

## 들깨유 섭취가 흰쥐의 출혈시간, 트롬복산 생성 및 혈소판의 지방산 조성에 미치는 영향

한용남 · 윤혜원\* · 김숙희\* · 한병훈

서울대학교 생약연구소 · \*이화여자대학교 식품영양학과

### Effects of Perilla Oil Intake on Bleeding Time, Thromboxane Formation and Platelet Fatty Acid in Rats

Yong Nam Han, Hae Won Yoon,\* Sook Hee Kim\* and Byung Hoon Han

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110 and \*Department  
of Foods and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

**Abstract**—Male rats were fed diets containing perilla oil, sardine oil or corn oil for 15 weeks in order to investigate their antithrombotic effects. Rats given perilla oil and sardine oil diets showed significantly longer bleeding time, and lower level of malondialdehyde generation during thrombin-induced aggregation of platelets than rats given corn oil. With regard to the composition of platelet fatty acid, the ratio of eicosapentaenoic acid(EPA) (20:5 $\omega$ 3) to arachidonic acid (20:4 $\omega$ 6) of perilla oil, sardine oil and corn oil treated rats were 0.54, 0.96 and 0.01, respectively, suggesting that linolenic acid(18:3 $\omega$ 3) of perilla oil was metabolized to EPA which is known to have antithrombotic activity.

**Keywords**—Perilla oil · sardine oil · corn oil · eicosapentaenoic acid · platelet

최근 전세계적으로 뇌혈전, 심맥관계 질환에 의한 사망률이 점차 증가하는 경향이어서 이들 질환의 예방 및 치료대책은 대단히 중요한 과제가 되고 있다.<sup>1,2)</sup> 이들 질환들은 혈관벽과 특히 혈소판의 변화에 의한 혈소판 응집이 직접적인 원인으로 알려져 있다.<sup>3)</sup>

혈소판 응집이 prostaglandin(PG)의 일종인 혈소판 유래의 thromboxane A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)의 생성에 의해 유발되며, 혈관 유래의 prostacyclin(PGI<sub>2</sub>)에 의해 억제된다는<sup>4)</sup> 최근 수년내의 연구에 의해 혈소판 응집 기전이 점차 밝혀지고 있어 혈전증을 예방 또는 치료할 수 있는 전망이 점차 밝아지고 있다.

PG는 세포가 어떤 물리적 화학적 자극을 받을

때 생체막 인지질의 불포화 지방산이 유리되어 이를 전구체로 하여 생합성되는 prostanoid acid를 골격으로 하는 생리활성 물질이다. 유리된 지방산중 탄소수가 20개인 지방산만이 PG의 원료가 되며 이 불포화 지방산의 이중결합수가 3, 4, 5개인 것으로부터 생성되는 PG는 이중결합수에 따라 각각 type 1, 2, 3의 것이 합성된다.<sup>5)</sup> 사람을 포함한 육상동물의 생체막에는 주로 arachidonic acid(20:4 $\omega$ 6, AA)가 대부분을 차지하므로 type 2의 PG가 주로 합성된다. PG는 생체기관, 조직, 세포에 따라 특이한 PG가 주로 합성되어 각기관 또는 조직, 세포의 활동에 필수불가결한 생리활성을 발휘한다. 이를테면 TXA<sub>2</sub>는 혈소판의 기능상 필요한 응집반응을 촉진하며 반면 혈

관에서 유리되는  $PGI_2$ 는 혈소판 응집을 억제하여, 출혈시 과도한 혈소판 응집을 억제하고 또한 정상시 혈소판의 혈관 유착을 방지하는등  $TXA_2$ 와  $PGI_2$ 는 서로 길항적으로 작용하여 혈관계, 맥관계의 항상성 유지에 기여한다고 알려져 있다.<sup>5)</sup>

Greenland의 에스키모인은 혈전증이나 심근경색에 의한 사망율이 현저히 낮은 반면 출혈경향이 있는 것은 에스키모인이 주로 섭취하는 어류에 풍부한 eicosapentaenoic acid(20:5 $\omega$ 3, EPA)의 항혈전작용에 기인한다는 보고가<sup>6-8)</sup> 발표된 이래 식이성 지방산과 혈소판의 기능과의 관계를 규명하기 위한 연구보고가 다수 발표되었다. 그 결과 생체내에서는 EPA로부터  $TXA_3$ ,  $PGI_3$ 의 생합성 능력은 현저히 약하며<sup>9,10)</sup> 오히려 EPA가 AA로부터  $TXA_2$ ,  $PGI_2$ 의 생합성을 경쟁적으로 저해하며 실질적인 EPA의 항혈전효과는 혈소판의 AA로부터  $TXA_2$ 의 생성을 동맥벽에서  $PGI_2$ 의 생성보다 더 억제하기 때문이라는 결론에 도달하고 있다.<sup>11-15)</sup>  $\omega$ 3계인 EPA는 linolenic acid(18:3 $\omega$ 3)로부터  $\omega$ 6계인 AA는 linoleic acid(18:2 $\omega$ 6)로부터 합성되는데 linolenic acid가 EPA로 전환되어 항혈전 작용에 미치는 정도에 대해서는 많은 논란이 있다.<sup>16-21)</sup> 또한 linolenic acid 급원으로 사용되는 아미인유는 나쁜 맛과 풍미로 섭취하기에 부적당하다고 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 우리나라에서 생산되고 있는 식물유중에서 들깨유가 linolenic acid를 많이 함유하고 있다는데<sup>22,23)</sup> 착안하여 linolenic acid가 항혈전 작용 성분인 EPA로 얼마나 전환되는지를 검토하고자 하였다. 또한 EPA의 직접적인 공급원으로 정어리유를, linolenic acid 공급원으로 들깨유를, linoleic acid 공급원으로 옥수수유를 각각 20% 함유한 식이와 linoleic acid의 최저 요구량을 만족시키는 수준인 4% 옥수수유 식이와 고형사료를 환취에 15주간 자유급식 시켜서 각 실험군의 출혈시간,  $TXA_2$ 의 생성량을 간접적으로 측정할 수 있는 척도인 malondialdehyde(MDA) 생성량과<sup>27)</sup> 혈소판내의 지방산 조성을 측정하여 혈소판의 EPA생성과 항혈전작용을 비교하고자 하였다.

## 실험 방법

### 1. 실험동물의 사육 및 식이

#### 실험동물의 사육

실험동물은 4주된 Sprague-Dawley계 수컷 100마리를 고형사료(삼양유지사료)로 2주간 적응시킨 후 Table I과 같이 체중을 기준으로 난괴법에 의하여 5군으로 나누어 15주동안 사육하였다.

실험동물은 1실당 5마리씩 배정하고 식이와 물은 전 실험기간중 자유급식시켰다.

Table I. Design of experimental groups

Groups	Contents of Fatty Acid
Sardine	20% sardine oil
Perilla	20% perilla oil
Corn	20% corn oil
Low corn	4% corn oil
Stock	4% crude oil

#### 실험동물의 식이

실험에 사용한 실험식이의 구성은 Table II와 같으며, 무기질과 비타민은 이화여자대학교 식품영양학과 영양실험실의 혼합비율을 그대로 사용하였다.

탄수화물 급원은 옥수수 전분과 설탕을 2:1의 비로 사용하고, 단백질의 급원은 casein(호주, North Western Cooperative Dairy Co.)을 사용하였다.

지방의 급원은 정어리유(경동유지공업), 옥수수유(서울식품), 들깨유를 사용했으며 들깨유는 시중에서 구한 들깨를 증기압착법으로 짜서 사용하였고 정어리유는 10°이하에서 분리된 위층을 취해 사용하였다.

기름이 고불포화지방산을 많이 함유하고 있어서 산패와 과산화지질 형성을 방지하기 위하여 항산화제로  $\alpha$ -tocopherol을 식용유 100 ml당 350 mg을 첨가했으며<sup>21,24)</sup> 실험기간중 식이는 -20°이하에 보관하여 사용하였다.

또한 Stock군은 식이조성이 조단백질 22%, 조탄수화물 61%, 조지방 4%, 무기질 8%, 조섬유소 5%, 인 고형사료를 사용하였다.

Table II. Composition of diets (g/kg diet)

Diet Ingredients	Sardine	Perilla	Corn	Low corn
Corn starch	360	360	360	470
Sucrose	180	180	180	230
Casein	200	200	200	200
Fat; sardine oil	200	—	—	—
Perilla oil	—	200	—	—
corn oil	—	—	200	40
Salt mixture ①	50	50	50	50
Vitamin A,D mixture ②	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Fat soluble vitamins ③	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Water soluble vitamins ④	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Vitamin B <sub>12</sub> ⑤	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
① Salt mixture	(g/kg salt mixture)			
Calcium carbonate				300
Dipotassium phosphate				322.5
Magnesium sulfate 7H <sub>2</sub> O				102
Monocalcium phosphate 2H <sub>2</sub> O				75
Sodium chloride				167.5
Ferric citrate 6H <sub>2</sub> O				27.5
Potassium iodide				0.8
Zinc chloride				0.25
Copper sulfate 5H <sub>2</sub> O				0.3
Manganous sulfate H <sub>2</sub> O				5
② Vitamin A,D mixture	(mg/ml corn oil)			
Vitamin A				0.1
Vitamin D				0.01
③ Fat soluble vitamin mixture				
Alpha tocopherol acetate(Vitamin E)	5 g			
Menadion(Vitamin K)	200 mg			
Corn oil	200 ml			
④ Water soluble vitamin mixture	(mg/kg diet)			
Choline chloride	2,000			
Thiamin hydrochloride	10			
Riboflavin	20			
Nicotinic acid	120			
Pyridoxine	10			
Calcium Pantothenate	100			
Biotin	0.05			
Folic acid	4			
Inositol	500			
Para-aminobenzoic acid	100			
⑤ Vitamin B <sub>12</sub> solution				
Vitamin B <sub>12</sub> 5mg을 증류수 500 ml에 녹인 것.				

## 2. 체중 증가량

체중은 실험 전기간을 통하여 매주 1회 측정하였으며, 13주동안의 총 체중 증가량을 평균± 표준오차로 계산하였다. 식이섭취에서 오는 갑작스런 체중변화를 막기 위하여 체중 측정 12시간전에 식이 그릇을 빼어 주었다.

## 3. 출혈 시간의 측정

출혈 시간은 Hornstra법<sup>14)</sup>에 의하여 다음과 같이 측정하였다.

실험 13주에 sodium pentobarbital(40 ml·kg<sup>-1</sup> B.W.)을 복강내에 주사하여 마취시킨후에 쥐꼬리의 3 mm를 칼로 잘라 37.5°로 유지된 식염수(0.9%)에 쥐꼬리를 끝에서 5 cm를 담구어 측정하였으며 꼬리를 자른 직후부터 지혈될 때까지의 시간을 출혈시간으로 정하였다.

## 4. 혈소판 시료의 제조

### 혈액의 채취

실험 15주에 디에틸 에테르로 마취 시킨 후 심장에서 3.8% sodium citrate(1 volume)을 미리 넣은 plastic주사기로 혈액(9 volume)을 취하여 잘 섞어서 사용하였다.

### 혈소판 현탁액의 제조<sup>14)</sup>

채취한 혈액을 plastic 원심분리관에 옮겨서 원심분리기(Sorvall RT-6, 000 Centrifuge)로 140 g, 20분간 원심분리하여 platelet rich plasma (PRP)를 얻은 후, 600 g, 10분간 재원심분리하여 상등액은 버리고 platelet pellet을 얻었다.

이것을 0.01 M 인산염 완충액(phosphate buffered saline, pH 7.4)<sup>25)</sup>으로 농도가 1.5×10<sup>9</sup> platelet·ml<sup>-1</sup>되게 현탁시켜서 MDA 측정 시료로 사용하였다. 혈소판의 수는 TOA automatic platelet counter(PL-100)를 사용하여 측정하였다.

### 세척 혈소판의 제조<sup>21)</sup>

Platelet pellet에 0.01 M 인산염 완충액(pH) 7.4을 넣어 600 g, 10분간 원심분리하여 세척하고 0.01 M 인산염 완충액에 현탁시켜 지방산 분석 시료로 사용하였다.

## 5. Malondialdehyde(MDA) 생성량의 측정

혈소판 응집시 MDA가 thromboxane A<sub>2</sub>(TX-A<sub>2</sub>)에 정량적으로 생성된다는 보고에<sup>14,15,26,27)</sup> 근거하여 MDA 측정으로 TXA<sub>2</sub> 생성량을 대신 측

정하였다. 즉, 혈소판 현탁액 ( $1.5 \times 10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$ ) 1 ml를  $37.5^\circ$  항온조에서 3분간 미리 배양한 후, thrombin  $100 \mu\text{l}$  ( $0.5 \text{ U}/\mu\text{l}$ )를 가하여 혈소판을 응집시키고<sup>27)</sup> TBA 시약으로 발색시킨 후 4 ml의 n-BuOH를 첨가하여 잘 섞고 원심분리하여 n-BuOH층을 UV-spectrometer (Gilford, 2, 600)로 534 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>28)</sup>

측정된 흡광도에서  $\epsilon = 1.56 \times 10^5$  (molar extinction coefficient)에 의해  $10^9$  혈소판에서 생성된 MDA nmol수를 계산하였다.<sup>27)</sup>

## 6. 지방산 조성의 분석

### 혈소판 지질의 추출

혈소판 지질의 추출은 Bligh and Dyer법<sup>29)</sup>에 준하였다.

즉, 4 ml 세척 혈소판 (washed platelet)에 혼합용매 I ( $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 1 : 2$ , v/v)을 15 ml가한 후 충분히 섞어 정치하고 다시 혼합용매 II ( $\text{CHCl}_3 : 0.9\% \text{ MeOH} = 1 : 1$ , v/v)를 10 ml가하여 마지막 용매비 ( $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : 0.9\% \text{ NaCl}$ )가  $2 : 2 : 1.8$  (v/v)이 되게 하였다. 위의 혼합물을 감압 여과 방치한 후  $\text{CHCl}_3$ 층을 취하고 동량의 혼합용매 III ( $\text{MeOH} : 2\text{M KCl} = 2 : 3$ )으로 세척하여 질소기체로 완전 건조하였다.

### 혈소판 지방산의 메틸화 반응<sup>30)</sup>

추출된 총지질에 5% methanolic HCl을 2ml가한 후 무기상태로  $98^\circ$  수욕상에서 30분간 가열하여 에스테르 교환반응을 시켜서 지방산 메틸 에스테르를 제조하였다. 여기에 5% NaCl 용액 5 ml를 가하여 반응을 끝낸 후 hexane을 5 ml씩 두번 잘 섞어서 방치한 후 hexane층을 얻었다. hexane층을 2%  $\text{KHCO}_3$  용액 4 ml로 세척한 후 질소로 완전 건조하였다. 얻어진 지방산 메틸 에스테르를 hexane  $10 \mu\text{l}$ 에 녹여 기체-크로마토그래피의 시료로 사용하였다.

### GC에 의한 지방산 조성 분석

지방산 메틸 에스테르를  $10 \mu\text{l}$  hexane에 녹여 GC와 GC/MS의 시료로 사용하였다.

GC의 분석조건은 Table III과 같으며 column은 Carbowax 20 M Fused Silica Capillary Column을 사용하였으며 지방산의 동정은 표준 지방산과의 일치 실험과, 지방산의 탄소수, 이중결합수와 retention time의 상관그래프 및 GC/MS에

Table III. The condition of GC

Instrument	Hewlett-Packard 5840A/GC
Column	Carbowax 20 M Fused Silica Capillary Column 0.2 mm i.d. $\times$ 25 m
Detector	F.I.D.
Column temp.	$140^\circ \rightarrow 230^\circ$ , (Rate; $2^\circ/\text{min.}$ )
Inj. temp.	$260^\circ$
Det. temp.	$280^\circ$
Carrier gas	Helium (20 cm/sec.)

Table IV. The condition of GC/MS

Instrument	Hewlett-Packard 5985B GC/MS
Column	Carbowax 20 M Fused Silica Capillary Column 0.2 mm i.d. $\times$ 25 m
Mode	E.I. (70eV)
Column temp.	$140^\circ \rightarrow 230^\circ$ , (Rate; $2^\circ/\text{min.}$ )
Inj. temp.	$260^\circ$
Det. temp.	$280^\circ$
Carrier gas	Helium (20 cm/sec.)

의하여 동정하였다.<sup>31,32)</sup> GC/MS 조건은 Table IV와 같다.

### 식용유의 지방산 조성의 측정

식용유의 지방산 메틸 에스테르는 식용유  $50 \mu\text{l}$ 를 tetrahydrofuran에 녹인 후 메틸화 반응에 의해 제조한 후 혈소판 지방산 메틸 에스테르와 같은 방법으로 조성을 측정하였다.

## 실험 결과

### 1. 식용유의 지방산 조성

실험식이중 각 식용유의 지방산 조성은 Table V와 같다. 정어리유의 특징은 우선 식물유에 비하여 지방산의 종류가 많다는 것이며 탄소수가 20 이상인 고불포화지방산 EPA의 함량이 17.3%, 사람의 뇌신경세포의 중요한 구성분인 알려진 docosahexaenoic acid ( $20 : 6\omega3$ , DHA)가 12.6% 함유되어 있다. 정어리유의 EPA와 DHA 함량이 Stanby의 보고<sup>33)</sup>보다 높은 이유는 고분자고불포화 지방산의 함량을 높이기 위하여  $10^\circ$  이하에서 위에 뜨는 부분을 취하여 사용하였기 때문으로 생각된다.

**Table V.** Fatty acid composition of dietary oil

Fatty acid	Oil		
	Sardine oil	Perilla oil	Corn oil
14:0	5.8	—	—
16:0	14.8	6.9	12.0
1	7.9	—	—
18:0	7.0	2.0	1.3
1( $\omega$ 9)	9.9	13.9	25.7
2( $\omega$ 6)	1.2	15.8	58.4
3( $\omega$ 3)	1.0	59.1	0.8
20:0	0.5	—	—
1	3.6	—	—
4( $\omega$ 6)	1.3	—	—
5( $\omega$ 3)	17.3	—	—
22:1	4.6	—	—
5( $\omega$ 3)	2.6	—	—
6( $\omega$ 3)	12.6	—	—
Rest	9.9	2.3	1.5

linolenic acid 공급 목적으로 사용된 들깨유내의 linolenic acid의 함량은 59.1%로 모등<sup>23)</sup>, 황등<sup>23)</sup>의 보고와 일치한다.

옥수수유는 linoleic acid 공급 목적으로 사용되었는데 58.4%를 함유하고 있는 것으로 분석되었다.

**2. 체중 증가량**

Table VI에서와 같이 전 실험기간 동안 각군의 체중 증가량은 Sardine군이 약간 감소되었는데 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 들깨유 과량 섭취시 체중 증가가 감소되었다고 이등<sup>34)</sup>이 보고 하였는데 본 실험에서는 다른군과 차이가 없었다. 이것은 식이내 미리 vitamin E를 공급하였기 때문으로 보인다.

**Table VI.** Body weight gain of each group (Mean $\pm$ S.D.)

	No. of animal	Initial body wt.(g)	Body wt. gain(g/13 weeks)
Sardine	18	123.3 $\pm$ 23.6	223.1 $\pm$ 21.4
Perilla	20	122.6 $\pm$ 23.1	240.5 $\pm$ 35.4
Corn	18	121.9 $\pm$ 24.8	236.6 $\pm$ 41.6
Low corn	15	119.3 $\pm$ 21.4	238.0 $\pm$ 38.5
Stock	17	120.3 $\pm$ 21.4	263.0 $\pm$ 53.6

Non-significant by Scheffe's test

**3. 출혈 시간**

Table VII에서와 같이 출혈 시간은 Sardine군과 Perilla군에서 매우 연장되었다. Sardine 군은 Corn군에 비해 현저하게 유의적으로, Perilla군은 유의적으로 연장되었다. 그러나 Low corn군과 Stock군은 Corn군에 대한 유의적 차이는 없었지만 Low corn군은 약간 감소하였고 Stock군은 약간 연장되었다.

**Table VII.** Bleeding time of each group (sec.)

	Sardine	Perilla	Corn	Low corn	Stock
No. of Animals	16	18	16	12	14
Mean	177**	136.2*	103.2	88.8	112.5
$\pm$ S.E.	$\pm$ 19.51	$\pm$ 7.52	$\pm$ 9.27	$\pm$ 6.68	$\pm$ 10.12

Significantly different from corn group,

\*(p<0.05)

\*\* (p<0.01)

**4. MDA 생성량**

10<sup>9</sup> 혈소판에서 생성된 MDA는 Table VIII과 같다. Perilla군과 Sardine군은 Corn군에 비하여 생성량이 매우 감소되었다. 저지방군인 Low corn군은 차이가 없었으며 Stock군은 약간 감소되었다.

**Table VIII.** MDA formation

	No. of animals	MDA (nmol/10 <sup>9</sup> platelet)
Sardine	16	7.6
Perilla	18	6.2
Corn	16	14.1
Low corn	12	14.0
Stock	14	9.5

**5. 혈소판의 지방산 조성**

혈소판의 지방산 조성은 Table IX와 같다. Eicosapentaenoic acid(20:5 $\omega$ 3, EPA)가 17.3% 함유된 정어리유를 섭취한 Sardine군은 EPA가 11.7% 축적되고, EPA를 직접 섭취하지 않고 linolenic acid를 59.1% 함유한 들깨유를 섭취한 Perilla군은 EPA가 6.9% 축적되었다. 그러나 linoleic acid를 58.4% 함유한 옥수수유를 20% 수준으로 섭취한 Corn군과 옥수수유를 4% 함유한 식이를 섭취한 Low corn군 및 Stock군에서는

Table IX. Fatty acid composition of platelet

Fatty acid	Sardine	Perilla	Corn	Low corn	Stock
16:0	23.5	22.9	25.1	25.1	28.9
1	1.8	0.3	0.5	0.6	0.3
18:0	13.6	14.3	16.2	12.3	14.6
1	7.9	6.9	5.4	8.4	7.4
2( $\omega$ 6)	3.4	13.3	9.0	7.2	7.2
3( $\omega$ 3)	1.2	2.8	0.3	0.5	0.2
20:0	0.3	0.4	0.4	0.2	0.3
1	1.9	0.5	1.1	0.5	0.2
3( $\omega$ 9)	0.5	1.0	0.3	0.5	0.3
4( $\omega$ 6)	12.2	12.8	25.5	26.8	25.9
5( $\omega$ 3)	11.7	6.9	0.3	0.2	0.2
22:0	0.7	0.9	0.7	0.7	0.7
1	1.7	0.9	0.5	0.7	0.3
4( $\omega$ 6)	0.5	0.7	3.1	3.7	3.7
5( $\omega$ 3)	3.4	3.1	0.4	0.1	0.5
22:6( $\omega$ 3)	2.5	0.9	0.6	0.3	0.9
24:0	3.3	1.3	1.3	1.4	0.9
1	3.5	2.9	1.9	2.2	1.4
Unknown	4.4	4.4	5.6	5.4	3.7
Rest	2.2	2.7	2.0	2.7	2.6

EPA가 거의 축적되지 않았다. 또한 Sardine군과 Perilla군은 arachidonic acid(20:4 $\omega$ 6, AA)의 축적이 매우 감소된 반면 Low corn군은 낮은 linoleic acid섭취에도 불구하고 AA가 감소되지 않았다. 그 결과 각군의 EPA/AA비는 Corn군 Low corn군, Stock군이 0.01로 서로 같은 반면, Perilla군에서는 0.54, Sardine군은 0.96으로 매우 증가하였다.

EPA와 같은  $\omega$ 3계인 docosahexaenoic acid(22:6 $\omega$ 3, DHA)는 12% DHA를 함유한 정어리를 섭취한 Sardine군에서는 2.5%로 나타났으며, Perilla군은 다른군과 마찬가지로 거의 증가하지 않았으나 docosapentaenoic acid(22:5 $\omega$ 3, DPA)는 Perilla군이 Sardine군과 같은 수준으로 증가되었고 docosatetraenoic acid(22:4 $\omega$ 6, DTA)는 같은  $\omega$ 6계인 AA와 마찬가지로 Sardine군과 Perilla군에서 감소되었다. Sardine군과 Perilla군에서는  $\omega$ 3계의 축적으로  $\omega$ 6계의 축적 감소를 보여준다.

## 고찰

본 연구와 관련하여 이미 보고된 연구보문들에서는 각각 대구유, 장어유, 아마인유중 일종을 실험재료로 하였거나 또는 아마인유와 해바라기유, 대구유와 해바라기유등 이종을 실험재료로 하였고 또한 별개의 실험실에서 측정되었으므로 이들의 실험결과를 상호 비교하기가 어려웠다. 그러나 본 연구에서는 지방산 조성에서 특이성이 높은 들깨유(linolenic acid, 59.1% 함유), 정어리유(EPA, 17.4% 함유), 옥수수유(linoleic acid, 58.4% 함유)를 각각 20% 함유한 식이와 linoleic acid 최저 요구량 수준으로 옥수수유를 4%함유한 식이를 각각 공급하고 시판되고 있는 동물사료의 효과도 함께 측정하였다.

혈소판의 지방산 조성은 Sardine군과 Perilla군에서 EPA는 증가되고 AA는 감소되어 EPA/AA비가 0.96, 0.54로 Corn군 0.01에 비해 매우 증가하였다. Low corn군은 AA 축적이 감소되지 않아 Corn군과 마찬가지로 EPA/AA비가 0.01로 나타났는데 이것으로 linoleic acid를 낮은 수준으로 공급해도 혈소판에 AA축적이 감소되지 않음을 알 수 있다.<sup>14,15</sup> Perilla군에 있어서 EPA의 현저한 증가는 linolenic acid가 EPA로 전환되어 혈소판에 축적될 수 있음을 보여준다. Dyerberg등<sup>19</sup> Sanders등<sup>18</sup>은 사람에게 linolenic acid가 풍부한 아마인유를 섭취시켜 혈소판내에 EPA가 증가되었지만 그 증가비가 매우 낮다고 하였는데, linoleic acid와 linolenic acid는 공동효소에 의해 그들의 장쇄 지방산으로 전환되기 때문에 식이로 섭취하는 linoleic acid와 linolenic acid비에 의해 linolenic acid로부터 EPA로의 전환정도가 영향을 받는다는 보고와<sup>16</sup> 본실험의 결과로부터 Dyerberg등의 실험에서 전환정도가 낮은 것은 사람을 대상으로 한 실험에서는 식이 조절이 완전히 실시되지 못하여 섭취한 식이내 linoleic acid 함량이 쥐실험에서 보다 높아서 linolenic acid의 EPA로의 전환이 쥐실험에서 보다 더욱 방해되었기 때문이라 생각된다. Perilla군만으로 볼때 linoleic acid에 비해 linolenic acid가 4배 수준으로 공급되었는데 혈소판내 AA/

EPA비는 1.86으로 linolenic acid가 EPA로 전환되어 혈소판에 축적되는 정도는 linoleic acid에 비해 훨씬 낮음을 보여준다.

Sardine군과 Perilla군에 있어  $\omega$ 3계 DPA(22:5 $\omega$ 3)의 증가는 EPA가 DPA로 전환됨을 보여주며, 12% DHA를 함유한 식이를 섭취한 Sardine군에서만 DHA가 약간 증가한 것은 간의  $\Delta^4$  desaturation이 낮거나, DHA가 혈소판 인지질에 축적이 잘 안된다고 생각될 수 있다. 하지만 linolenic acid를 섭취시킨 쥐의 간 인지질에 DHA증가는<sup>35)</sup> DHA가 혈소판에 잘 축적되지 않음을 보여준다. 또한  $\omega$ 6계 AA와 DTA(22:4 $\omega$ 6)의 혈소판내에 낮은 비는 linoleic acid로 부티의 전환이  $\omega$ 3계 지방산에 의해 억제되었기 때문으로 생각된다.

어유를 섭취시킨 많은 연구에서 EPA의 영향만을 고려하고 DHA의 영향은 고려하지 않았는데 몇몇 연구에서 DHA는 사람의 주요한 고불포화지방산으로 뇌와 신경에서 중요한 역할을 하고<sup>36)</sup> 실험동물에서 DHA는 심장지질에 매우 잘 축적될 뿐만 아니라,<sup>37)</sup> 최근 연구에서는 DHA가 C<sub>22</sub>-PGFG4 $\alpha$ 로 전환된다고 보고하였다.<sup>38)</sup> 또한 DHA가 혈소판 응집에 미치는 영향에 대한 연구에서 Sanders등<sup>18)</sup>은 DHA가 혈소판 응집을 억제한다고 하였지만 Bruckner등<sup>39)</sup>은 DHA를 섭취시킨 군에서 혈소판 응집이 억제되지 않았다고 하였다. 이러한 연구들로 부터 DHA의 중요성이 대두되고 있지만 혈소판내에 DHA가 잘 증가되지 않는 것을 볼때 아직까지는 EPA가 항혈전의 주인으로 생각되나 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

어유를 섭취시킨 여러 연구에서 출혈시간이 연장되었다고 하였다.<sup>9,18,40~42)</sup> 본연구에서도 Sardine군과 Perilla군이 출혈경향이 증가되었다. 출혈시간은 서로 반대효과를 지닌 AA의 PG<sub>2</sub>계에 의해 조절된다고 생각되었는데 혈소판에서 생성되는 TXA<sub>2</sub>는 혈관 수축과 혈소판 응집을 야기하고 동맥벽에서 생성되는 PGI<sub>2</sub>는 TXA<sub>2</sub>에 길항작용을 한다.<sup>4)</sup> Dyerberg등<sup>8)</sup>은 EPA가 PG계의 주요전구체라면 EPA는 AA대신 TXA<sub>2</sub>보다는 덜 혈전적인 TXA<sub>3</sub>로 전환되며, PGI<sub>2</sub>와는 유사하게 항혈전적인 PGI<sub>3</sub>로 전환되어<sup>43)</sup> 혈전경향이 감소

될 수 있다고 하였다. 그러나 EPA를 다량 섭취시킨 동물에서 PGI<sub>3</sub>와 TXA<sub>3</sub>는 거의 생성되지 않았고<sup>9,10)</sup> 게다가 EPA는 AA에 비해 cyclooxygenase에 약한 기질로<sup>11,12)</sup> *in vitro*에서는 AA에 경쟁적 억제작용을 한다. 또한 어유를 섭취시킨 연구에서 실지로 TXA<sub>2</sub>의 안정한 분해 유도체인 TXB<sub>2</sub>가 감소되었다.<sup>13)</sup> 그러나 thromboxane synthetase 억제제가 적은양의 collagen에 의한 혈소판 응집을 억제하지 못하며,<sup>44,45)</sup> *in vivo*에서 TXA<sub>2</sub> 생성은 완전히 억제되어도 혈소판 응집이 50%만 감소되었다는 보고도<sup>46)</sup> 있다. 이것으로 혈소판 응집 기전에 있어 TXA<sub>2</sub>의 역할은 아직도 확실치 않음을 알 수 있다. 그렇지만 Sardine군과 Perilla군의 MDA생성량의 현저한 감소는 EPA섭취시 혈소판의 TXA<sub>2</sub>의 감소가 동맥벽의 PGI<sub>2</sub> 생성감소보다 더 커서 출혈경향이 야기된다는 보고<sup>14,16)</sup>를 긍정한다.

Sardine군이 Perilla군에 비해 출혈시간이 더 지연된 것은 EPA/AA비가 Sardine군이 더 증가되었기 때문으로 생각되나 어유 과량 섭취시 혈액응고를 저하시키는 다른 요인도 관련한다는 보고는<sup>10,47)</sup> 고려할 만하다.

이와같이 본 실험을 통하여 정어리유와 같이 EPA를 많이 함유한 어유와 linolenic acid를 함유한 들깨유 섭취가 혈소판내 EPA/AA비를 증가시키며, 혈전경향을 감소시켜서 출혈시간을 지연시킴을 확인하였다. 또한 우리나라에서 생산되는 식물유중 들깨유만이 linolenic acid 함량이 특이하게 높은 점을 고려해 볼때 들깨유 섭취가 성인병 예방식품으로 권장될 수 있으며  $\omega$ 3계 고불포화지방산을 많이 함유한 등이 푸른 생선도 바람직하다. 또한 들깨유 섭취시  $\alpha$ -tocopherol을 함께 섭취한다면 들깨유 과다 섭취로 인한 과산화지질 형성에 대한 우려를 막을 수 있다고 생각한다.

## 결 론

Linolenic acid(18:3 $\omega$ 3)가 풍부한 들깨유 섭취가 thromboxane A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>) 생성을 억제하는 eicosapentaenoic acid(20:5 $\omega$ 3, EPA)로 전환되어 항혈전 효과에 미치는 영향을 연구하였다.

정어리유(EPA, 17.4% 함유), 들깨유(linolenic acid, 58.4% 함유)를 20% 함유한 식이와 필수 지방산 최저요구량 공급을 위해 옥수수유를 4% 함유한 식이를 흰쥐에게 15주간 자유급식시켜서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 출혈시간은 Sardine군과 Perilla군이 Corn군에 비해 1.6배 1.3배로 유의적인 지연효과가 나타났다.

2. TXA<sub>2</sub> 생성양 지표로 사용된 malondialdehyde(MDA) 생성량은 Sardine군과 Perilla군에서 50%로 감소되었다.

3. 혈소판의 지방산 조성은 Sardine군과 Perilla군이 EPA축적 증가로 arachidonic acid(20:4ω6, AA) 축적 감소를 초래하여 EPA/AA비가 0.96, 0.54로 매우 증가되었지만 나머지군들은 0.01로 차이가 없었다. 또한 Sardine군에서는 docosahexaenoic acid(22:6ω3, DHA)와 docosapentaenoic acid(22:5ω3, DPA)가 증가되고 Perilla군에서는 docosatetraenoic acid(22:4ω6, DTA) 감소를 초래하였다.

이와 같이 들깨유와 정어리유 섭취시 혈소판 내에 EPA가 축적되어 EPA/AA비가 증가되었으며 그 결과 MDA생성이 감소되어 출혈시간이 지연됨을 관찰하였다.

〈1986년 9월 26일 접수: 10월 20일 수리〉

## 문 헌

- Matter, S.: *J. Am. Diet. Associ.* 77, 149 (1980).
- Albrint, M.J.: *J. Am. Diet. Assoc.* 62, 623 (1973).
- Folts, J.D.: *Circulation* 54, 365 (1976).
- Moncada, S. and Vane, J.R.: *New. Eng. J. Med.* 300, 1142 (1979).
- Willis, A.L.: *Nutr. Rev.* 39, 289 (1981).
- Dyerberg, J. and Bang, H.O.: *Lancet* ii, 433 (1979).
- Dyerberg, J. and Bang, H.O.: *Lancet* i, 152 (1978).
- Dyerberg, J., Bang, H.O., Stoffersen, E., Moncada, S. and Vane, J.R.: *Lancet* ii, 117 (1978).
- Sanders, T.A.B., Naismith, D.J., Haines, A.P. and Vickers, M.: *Lancet* i, 1189 (1980).
- Hornstra, G. and Hemker, H.C.: *Haemostasis* 8, 211 (1979).
- Needleman, P., Raz, A., Minkes, M.S., Ferrendelli, J.A. and Sprecher, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76, 944 (1979).
- Hamberg, M.: *Biochim. Biophys. Acta* 618, 389 (1980).
- Siess, W., Roth, P., Scherer, B., Kurzmann, I., Böhlig, B. and Weber, P.C.: *Lancet* i, 441 (1980).
- Hornstra, G., Christ-Hazelhof, E., Haddeman, E., Hoor, F.T. and Nugteren, D.H.: *Prostaglandins* 21, 727 (1981).
- Hoor, F.T. de Deckere, E.A.M., Haddeman, E., Hornstra, G. and Quadt, J.F.A.: *Adv. Prost. Throm. Res.* 8, 1771 (1980).
- Sanders, T.A.B. and Younger, K.: *Br. J. Nutr.* 45, 613 (1981).
- Sanders, T.A.B. and Naismith, D.J.: *Lancet* i, 645 (1980).
- Sanders, T.A.B. and Roshanai, F.: *Clin. Sci.* 64, 91 (1983).
- Dyerberg, J., Bang, H.O. and Aagaard, O.: *Lancet* i, 199 (1980).
- Hornstra, G., Haddeman, E. and Hoor, F.T.: *Lancet* ii, 1080 (1979).
- Ishinaga, M., Katuta, M., Narita, H. and Kito, M.: *Agric. Biol. Chem.* 47, 903 (1983).
- Hwang, S.J. and Ko, Y.S.: *Korean J. Nutr.* 15, 15 (1982).
- Mo, S.M.: *Korean J. Nutr.* 8, 19 (1975).
- Lee, K.Y., Hong, Y.S. and Lee, Y.C.: *Korean J. Nutr.* 12, 9 (1979).
- Chase W.: *Methods in Immunology and Immunochimistry*, New York and London: Academic Press, Inc. (1966).
- Hamberg, M.: *J. Lab. Clin. Med.* 71, 3400 (1974).
- Smith, J.B., Ingerman, C.M. and Silver, M.J.: *J. Lab. Clin. Med.* 88, 167 (1976).
- Han, Y.N., Kwon, Y.K. and Han, B.H.: *Kor. J. Pharmacogn.* 12, 26 (1981).
- Bligh, E.G. and Dyer, W.I.: *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911 (1959).
- Cristie, W.W., *Lipid Analysis*, 2th ed., Oxford:

- Pergamon Press (1982).
31. Shomberg, G.: *Chromatographia* 8, 517 (1975).
  32. Jaeger, H.: *J. Lip. Res. Notes on Methodology* 17, 185 (1976).
  33. Stanby, M.E.: *World Res. Nutr. Diet* 11, 46 (1969).
  34. Lee, Y.C., Kang, S.H., Song, I., Kim, H.K. and Lee, K.Y.: *Korean J. Nutr.* 12, 99 (1979).
  35. Wilhelm, T.: *Biochim. Biophys. Acta* 792, 293 (1984).
  36. Tinoco, J., Babcock, R., Hincenbergs, I., Medwadowski, B. and Milijanichi, P.: *Lipids* 14, 166 (1979).
  37. Gudbjarnason, S. and Oskardottir, G.: *Biochim. Biophys. Acta* 406, 315 (1977).
  38. Mai, J., Goswami, S.K., Bruckner, C. and Kinsella, J.E.: *Prostaglandins* 24, 691 (1981).
  39. Bruckner, G.G., Lokesh, B., German, B. and Kinsella, J.E.: *Thrombosis Res.* 34, 479 (1984).
  40. Sanders, T.A.B., Vickers, M. and Haines, A.P.: *Clin. Sci.* 61, 317 (1981).
  41. Goodnight, S.H., Harris, Jr., W.S. and Connor, W.E.: *Blood* 58, 880 (1981).
  42. Thorngren, M. and Gustafson, A.: *Lancet* i, 1190 (1981).
  43. Gryglewski, R.J., Salmon, J.A., Ubatuba, F.B., Weatherly, B.C., Moncada, S. and Vane, J.R.: *Prostaglandins* 18, 453 (1979).
  44. Bertele, V., Cerletti, C., Schieppati, A., Di Minno, G. and De Gaetano, G.: *Lancet* i, 1057 (1981).
  45. Grimm, L.J., Knapp, D.R., Senator, D. and Halushka, P.V.: *Thrombosis Res.* 24, 307 (1981).
  46. Mallarkey, G. and Smith, G.M.: *Brit. J. Pharmacol* 81, 31 (1984).
  47. Hay, C.R.M., Durber, A.P. and Saynor, R.: *Lancet* i, 1269 (1982).