J. Korean Soc. Food Nutr.
21(5), 490 ~ 495(1992)

한국영양식량학회지

Vitamin E와 콜레스테롤 급이가 혈장 Lipoprotein들의 지질조성에 미치는 영향

정재우 · 김성완†

강원대학교 자연과학대학 생화학과

Effects of Vitamin E and Cholesterol Feeding on the Lipid Composition of the Plasma Lipoproteins

Jae-Woo Chung and Sung-Wan Kim†

Dept. of Biochemistry, College of Natural Science, Kangweon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract

The effects of high levels of vitamin E and cholesterol feeding on the lipid composition of the plasma lipoproteins were tested between 4 experimental groups. The concentrations of vitamin E and cholesterol in the plasma lipoproteins were significantly increased with the feedings. But the concentrations of cholesterol and various lipid fractions showed significant low levels on the vitamin E feeding group, which vitamin E was fed after the cholesterol diet. Vitamin E showed the hypocholesterolemic effect when it was fed after the high cholesterol containing diet. But, vitamin E was less effective to decrease the content of cholesterol on the diet which contained the both vitamin E and 2% cholesterol. It also showed that vitamin E could stimulate the absorption of cholesterol and lipid when the both dietary factors were simultaneously fed. The vitamin E feeding also resulted in increase of the cholesterol concentration in HDL/LDL ratios.

Key words : vitamin E, cholesterol, lipoprotein, hypocholesterolemic, hypolipidemic, HDL/LDL ratios

서 론

혈장내 lipoprotein중 chylomicron과 VLDL은 혈장 triglyceride의 주된 운반체인 반면, 혈장 콜레스테롤의 대부분은 LDL과 HDL에 의하여 운반되는 것으로 알려져 있다. 그러나 혈장내 콜레스테롤의 운반에서 LDL에 반해 HDL은 말초조직으로부터 간으로의 주된 운반체로서 HDL의 콜레스테롤농도는 동맥경화 및 심장혈관장애의 발생과 역수 관계에 있음이 알려져 있다[1-4]. 그러므로 현대질병중 문제가 되고 있는 혈액순환계 질병의 예방 및 치료를 위해 HDL과 LDL의 콜레스테롤 상관비를 높일 수 있는 식이성분을 규명하는데에 많은 연구가 되어 왔다. 이러한 연구는 식이섬유[5], 미네랄[6], 비타민[7] 등을 대상으로 발표되었으며 최근에는 특히 생선유에 함유된 다불포화지방산중 ω-3 계열의 eicosapentaenoic acid (20 : 5)과 docosahexaenoic acid (22 : 6)의 HDL / LDL 상관비의 상승효과에 많은 관심이 집중되고 있다[8,9].

지금까지 알려진 비타민 E에 관한 연구는 본연의 항산화작용에 따른 항독성효과와 함께 세포막지질의 구성성분으로서 비타민 E의 세포막 또는 lipoprotein지질조성에 미칠수 있는 영향은 기타의 지질성분들처럼 하

†To whom all correspondence should be addressed

나의 주요인자로서 작용될수 있음이 충분히 사료되나 이에 대한 효과를 단정키 위해서는 더 많은 연구들이 요구되고 있다.

이에 대한 몇가지 연구들에 의하면 혈장내 비타민 E 농도의 lipoprotein들의 지질 조성 및 콜레스테롤농도 간에는 상관관계가 있음이 보고되었으며[12], 현대 성인병중 동맥경화를 포함한 여러가지 혈관장애의 예방 및 치료에 효과가 있다고 보고되어 있다[13]. London 등[14]은 비타민 E에 의한 LDL의 지질조성중 ester화된 콜레스테롤의 감소에 따른 free콜레스테롤의 증가를 보고하였다.

본 실험에서는 실험쥐를 대상으로 콜레스테롤 섭취 전후의 혈장내 비타민 E 농도가 혈장 및 lipoprotein의 지질과 콜레스테롤 조성에 미치는 효과를 밝히고자 하였다. 이를 위하여 기초식이에 비타민 E 비급이군 및 고농도의 비타민 E (700IU/ kg diet) 급이군과 고농도의 콜레스테롤 (2%/ kg diet) 급이군을 서로 비교하여 혈장과 혈장 lipoprotein내 콜레스테롤, 인지질, 중성지질 및 총지질들의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험 식이에 사용한 식이성분들은 ICN Biochemical 제품을 사용하였고, corn oil은 콜레스테롤이 포함되어 있지 않은 시판품(해표식용유 주식회사)을 사용하였다.

인지질, 중성지질, 총지질측정 kit시약은 Wako 회사 제품을, DL-α-tocopherylacetate는 Sigma 회사제품을 사용하였다.

실험식이 및 실험군

평균체중 250±10.5g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 대종실험동물회사에서 공급 받아 1주간 일반고형사료로 적응시킨후 난괴법에 의하여 4군(n=12)으로 나눈후 3주간 실험식이로 사육하였다. 실험을 위한 기초식이는 American Institute of Nutrition(AIN)의 실험동물 식이조성[15]에 따라 혼합조제하였다. 기초식이에 대한 4개 실험군들의 비타민 E와 콜레스테롤 첨가는 Table 1과 같다.

각 실험식이의 비타민 E와 콜레스테롤의 첨가는 총 3주간의 식이기간중 2주후에 서로 교환하였다. 이중 1군은 처음 2주간 비타민 E 무첨가의 기초식이 급여후

Table 1. Composition of basal and experimental diets

(%)

	Basal diet	Vit. E diet	Cholesterol diet
Casein	20	20	24.2
Sucrose	50	50	50
Starch	15	15	8.5
Corn oil	5	5	5
Mineral mixture*	3.5	3.5	3
Vitamin mixture**	1 (Vit. E free)	1 (Vit. E 700IU/kg)	1 (Vit. E free)
Alphacel	5	5	5.8
Methionine	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	-	-	2
Total(%)	100.0	100.0	100.0

*AIN-76™[5]

**Vitamin Eand cholesterol feeding are mixtures of the basic feedingand each needed component,DL-α-tocopherylacetate was used for vitamin E source

2% 콜레스테롤첨가식이로 교환하였으며, 2군과 3군은 700IU/kg 비타민 E 첨가 및 2% 콜레스테롤 첨가 식이 2주후 식이를 서로 교환하였다. 마지막으로 4군은 2주간 700IU/kg 비타민 E 식이에 2% 콜레스테롤을 첨가하였다. 각각의 실험식이와 물은 *ad libitum* 으로 섭취시켰으며 식이섭취량과 체중증가량은 2일에 한번씩 일정한 시간에 측정하였다.

실험동물 처리

실험사육 최종일은 실험전 12시간 절식시킨 후 각 군마다 6마리씩 에테르로 마취시킨 후 복부대정맥으로부터 혈액을 4% EDTA (1:50 v/v)를 첨가한 시험채혈하였다. 채취된 혈액중 일부는 lipoprotein분리를 위해 같은 군에 속하는 2마리의 혈액을 함께 pool하였고, 나머지 혈액은 즉시 4°C, 2,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻어진 혈장은 즉시 -80°C의 deep freezer에서 분석시까지 보관하였다.

혈장 lipoprotein들은 42,000 rpm의 초원심분리방법[16]에 의하여 VLDL(d = 0.93~1.006 g / ml), LDL (d = 1.019~1.063 g / ml)과 HDL (d = 1.063~1,210 g / ml)층으로 분리하여 얻었다.

분석방법

혈장과 혈장lipoprotein에서의 콜레스테롤 측정은 cholesterol oxidase-*p*-chlorophenol법[17]을 이용한 kit 시약 (Wako Pure Chem.)을 사용하였으며, 중성지질

의 측정은 동일회사 제품으로 glycerol-3-phosphate oxidase의 발색반응[18]을 이용하여 분석하였고, 인지질 측정은 choline oxidase phenol법[19]을 이용한 kit시약으로 정량하였다. 총 지질함량은 sulfo-phospho-vanillin 반응을 원리로 한 Frings[20]의 방법으로 비색정량하였다. 비타민 E(DL-α-tocopherylacetate)측정은 HPLC(Shimadzu LC-94)를 이용하여 methanol : water (98 : 2)의 mobile phase로서 파장 280nm에서 측정하였다.

모든 시료들의 단백질 측정은 Lowry방법[21]에 의해 측정하였다.

측정자료의 통계처리

각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test에 의하여 $p<0.05$(*), $p<0.01$(**), $p<0.001$(***)로 표시하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 충분한 비타민 E 급이가 혈장 및 혈장 lipoprotein의 지질조성 및 콜레스테롤 농도에 미치는 효과를 조사함에 목적으로 두었다. 이러한 비타민 E의 효과는 지질의 섭취와 시간적인 차이에서 생길 수 있다는 전제하에 비타민 E의 첨가와 콜레스테롤 첨가식이 및 무첨가 식이의 급이순서를 일정기간 후 서로 대체시킴으로서 조사하였다.

실험기간중 식이의 평균섭취량과 체중의 변화는 실험군간에 차이를 보이지 않았다.

혈장 lipoprotein의 콜레스테롤농도에 대한 비타민 E의 효과

전체적으로 4군으로 나누어 총 3주간의 실험식이 급이 기간중 2주후 실험식이를 상호대체시켜서 조사한 혈장 lipoprotein내 지질조성 및 콜레스테롤의 함량은 Table 2에 나타내었다.

혈장 lipoprotein내 콜레스테롤함량은 전체 4군중 비타민 E 비급이군(1군)과 비타민 E와 콜레스테롤을 동시에 급이한 군(4군)이 2군과 3군에 비해 비교적으로 높은 경향을 보였다(Table 2). 비타민 E와 콜레스테롤의 급이순서를 서로 대체한 2군과 3군에서는 비타민 E를 비급이한 1군에 비해서는 모두 낮은 콜레스테롤치를 보였으나 특히 비타민 E를 나중에 급이한 3군에서 큰 유의성을 보였다(VLDL : G_1/G_3**, LDL : G_1/G_3**, HDL : G_1/G_3*).

3군내의 비교에서 콜레스테롤 급이후 비타민 E의 급이는 모든 lipoprotein에서 높아진 콜레스테롤의 하강효과를 나타내었다. 이러한 비타민 E의 효과는 Peterson 등[22]의 연구결과와 같이 혈장 및 lipoprotein내의 지질과 콜레스테롤에 대한 하강작용으로 해석된다. HDL- 과 LDL-콜레스테롤의 상관비에 대한 비타민 E 효과는 아직 논란이 되고있으나[23] 본 실험의 1군과 2군의 결과에서 보면 콜레스테롤을 나중에 급이했을때 상관비는 1군의 경우에 비타민 E의 비급이시 0.83인데 반해 충분한 비타민 E의 존재는 1.08로 정상유지되었다. 그러나 비타민 E와 콜레스테롤을 동시에 급이한 4군에서의 모든 lipoprotein fraction에서는, vitamin E만 투여시킨 3군과 달리, 콜레스테롤치가 높아지는 결과를 보였다. 이 결과로서 vitamin E가 단독으로 사용되

Table 2. Effect of vitamin E on the cholesterol concentration in plasma lipoprotein fractions

Group & diet order		VLDL	LDL	HDL	HDL/LDL ratio
Group 1	Vit. E free[a]	49.1±1.1*	52.2±3.2*	46.8±1.7*	0.89
	Cholesterol 2%[b]	55.5±4.2**	77.5±2.7*	64.1±2.3*	0.83
Group 2	Vit. E 700IU/kg	35.6±0.5*	44.5±0.6*	40.0±0.6*	0.89
	Cholesterol 2%	46.2±0.8**	62.6±1.3**	67.9±1.2*	1.08
Group 3	Cholesterol 2%	88.5±2.9*	93.2±1.9*	71.6±4.1*	0.76
	Vit. E 700IU/kg	51.8±3.8**	52.1±1.2**	43.7±4.6*	0.84
Group 4	Vit. E free	62.8±1.6*	62.2±2.2*	45.8±4.4*	0.73
	Vit. E 700IU/kg + Cholesterol 2%	85.7±3.5*	88.3±4.5*	71.9±2.2*	0.81

* Mean values are S.E.M.(n=6 per group) and expressed in mg/dl

[a] means 2 weeks prefeeding during the total 3 weeks

[b] means the postfeeding during the last 1 week

Table 3. The relative of cholesterol- and vitamin E-concentration in lipoprotein fractions

Group	VLDL	*(Chol/Vit.E)	LDL	(Chol/Vit.E)	LDL	(Chol/Vit.E)
Group 1	55.49 / 6.83	(8.1)	77.49 / 5.53	(14.0)	64.09 / 4.93	(13.0)
Group 2	46.15 / 30.74	(1.5)	62.64 / 18.23	(3.4)	67.85 / 24.85	(2.7)
Group 3	51.77 / 32.05	(1.6)	52.06 / 25.43	(2.0)	43.74 / 28.78	(1.5)
Group 4	85.74 / 27.83	(3.1)	88.32 / 21.25	(4.2)	74.87 / 23.88	(3.1)

*Mean values are the average of 6 samples and expressed in mg cholesterol/μg vitamin E per dl

Table 4. Effect of vitamin E on triglyceride, phospolipid and total lipid concentration in lipoprotein fractions

Group		Triglyceride	Phospholipid	Total lipid
Group 1				
Vit. E free[1]	VLDL	114.8 ± 8.6*	33.7 ± 0.9*	522.3 ± 23.7
	LDL	37.2 ± 2.4*	41.6 ± 3.0	337.6 ± 19.4*
	HDL	25.5 ± 2.4	73.3 ± 6.5*	156.6 ± 21.7**
Cholesterol 2%[2]	VLDL	125.4 ±17.8*	56.1 ± 9.8*	595.6 ± 29.3
	LDL	47.0 ± 2.0*	31.6 ± 0.4	381.5 ± 11.6*
	HDL	29.9 ± 1.3	60.1 ± 7.5*	88.4 ± 18.5**
Group 2				
Vit. E 700IU/kg	VLDL	102.6 ±12.4**	39.6 ± 1.2**	503.5 ± 17.2*
	LDL	35.8 ± 8.8	40.5 ± 3.5	257.3 ± 2.1
	HDL	33.7 ± 3.5	85.6 ± 4.4*	109.1 ± 12.2**
Cholesterol 2%	VLDL	136.2 ±18.3**	65.5 ± 1.3**	571.1 ± 21.7*
	LDL	37.1 ± 4.6	45.6 ± 0.5	248.9 ± 10.3
	HDL	35.7 ± 2.5	67.6 ± 3.6*	168.1 ± 5.3**
Group 3				
Cholesterol 2%	VLDL	127.7 ± 2.6**	64.1 ± 1.3*	596.2 ± 14.9*
	LDL	48.6 ± 0.8*	52.4 ± 1.5**	380.7 ± 4.3**
	HDL	26.9 ± 1.4*	58.7 ± 1.5*	110.7 ± 4.3*
Vit. E 700IU/kg	VLDL	101.0 ± 2.5**	52.5 ± 1.4*	501.0 ± 13.3*
	LDL	36.3 ± 1.4*	36.6 ± 1.3**	215.6 ± 4.0**
	HDL	21.1 ± 1.2*	53.4 ± 0.8*	87.2 ± 9.2*
Group 4				
Vit. E free	VLDL	112.8 ± 4.1*	40.2 ± 1.8*	539.6 ± 4.7*
	LDL	45.0 ± 1.9	375.6 ± 3.2**	375.6 ± 3.2
	HDL	25.0 ± 2.5	72.4 ± 1.6	123.9 ± 12.8
Vit. E 700IU/kg + Cholesterol 2%	VLDL	126.4 ± 0.9*	63.8 ± 2.2*	586.4 ± 3.3*
	LDL	46.0 ± 2.3	51.3 ± 0.8**	387.3 ± 16.0
	HDL	25.8 ± 1.3	76.9 ± 1.2	126.0 ± 12.3

*Mean values are S.E.M.(n=6 per group) and expressed in mg/dl
[1]means 2 weeks prefeeding during the total 3 weeks
[2]means the postfeeding during the last 1 week

는 경우(3군)에는 콜레스테롤치를 감소시키는 효과를 보이는 반면에, 비타민 E를 2%의 높은 콜레스테롤식이와 동시에 투여되는 경우(4군)에 있어서는 콜레스테롤감소 효과를 보이지 않고, 도리어 증가되는 결과를 보였다. 이러한 원인으로서 비타민 E가 지용성인 성질을 가지고 있어 콜레스테롤의 흡수를 촉진시킨것으로 사료된다.

이와 같은 비타민 E의 콜레스테롤 저하효과를 더욱 구체적으로 알아보기 위하여 Table 3에 혈장 lipoprotein내 콜레스테롤과 비타민 E의 농도를 서로 비교하였다.

Table 3의 결과는 실험군간에 동일량의 콜레스테롤 급이는 낮은 혈장농도의 비타민 E에 대해 높은 콜레스테롤비(G_1)를 나타낸 반면, 비타민 E급이군에서는 콜레스테롤비가 상대적으로 매우 낮았다.

혈장 lipoprotein의 지질조성에 대한 비타민 E의 효과

혈장 lipoprotein내 지질조성의 변화에 대한 비타민 E의 급이는 콜레스테롤의 경우와 매우 유사한 결과를 보였다(Table 4). 역시 비타민 E의 비급이시보다는 콜레스테롤 급이전후의 충분한 혈장내 비타민 E의 존재에 의하여 2군과 3군 모두에서 중성지질, 인지질, 총지질이 낮아졌다. 비타민 E와 콜레스테롤의 급이순서를 바꾼 2군과 3군의 비교에서도 콜레스테롤의 경우(Table 3)와 유사하게 비타민 E의 후급이가 더 높은 효과를 나타내었다. 혈장 및 조직내 지질의 하강효과 (hypolipidemic effect)에 대한 비타민 E의 효과는 이미 많은 연구에서 조사된 바 있다. 이러한 효과에 대한 기작은 아직 불분명하나 Irritan 등[24]은 비타민 E가 지방산 합성의 조절효소인 acetyl CoA carboxylase의 활성을 저하시킨다고 보고하였다. 또한 Goodnight 등[25]과 Sanders[26]에 의하면 이러한 비타민 E의 효과는 lipoprotein lipase에 의한 VLDL 및 LDL의 보다 빠른 분해의 촉진에 기인한다고 보고하였다.

요 약

본 실험에서는 혈장 lipoprotein의 콜레스테롤 및 지질에 대한 비타민 E의 하강효과를 비타민 E 비급이 및 비타민 E 급이(700IU/kg diet)와 콜레스테롤 급이(2%/kg diet)의 순서를 바꾼 경우와 양자를 동시에 급이한 4개 실험군으로 나누어 비교분석하였다. 비타민 E의 콜레스테롤 및 지질하강효과는 비타민 E 급이시 높았으며 특히, 콜레스테롤 급이후에 따른 비타민 E의 급이효과가 더욱 뚜렷하였다. 이러한 효과는 혈장 lipoprotein내 콜레스테롤과 비타민 E의 농도비를 비교함으로서도 분명하였다. 그러나 콜레스테롤과 비타민 E의 동시급이인 경우에는 콜레스테롤 흡수에 대한 비타민 E의 상승효과를 보였다. HDL/LDL 콜레스테롤의 상관비에 대한 비타민 E의 효과 역시 충분한 비타민 E의 존재하에서 높아짐을 보였다.

문 헌

1. Gordon, T., Castelli, W., Hjortland, M., Kannel, W. and Dawber, T. : High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am. J. Med.*, **62**, 707(1977)
2. Park, H. S. and Choi, K. H. : Effects of ω-3 polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein and lipid composition in human subjects. *Korean J. Nutr.*, **21** (1), 61(1988)
3. Hermann, W. J., Ward, K. and Faucett, J. : The effect of tocopherol on high density lipoprotein cholesterol. *Am. J. Clin. Pathol.*, **72**, 848(1979)
4. Wood, P. D. and Haskell, W. L. : The effect of exercise on plasma high density lipoproteins. *Lipids*, **14**, 417(1979)
5. Harmuth-Hoene, A. E. and Schelenz, R. : The effect of dietary fiber on mineral absorption in growing rats. *J. Nutr.*, **110**, 1174(1980)
6. Aar, P. J., Fahey, G. C., Ricke, S. C., Allen, S. E. and Berger, L. L. : Effect of dietary fibers on mineral status of chicks. *J. Nutr.*, **113**, 653(1983)
7. Viswanathan, M., Bhakthan, N. M. G. and Rockerbie, R. A. : Effect of dietary supplementation of vitamin E on serum lipids and lipoproteins in rabbits fed a cholesterolemic diet. *Int. J. Vitamin Nutr. Res.*, **49**, 370(1979)
8. Boberg, M., Vessby, B. and Selinus, I. : Effects of dietary supplementation with ω-6 and ω-3 long chain polyunsaturated fatty acids on serum lipoproteins and platelet function in hypertriglyceridemic patients. *Acta. Med. Scand.*, **220**, 153(1986)
9. Kang, J. O. : The effect of fat and oil differently composed of ω-3 and ω-6 polyunsatured fatty acids on lipid metabolism of rats. *J. Kor. Soc. Food. Nutr.*, **18** (3), 307(1989)
10. Vatassery, G. T., Krezowski, A. M. and Eckfeldt, A. M. : Vitamin in concentrations in human blood plasma and plateletes. *Am. J. Clin. Nutr.*, **37**, 102(1983)
11. Haddad, E., Blankenship, J. W. and Register, V. D. : Short term effect of a low fat diet on plasma retinol

and α-tocopherol levels in hyperlipidemic man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **41**, 599(1985)
12. Herman, W. J. : The effects of vitamin E on lipoprotein cholesterol distribution. *Annal. New York Acad. Sci.*, **393**, 467(1982)
13. Chen, L. H., Lisa, S. and Pockett, L. V. : Interaction of dietary vitamin E and protein level or lipid source with serum cholesterol in rats. *J. Nutr.*, **102**, 729 (1972)
14. London, R. S., Manimekalai and Sundaram, G. S. : Arteriosclerotic brain disease. *Atherosclerosis*, **38**, 223(1983)
15. Bieri, J. G., Stoewsand, G. S., Briggs, G. M., Phillips, R. W., Woodard, J. C. and Knapka, J. J. : Report of the American Institution of Nutition Ad Hoc Committee of Standards for Nutritional Studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340(1977)
16. Hatch, E. F. and Lees, R. S. : Practical methods for plasma lipoprotein analysis. *Adv. Lipid Res.*, **6**, 1 (1968)
17. Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W. and Fu, P. C. : Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.*, **20**, 470(1974)
18. Bucolo, G. and David, H. : Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzyme. *Clin. Chem.*, **19**, 476(1973)
19. Takayama, M., Itoh, S., Nagasaki, T. and Tanimizu, I. : A new enzymatic method for determination of serum cholin-containing phospholipids. *Clin. Chim.*, **79**, 93(1977)
20. Frings, C. C. and Dunn, R. T. : A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Clin. Chem.*, **20**, 470 (1974)
21. Lowry, O. H. and Rosebrough, N. J. : Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375(1925)
22. Peterson, J. J. : Hypercholesterolemic effects induced in the rat by specific types of vitamin E. *J. Nutr.*, **88**, 151(1966)
23. Hatman, L. J. and Kayden, H. J. : The failure of alpha-tocopherol supplementation to alter the distribution of lipoprotein cholestrol in normal and hyperlipoproteinemic persons. *Am. J. Clin. Pathol.*, **76**, 122(1981)
24. Irritani, N. and Inoguchi, K. : Identification of shelfish fatty avids and their effects on lipogenic enzymes. *Biochim. Biophys. Acta.*, **618**, 378(1990)
25. Goodnight, S. H. : Polyunsaturated fatty acids hyperlipidemia and athermbosis. *Atherosclerosis*, **2**, 78 (1982)
26. Sanders, T. A. B. : Influence of fish oil supplements on man. *Proc. Nutr. Soc.*, **44**, 391(1985)

(1992년 6월 13일 접수)