

韓國營養學會誌 24(5) : 420~430, 1991
Korean J Nutrition 24(5) : 420~430, 1991

고당질 식이시 n6 와 n3 불포화 지방산이 쥐의 혈장지질 저하기전에 미치는 영향*

남 정 혜 · 박 현 서

경희대학교 가정대학 식품영양학과

Plasma Lipid-Lowering Effect of n6 and n3 Polyunsaturated Fatty Acids
in Rats Fed High Carbohydrate Diet

Nam, Jung He · Park, Hyun Suh

Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University

ABSTRACT

To compare the hypolipidemic effects of n6 linoleic acid, n3 α -linolenic acid and n3 eicosapentaenoic acid in rats fed high carbohydrate(70% Cal) diet, male Sprague Dawley rats were fed different experimental diets for 6 weeks, which were different only in fatty acid composition. The dietary fats were beef tallow(BT) as a source of saturated fatty acid (SFA), corn oil(CO) for n6 linoleic acid(LA), perilla oil(PO) for n3 α -linolenic acid(LL) and fish oil(FO) for n3 eicosapentaenoic acid(EPA) and docosahexaenoic acid (DHA).

Plasma total cholesterol(Chol) level was increased by n6 LA but decreased by n3 LL and n3 EPA and most effectively reduced by n3 EPA. HDL-Chol level was raised by n6 LA, but there was no significant change in HDL-Chol levels by n3 LL and was lowered by n3 EPA. Plasma TG level was reduced by n6 LA, but lipogenesis in liver was not affected by n6 LA. However, plasma TG level was lowered by n3 LL and EPA. Both lipogenic enzyme activity and liver TG level were also decreased by n3 PUFA. The relative proportions of TG in VLDL was significantly lowered by n3 EPA, but the proportions of Apo B in VLDL was not changed by n3 EPA.

Overall, the hypolipidemic effect was in the order of EPA+DHA(n3)>LL(n3)>LA(n6) and fish oil and perilla oil rich in n3 PUFA may have important nutritional applications in the prevention and treatment of hypertriglyceridemia.

*본 연구는 1990년도 한국과학재단의 일반기초 연구과제중 일부입니다.

접수일자 : 1991년 8월 12일

채택일자 : 1991년 9월 19일

KEY WORDS : hypotriglyceridemic effect · n3 fatty acids · α -linolenic acid · eicosapentaenoic acid · perilla oil · fish oil.

서 론

최근 동맥경화증(atherosclerosis)과 관상동맥성 심장질환(coronary heart disease ; CHD)등의 순환기계 질환이 계속 증가추세에 있어 이에 대한 대처방안이 절실히 요청되고 있다¹⁾. Hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia 및 hyperlipoproteinemia등 지질대사의 비정상화는 CHD 발생의 위험 인자로서 중요하다는 것이 수없이 지적되었으며²⁻⁴⁾, 고불포화지방식이나 지질의 P/S ratio가 높은 식이의 hypolipidemic effect에 관하여 많은 보고가 있다⁵⁻⁷⁾. 지금까지는 주로 서구에서 섭취되는 corn oil과 safflower oil에 다량 함유된 linoleic acid(LA, C18 : 2, n6)가 매우 중요시되어 왔으나, 최근에 Eskimos인들이 많이 먹는 바다동물에 다량 함유되어 있는 eicosapentaenoic acid(EPA, C20 : 5, n3)과 docosahexaenoic acid(DHA, C22 : 6, n3)가 동맥경화나 thrombotic disease의 혈전방지에 관여하는 것이 알려져 이에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 EPA와 DHA에 의한 hypolipidemic effect는 정상인에 비해 고지혈증 환자에서 더욱 뚜렷하여 CHD 예방에 더욱 전망이 있는 식품으로 대두되고 있다⁸⁻¹¹⁾. 우리나라에서는 예로부터 고당질 식이로 인해 hypertriglyceridemia가 많으며 corn oil과 soybean oil 등의 식물성 기름 뿐만 아니라 n3 α -linolenic acid(LL, C18 : 3, n3)가 다량 함유된 들기름의 섭취도 매우 높은데 들기름의 LL는 체내에서 EPA와 DHA로 대사되며 이에 관한 비교 연구는 아직 많지 않으나^{12,13)}, 들기름은 불포화 지방산의 함량이 높고 cholesterol(Chol)이 없을 뿐만 아니라 상대적인 불포화도가 낮아 특성이 적으면서 어유에 함유된 EPA와 DHA 만큼의 hypolipidemic effect를 나타낼 것으로 기대된다. 한편 식이 지방산의 hypolipidemic effect는 식이 지방의 함량에 따라서 다른 데 총열량섭취중 식이지방이 40%나 되는 서구 유럽국가와는 달리 우리나라에서는 지방섭취는 낮지만 고당질 식이로

인하여 hypertriglyceridemia가 심장질환의 주요 원인으로 지적되고 있다¹⁴⁾.

그러므로 본 연구에서는 식이지방을 총 열량의 10%로 조절하고 n6 LA급원으로 corn oil, n3 LL급원으로 perilla oil, n3 EPA+DHA 급원으로 fish oil을 사용하여 n6와 n3 지방산의 hypolipidemic effect에 관한 기전을 비교하고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물과 실험식이

생후 17주된 Sprague Dawley종 수컷쥐 100 마리를 체중에 따라 난괴법(randomized block design)에 의해 5군으로 나누어 실험식이를 6주간 ad libitum으로 공급하였다. 실험 식이는 Table 1에서와 같이 총 열량중 단백질 20%, 지방질 10%, 당질 70%로 구성된 고당질 식이를 공급하였다. 식이지방중 포화 지방산의 급원으로 beef tallow(BT)를 공급한 군을 BT군, n6 LA 급원으로 corn oil을 사용한 군을 CO-I 군, n3 LL 급원으로 들기름(perilla oil)을 사용한 군을 PO군, n3 EPA와 DHA 급원으로 fish oil concentrate(삼진케미)를 사용한 군을 FO군이라 하였다. 또한 CO-I 군에 비해 약 2배의 corn oil을 투여하여 CO-II 군이라 하였으며, 각 실험식이군의 지방산 분포는 Table 2에 있다. 이때 각군의 SFA와 monounsaturated fatty acids의 합을 거의 같게 조절하기 위하여 CO-I, CO-II, PO, FO군에 coconut oil을 공급하였고, 특히 FO군은 필수지방산의 결핍을 막기 위해 corn oil을 첨가하였으며, 또 fish oil에는 지방의 산패를 방지하기 위해 dl- α -tocopherol(0.2%)이 강화되어 있으므로 다른 군에도 FO군과 같은 수준으로 첨가하였다.

2. 시료준비

Overnight fasting후 복부 대정맥에서 혈액을 채취하여 같은군끼리 2마리의 혈액을 pool 하였

고당질 식이시 n6와 fatty acids의 혈장지질 저하효과

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	g/100g diet
Corn starch	67.4
Casein	19.3
DL-Methionine	0.3
Fat or Oil 1)	4.3
Salt mixture 2)	3.2
Zinc mixture 3)	0.8
Vitamin mixture 4)	1.0
α-Cellulose	3.7

- 1) 3mg vitamin A and 1.5mg vitamin D were dissolved in 150g oil.
- 2) Hubble Mendel Wakeman Mixture (per 100g)
Calcium carbonate 54.3 ; Magnesium carbonate 2.50 ; Magnesium sulfate. 7H₂O 1.6 ; Sodium chloride (6.90 : potassium chloride) 11.20 ; Potassium phosphate monobasic 21.20 ; Ferric phosphate 2.05 ; Potassium iodide 0.008 ; Manganese sulfate. H₂O 0.035 ; Sodium fluoride 0.1 ; Aluminium potassium sulfate 0.017 ; Copper sulfate 5H₂O 0.09
- 3) Zinc mixture : 1.67g Zn-acetate/kg corn starch
- 4) Vitamin mixture(per 100g)
Thiamine-HCl 0.04 ; Riboflavin 0.08 ; Pyridoxine-HCl 0.05 ; Ca-pantothenate 0.40 ; Inositol 2.00 ; Menadione 0.04 ; Niacin 0.40 ; Choline dihydrogen citrate 42.38 ; Biotin premix (1 %) 0.30 ; Vitamin B₁₂ premix(0.2 %) 1.00 ; Corn starch 53.27 ; Folic acid 0.04

으며 sodium citrate를 사용하여 즉시 plasma를 분리하였다. Plasma의 일정량에서 polyanionic precipitation 방법으로 high density lipoprotein (HDL) fraction을 분리하였으며, 또 ultracentrifugation 방법에 의하여 very low density lipoprotein (VLDL) fraction을 분리하였다. 간 조직의 일정량은 냉동되기전에 Geller와 Winge의 방법¹⁵⁾에 의해 cytosol fraction을 분리하여 protein 함량과 lipogenic enzyme의 활성을 측정하였고, 나머지 간조직은 냉동하였다가 total Chol과 triglyceride (TG) 함량을 측정하였다.

3. 생화학적 분석

1) Cholesterol 과 TG

Burnstein등의 polyanionic precipitation 방법¹⁶⁾

에 의하여 HDL fraction을 분리하였고, plasma 와 HDL fraction의 cholesterol 함량은 cholesterol oxidase 방법을 이용한 T-Choles. 5 효소시약(동아제약)을 사용하여 측정하였다. 간조직은 Folch등의 방법¹⁷⁾에 의해 지질을 추출한 후, total Chol은 McDougal과 Farmer¹⁸⁾방법으로, plasma와 간조직의 지질추출물의 TG 함량은 Fletcher 방법¹⁹⁾에 의하여 분석하였다.

2) Lipoprotein의 Ultracentrifugation

Plasma가 부족하여 같은 군의 4마리에서 얻은 혈액을 pool하여 Hatch와 Lees²⁰⁾의 방법에 따라 분리하였다. Sorvall ultracentrifuge(Model OTD-75 B)의 fixed angle rotor T-865를 사용하였으며 분리된 VLDL fraction은 4°C에서 0.15M의 NaCl 용액으로 48시간동안 투석한 후, -40°C에 보관 하였다가 lipid composition 분석에 사용하였다.

3) VLDL Fraction의 Lipid Composition

VLDL fraction의 일정량을 취하여 Folch등의 방법¹⁸⁾에 의하여 지질을 추출하였다. 이때 지방의 분해를 막기 위해 용매에 butylated hydroxytoluene을 0.005% 수준으로 첨가하였으며 N₂ gas로 농축시켜 정량적으로 silica gel TLC plate에 spot 하여 petroleum ether : diethylether : acetic acid = 90 : 10 : 1(v/v/v) solvent system에서 약 60분간 전개시킨 후 iodine vapor를 사용하여 발색시켰다.

FC와 CE spot은 McDougal 과 Farmer 방법¹⁸⁾으로 Chol을 분석하였고, TG spot은 plasma TG 정량과 같이 분석하였다. PL은 Fiske와 SubbaRow 방법²¹⁾에 의해서 phosphorus를 분석하고 factor 25를 곱해서 PL 함량을 산출하였다. Protein 함량은 VLDL fraction에서 직접 Lowry등의 방법²²⁾으로 측정하였다.

4) Apolipoprotein Electrophoresis

VLDL fraction 일정량을 Bersot 등의 방법²³⁾에 따라 ethanol : ethyl ether(3 : 1, v/v)로 지질을 추출하고 남은 침전물을 N₂ gas로 농축하여 Hames 방법²⁴⁾의 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide

Table 2. Fatty acid composition of experimental diets(g/100g diet)

Dietary Groups	SFA ¹⁾	MFA	PUFA	LA	LL	EPA+DHA ²⁾	C=C(%)
BT (bt 4.3g)	2.14	1.80	0.17	0.13	0.03	—	—
CO-I (co 2.2g+cc 2.1g)	1.88	0.84	1.15	1.12	0.03	—	100
CO-II (co 4.3g)	0.70	1.41	2.18	2.12	0.06	—	184
PO (po 2.0g+cc 2.1g+co 0.2g)	1.72	0.54	1.62	0.44	1.18	—	156
FO (fo 2.0g+cc 2.0g+co 0.3g)	2.01	0.79	1.01	0.19	—	0.74	161

BT : Beef tallow group
 CO I & II : Corn oil groups
 PO : Perilla oil group
 FO : Fish oil group
 SFA : saturated fatty acid
 MFA : monounsaturated fatty acid
 PUFA : polyunsaturated fatty acid
 bt : beef tallow
 cc : coconut oil
 co : corn oil
 po : perilla oil
 LA : linoleic acid
 LL : α-linolenic acid
 EPA : eicosapentaenoic acid
 DHA : docosahexaenoic acid

1) : saturated fatty acid >C12:0

2) : Fish oil concentrate contains EPA 25% and DHA 12%.

C=C : Relative degree of fat unsaturation

gel electrophoresis(SDS-PAGE)의 시료로 사용하였다. SDS-PAGE는 지질을 제거한 시료에 SDS를 함유한 0.2M Tris-HCl buffer(pH 8.2)를 넣어 단백질을 용해시킨 다음 시료 완충액(2% SDS, 5% 2-mercaptoethanol, 10% glycerol, 0.002% bromophenol blue)을 동량 가하여 100°C에서 2분간 끊인 후 11% 농도의 slab gel에 apply 하여 0.1M Tris-glycine buffer에서 전기영동(5-6hr, 30mA) 하였다. Protein band는 0.1% coomassie blue R250으로 염색시킨 다음 파장 650nm에서 각 apoprotein의 함량을 정량하여 상대적인 %로 나타냈다.

5) Lipogenic Enzyme Activity

Cytosol fraction의 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)와 6-phosphogluconate dehydrogenase(6PGDH) activity는 Glock 와 McLean의 방법²⁵⁾으로 측정하였는데 효소 활성도는 1분동안 0.01μmole의 NADP⁺가 NADPH로 환원되는데 필요한 enzyme의 양을 1 enzyme unit라 하였다. Malic enzyme activity는 O'choa의 방법²⁶⁾에 따라 분석하였으며 이때 enzyme unit은 1분동안 absorbancy 0.01의 변화를 일으키는 enzyme의 양으로 하였다.

4. 통계처리

실험식이 투여후 각 군의 차이에 대하여 Scheff'e

test를 이용하여 p<0.05의 수준에서 통계적 유의성을 검증하였다.

실험결과 및 고찰

본 연구에서는 식이 지방양을 총 섭취 열량의 10% 수준으로 조절하여 n6 LA의 급원으로 corn oil, n3 LL의 급원으로 perilla oil, n3 EPA와 DHA의 급원으로 fish oil을 투여하여 고당질-저지방 식이 시 각 불포화지방산의 hypolipidemic effect에 대한 기전을 비교하였다.

1. Plasma Cholesterol

Table 3에 제시된 바와 같이 CO-I 군의 plasma Chol은 BT군에 비해 증가되었고 CO-II군은 유의성은 없었지만 더욱 증가된 반면, PO군과 FO 군의 plasma Chol은 감소되었다. 또한 거의 같은 양의 n6 LA, n3 LL, n3 EPA+DHA를 투여한 CO-I, PO, FO군의 plasma Chol을 비교해 보면 n6 LA 보다 n3 LL와 EPA에 의해 더욱 감소되었고, LA에 의해서는 오히려 더욱 증가되었다. Garg 등²⁷⁾과 Nordoy 등²⁸⁾은 n6 LA가 풍부한 safflower oil과 corn oil 투여시 포화지방산군에 비해 plasma Chol이 증가되었으나 Grundy와 Ahrens²⁹⁾의 보고에서는 식이중 LA에 의해 plasma Chol이 감소되

고당질 식이시 n6와 fatty acids의 혈장지질 저하효과

Table 3. Effect of dietary PUFA on the levels of total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride in rats

	Dietary Groups				
	BT	CO-I	CO-II	PO	FO
<i>Plasma(mg/dl)</i>					
Chol	58.5±16.6 (10)	61.1± 9.0 (10)	68.3±12.7 ^a (10)	45.1± 7.8 ^b (10)	45.2± 8.8 ^b (10)
HDL-Chol	36.2±10.2 (10)	43.1± 5.8 (9)	48.5±11.0 ^a (9)	30.6± 5.1 ^b (9)	29.2± 8.8 ^b (8)
TG	88.9±15.0 ^a (9)	80.6±24.0 ^a (10)	92.4±30.0 ^a (10)	46.1±16.8 ^b (10)	43.1±13.9 ^b (10)
<i>Liver(mg/g wet liver)</i>					
Chol	3.7± 1.4 (10)	3.2± 1.2 (10)	3.5± 1.2 (10)	4.1± 1.3 (10)	4.6± 1.9 (10)
TG	11.2± 4.6 ^b (9)	12.3± 2.7 (9)	17.6± 6.6 ^a (8)	9.8± 3.6 ^b (7)	9.8± 3.6 ^b (7)

Values are Mean± SD

() : Number of pooled samples

T-Chol : Total cholesterol

TG : Triglyceride

HDL-Chol : High density lipoprotein-cholesterol

Superscript a or b : Values with different letter were significantly different at p<0.05 by Scheff'e test.

었으며 또한 아무런 변화도 없었다는 보고³⁰도 있어 결국 n6 LA가 plasma Chol에 미치는 영향은 식이내 총 지방양과 LA의 투여량, 투여기간에 따라 다르다고 하였으며 Keys 등²⁾과 Hegsted 등³¹⁾도 LA의 hypocholesterolemic effect를 크게 하기위해서는 상당히 많은 양의 LA 섭취가 필요하다고 하였다.

Nordoy 등²⁸⁾의 보고에서는 n3 PUFA 급원으로 rapeseed oil과 fish oil을 투여했을 때 plasma Chol이 감소되었고, Peifer³⁰⁾의 보고에서도 hypocholesterolemic effect는 n6 PUFA보다 n3 PUFA에서 더욱 컸으며, 지방산의 불포화도가 높아짐에 따라 증가한다고 하였다. van Gent 등³²⁾은 EPA를 2~4 g보다 8g 투여했을 때 plasma Chol이 더욱 유의성 있게 감소되어 혈장지질 감소효과는 EPA의 섭취량에 비례한다고 하였다. Yamazaki 등³³⁾은 coconut oil(CO), safflower oil(SO), fish oil(FO)을 2주간 투여하였을 때 plasma Chol은 FO, SO, CO군 순으로 감소된 반면, Chol의 bile secretion은 FO, SO, CO군의 순으로 증가된 것으로 미루어 plasma

Chol의 감소는 담즙으로 배설이 증가되기 때문이라고 하였다. 이와 같이 n3 PUFA가 plasma Chol을 감소시키는 기전에 관하여 Balasubramaniam 등³⁴⁾은 high PUFA 식이로 biliary PL에 LA가 더 많이 incorporate 되어 bile micelle의 Chol 용해도를 증가시키고 더 많은 Chol을 담즙을 통해 배설시킨다고 하였고, n6 보다 n3 PUFA에 의해 더욱 효과적이라고 하였다. 또한 EPA는 소장 세포막의 표면적을 감소시킴으로써 소화관내에서 Chol의 흡수를 억제시켰다고 하였다³⁵⁾.

한편 Harris³⁶⁾의 연구에 의하면 n6 보다 n3 PUFA가 보다 효과적으로 plasma Chol을 감소시켰는데, 이는 n6와 n3 지방산 자체의 구조적 차이 때문이 아니라 총 불포화도에 기인한 것이며 같은 불포화도에서는 똑같은 hypocholesterolemic effect를 보였다고 하였다. 본 연구에서 n6 LA에 비해 n3 LL와 EPA에 의해 hypocholesterolemic effect 가 더 있는 것으로 나타났는데, 같은 불포화도로 구성된 CO-II 군, PO 군, FO 군을 비교했을 때에도 n6 LA에 비해 n3 LL와 EPA의 plasma Chol 저

하능력이 강하였다. 이와같이 Harris의 이론과는 다르게 반응했지만 이 때 직접 측정하지는 않았으나 아마 EPA에 의해 소화관내에서 exogenous Chol의 흡수억제와 담즙으로 유출되는 Chol의 배설이 증가되었을 가능성도 있다고 사려된다.

2. HDL-Cholesterol

HDL-Chol 함량은 plasma Chol과 같은 양상으로 CO-I 군은 BT군에 비해 증가되었고 CO-II 군에서는 더욱 높았으나 유의성은 없었던 반면, PO군과 FO군에서는 감소되었다(Table 3). 본 연구에서는 거의 같은 양의 n6 LA, n3 LL, n3 EPA를 각각 투여하였는데 LA에 비해 LL와 EPA에 의해 HDL-Chol이 감소되었으며 LL와 EPA간의 차이는 없었다.

Harris 등³⁶⁾과 von Lossonczy 등³⁷⁾에 의해서 사람에게 LA가 풍부한 식이를 투여했을 때 HDL-Chol에는 영향을 미치지 않았지만 쥐에게 10~15% (w/w) 수준으로 safflower oil을 4주간 투여하였을 때 HDL-Chol이 감소되었다고 하였다³⁸⁾. 또한 n3 LL가 주는 영향을 보기위해서 여대생의 총 열량 섭취의 30%를 지방으로 공급하면서 그중 반을 들기름으로서 기본 실험식이와 함께 투여했을 때 plasma Chol과 HDL-Chol이 감소되었다고 하였다¹³⁾. 또 n3 EPA의 영향을 관찰하기 위해서 쥐에게 5% (w/w) 수준으로 EPA를 투여했을 때 HDL-Chol이 유의성 있게 증가되었으며³⁹⁾, 돼지에게 9.1% (w/w) 수준으로 mackerel oil을 8주간 투여후 HDL-Chol이 유의성 있게 감소되었다고 하였다⁴⁰⁾

또한 식이 지방이 4.5% (w/w)일 때 mackerel oil의 투여로 HDL-Chol에는 변화가 없었으나 9% (w/w)로 증가시켰을 때에는 오히려 감소 되었다고 했다⁴¹⁾. 이와 같이 식이 지방의 PUFA 함량이 HDL-Chol에 미치는 영향은 일관성이 없었으며 불포화 지방산의 투여량, 투여기간, 식이내 총 지방량등에 따라 다르다고 하였다⁴²⁾.

그러므로 n6와 n3 PUFA가 각각 HDL-Chol에 미치는 영향을 비교할 때는 지방을 투여하는 기간, 그리고 식이의 총 지방량과 그 중 n6 또는 n3 PUFA의 상대적인 양이 중요한 요인이 되며, 또 투여하는 지방의 총 불포화도도 영향을 미치는 요인이 될 것이라고 생각한다.

3. Plasma Triglyceride

BT군에 비해 CO-I 군에서는 plasma TG 수준이 약간 감소되었으며 CO-II 군에서는 오히려 증가되었으나 유의성은 없었다(Table 3). 그러나 간의 TG 농도는 BT군에 비해 CO-I 군에 비해 CO-II 군에서는 유의성 있게 더 높았다. 간의 lipogenic enzyme의 활성도(Table 4)는 BT군에 비하여 CO-I과 CO-II 군에서는 거의 변화가 없었으므로 LA는 간의 lipogenesis에 영향을 주지는 않았다고 생각하며, 또 CO-II 군에서 간의 TG가 증가된 것은 Haug 와 Hostmark⁴³⁾의 보고처럼 고당질 식이로 인해 insulin 분비가 높아 lipoprotein lipase(LPL)가 더욱 유도되어 plasma TG가 효율적으로 간에 유입되었을 가능성이 있다고 본다.

그러나 PO와 FO군의 plasma TG 는 BT군에

Table 4. Effect of dietary PUFA on lipogenic enzyme activities in liver cytosol of rats

	Dietary Groups				
	BT	CO-I	CO-II	PO	FO
G6PDH	25.8± 4.7 (9)	22.4± 4.0 (10)	24.4± 8.1 (10)	25.3± 12.6 (7)	15.9± 6.0 (10)
6PGDH	39.0± 15.0 (10)	30.7± 6.0 (10)	37.6± 16.1 (10)	29.7± 7.7 (7)	28.6± 11.0 (10)
Malic Enzyme	2.0± 1.3 (10)	1.7± 0.8 (10)	1.2± 0.5 (9)	1.6± 1.2 (10)	0.9± 0.4 (10)

Values are Mean± S.D and expressed as specific activity in μmole NADPH/min/mg protein

() : Number of pooled samples

G6PDH : Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase

6PGDH : 6-Phosphogluconate Dehydrogenase

고당질 식이시 n6와 fatty acids의 혈장지질 저하효과

비해 유의성있게 낮았으며 간의 TG 함량과 lipogenic enzyme 활성도도 낮았다. 또한 비슷한 수준으로 투여한 각 지방산의 영향을 서로 비교해보면 n6 LA 보다 n3 LL와 EPA에 의해 plasma TG가 유의성있게 감소되었으며 n3계 두 지방산 간의 차이는 없었다.

Iritani 등⁴⁴⁾은 3% (w/w) fat 중에서 0.5~1.0%를 shellfish oil로 투여하였을 때 간의 TG가 감소되었는데 이는 EPA와 DHA에 의한 fatty acid synthetase와 lipogenic enzyme의 활성이 저하되었기 때문이라고 했으며, Nossen 등⁴⁵⁾도 *in vitro*에서 EPA를 첨가한 배지에 쥐의 간조직을 incubation 시켰을 때 malic enzyme과 glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성이 감소되었고 간의 TG 합성도 낮아졌다고 했다. 이외에도 EPA는 간의 lipogenic enzyme의 활성을 저하시켜 간의 TG 합성을 감소시켜서 혈중으로 TG 분비가 감소되었다는 것은 많이 보고되었고⁴⁶⁾⁴⁷⁾, 한편 불포화도가 높아짐에 따라 lipogenic enzyme의 활성과 간의 TG 합성이 효과적으로 억제되었다는 보고도 있었다⁴⁶⁾.

그러나 본 연구에서는 CO-II, PO, FO군에서와 같이 불포화도를 같은 조절하여 비교해 보았을 때에도 plasma TG는 PO군과 FO군에서 더 낮았으므로(Table 3) n3 지방산에 의해서 plasma TG가 감소된 것은 LL와 EPA 지방산의 불포화도가 높아서라기 보다는 Harris의 제안처럼 n3계 지방산이

lipogenic enzyme을 specific하게 억제해서 낮아진 것이 아닌가 한다.

Phillipson⁴⁸⁾은 사람에게 5-25% Cal 수준으로 fish oil을 투여하였을 때 plasma TG는 vegetable oil(corn oil : safflower oil=50 : 50) 섭취군에 비해 hyperlipidemia 환자에서는 약 80%까지 감소되었다고 했다. 그러므로 많은 사람이 고당질 식이를 하는 우리 나라 사람에게 LL가 풍부한 들기름과 EPA가 다량 함유되어 있는 생선과 어유의 섭취는 hypertriglyceridemia의 발생을 예방하는 데 매우 효과적이라고 생각한다.

4. VLDL Fraction의 지질조성과 Apolipoprotein 조성

VLDL fraction의 TG 함량(%)은 BT군에 비해 CO-I 군에서 증가된 반면 PO와 FO군에서는 감소되었으며 특히 FO군에서 유의성있게 낮았다 (Table 5). n6 LA는 CO-I 군과 CO-II 군의 주된 PUFA이며, n3 LL와 EPA는 PO와 FO군의 주된 n3 PUFA이므로 이 두군들을 각각 합하여 다시 Table 6에서 n6 와 n3 PUFA로 크게 나누어 비교하였을 때에도 같은 결과를 얻었다. n3 EPA의 hypotriglyceridemic effect에 관하여 Nestel 등⁴⁹⁾은 fish oil은 간에서 VLDL의 ApoB 합성을 억제하여 VLDL size가 감소되어 VLDL 수준이 낮아졌다고 했으며, Harris 등⁴⁶⁾은 lipogenic enzyme의 활성이 억제되어 간의 TG 합성이 감소되었으며 따라서

Table 5. Effect of dietary PUFA on chemical composition of very low density lipoprotein fraction in rats

Parameters	Dietary Groups				
	BT	CO-I	CO-II	PO	FO
TC	21.0±2.3	19.4±2.2	21.0±3.6	20.6±2.7	25.2±6.8
FC	9.4±1.5	8.1±0.8 ^a	7.8±1.8 ^a	9.4±0.5	11.2±3.4 ^b
CE	11.6±1.0	11.3±1.7	13.2±2.4	11.2±2.2	14.0±3.9
TG	63.4±3.5 ^a	68.0±2.2 ^a	66.7±5.5 ^a	62.4±2.6	54.1±6.8 ^b
PL	8.3±2.3 ^a	7.4±0.7 ^a	7.5±3.9 ^a	11.9±1.8 ^b	12.9±1.1 ^b
PR	5.6±1.2	5.2±1.1	4.9±0.8 ^a	5.1±0.7 ^a	7.8±2.2 ^b

Values are Mean± SD of pooled samples, and expressed in the relative % of total contents of VLDL fraction.

TC : Total cholesterol

FC : Free cholesterol

CE : Cholestryl ester

TG : Triglyceride

PL : Phospholipid

PR : Protein

Superscript a or b : Values with different letter were significantly different at p<0.05 by Scheff'e test.

Table 6. Comparison of the effect of n6 and n3 PUFA on chemical composition of VLDL fraction

Parameters	SFA (BT)	n6 (CO-I + CO-II)	n3 (PO + FO)
FC	9.4±1.5	8.0±1.3 ^a	10.3±2.5 ^b
CE	11.6±1.0	12.3±2.2	12.6±3.3
TG	63.4±3.5	67.3±4.0 ^a	58.3±6.5 ^b
PL	8.3±2.3 ^a	7.4±2.6 ^a	12.4±1.5 ^b
PR	5.6±1.2	5.0±0.9	6.4±2.1

Values are Mean±S.D. and expressed in the relative % of total contents of VLDL fraction.

Superscript a or b : Values with different letter were significantly different at p<0.05.

FC : Free cholesterol CE : Cholesteryl ester PL : Phospholipid PR : Protein

Table 7. Comparison of apoprotein composition in VLDL fraction

Parameters	SFA(5) (BT)	n6(10) (CO-I + CO-II)	n3(10) (PO + FO)
Apo C	14.0±7.3	14.8±4.5	18.5±10.8
Apo A-I	24.0±4.1	25.0±6.1	26.1±9.6
Apo E	23.6±2.8	25.7±15.1	28.0±7.0
Apo A-IV	4.5±2.0	5.1±2.9	2.5±1.1
Apo B	36.6±9.0	32.0±16.0	38.0±9.0

Values are Mean±SD and expressed as the relative % of total apoproteins.

() : Number of pooled samples

Table 8. Comparison of the effect of n6 and n3 PUFA on lipogenic enzyme activities in liver cytosol of rats

Parameters	SFA (BT)	n6 (CO-I + CO-II)	n3 (PO + FO)
G6PDH	25.8±4.7 ^a (9)	23.4±6.3 ^a (20)	17.4±5.7 ^b (17)
6PGDH	39.0±15.0 (10)	34.1±12.3 (20)	29.1±9.5 (17)
Malic Enzyme	2.0±1.3 (10)	1.4±0.7 (19)	1.3±0.9 (20)

() : Number of rats

Values are Mean±S.D. and expressed as specific activity in μmole NADPH/min/mg protein.

Superscript a or b : Values with different letter were significantly different at p<0.05.

G6PDH : Glucose 6-phosphate dehydrogenase

6PGDH : 6-Phosphogluconate dehydrogenase

VLDL로 TG의 유출이 저하된다고 하였으며, 지방산 합성의 감소와 함께 간의 fatty acid oxidation과 ketogenesis가 증가되며 n3계 지방산으로 구성된 VLDL은 LPL 효소의 기질로서 더 잘 이용되어 말초조직이나 간에서 더 빨리 유입됨으로써 VLDL의 clearance가 증가된다고 하였다. 본

연구에서 n3계 LL와 EPA에 의해 VLDL의 TG(%) 가 감소되었는데 VLDL-protein(%)은 유의성있게 증가되었지만 VLDL을 운반하는 ApoB의 합성에서 변화가 없었다(Table 6, 7). Table 8에서와 같이 다시 n6 와 n3 PUFA에 의한 영향을 검토해보면 lipogenic enzyme의 감소로 간의 TG 합성이 저

고당질 식이시 n6와 fatty acids의 혈장지질 저하효과

하되었고 따라서 혈액으로 유출되는 VLDL-TG (%)가 감소된 것이라 사려된다. Sanders 등⁵⁰⁾은 고당질식이와 고지방식이시 fish oil은 혈청과 VLDL의 TG를 저하시키며 이는 정상인보다 hypertriglyceridemia 환자에서 더욱 효과적이었다고 하였다. VLDL-Chol(%)은 식이로 투여한 지방산 간에 유의성 있는 큰 차이가 없었으나 VLDL-PL (%)는 PO군과 FO군에서 유의성있게 증가되었다.

결 론

본 연구에서는 생후 17주된 Sprague Dawley종의 수컷쥐 100마리에게 고당질-저지방식이(지방 10 % Cal, 당질 70 % Cal)를 투여했을 때 n6 LA, n3 LL와 n3 EPA와 DHA 가 혈장 지질조성에 미치는 영향을 관찰하였다.

1) Plasma Chol 함량은 BT군에 비하여 n6 LA의 첨가에 의해서 증가된 반면, n3 LL와 EPA+DHA에 의해서는 감소되었으며 plasma Chol 저하능력은 EPA가 가장 효과적이었다.

2) HDL-Chol 함량은 BT군에 비하여 n6 LA에 의해 증가되었으나 n3 LL와 EPA+DHA에 의해서 감소되었다.

3) Plasma TG 함량은 BT군에 비하여 n6 LA 첨가에 의해서 약간 낮추어진 경향이었으나 n3 LL와 EPA+DHA에 의해서는 유의성 있게 감소되었으며, 간의 lipogenic enzyme 과 TG 함량이 감소되었다. 그러나 n6 LA는 간의 지방산합성에 영향을 미치지 않았다. Plasma TG의 감소능력은 n6 LA에 비하여 n3 LL와 EPA+DHA에 의해 더욱 크게 나타났다.

4) VLDL의 TG 함량(%)은 n3 LL와 EPA+DHA에 의해서 감소된 반면에 protein 양(%)과 PL 양(%)은 증가되었다. 그러나 VLDL의 apo B 함량(%)은 n3 PUFA에 의해 변화가 없었다.

총괄적으로 혈장지질을 저하하는 능력은 n3 EPA+DHA > n3 LL > n6 LA의 순이었으며, n3 PUFA에 의해서는 간에서 lipogenic enzyme의 활성이 감소되어 TG 합성이 낮아졌고, 따라서 pla-

sma의 VLDL로 TG 유출이 감소되어 plasma TG 수준이 더 효과적으로 감소되었다고 사려된다.

Literature cited

- 1) 경제기획원 조사 통계국. 1985년도 한국인 사망 원인 통계. 한국통계연보, 1986
- 2) Keys AO, Mickelson EVO, Miller ER, Todd RL. Concentration of cholesterol in blood serum of normal man and its relationship to age. *J Clin Invest* 29 : 1347-1353, 1950
- 3) Kannel WB, Castelli WP, Gordon J, McNarama PM. Serum cholesterol, lipoproteins and the risk of coronary heart disease. *Ann Int Med* 74 : 1-12, 1971
- 4) McGandy RB, Hegsted DM, Stare FJ. Dietary fats, carbohydrate and atherosclerotic vascular disease. *N Engl J Med* 227 : 417-425, 1967
- 5) Paul R, Ramesha CS, Ganguly J. On the mechanism of hypocholesterolemic effects of polyunsaturated lipid. *Adv Lipid Res* 17 : 155-171, 1980
- 6) Kramer FB, Greenfield M, Tobey TA, Reaven GM. Effect of moderate increase in dietary polyunsaturated : saturated fat on plasma triglyceride and cholesterol levels in man. *Br J Nutr* 47 : 259-268, 1982
- 7) Kuusi T, Ehnholm C, Huttunen JK, Kostianinen E, Pietinen P, Leini U, Vusitalo V, Nikari T, Iocono JM, Puska P. Concentration and composition of serum lipoproteins during a low fat diet at two levels of polyunsaturated fat. *J Lipid Res* 26 : 360-367, 1985
- 8) Budowski P. Review : Nutritional effect of w3 polyunsaturated fatty acids. *Isr J Med Sci* 17 : 230-231, 1981
- 9) Fish oils reduce postprandial lipemia. *Nutr Rev* 47 : 211-213, 1989
- 10) Bang HO, Dyerberg J. Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic West Coast Eskimos. *Acta Med Scand* 192 : 85-94, 1972
- 11) Kagawa Y, Nichizawa M, Suzuki M. Eicosapolyenoic acid serum lipids of Japanese islanders with low incidence of cardiovascular diseases. *J Nutr Sci Vitaminol* 28 : 441-453, 1982

- 12) Rona RJ, Angelico F, Antonini R, Arca M, Brenci Q, Ben MD, Gedda L, Hayward D, Heller RF, Lewis B, Montali A, Pandozic, Ricci G, Urbinati GC. Plasma cholesterol response to a change in dietary fat intake : A collaborative twin study. *J Chron Dis* 38 : 927-934, 1985
- 13) Han SH, Park HS. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein and lipid composition in human subjects. *Korean J Nutr* 21(1) : 61-74, 1988
- 14) Sacks FM, Handysides GH, Marais GE, Rosner B, Kass EH. Effects of a low fat diet on plasma lipoprotein levels. *Arch Intern Med* 146 : 1573-1577, 1986
- 15) Geller BL, Winge DR. Subcellular distribution of superoxide dismutase in rat liver. *Methods in Enzymology* 105 : 114-130, 1984
- 16) Burnstein M, Scholnick HR, Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Nutr Res* 11 : 583-586, 1970
- 17) Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497-509, 1957
- 18) McDougal PB, Farmer HS. A Fluorometric method for total serum cholesterol. *J Lab Clin Med* 50 : 485-488, 1957
- 19) Fletcher MJ. A colorimetric method for estimating serum triglyceride. *Clin Chem Acta* 22 : 393-398, 1968
- 20) Hatch FT, Lees RS. Practical methods for plasma lipoprotein analysis. *Adv in Lipid Res* 6 : 1-68, 1968
- 21) Fiske CH, SubbaRow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66 : 375-400, 1925
- 22) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RT. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 23) Bersot TP, Brown WV, Levy RI, Windmueller HG, Fredrikson DS, LeQuire VS. Further characterization of the apoproteins of rat plasma lipoproteins. *Biochem* 9 : 3427-3433, 1970
- 24) Hames BD. Gel electrophoresis of proteins-a practical approach, edited by Hames BD and Rickwood pp 1-60, IRL press, 1981
- 25) Glook GE, McLean P. Further studies on the properties and assay of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochem* 55 : 400-408, 1953
- 26) O'choa S. "Malic" enzyme. *Methods in Enzymology* 1 : 739-753, 1957
- 27) Garg ML, Sebokova E, Wierzbicki A, Thomson ABR, Clandinin MT. Differential effects of dietary linoleic acid and α -linolenic acid on lipid metabolism in rat tissues. *Lipids* 23 : 847-852, 1988
- 28) Nordoy YA, Davenas E, Ciavatti M, Renaud S. Effect of dietary (n-3) fatty acids on platelet function and lipid metabolism in rats. *Biochim Biophys Acta* 833 : 491-500, 1985
- 29) Grundy SM, Ahrens EH. The effects of unsaturated dietary fats on absorption, excretion, synthesis and distribution of cholesterol in man. *J Clin Invest* 49 : 1135-1152, 1970
- 30) Peifer JJ. Hypocholesterolemic effects induced in the rat by specific types of fatty acid unsaturation. *J Nutr* 88 : 351-358, 1988
- 31) Hegsted BB, McArdle RB, Myers MI, Stare FJ. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 17 : 218-289, 1965
- 32) van Gent CM, Luten JB, Brongseest-Schout HC, Ruiter A. Effect on serum lipid levels of w-3 fatty acids of ingesting fish oil concentrate. *The Lancet* 8 : 1249-1250, 1979
- 33) Yamazaki RK, Shen T, Schade B. A diet rich in n-3 fatty acids increases peroxisomal β -oxidation activity and lowers plasma triacylglycerols without inhibiting glutathione dependent detoxification activities in the rat liver. *Biochem Biophys Acta* 920 : 62-67, 1987
- 34) Balasubramanian S, Simon LA, Chang S, Hickie JB. Reduction in plasma cholesterol and increased in biliary cholesterol by a diet rich in n-3 fatty acids in the rat. *J Lipid Res* 26 : 684-689, 1985
- 35) Johnson MR, Mathur SN, Coffman C, Specter AA. Effect of dietary fat unsaturation and triglyceride and cholesterol load on lipid absorption in

고당질 식이시 n6와 fatty acids의 혈장지질 저하효과

- the rat. *Atherosclerosis* 46 :181-194, 1983
- 36) Harris WS, Connor WE, McMurry MP. The comparative reduction of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fatty acids : salmon oil versus vegetable oils. *Metabolism* 32 : 179-184, 1983
- 37) von Lossenzy TO, Ruiter A, Brongeest-Schout HC, Van Gent CM and Hermus RJ. The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 31 :1340-1346, 1978
- 38) Park HS. Effect of dietary fat level and p/s ratio on HDL-chol, total cholesterol and triglyceride in plasma and selected tissues of rats. *Korean J Nutr* 15 :47-53, 1983
- 39) Kobatake Y, Hirahara F, Innami S, Nishide E. Dietary effect of w3 type polyunsaturated fatty acids on serum and liver lipid levels in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 29 :11-21, 1983
- 40) Hartog JM, Verdow PD, Klompe M, Lamers MJ. Dietary mackerel oil in pigs : effect on plasma lipids, cardiac sarcolemmal phospholipids and cardiovascular parameters. *J Nutr* 117 :1371-1378, 1987
- 41) Sinclair AJ, O'Dea K, Dunstan G, Ireland PD, Niall M. Effect on plasma lipids and fatty acid composition of very low fat diets enriched with fish or kangaroo meat. *Lipids* 22 :523-529, 1982
- 42) Jackson RL, Kashyap M, Barnhart RL, Allen C, Hogg E, Glueck CJ. Influence of polyunsaturated and saturated fats on plasma lipids and lipoproteins in man. *Am J Clin Nutr* 39 :589-597, 1984
- 43) Haug A, Hostmark AJ. Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. *J Nutr* 117 :1011-1017, 1987
- 44) Iritani N, Inoguchi K, Endo M, Fukuda E, Morita M. Identification of shellfish fatty acids and their effects on lipogenic enzymes. *Biochem Biophys Acta* 618 :378-382, 1980
- 45) Nossen JO, Rustan AC, Gloppestad SH, Malbakkken, Drevon CA. Eicosapentaenoic acid inhibits synthesis and secretion of triglycerides by cultured rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 879 :56-65, 1986
- 46) Harris WS, Conner WE, Inkeles SB, Illingworth DR. Omega 3 fatty acids prevent carbohydrate-induced hypertriglyceridemia. *Metabolism* 33 : 1016-1019, 1984
- 47) Yang YT, Williams MA. Comparison of C18-, C20- and C22- unsaturated fatty acids in reducing fatty acid synthesis in isolated rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 531 :133-140, 1978
- 48) Phillipson BE, Harris WS, Conner WE. Reduction of plasma lipids and lipoproteins in hyperlipidemic patients by dietary n-3 fatty acids. *Clin Res* 29 :628A, 1981
- 49) Nestel PJ, Conner WE, Reardon MR, Connor S, Wong S, Boston R. Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. *J Clin Invest* 74 :82-89, 1984
- 50) Sanders TAB, Sullivan DR, Reeve J, Thomson GR. Triglyceride lowering effect of marine polyunsaturates in patients with hypertriglyceridemia. *Arteriosclerosis* 5 :459-465, 1985