內 總脂質 및 cholesterol 含量도 역시 TG와 같은 傾向이었다. 그러나 PL은 食餌群別, 飼育期間別로 유의적인 차이를 볼 수 없었다. 肝臟의 病理 組織學的

所見으로써 光學顯微鏡으로 관찰한 결과 3%F群에서는 12주에 일부 輕한 脂肪變性이 관찰되었으며, 45%C群에서는 8주 및 12주에서 輕한 程度에서 심한 程度의 脂肪變性이, 그리고 45%B群은 4주때에는 일부에서 輕한 脂肪變性이 일어나기 시작해서 8, 12주에서는 輕한 程度에서 심한 程度의 脂肪變性이 왔다.

電子顯微鏡으로 관찰한 결과 실험 8주부터 45%C群, 45%B群에서 脂肪變性이 일어났다.

## REFERENCES

- 1) Ronaghy, H.A., Kohout, E. & Hadid, N.: *Body height and chronic malnutrition in children in Iran. Am. Clin. Nutr.* 23: 1080-1084, 1970.
- 2) Graham, G.G.: *Effect of infantile malnutrition on growth, Fed. Proc.*, 26: 139-143, 1967.
- 3) Frisch, R.E.: *Present status of the supposition that malnutrition causes permanent mental retardation. Am. J. Clin. Nutr.* 23: 189-195, 1970.
- 4) Rosso, P., Hormazabal, J. & Winick, M.: *Changes in brain weight, cholesterol, phospholipid and DNA content in marasmic children. Am. J. Clin. Nutr.* 23: 1275-1279, 1970.
- 5) Stock, M.B. & Smythe, P.M.: *Does undernutrition during infancy inhibit brain growth and subsequent intellectual development? Arch. Disease Childhood* 38: 546-551, 1963.
- 6) Mattson, F.H.: *Fat. Nutrition Reviews' Present Knowledge in Nutrition. Fourth Edition, ed, Hegsted, D.M. pp. 24-32, Nutrition Foundation publications. Inc. New York, 1976.*
- 7) Widdowson, E.M. & Dauncey, M.J.: *Obesity. Nutrition reviews' present knowledge in nutrition. ed. Hegsted, D.M. pp. 17-23, Nutrition Foundation Publications. Inc. New York, 1976.*
- 8) Wood, J.D. & Reid, J.T.: *The influence of dietary fat on fat metabolism and body fat deposition in meal-feeding and nibbling rats. Br. J. Nutr.* 34: 15-24, 1975.
- 9) De Bont, A.J., Romsos, D.R., Tsai, A.C., Waterman, R.A. & Leveille, G.A.: *Influence of alterations in meal frequency on lipogenesis and body fat content in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 149: 849-854, 1975.
- 10) Mcgrandy, R.B., Hegsted, D.M. & Stare, F.J.: *Dietary fats, carbohydrates and atherosclerotic vascular disease. New Engl. J. Med.* 277: 186-242, 1967.
- 11) Lieber, C.S. & DeCarli, L.M.: *Quantitative relationship between amount of dietary fat and severity of alcoholic fatty liver. Am. J. Clin. Nutr.* 23: 474-478, 1970.
- 12) Karam, J.H.: *Diabetes mellitus, hypoglycemia and lipoprotein disorders. Relationship of lipoproteins to atheroma. Current medical Diagnosis and Treatment. Korean ed. M.A. Krupp, M.J. Chatton ed, Lange Medical Publications. pp. 783-789, 1979.*
- 13) McGill, H.C. & Mott, G.E.: *Diet and coronary heart disease. Nutrition reviews' present knowledge in nutrition. ed. Hegsted, D.M. pp. 376-391, Nutrition Foundation Publications. INC. New York, 1976.*
- 14) Mitchell, H.S., Rynbergen, H.J., Anderson, L. and Dibble, M.V.: *Nutrition in health and disease. sixteenth ed. New York, Lippincott Co. chapter 3, 29, 32, 1976.*
- 15) Whitney, E.A. & Hamilton, E.M.N.: *Triglycerides and cholesterol. Understanding Nutrition. New York, West Publish Co., pp. 59-71, 1977.*
- 16) Narayan, K.A. & McMullen, J.J.: *The interactive effect of dietary glycerol and corn oil on rat liver lipids, serum lipids and serum lipoproteins. J. Nutr.* 109: 1836-1846, 1979.
- 17) 李淳宰·金恭煥·曹準承: 식이내의 脂肪함량과 投與期間이 血清脂質成分 및 脂蛋白分劃에 미치는 영향. 韓國營養學會誌, 14(1): 34-40, 1981.
- 18) Kramsch, K.M. & Hollander, W.: *The interaction of serum and arterial lipoproteins with elastin of the arterial intima and its role in the lipid accumulation in atherosclerotic plaque. J. Clin. Invest.* 52: 236-240, 1973.
- 19) Clarke, S.D., Romsos, D.R. & Leveille, G.A.: *Di-*

- fferential 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.
- 20) 金英國: 食餌에 의한 흰쥐 肝脂質 및 酵素活性變化에 관한 研究. 韓國營養學會誌, 6(1): 15-29, 1973.
- 21) 李良子: *Current views on cholesterol metabolism.* 韓國營養學會誌, 8(4): 1-8, 1975.
- 22) Brown, M.S. & Foldstein, J.L.: *Disorders of lipid metabolism, Harrison's principle of Internal Medicine 9th ed. G.A. Thorn ed. New York McGraw-Hill, pp. 507-530, 1977.*
- 23) Leveille, G.A.: *Adipose tissue metabolism: influence of periodicity of eating and diet composition.* *Fed Proc.* 29: 1294-1301, 1970.
- 24) Ballard, F.J. & Hanson, R.W.: *Changes in lipid synthesis in rat liver during development.* *Biochem. J.*, 102: 952-958, 1967.
- 25) Taylor, C.B., Bailey, E. & Bartley, W.: *Changes in hepatic lipogenesis during development of the rat.* *Biochem. J.* 105: 717-719, 1967.
- 26) Tepperman, H.M. & Tepperman, J.: *Effect of saturated fat diets on rat liver NADP-linked enzymes.* *Am. J. Physiol.* 209: 773-780, 1965.
- 27) 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.
- 28) Triglyzyme-GP: '榮研': 榮研化學株式會社, 日本, 東京.
- 29) Zak, B. & Dickeman, R.C.: *Rapid estimation of free and total cholesterol.* *Am. J. Clin. Pathol.* 24: 1307-1315, 1954.
- 30) Fiske, C.H. & SubbaRow, Y.: *The colorimetric determination of phosphorus.* *J. Biol. Chem.*, 66: 375-400, 1925.
- 31) *Manual of histologic and special staining technology 2nd ed., McGraw-Hill Book company, New York, pp. 32-38, 1960*
- 32) *Manual of histologic and special staining technology 2nd ed., McGraw-Hill Book company, New York, pp. 140-142, 1960.*
- 33) Luft, J.H.: *Improvement in epoxy resin embedding method.* *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9: 409-414, 1961.
- 34) Reynolds, E.S.: *The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.* *J. Cell Biol.*, 17: 208-212, 1963.
- 35) *National Academy of Sciences, National Research Council: Nutrient requirement of domestic animals. No. 10, Nutrient requirement of Laboratory animals, 1962.*
- 36) Chen, S.C.-H.: *Feeding free fatty acids to study lipid metabolism in rats.* *J. Nutr.* 109: 39-47, 1979.
- 37) Suzuki, H., Goshi, H. & Sugisawa, H.: *Effect of previous feeding of a high carbohydrate or a high fat diet on changes in body weight and body composition of fasted rats.* *J. Nutr.*, 105: 90-95, 1975.
- 38) Suzuki, H., Tanaka, M. & Imamura, M.: *Interaction of dietary fat and thyroid function with metabolism of fasted rats.* *J. Nutr.* 109: 1405-1412, 1979.
- 39) 아양자: 油脂食品의 營養生化學의 意義. 韓國營養學會誌, 11(2): 6-23, 1978.
- 40) 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.*
- 41) Sinclair, A.J. & Collins, F.D.: *Fatty livers in rats deficient in essential fatty acids.* *Biochim. Biophys. Acta.* 152: 498-510, 1968.
- 42) Sun, J.V., Tepperman, H.H. & Tepperman, J.: *Lipid composition of liver plasma membranes isolated from rats fed a high glucose or a high fat diet.* *J. Nutr.* 109: 193-201, 1979.
- 43) Poling, C.E., Warner, W.D., Mone, P.E. & Rice E.E.: *The nutritional value of fats after use in commercial deep-fat frying.* *J. Nutr.* 72: 109-120, 1960.
- 44) Kinsell, L.W., Michael, G.D., Frisdey, R.W., Brown, F.R., Fr. & Fudeko Maruyama: *Essential*

- fatty acid, lipid transport, and degenerative vascular disease. Circulation. 14:484-486, 1956.*
- 45) Steinberg, D., Vaughan, M., Nestel, P.J. & Bergstrom, S: *Effects of prostaglandin E opposing those of catecholamines on blood pressure and on triglyceride breakdown in adipose tissue. Biochem. Pharmacol., 12:764-766, 1963.*
- 46) Pawar, S.S. & Tidwell, H.E.: *Effect of prostaglandin and dietary fats on lipolysis and esterification in rat adipose tissue in vitro. Biochim. Biophys. Acta, 164: 167-171, 1968.*
- 47) 李琦烈·安洪錫·李良子: 동맥경화증과 관련된 대사장애와 예방 및 치료식이: 脂肪(P/S 비율)을 中心으로. 한국영양학회지, 12(3):9-11, 1979.
- 48) Thomasson, H.J.: *Prostaglandins and cardiovascular diseases. Nutr. Rev., 28:67-69, 1969.*
- 49) Holman, R.T.: *In progress in the chemistry of fat and other lipids. vol. 9: polyunsaturated fatty acid. part 5, New York, Pergamon Press 1970.*
- 50) 이양자·곽동경·이기열: 비타민 E와 불포화 지방과의 관계. 한국영양학회지, 9:283-285, 1976.