

Riboflavin o] 지질 대사에 미치는 영향

박 란 숙

송의여자전문대학교 식품영양학과

박 홍 구

세종대학교 식품공학과

Effect of Riboflavin on Lipid Metabolism

Ran-Sook Park

Dept. of Food & Nutrition, Soong Eui Women's College

Hong-Ku Park

Dept. of Food Science, King Sejong University

= ABSTRACT =

The effects of riboflavin feeding on lipid metabolism in rat were studied. 70 male Sprague-Dawley rats were divided into 7 diet group : control, riboflavin, cholesterol, MLHP(methyl linoleate hydroperoxide), cholesterol plus MLHP, cholesterol plus riboflavin, cholesterol plus MLHP plus riboflavin. After 4 weeks feeding sera of animals were collected, then checked cholesterol, triglyceride, phospholipid levels and lipoprotein by use of cellulose acetate paper.

The results were as follows :

- 1) Marked increase of triglyceride and phospholipid levels were found in the group feeding with cholesterol, cholesterol plus MLHP.
- 2) Combined riboflavin feeding prevented the increase of triglyceride and phospholipid levels in the group of cholesterol, cholesterol plus MLHP.
- 3) Also combined riboflavin feeding prevented the increase of β -lipoprotein fraction in cholesterol feeding group.

Our results demonstrate that riboflavin has an inhibitory effects on the derangements of lipid metabolism due to administration of cholesterol, cholesterol plus MLHP.

서 론

최근 급속한 경제발전에 따라 식생활 양상이 서구화되어 동물성 지질을 다량 섭취함으로써 자연히 콜레스테롤 섭취량이 증가하여 고콜레스테롤 혈증 및 이로 인한 지방간, 동맥 경화증의 발생빈도가 높아지고 있음은 주지의 사실이다.

또한 인스탄트 식품의 보급 및 수요가 높아지면서 가공에 필수 불가결한 지방산 중의 하나인 linoleic acid 가 가공 후 섭취되기까지의 기간 도중 산화되어 생성된 과산화 지질을 섭취할 가능성성이 높아졌다. linoleic acid 의 과산화물인 methyl linoleate hydroperoxide(MLH)

P)를 계속 투여하면 간세포 손상 및 지방변화를 일으키거나¹, 발암물질을 활성화시킨다는 보고가 있었다.^{2,3)}

이에 저자들은 동맥경화증 발생 인자중의 하나로 알려진 콜레스테롤과, linoleic acid의 과산화물인 MLHP 투여가 간의 지질대사에 미치는 영향을 혈청학적으로 관찰하는 한편 간세포 미토콘드리아내에서 지방산화에 관여하는 비타민인 riboflavin의 치료효과를 추구하고 저 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

가. 실험동물 및 식이

체중 200gm 내외의 Sprague-Dawley 계 흰쥐 숫컷

Table 1. Changes of serum cholesterol, triglyceride, phospholipid, lipoprotein levels in experimental group for 4 weeks of formular feeding

Lipid \ Group*	Normal	C	MLHP	R	CM	CR	CMR
Cholesterol (mg / dl)	M 52.90 S.D 2.02 P **	63.10 2.34 p < 0.001	50.90 1.70 p < 0.05	53.10 5.90	53.10 4.16	53.00 2.45	49.10 1.70 P < 0.01
Triglyceride (mg / dl)	31.70 2.69 p < 0.001	80.20 4.85	68.10 6.92 p < 0.001	31.20 1.40	105.00 9.06 p < 0.001	39.00 2.45 p < 0.001	55.20 2.89 P < 0.001
Phospholipid (mg / dl)	85.08 3.41 p < 0.001	97.20 3.29	93.14 1.89 p < 0.001	86.30 7.39	90.32 2.82 p < 0.01	88.19 6.02	81.69 3.38 P < 0.02
Lipoprotein α (%)	49.57 1.62 p < 0.001	40.23 1.52	36.23 1.23 p < 0.001	44.19 1.65 p < 0.001	53.13 1.51 p < 0.001	48.33 1.57 p < 0.05	49.21 1.61
pre - β (%)	12.05 1.17	12.38 1.36	24.34 1.63 p < 0.001	12.20 1.28	26.18 1.42 p < 0.001	13.50 1.28 p < 0.05	13.28 1.28 P < 0.05
β (%)	38.28 1.47	47.39 0.54 p < 0.001	39.43 0.52 p < 0.05	43.61 0.51 p < 0.001	40.69 0.39 p < 0.001	38.17 0.39 p < 0.001	37.51 0.67

* C : cholesterol, MLHP: Methyl linoleate hydroperoxide, R : riboflavin, CM: cholesterol+MLHP,

CR : cholesterol+riboflavin, CMR: cholesterol+MLHP+riboflavin

** P was calculated by Student's t-test.

— Riboflavin 0] 지질대사에 미치는 영향 —

70마리로 실험하였다. 사료는 제일사료제의 일반사료를 사용하였다. 고콜레스테롤 식이는 화광순약제(일본) cholesterol을 체중 20gm당 50mg씩 sodium cholate 10mg과 corn oil 0.1ml에 부유시켜 polyethylene관으로 매일 1회 4주간 위장내에 투여하였다. 고파산화지질 식이는 methyl linoleate(Sigma 제)를 기포발생 장치로 24시간동안 자동산화시켜 methyl linoleate hydroperoxide(MLHP)로 만든다음 동물 체중 20gm당 0.1ml를 매일 1회씩 4주간 polyethylene관으로 위장내에 투여하였다. Riboflavin은 화광순약제(일본)로 동물체중 100gm당 6mg을 corn oil 0.1ml와 함께 매일 1회씩 4주간 위장내에 투여하였다.

나. 실험군

실험군은 1) 대조군, 2) riboflavin 투여군, 3) cholesterol 투여군, 4) MLHP 투여군, 5) cholesterol과 MLHP 투여군, 6) cholesterol과 riboflavin 투여군, 7) cholesterol, MLHP 및 riboflavin 투여군 등 모두 7군이며 각 군당 10마리씩으로 하였고 대조군은 일반사료만 ad libitum으로 공급하였다. 각 실험군은 4주후에 ether 마취하에 개복하여 복부동맥에서 채혈한 다음 혈청을 분리하여 사용하였다.

다. 혈청 학적 검사

1) Cholesterol의 정량:

일반적으로 사용되는 효소법⁴⁾을 이용하였다.

2) 중성지질의 정량:

Gottfried와 Rosenberg⁵⁾의 방법에 의하여 정량하였다.

3) 인지질의 정량:

Baginaki⁶⁾의 방법에 따라 정량하였다.

4) 지단백질 분석:

전기영동법(cellulose-acetate strip 7×10cm, barbital buffer pH 8.6, 250 volts, 16-18 minutes)으로 지단백질을 분리 정량하였다. 단백질은 Poncear-S. 지단백질은 oil red O로 염색하고 분리된 각 분획을 Beckman densitometer로 정량하였다. 총 단백질량은 Biuret 법으로 측정하였다. 통계학적 검정은 Student's test를 사용하였다.

성 적

1) 혈청 Cholesterol정량:

Cholesterol 투여군에서 63.10 ± 2.34 로 대조군 52.90

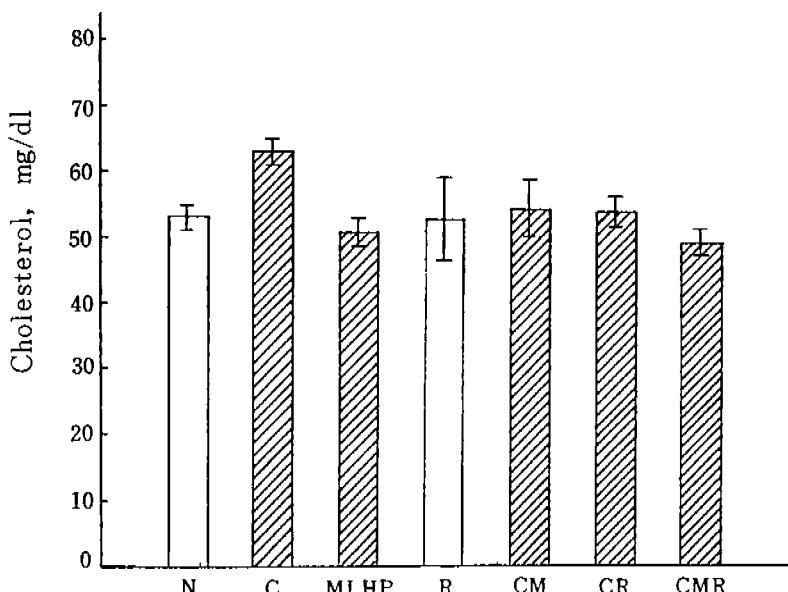


Fig. 1. Comparison of serum cholesterol level after 4 weeks of formular feeding.

± 2.02 mg/dl에 비하여 유의하게 높았다. ($p < 0.001$, 표 1,
그림 1)

2) 혈청 triglyceride 양의 변동 :

Riboflavin 군을 제외하고는 모두 정상대조군에 비하여 유의하게 높았고 cholesterol 투여군, cholesterol과 MLHP 투여군에서는 대조군의 2 배 이상 높은 값이었다. 그러나 riboflavin 병합 투여군들에서는 대조군 수준으로 감소되었다. (그림 2)

3) 혈청 인지질의 변동 :

Cholesterol군과 MLHP 투여군에서 대조군에 비하여 증가하였으나 riboflavin 병합 투여군에서는 대조군 수준이었다. (그림 3)

4) 지단백 변동 :

• α 분획

Cholesterol, MLHP 투여군에서 유의하게 감소된 외에는 대조군과 유사한 소견이다.

• Pre- β 분획

MLHP 군과 cholesterol과 MLHP 병합 투여군에서 유의하게 증가되었으나 riboflavin 병합 투여군들에서는 대조군 수준으로 회복되었다.

• β 분획

cholesterol 투여군에서 유의하게 증가되었고 riboflavin 단독 투여군도 다소 증가되었다. 그러나 cholesterol과 riboflavin 병합군에서는 대조군 수준으로 감소되었다. (그림 4)

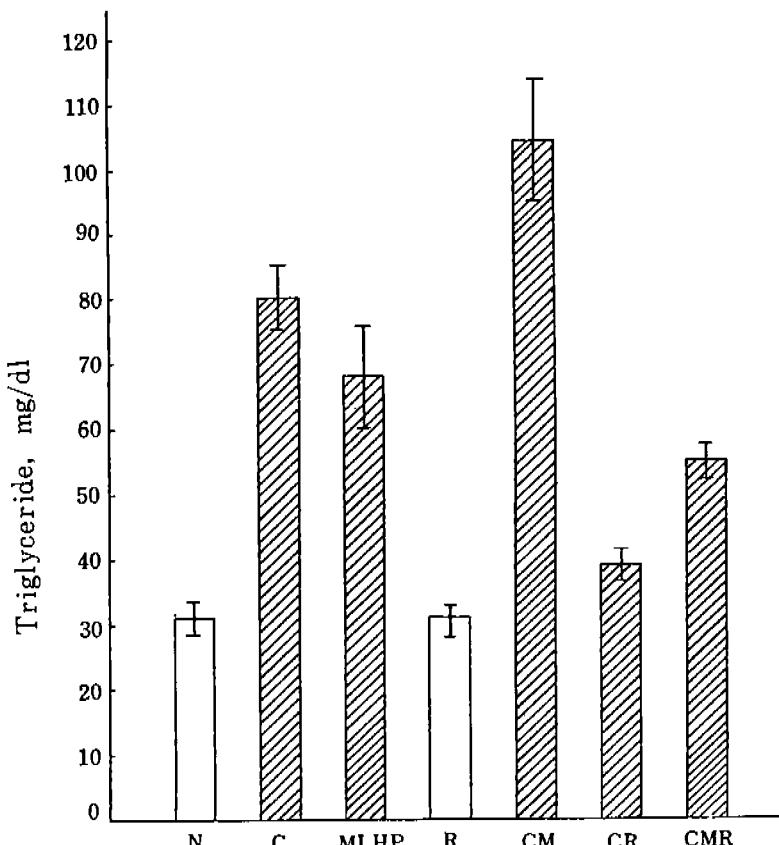


Fig. 2. Comparison of serum triglyceride level after 4 weeks of formular feeding.

— Riboflavin 이 지질대사에 미치는 영향 —

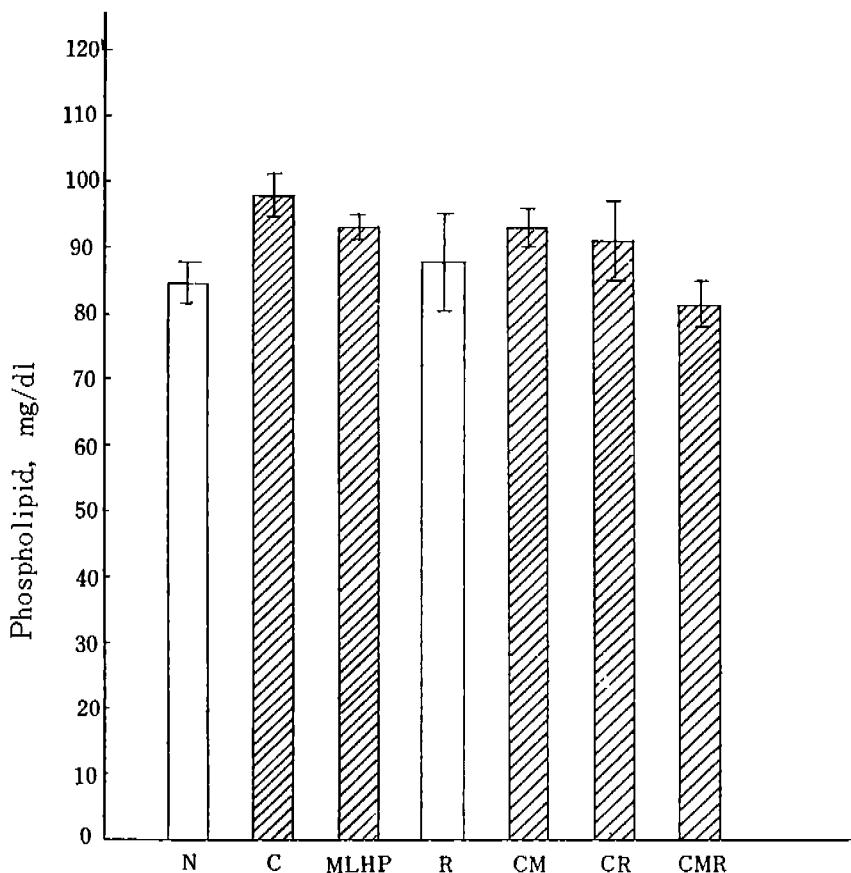


Fig. 3. Comparison of serum phospholipid level after 4 weeks of formular feeding.

고 찰

가. 혈청내 지질변동

Cholesterol 및 MLHP의 단독 투여 또는 병합 투여의 경우 지질대사에 미치는 영향은 cholesterol 투여군은 혈청 cholesterol 양의 증가를 일으켰으며, 두 가지를 함께 투여하면 혈청 triglyceride치가 심히 증가하였고, 인지질이 다소 증가하였다. 그러나 riboflavin을 병합 투여한 군들에서는 triglyceride 치가 1/2 수준으로 감소되었던 점으로 볼 때 riboflavin이 혈청 triglyceride 감소에 유의한 효과가 있음을 알 수 있었다. Stanko 등⁷도 알콜로 유발한 rat의 지방간 세포는 정상 간세포보

다 triglyceride가 3 배까지 증가되지만 riboflavin의 단독투여 또는 riboflavin, pyruvate, dehydroxyacetone의 병합 투여로 triglyceride치를 유의하게 감소시킴을 보고하였는데 본 실험결과와 비교해 보면 riboflavin이 지방간 유발 원인에 관계없이 triglyceride치를 감소시키는 효과가 있음을 입증한 것이다. triglyceride 치가 높은 지방간 환자에 riboflavin 치료 가능성을 시사하는 소견이다.

혈청 triglyceride 증가는 식이중 과량의 cholesterol 및 과산화지질이 간내로 유입되면 대부분 ester화되어 triglyceride로 되기 때문이며, lipid acceptor protein인 apoprotein과 결합되어 lipoprotein 형태로 충분히 배출되지 못하게 되면 지방간 및 간세포 손상을 일으킬

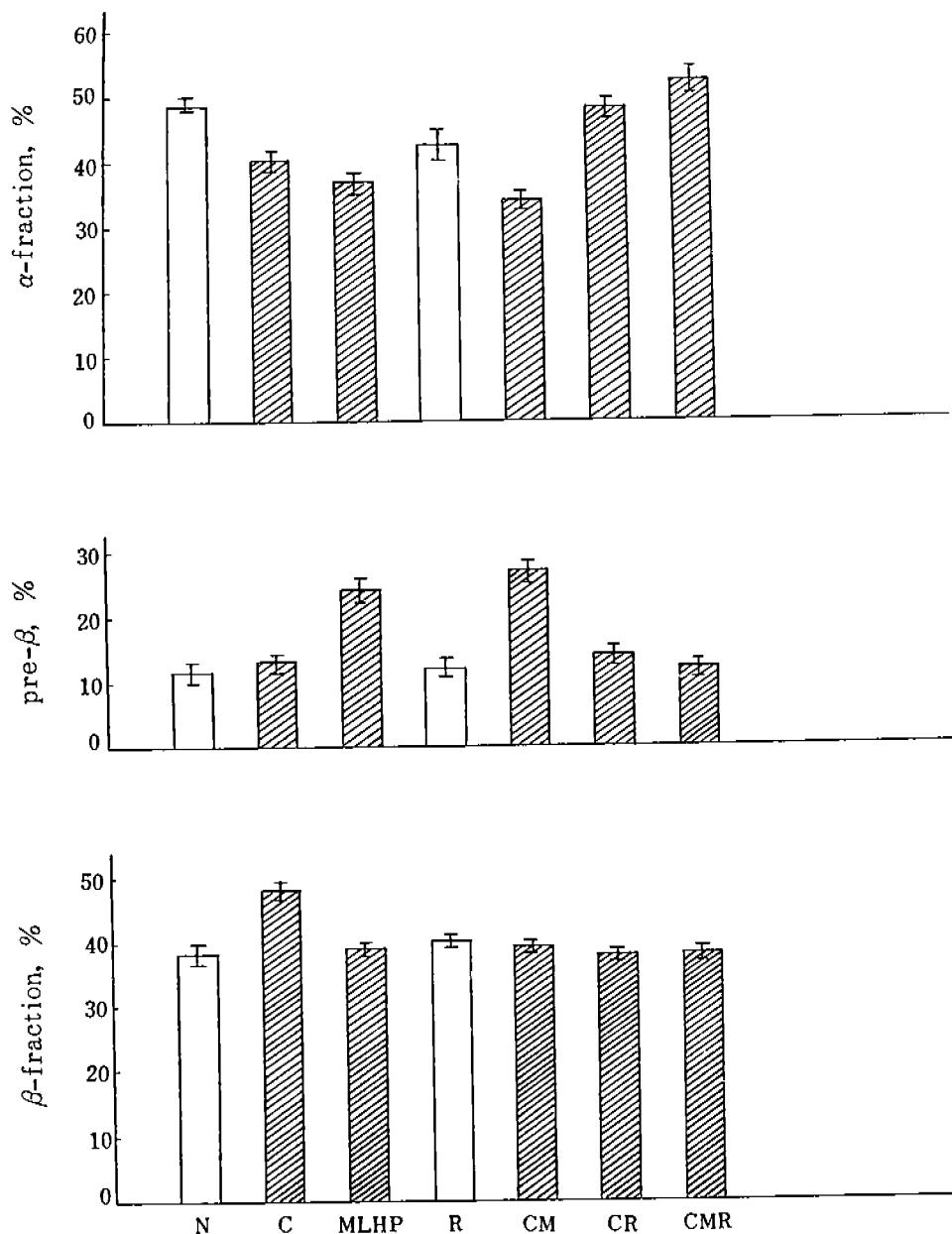


Fig. 4. Comparison of lipoprotein fractions after 4 weeks of formular feeding.

뿐만 아니라 축적된 triglyceride는 지질과산화의 원인이 될 수 있다.

백태홍등^b은 mouse에 methyl linoleate의 자동산화물을 투여한 결과 phospholipid, triglyceride 및 to-

tal cholesterol이 증가하며, 자동산화물이 간세포 손상과 밀접한 관계가 있다고 보고하였는데, 이는 본 실험과 일치하는 성격이다.

본 연구에서는 측정하지 않았지만, CCl_4 중독시에

— Riboflavin이 지질대사에 미치는 영향 —

riboflavin을 투여하면 간 조직내의 과산화 지질이 유의하게 감소된다는 보고도 있었다.⁹

나. 지단백 분획의 변동

지단백 분획의 변동을 보면 pre- β 분획은 MLHP 단독투여 및 cholesterol과 병합 투여로써 증가되었으나 riboflavin 병합 투여군들에서는 대조군과 같은 수준으로 감소되었다. β 분획(LDL, low density fraction lipoprotein)은 cholesterol의 단독투여군에서만 증가되었다. β 분획은 전 혈장 cholesterol 치의 70%를 차지하며 동맥경화증의 가장 강력한 원인임은 주지의 사실이며⁹, 구자현¹⁰도 고콜레스테롤을 석이 투여시 β 분획이 크게 증가하며 동맥경화증을 일으켰음을 보고하였다. α 분획(HDL, high density fraction lipoprotein)은 cholesterol 또는 MLHP의 단독 또는 병합 투여시에 감소되었으나 그 의의는 확실치 않다.

Riboflavin이 혈청 및 간세포 내의 triglyceride 치를 유의하게 감소시켜 지방간 및 간세포 손상을 억제시키는 기전은 지방산의 β 산화 과정을 촉진하여 triglyceride 치를 유의하게 감소시켜 간세포 손상에 관여하는 인자의 하나로 알려진 지질의 과산화물 생성을 억제시키기 때문이라고 생각된다.^{10,12} 그리고 미토콘드리아 내의 지방산 β 산화의 첫 번째 dehydrogenation 과정에 관여하는 acyl CoA dehydrogenases가 모두 flavin adenine dinucleotide(FAD)를 prosthetic group으로 갖고 있기 때문에 riboflavin 투여가 이를 효소들을 안정화시켜 미토콘드리아의 기능을 원활히 하게 함으로써 지질 축적 및 과산화지질에 의한 세포손상을 억제하리라 본다. 또한 riboflavin 투여가 지질 과산화물 제거효소의 하나인 catalase를 증가시키며, glutathione peroxidase system을 통해 지질과산화물을 제거 효소인 glutathione reductase의 세포내 농도를 높여준다는 보고가 이를 뒷받침한다.^{13, 16}

그러나 본 실험에서와 같이 과산화지질인 MLHP를 다양 투여하였을 때 riboflavin이 지방산 산화에 미치는 영향의 자세한 기전은 앞으로 acyl CoA dehydrogenase 연구를 통해 계속 추구해 보고자 한다.

결 론

Riboflavin이 고콜레스테롤 석이 및 고과산화지질식 이시 간 지질대사에 미치는 영향을 생화학적으로 추구하기 위하여 원색에 cholesterol과 MLHP를 4 주간 투여한 군과 riboflavin 병합투여군과의 지질대사의 차

이를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Cholesterol 단독 투여, cholesterol과 MLHP 병합 투여군에서 혈청 triglyceride 및 phospholipid의 유의한 증가가 관찰되었다.
- 2) 그러나 riboflavin을 병합 투여한 군들에서는 대조군 수준으로 유의하게 감소된 점으로 보아 riboflavin이 간 지질대사 중 triglyceride 및 phospholipid를 감소시키는 효과가 있음을 확인하였다.
- 3) Cholesterol 투여군의 혈청 지단백의 β 분획이 가장 많이 증가하였으며 riboflavin 병합 투여군에서는 대조군의 수준 또는 그 이하로 감소된 점으로 보아 riboflavin 투여가 동맥경화증의 원인 인자 중의 하나인 지단백 β 분획 감소에 효과가 있음을 알 수 있다.

REFERENCES

- 1) 백태홍 · 한해숙 · 이규식 · 정호삼 : 자동산화 methyl linoleate 가 mouse 간장의 효소 활성에 미치는 영향. 한국영양식량학회지 12: 84-92, 1983.
- 2) Arffman, E.J., Rasmussen, K.S. & Hansen, F.N. : Effect of some fatty acid methyl esters on gastrointestinal carcinogens by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats. J. Natl. Cancer Inst. 67 : 1071-1075, 1981.
- 3) Dix, T.A. & Marnett, L.J. : Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives to ultimate carcinogenesis during lipid peroxidation. Science 221 : 77-79, 1983.
- 4) Total Cholesterol (enzymatic method) : In : Clinical Laboratory Methods, 9th.ed., edited by Bauer, J.D., C.V. Mosby Company, pp 456-457, St. Louis, 1982.
- 5) Gottfried, S.P. & Rosenberg, B. : Improved manual spectrophotometric procedure for determination of serum triglycerides. Clin. Chem. 19 : 1077-1080, 1973.
- 6) Baginaki method of Phospholipid : In : Clinical Laboratory Methods, 9th.ed., edited by Bauer, J.D., C.V. Mosby Company, pp 548-549, St. Louis 1982.
- 7) Stanko, R.T., Medelow, H., Sinozuke, H. & Abidi, S. A. : Prevention of alcohol-induced fatty liver by natural metabolites and riboflavin. J. Lab.

- Clin. Med.* 91 : 228-235, 1978.
- 8) Tsubouchi, H., Kamibeppu, A., Fujisasi, K. & Hashimoto, S. : Effect of vitamin B_2 -deficiency and B_2 -butyrate feeding on rat liver microsomes. *의학연구* 50 : 435-442, 1980.
- 9) Arteriosclerosis : In : *Pathologic Basis of Diseases*, 3rd. ed. edited by Robbins, Cotran & Kumar, pp 506-518, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1984.
- 10) 구자현 : 인삼 Saponin 의 고 cholesterol 혈증 및 대동맥 분류 형성 억제효과에 관한 생화학적 연구, 연세대학교 대학원 박사학위논문, 1981.
- 11) Judah, J. D., McLean, A.E.M. & McLean, E.K. : Biochemical mechanisms of liver injury. *Am. J. Med.* 49 : 609-616, 1970.
- 12) Crapo, James D. & Freeman, Bruce A. : Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 47 : 412-426, 1982.
- 13) Okayasu, T., Kameda, K., Ono, T. & Imai, Y. : Effects of dietary vitamin B_2 and vitamin E on the Δ^9 -desaturase and catalase activities in the rat liver microsomes. *Biochem. Biophys. Acta* 489: 397-402, 1977.
- 14) Olpin, S.E. & Bates, C.J. : Lipid metabolism in riboflavin deficient rats. I. Effect of dietary lipids on riboflavin status and fatty acid profiles. *Br. J. Nutr.* 47 : 577-588, 1982.
- 15) Olpin, S.E. & Bates, C.J. : Lipid metabolism in riboflavin deficient rats. II. Mitochondrial fatty acid oxidation and the microsomal desaturation pathway. *Br. J. Nutr.* 47 : 589-596, 1982.
- 16) Nichoalds, G. E. : Assessment of status of riboflavin nutriture by assay of erythrocyte glutathione reductase activity. *Clin. Chem.* 20: 624-628, 1974.