

들깨기름이 토끼의 혈청단백질, Cholesterol 과 간장속의 ACAT, HMG-CoA reductase 및 지방산 조성에 미치는 영향

남 현 근

광주보건전문대학
(1989년 7월 3일 접수)

Effect of Perilla Oil on the Fatty Acid Composition, ACAT and HMG-CoA Reductase in Microsomes, or Cholesterol and Protein in Serum of Rabbits.

Hyun Keun Nam

Kyangju Health Junior College, Kwangju, Korea 506-306
(Received July, 1989)

Abstract

Effect of perilla oil on the fatty acid composition, ACAT and HMG-CoA reductase in the liver microsomes, or cholesterol and protein in serum of rabbit were examined.

1. The content of total protein in serum was almost same amount of both groups, but α_1 -globulin and γ -globuline were increased or β -globulin was decreased compared with control.
2. The content of high density lipoprotein increased, and the content of low density lipoprotein decreased in lipoprotein.
3. Total cholesterol and triglyceride were decreased, and the content of phospholipid was increased.
4. Perilla oil did not effect for changing blood glucose and Na^+ , K^+ electrolytes.
5. Perilla oil did not effect for changing serum GOT and GPT in rabbit.
6. The activity of ACAT decreased and the activity of HMG-CoA reductase increased. The activity of ACAT and HMG-CoA reductase in liver microsomes were reciprocal.
7. There were arachidonic acid 20:4, eicosapentaenoic acid 20:5, and docosahexaenoic acid 22:6 in the liver microsomes of rabbits. These highly polyunsaturated fatty acids were converted from linolenic acid 18:3 n-3.

1. 서 론

들깨 또는 들깨기름은 한국에서 오래전부터 이용되어 왔으나 동물에 미치는 영양생화학적 면에서 깊이 연구되고 있지 않다.^{1,2)}

최근 fish oil의 중요성이 발표되면서 많은 연구가 진행되고 있다. Fish oil이 혈장지질의 농도를 감소시키며 혈장 cholesterol의 농도를 감소시키고 심장병 등을 예방할 수 있다.³⁻⁶⁾ 이는 fish oil에 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA)

등이 함유되어 있어 체내에서 prostaglandin을 생성하여 cholesterol의 농도를 저하시키므로 성인병을 예방하는 효과가 있다.⁷⁻¹¹⁾

또한 식물성 기름 중에서 면실유, 해바라기씨기름, 달맞이꽃씨기름 등도 cholesterol 농도를 저하시키며 arachidonic acid(AA) eicosapentaenoic acid(EPA) docosahexaenoic acid(DHA)에 다소 영향을 준다는 보고도 있다.^{27,28)} 그러나 들깨기름에 α -linolenic acid 18:3기 60% 정도 함유되어 있으나 별로 보고된 바 없기에 일정기간 동안 토끼에 급여하여

혈액성분의 변화를 조사 분석하였기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

동물: 본 실험에 사용한 토끼는 Newzealand white (♂)로서 생후 30일 경과된 500~700g 된 것을 택하여 철장안에서 일정기간 사육하였다. 대조군과 실험군으로 나누고 5마리를 하나의 실험군으로 하였다.

식이기간과 방법: 식이기간은 1988년 5월 2일~6월 1일까지, 사료는 하루에 50g씩 2회로 나누어 급여하면서 물은 자유로 먹을 수 있도록 하였다. 사육장은 22±2°C, 습도 70%를 유지하도록 하였다. 기본식은 대전제일사료주식회사에서 만든 토끼사료를 사용하여 실험군의 사료는 들깨기름을 10% (w/w), 대조군의 사료에 참기름을 10% (w/w) 첨가하여 재조하여 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 기름의 산화되는 것을 최대한으로 예방하였다. 사용한 들깨기름의 산가 0.5, p/s 7.4, PUFA 74.5, MUFA 14.5이었다.

시료: 실험식이 끝난 다음 24시간 금식시키고 목동맥에서 채혈하여 혈청을 분리하여 냉장고에 보관하면서 사용했고, 간장은 적출하여 냉동시켜 microsome 제조에 사용하였다.

Microsome 제조: 간장 1g을 취하여 0.1M sucrose, 0.01M KCl, 0.04M KH₂PO₄, 0.03M EDTA를 함유한 pH 7.4 완충액에서 균질화시키고 20분 동안 10,000×g에서 원심분리하고, 상층액을 105,000×g에서 1시간 동안 원심분리시켰다. 이런 조작을

2회 반복하여 시료로 사용하였다.

분석방법: cholesterol은 Schoenheimer-Sperry 법¹¹⁾ Protein은 electrophoresis 법,¹²⁾ ACAT는 Field와 Mathur 법,¹³⁾ HMG-CoA reductase는 Cooper와 Ericks 법,¹⁴⁾ lipoprotein은 Lipid Research Clinics program,¹⁵⁾ GOT와 GPT는 Reitman과 Frankel 법,¹⁶⁾ fatty acid는 Bligh와 Field 법,^{17,18)} phospholipid는 Stewart 법,¹⁹⁾ Na⁺, K⁺는 flamefluorometry,²⁰⁾ Blood Glucose는 Somogyi-Nelson 법²¹⁾으로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 혈청단백질

혈청단백질을 전기영동법으로 분석한 결과는 Table 1과 같다.

위 표에서 알 수 있는 바와 같이 total protein은 대조군과 실험군이 거의 같은 값을 보였으나 albumin은 대조군이 혈청 100ml당 4.2g, 실험군은 3.5g이었고, 실험군의 α₁-globulin은 0.4g이었으나 대조군은 0.2g을 보였다. 다시말하면 들깨기름을 먹인 군에서는 α-form이 0.9g, β-form이 0.4g이나 대조군에 있어서는 α-form이 0.7g로 감소되었으나 β-form에서는 대조군이 높게 나타났다.

2. Lipoprotein

혈청 lipoprotein을 분석한 결과는 Table 2와 같다.

Table 1. Effect of perilla oil on serum protein rabbits^a

Group	T-protein	Albumin	Globulin				A/G
			α ₁	α ₂	β	γ	
Control	5.7±0.9	4.2±1.0	0.2±1.5	0.5±1.0	0.5±1.0	0.4±1.5	2.1
PO	5.3±0.5	3.5±1.0	0.4±1.0	0.5±1.5	0.4±1.0	0.5±1.0	1.9

where a values are mean±SEM, of 5 samples, g/100 ml
PO: perilla oil

Table 2. Effect of perilla oil on lipoprotein in rabbits^a

Group	T-cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol	HDL/T-chol.
Control	108.4±3	36±15	72±10	0.33
PO	98.7±2 ^b	52±21 ^b	44±7 ^b	0.54

where a values are mean±SEM, mg/dl. of 5 samples

b; p<0.05vs.control, One way analysis of variance model used to test for significance

HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein

Table 3. Effect of perilla oil on cholesterol, phospholipid and triglyceride in rabbits^a

Group	T-chol.	F-chol.	E-chol.	T-chol/PL	TG	
Control	108.4±3	46.7±5	63.7±3	0.62	175.4±5	105.4±4
PO	98.7±2	46.2±3	52.5±3	0.58	185.5±2	85.7±3 ^b

where a values are mean±SEM, mg/dl of sample.

PO: perilla oil, PL: phospholipid, TG: triglyceride b: P<0.05 vs. control

Table 4. Effect of perilla oil on blood glucose, electrolytes, GPT and GOT in rabbits^a

Group	Blood glucose	Electrolytes		GOT	GPT	GOT/GPT
		Na ⁺	K ⁺			
Control	65.5±1.0	322.±1.5	19.5±1.0	35	40	0.87
PO	69.6±0.9	320±2.0	16.4±2.0	29	35	0.80

where a values are mean±SEM, mg/dl of sample.

PO: perilla oil, GOT: glutamic oxaloacetic transeaminase GPT: glutamic pyruvic transeaminase

위에서 볼 수 있는 바와 같이 고밀도지단백(HDL)은 혈청 100 ml 당 대조군이 36 mg, 들깨기름을 먹인 군이 52 mg, 저밀도지단백(LDL)은 대조군이 72 mg, 들깨기름을 먹인 군이 44 mg 을 보였다. 이는 들깨기름이 HDL 은 상승시키고, LDL 은 감소시킬 수 있음을 보여준 것이다. 이는 단백질을 전기영동법으로 분석한 결과와 Rhoads,²²⁾ Myees,²³⁾ Miller,²⁴⁾ Ernst²⁵⁾ 등의 보고와 잘 일치하고 있다.

3. Cholesterol 과 phospholipid

혈청 cholesterol 과 phospholipid 를 분석한 결과는 Table 3과 같다.

위에서 볼 수 있는 바와 같이 total cholesterol 은 혈청 100 ml 당 대조군이 108.4 mg, 들깨기름을 먹인 군이 98.7 mg 로 낮은 값을 보였고 Ester form 도 들깨기름을 먹인 군이 더 낮게 나타났다. 또한 T-chol/PL 지수도 들깨기름을 먹인 군이 0.58로 대조군보다 더 낮았다.

인지질은 들깨기름을 먹인 군이 185.5 mg 로서 대조군 175.4 mg 보다 높게 나타났고, 중성지질은 대조군이 105.4 mg 보다 들깨기름을 먹인 군이 85.7 mg 로서 상당히 낮은 값을 보였다. 이같은 결과는 Lee,³⁴⁾ Han³⁵⁾이 보고한 것과 같은 경향이나 이들은 쥐를 실험 동물로 사용하였다. 그리고 Ernst,²⁵⁾ Brown,²⁶⁾ Ide,²⁷⁾ Stange²⁸⁾ 등의 보고와 잘 일치된다.

4. Glutamic oxaloacetic transaminase, GOT 와 Glutamic Pyruvic transeaminase, GPT, 혈당 및 전해질

혈당, 전해질(Na⁺, K⁺), GOT 와 GPT 를 분석한 결과는 Table 4와 같다.

위에서 알 수 있는 바와 같이 혈당에는 별 영향이 없었고, Na⁺은 별 영향이 없었으나 K⁺의 경우는 다소 영향이 있었다. 이는 n-3계 지방산이 세포막의 침투력에 영향을 주기 때문으로 사료된다.

또한 transamination 에 관여하는 transaminase activity 로 보아 간장에 해를 주지 않은 것 같다.

5. Acyl-CoA : cholesterol acyltransferase, ACAT 와 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMG-CoA reductase

토끼의 간장에서 제조한 microsome 을 분석한 결과는 Table 5와 같다.

위에서 알 수 있는 바와 같이 acyl-CoA : cholesterol acyltransferase, ACAT, (E.C. 2, 3, 1, 26) 와 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMG-CoA reductase (E.C. 1, 1, 1, 34)는 대조군에서 p.mol/mg/min 단위로 볼 때 93과 215, 들깨기름을 먹인 군에서 72와 324로 나타나 두 효소는 서로 역비례관계에 있음을 알 수 있고 n-3계 지방산의 영향으로 cholesterol 과 ACAT 의 활성이 감소됨을 보여주었다. 이러한 결과는 Spector,²⁹⁾ Goldstein³⁰⁾ 등의 보고와 잘 일치하고 있다.

한편 HMG-CoA reductase 의 활성은 들깨기름을 먹인 군에서 324로서 대조군에 비하여 상당히 증가함을 알 수 있었다. 이것은 n-3계 지방산 α-linolenic acid 가 EPA 와 DHA 로 전환되어 prostaglandin 을 만들어 cholesterol 생성을 감소시키게 되는 것으로 사료된다.

Table 5. Effect of perilla oil on ACAT and HMG-CoA reductase in the liver microsomes of rabbits^a

Group	ACAT (p.mol/mg.per min)	HMG-CoA	ACAT/ HMG-CoA	protein
Control	93±31	215±25	0.43	18.1±1.0
PO	72±24	324±29 ^b	0.22	18.2±1.5

where a values are mean±SEM of 5 sample.

b: P<0.05 vs. control

다. 또한 HMG-CoA reductase의 활성과 Cholesterol 생합성과는 역비례관계가 있음은 Brown,²⁶⁾ Ide,²⁷⁾ Bolasubamanian,⁷⁾ Field,¹⁹⁾ Stange,²⁸⁾ Goldstein,³¹⁾ Bochenk³²⁾ 등의 보고와 잘 일치한다.

6. 지방산

Table 6. Effect of perilla oil on fatty acid distribution in the liver microsomes of rabbits^a

Fatty acid	Control	Perilla oil diet
16:0	12.2±1	12.4±2
18:0	23.4±2	20.5±
18:0	28.5±2	25.1±2
18:2 n-6	27.4±2	6.9±1
18:3 n-3	2.5±1	14.9±2
20:4 n-6	1.8±1	5.6±1
20:5 n-3	ND	3.5±1
22:5 n-3	1.7±1	1.5±1
22.6 n-3	ND	7.7±2
Others	2.5	1.9
Saturated FA	35.5	32.9
Monounsaturated FA	28.5	20.5
Polyunsaturated Fa	33.4	40.1
n-3	4.2	27.6
n-6	29.2	12.5
n-6/n-3	6.9	0.45
p/s	0.94	1.22

where a values are mean±SEM, %

Others: fatty acids, 16:1,20:1, and 20:2, less than 1%

토끼의 liver microsomes의 지방산 조성은 다음 Table 6과 같다.

위에서 알 수 있는 바와 같이 EPA 20:5 DHA 22:6은 분석되지 않았으나 들깨기름을 먹인 군에서는 AA 20:4, EPA 20:5, DHA 22:6 등이 상당량 분석되었다. 이는 들깨기름에 많이 함유된 α -linolenic acid 18:3, n-3가 20:5와 22:6으로 전환되었기 때문이다. 이는 Balasubramaniam⁷⁾과 Cook³³⁾의 보고와 잘 일치된다.

한편 MUFA도 들깨기름을 먹인 군이 20.5, n-3 FA가 27.6, n-6 FA가 12.5로서 n-6/n-3 ratio가 0.45를 나타냈다.

결론 및 요약

들깨기름이 토끼의 혈청단백질, cholesterol, microsomal ACAT와 HMG-CoA reductase 및 지방산조성에 미치는 영향을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈청단백질의 경우에 total protein은 아무 변화가 없었으나 들깨기름을 먹인 군의 α -globulin은 증가하고 β -globulin은 감소하였다.
 2. 들깨기름을 먹인 군에서 HDL은 증가하였고, LDL은 감소하였다.
 3. Total cholesterol과 triglyceride는 감소되었고 phospholipid는 증가되었다.
 4. 혈당농도는 영향을 받지 않았으나, Na⁺, K⁺은 영향을 받을 수 있다.
 5. 혈청 GOT와 GPT의 활성에 아무런 영향을 주지 않았고, 들깨기름이 간장에 아무런 영향을 주지 않는다.
 6. ACAT와 HMG-CoA reductase의 활성은 서로 역비관계가 있으며, 들깨기름이 ACAT 활성은 감소시키고, HMG-CoA reductase의 활성은 증가되었다.
 7. 들깨기름이 AA 20:4, EPA 20:5, DHA 22:6을 생성시켰다.
- 이상의 결과로 들깨기름은 식물성 기름 중에서 EPA와 DHA를 생성시킬 수 있으며, 18:3(LNA)가 EPA와 DHA의 좋은 전구체임을 확인할 수 있었다.

Reference

1. Nam, H.K. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **12**: 122 (1983).
2. Nam, H.K. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **16**: 122 (1987).

3. Caroll, K.K.: *Lipids* **21**: 731 (1986).
4. Kobatake, Y., Kuroda, K., Jinnouchi, H., Hoshida, E., and Innani, S.: *J. Nutri. Sci. Vitaminol.*, **30** 357 (1985).
5. Dyerberg, J., Bang, H.O., Stofferson, E., Moncada, S. and Vane, J.R.; *Lancet* **2**: 117 (1978).
6. Kromhout, D., Bosschieter, E.B. and Coulander, C.L.; *N. Engl. J. Med.*, **312**: 680 (1985).
7. Balasubramanian, S., Simons, L.A., Chag, S. and Hickie, J.B.; *J. Lipid Res.*, **26**: 180 (1985).
8. Cook, H.W. and Spence, M.W.: *Lipids* **22**: 613 (1987).
9. Aukema, H.M. and Holub, B: Dietary w 3 and w 6 fatty acids, Plenum Publ., New York, pp.81-90, (1987).
10. Liu, C.C.F., Carlson, S.E., Rhodes, P.G., Rao, V.S. and Meydresh, E.F., *Pediatr. Res.* **22**: 292 (1987).
11. Sperry, W.M.; *J. Biol. Chem.*, **150**: 315 (1943).
12. Henry, R.J.: *Clinical Chemistry*, Harper and Row Publ., New York, pp.211-246, 866 (1965).
13. Field, F.J., Mathur, S.N. and Albright, E.J.: *J. Lipid Res.*, **28**: 50 (1987).
14. Cooper, A.D., Field, F.J. and Erickson, S.K.: *Gastroenterology* **83**: 873 (1982).
15. Lipid Research Clinics Programs, NIH (No. 75-628), Washington, D.C., U.S.A.
16. Reitman, S. and Frankel, S.: *Am. J. Clin. Path.*, **28**: 36 (1957).
17. Field, F.J. and Salome, R.G.: *Biochem. Biophys. Acta*, **712**: 557 (1982).
18. Bligh, E.G. and Dyer, W.S.: *Can. J. Biochem. Phys.*, **37**: 911 (1959).
19. Stewart, J.C.M.: *Anal. Biochem.*, **104**: 10 (1980).
20. Lochhead, H.B. and Purcell, M.K.: *Am. J. Clin. Path.*, **21**: 877 (1950).
21. Somogyi, M.: *J. Biol. Chem.*, **195**: 19 (1950).
22. Rhoads, G.G., Gulbrandsen, C.L. and Kegan, A.R.: *N. Engl. J. Med.*, **294**: 293 (1976).
23. Myess, L.H., Phillips, N.R. and R.J. Havel: *J. Lab. Clin. Med.*, **88**: 491 (1976).
24. Miller, N.E., O.H. Forde, D.S. Thelle and D.O. Mioso: *Lancet* **1**: 965 (1977).
25. Ernst, Fish, M., Smith, W. Gordon, T., William, D.O. and Mishkel, M.A. *Circulation* **62**: 41 (1980).
26. Brown, M.S., Dana, S.E., Dietschy, J.M. and Sipers-stein, M.D.: *J. Biol. Chem.*, **248**: 4731 (1973).
27. Ide, T., Okamoto, H. and Sugano, M.: *J. Nutri.*, **108**: 601 (1978).
28. Stange, E.F., Alvi, M., Schenider, A., Ditschunej, H. and Poly, J.: *J. Lipid Res.*, **22**: 47 (1981).
29. Spector, A.A., Kodge, T.L. and Dane, R.W.: *Lipid Res.*, **21**: 169 (1986).
30. Goldstein, J.L. and Brown, M.S.: *J. Clin. Invest.*, **72**: 743 (1983).
31. Goldstein, J.L., Brown, M.S. and Dana, S.E.: *J. Biol. Chem.*, **249**: 789 (1974).
32. Bochenok, W.J. and Rodgers, J.B.: *J. Biochim. Biophys. Acta*, **575**: 57 (1979).
33. Cook, H.W. and Spence, M.W.: *Lipids* **22**: 613 (1987).
34. Lee, Y.C., Gwack, T.K. and Lee, K. Y.: *Korean J. Nutr.*, **9**: 283 (1976).
35. Han, I.K. and Park, K.R.: *Korean J. Nutr.*, **9**: 59 (1976).
36. Snadecor, G.W. and W.G. Cochran: In statistical methods, 6th. ed., Iowa State Univ. press, Ames, Iowa, pp.20 (1967).