

저지방식이와 포화지방 첨가 식이가 BALB/c 마우스의 면역기능에 미치는 영향*

박진순·천종희
인하대학교 가정대학 식품영양학과

Effects of Low Fat Diet and Saturated Fat Supplementation on the Immune Status of BALB/c Mouse

Park Jean-Soon · Chyun Jong-Hee
Department of Food and Nutrition, Inha University, Incheon, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate effects of low fat diet and saturated fat supplementation on the function of the immune system.

Forty male BALB/c mice average-weighting 15g were divided into two dietary groups : 0.7% safflower oil group and 4.3% beef tallow & 0.7% safflower oil group.

Results are as follows :

- 1) Food intake, body weight, organ weight, agglutination test, differential white cell count and histological examination of spleen were not different in two dietary groups during the experimental period.
- 2) Delayed-type hypersensitivity test of the mice fed 4.3% beef tallow & 0.7% safflower oil was significantly higher than that of the mice fed 0.7% safflower oil ($\alpha=0.05$).
- 3) Plaque forming cell was significantly reduced at 10th week compared to 7th week in both groups ($\alpha=0.05$). Although there was no significant difference between two groups, 0.7% safflower oil group showed slightly higher plaque forming cell than 4.3% beef tallow & 0.7% safflower oil group.

KEY WORDS : BALB/c mice · low fat diet · saturated fat diet · plaque forming cell · delayed-type hypersensitivity.

서 론

현대 사회에서는 지방 섭취의 증가와 더불어 각종

채택일 : 1993년 5월 11일

*본 연구는 인하대학교 1991년도 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

성인병의 발생 빈도가 증가하고 있으며, 식이 지방의 양이나 종류를 변화시킴으로서 성인병의 발생을 예방하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 또한 식이 지방과 관련된 체내 면역 기관의 변화에도 관심이 모아지고 있다. 면역 기능과 지방에 관한 연구에서는 결핍되지 않을 정도의 낮은 필

수지방산 공급이 실험 동물의 면역 기능을 증진 시키며¹⁾²⁾ 고지방 식이와 고불포화지방 식이는 실험 동물의 면역기능을 저해시킨다고 보고되었다³⁾. 그러나 지방의 제한이나 포화지방 식이 비율이 높을수록 생체내 면역기능을 증진시킨다고 단정하기에는 아직 이르며 지방의 농도도 중요하지만 n-6/n-3 지방산의 비율, p/s비율 그리고 식이 지방 보다는 체구성 지방의 종류가 더 중요하다는 의견도 제시되고 있다⁷⁾⁸⁾.

본 연구자는 선행 연구를¹⁰⁾ 통해 다량의 불포화 지방 식이 보다는 포화지방 식이가 전체적인 면역 기능에 있어서는 저지방식이와 비슷한 양상을 보임에 관심을 갖게 되었다. 그리하여 여러 연구에서 제시된²⁾⁹⁾ 최저 필수지방산만을 포함하는 저지방 식이와 여기에 포화지방을 첨가한 식이를 사용하여 두 식이가 BALB/c 마우스의 면역기능에 미치는 영향에 관해 연구하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험 식이

실험 식이는 필요한 필수 지방산을 최소한 부족되지 않을 정도로만 공급해 주는 0.7% Safflower oil 식이와(L군)²⁾⁹⁾ 포화지방 첨가군으로 0.7% safflower oil에 4.3% beef tallow를 더 첨가하여 전체 5% 지방 식이로(S군) 만든¹⁰⁾ 두 가지를 사용하였다 (Table 1).

2. 실험 동물 및 실험 방법

실험 동물로는 인하대학교 의과 대학 동물 사육실에서 사육한 생후 30일, 평균 체중 15g인 BALB/c 마우스 수컷 40 마리를 사용하였다. 임의로 20마리씩 두 군으로 나누어 총 10주 동안 각 실험 식이로 사육하였으며 동물 사육실은 17℃ 전후로 일정하게 유지하였고 12시간 light and dark cycle로 조정하였다.

체중과 식이 섭취량은 매일 측정하였다. 식이 지속 후 4주에 4마리, 7주에 8마리, 10주에 8마리를 희생하여 세포 매개성 면역 측정을 위한 지연성

Table 1. Composition of Experimental Diets(% w/w diet).

Ingredients	Group % Fat	L 0.7	S 5
Casein		20	20
DL-Methionine		0.3	0.3
Choline-bitartrate		0.2	0.2
fiber		5	5
Safflower oil ¹⁾		0.7	0.7
Beef tallow ²⁾		-	4.3
Sucrose		66.3	62
Corn Starch		3	3
Vitamin Mix ³⁾		1	1
Mineral Mix ⁴⁾		3.5	3.5
% Kcal from Fat		1.7	12.6

1) Safflower oil : P/S 8.2, SFA 9.10%, PUFA 74.50%¹¹⁾

2) Beef tallow : P/S 0.3, SFA 53%, PUFA 2%¹¹⁾

3) 4) AIN '76²¹⁾

과민반응 검사(delayed-type hypersensitivity test : DTH test)는 4주, 7주, 10주에 하 대유의¹²⁾¹³⁾ 방법을 참고로 하였다. 또한 체액성 면역 기능 측정을 위한 항체생산세포수 검사(plaque forming cell test : PFC test)는 7주와 10주에 Jenme's plaque assay method를 다소 수정하여¹⁰⁾ 실시하였다. DTH test와 PFC test 후 즉시 heart puncture로 채혈하고 각 기관을 떼어내었으며 혈액 응고전에 Wright's stain을 이용하여 백혈구 백분을 계산(differential white cell count : DIF test)을 하였다. 적출한 각 조직의 무게 측정 후 10% neutral formalin 용액에 고정시켰으며 잔여 혈액의 혈청을 분리하여 저장하였다. 양적혈구에 대한 적혈구 응집소가 측정(agglutination test : AGG test)은 저장 혈청을 이용하였으며 정확한 판별을 위해 실험 종료 후 일괄적으로 실시하였다. 비장의 조직 검사는 고정시켜 놓은 비장을 대상으로 세포 조직학적(histological examination of spleen : HIS test) 검사를 실시하였다. 모든 실험 결과는 통계 처리용 program인 STATGRAPHY를 이용하여 Student's t-test 및 ANOVA 분석을 행하였다.

결과 및 고찰

1. 식이 섭취량 및 체중 변화

실험 기간에 따른 체중 변화를 보면 동일 기간내 실험 식이군의 평균 체중이 같은 경향을 나타내었고 식이군 사이에서 유의차는 보이지 않았다 (Fig. 1). 식이군간의 체중과 체중 변화량의 유의차가 없는 것은 각 식이군에서 식이 섭취량의 차이를 다소 보일 뿐 열량 소비량은 비슷하였기 때문으로 사려된다. 이는 전체 열량 소비량에 차이가 없는 경우 체중에 영향을 미치지 않았다는 기존의 연구 결과와 일치하였다¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾.

2. 장기 무게량 측정

일반적으로 생체 면역기능 측정 기준으로 사용되는 간 무게, 비장 계수 및 흉선 계수는 저지방 식이와 저불포화지방 식이시 유의적으로 증가된다

고¹⁰⁾¹⁴⁻¹⁷⁾ 한다. 그러나 본 연구에서 설정한 0.7% Safflower oil 식이군과 0.7% Safflower oil & 4.3% Beef tallow 식이군 사이에는 유의적 차이가 없었다 (Table 2). 즉, 전체 지방 함량이 5%로 높아지고 포화지방 비율이 높을지라도 면역기능에 관여하는 장기 무게량에는 영향을 미치지 않았다. 또한 본 실험에서 사용한 0.7% Safflower 식이군에서는 James 등의¹⁸⁾ 경우와 마찬가지로 동물의 성장 이상이나 피부 질환 등의 필수지방산 결핍 증세를 보이지는 않았다.

3. 양적혈구(SRBC)에 대한 지연성과민반응 검사(DTH test)

양적혈구 항원에 대한 지연성과민반응 검사는 4주째에는 식이군간에 유의차는 없었으나 L군이 높았고, 7주와 10주째에서는 S 식이군이 L 식이군보다 반응이 유의적으로 높았다(Fig. 2). 본 실험에서는 4주 까지의 DTH 반응이 제한 지방 식이

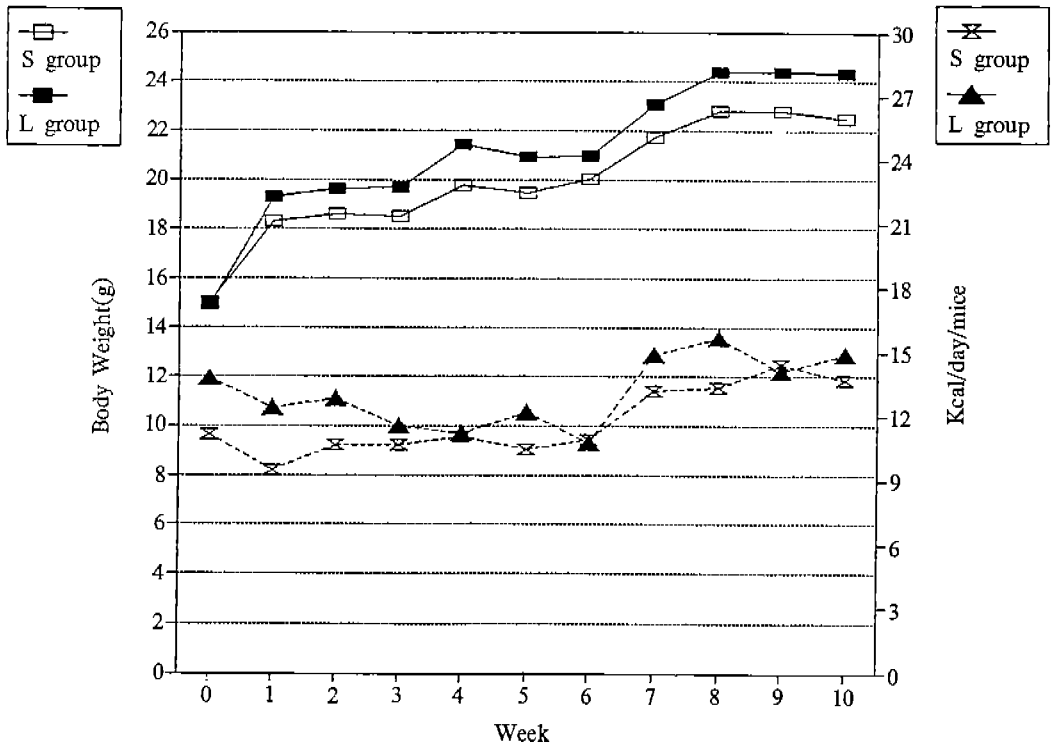


Fig. 1. Mean body weight and calorie intake of BALB/c mice fed experimental diets.

Table 2. Organ weights and indexes of BALB/c mice fed experimental diets.

Organ	Liver W.	SPLEEN W.	SPLEEN	THYMUS W.	THYMUS
Group	Week	(g)	(g)	INDEX ³⁾	INDEX ⁴⁾
L	4	0.98 ± 0.108 ¹⁾²⁾	0.10 ± 0.016 ²⁾	0.63 ± 0.02 ²⁾	0.32 ± 0.05 ²⁾
	7	1.11 ± 0.091	0.11 ± 0.018	0.60 ± 0.06	0.25 ± 0.02
	10	1.20 ± 0.073	0.14 ± 0.013	0.58 ± 0.04	0.27 ± 0.01
S	4	1.04 ± 0.011	0.12 ± 0.027	0.59 ± 0.06	0.28 ± 0.02
	7	1.01 ± 0.059	0.11 ± 0.008	0.61 ± 0.04	0.28 ± 0.01
	10	1.11 ± 0.050	0.14 ± 0.013	0.65 ± 0.06	0.26 ± 0.01

1) mean ± S.D.

2) No significant ($\alpha=0.05$) by ANOVA

3) $\frac{\text{Spleen Weight} \times 100}{\text{Body Weight}}$

4) $\frac{\text{Thymus Weight} \times 100}{\text{Body Weight}}$

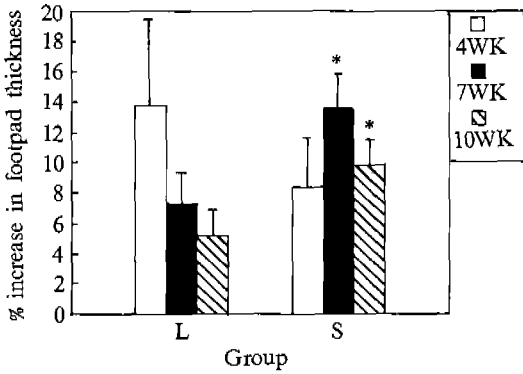


Fig. 2. Delayed type hypersensitivity test to SRBC in BALB/c mice fed experimental diets. * Significantly different among dietary groups at the same week ($\alpha=0.05$)

군인 L 식이군에서 포화지방산을 첨가한 S 식이군보다 높은 경향을 보였다. 이는 전체 총 4주간의 실험을 실시한 Imda⁹⁾ 등의 BALB/c 마우스에 필수 지방산만을 공급한 식이군에서 고지방 식이군보다 DTH가 높게 나타난 결과와 일치하였다. 실험 기간이 길어질수록 L 식이군의 DTH는 포화지방을 첨가한 S 식이군 보다는 낮은 경향을 보여 식이 기간이 길어질수록 L 식이군의 DTH 반응은 현저히 낮아졌다. 즉, 최소한의 저지방 식이가 면역기능에 도움을 줄 수 있을 것이라는 이론을 제시하고 있지만 극도의 지방 제한을 할 경우 일시적으로 초기에만 지연성 반응이 높아질 뿐 7주, 10주로 식이 지속 기간이 길어지면 반응은 점차 감소됨을 볼

Table 3. Plaque Forming Cell test to sheep red blood cells of BALB/c mice fed experimental diets (No of PFC / 10⁶ Spleen cell).

Week	Group L	Group S
7	179.83 ± 21.86 ¹⁾	157.33 ± 15.85
10	93.41 ± 8.69 ²⁾	78.41 ± 11.62 ²⁾

1) mean ± S.D.

2) Significantly different among weeks at the same dietary group ($\alpha=0.05$) by ANOVA

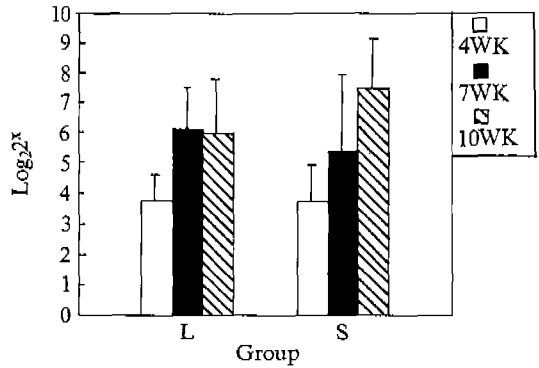


Fig. 3. Antibody response to SRBC in BALB/c mice fed experimental diets.

수 있었다. 한편 포화지방을 첨가한 S 식이군은 7주째의 DTH 반응이 최고였으며 10주째에는 4주째보다는 높았다. 따라서 0.7% 정도의 낮은 불포화지방 식이에 4.3%의 포화지방을 첨가하는 경우 DTH 반응은 전반적으로 높아진다고 볼 수 있겠다.

저지방식이와 면역기능

Table 4. Differential white cell counts of BALB/c mice fed experimental diets(%)

Cell type		NEUTROPHIL		EOSINOPHIL	LYMPHOCYTE	MONOCYTE
Group	Week	BAND	SEGMENT			
L	4	0.5±0.5 ^{1,2)}	11.0±3.4 ²⁾	0.0±0.0 ²⁾	88.5±3.5 ²⁾	0.0±0.0 ²⁾
	7	0.0±0.0	11.7±3.8	0.7±0.4	83.5±4.2	4.0±1.7
	10	0.5±0.2	7.5±1.6	1.2±0.6	89.7±0.8	0.0±0.0
S	4	0.0±0.0	6.5±2.3	0.0±0.0	89.2±2.9	4.2±3.6
	7	0.0±0.0	3.0±0.5	0.2±0.2	93.5±1.2	3.2±1.2
	10	0.0±0.0	5.8±1.2	0.0±0.0	93.8±1.3	0.4±0.4

a) mean±S.D. 2) No significant($\alpha=0.05$) by Student's t-test

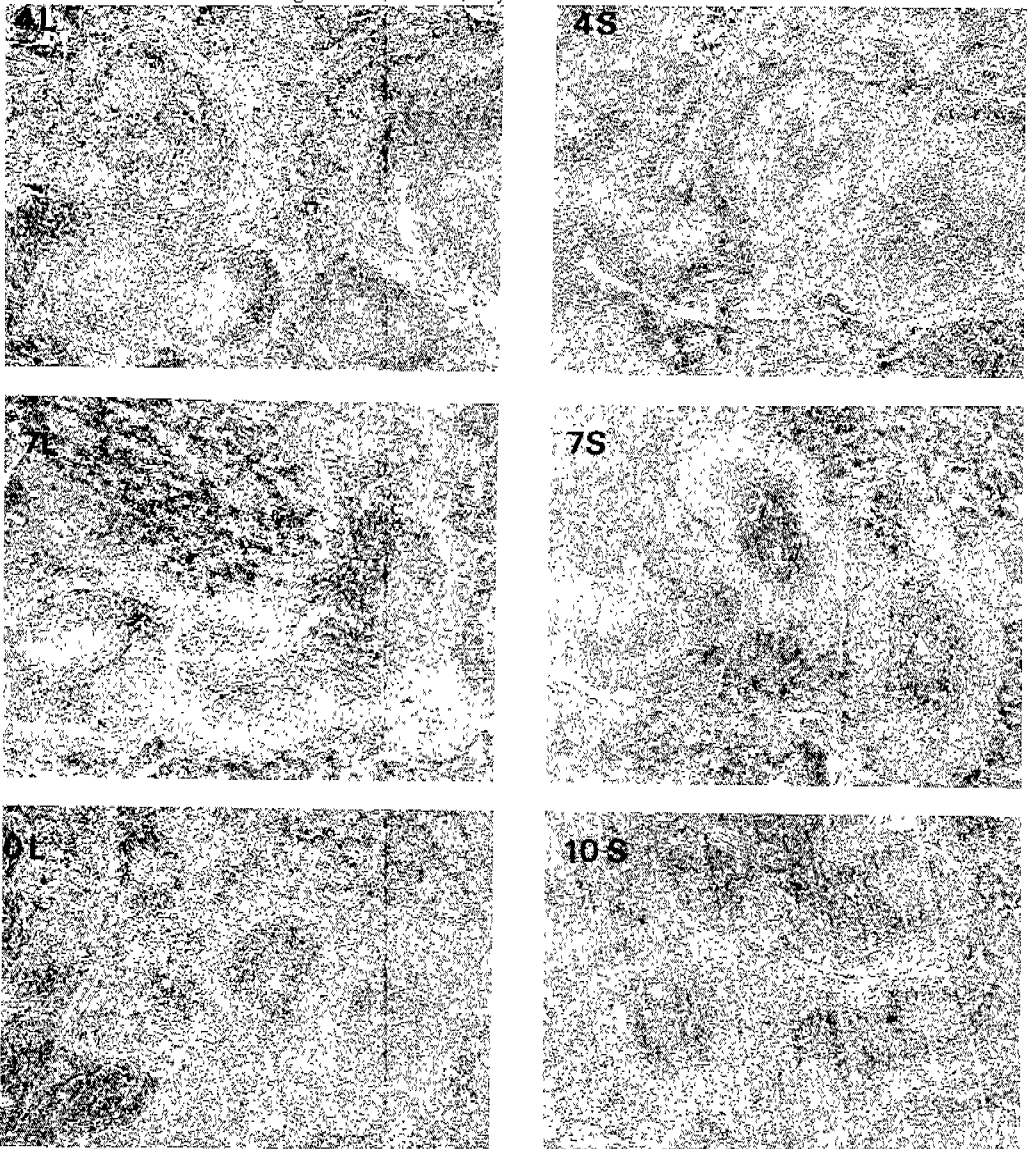


Fig. 4. Normal spleen at 4wk, 7wk, 10wk in BALB/c mice fed experimental diets.

4. 양적혈구(SRBC)에 대한 항체생산세포수

측정(PFC test)

양적혈구에 대한 항체생산세포수 측정 결과는 두 식이군간에 유의차가 없었으며 저지방 식이군이 약간 높은 경향을 보였다(Table 3). S 식이군에 첨가된 4.3% Beef tallow는 항체생산세포수에는 큰 영향을 미치지 않았으며 이는 소량의 필수 지방산 공급으로 정상의 체액성 면역 기능을 유지 할 수 있다는 연구 결과들²⁾¹⁸⁾ 따르고 있다. 각 실험군에서는 10주째에 7주째보다 유의적인 감소가 일어났다. 이는 충분한 지방 식이를 실시하던 BALB/c 마우스의¹⁰⁾ 변화와 같은 결과로서 식이 기간이 지속될수록 생체내 T-helper cell과 B-cell이 감소되어 체액성 면역이 떨어진다는 보고를¹⁹⁾²⁰⁾ 뒷받침하고 있다.

5. 양적혈구(SRBC)에 대한 적혈구 응집소가

측정

양적혈구 항원에 대한 적혈구 응집소가는 두 식이군간에 유의적인 차이는 없었다(Fig. 3). 그러나 포화지방을 첨가한 S 식이군에서 식이 기간이 계속됨에 따라 꾸준히 증가하는 경향이였다.

6. 백혈구 백분율 계산 및 비장 조직 검사

백혈구 백분율 계산(Table 4) 및 비장 조직은(Fig. 4) 전체 실험 기간 중 두 식이군 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

결 론

극도로 제한된 불포화지방만을 포함한 저지방 식이와 포화지방 첨가 식이가 BALB/c 마우스의 면역기능에 미치는 영향에 대해 연구한 결과 체중 변화량, 장기 무게량, 양적혈구에 대한 항체생산 세포수와 적혈구 응집소가, 백혈구 백분율 및 비장 조직 내에서는 두 식이군간의 유의적 차이가 없었다. 그러나 장기간 제한된 불포화지방 식이를 취한 저지방 식이군은 포화지방 첨가군에 비해 양적혈구에 대한 지연성 과민반응은 유의적으로 낮았다($\alpha=0.05$). 4주까지의 결과로써는 극도로

제한된 불포화지방 식이가 체액성 면역과 세포매개성 면역을 향상시킬 수 있는 잠재성을 제시하였으나 10주까지의 식이 지속으로 인해서는 체액성 면역에서만 제한된 불포화지방 식이가 긍정적인 효과를 보였을 뿐 세포매개성 면역 및 전반적인 면역 기능은 4.3% beef tallow 첨가 식이군이 더 좋은 반응을 보였다. 본 실험에서는 생체면역기능에 제한된 불포화지방만을 갖는 극도의 저지방 식이 보다는 여기에 4.3% 정도 소량의 포화지방 첨가가 좀 더 긍정적이었다. 생체내 면역기능의 다양성과 상호 연관관계의 복잡성을 고려할 때 장기간 극도의 저지방 식이의 섭취는 전체 면역 기능의 증진에 효과적이라고 볼 수는 없었다.

〈본 연구의 조직 검사를 위해 애써주신 인하대학교 의과대학 병리학교실 황태숙 교수님께 깊은 감사를 드립니다.〉

Literature cited

- 1) Richard W, Roy LW, Suzanne F. The retardation of aging in mice by dietary restriction : longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr* 116 : 641-654, 1986
- 2) Clifford CK, Smith LM, Erickson KL. Effects of dietary triglycerides on lymphocyte transformation in rats. *J Nutr* 113 : 669-679, 1983
- 3) William RB, Robert E, Kathleen N. Single-nutrient effects on immunologic functions. *JAMA* 245 : 53-58, 1981
- 4) Grant NS. Patterns of disease among japanese living in hawaii. *Arch Environ Health* 20 : 266-273, 1970
- 5) Ranjit KC. Nutrition and immunology. pp37-86, Charlesc Tomas publisher, 1988
- 6) Eric G, Richard SB, Lucille SH. Nutrition and immunity. pp259-283, Academic press, 1985
- 7) Albert T. The genesis and growth of tumors-III. effects of a high fat diet-. *Cancer Research* 28 : 468-475, 1942
- 8) Joon HL, Michiyo F, Harumi N. The interrelated effects of n-6/n-3 and polyunsaturated/saturated

저지방식이와 면역기능

- gations of dietary fats on the regulation of lipid metabolism in rats. *J Nutr* 119 : 1893-1899, 1989
- 9) Imad KT, Kent LE. Dietary fatty acid modulation of murine T-cell responses *in vivo*. *J Nutr* 115 : 1528-1538, 1985
 - 10) 박진순 · 천종희 · 강재승 · 임병욱. 식이지방의 종류 및 함량이 마우스의 면역기능에 미치는 영향. *한국영양학회지* 26(1) : 3-12, 1993
 - 11) Modern nutrition in health and disease. 7th, 1988
 - 12) Michael B, Ricardo U, Scott MG. Dietary fatty acid effects on T-cell mediated immunity in mice infected with mycoplasma pulmonis or given carcinogens by injection. *Am J Pathol* 126 : 103-113, 1987
 - 13) 하대유 · 박영민 · 전상남 등. 알콜이 면역 반응에 미치는 영향. *대한미생물학회지* 25(3) : 265-281, 1990
 - 14) Kent LE, Carla JM, Eric G, John BO. Influence of dietary fat concentration and saturation on immune ontogeny in mice. *J Nutr* 110 : 1555-1572, 1980
 - 15) Kent LE, Leslie AS. lack of an influence of dietary fat on murine natural killer cell activity. *J Nutr* 119 : 1311-1317, 1989
 - 16) 김우경 · 김숙희. 한국에서 상용되는 식용유지로 사육된 흰쥐의 체내 지방대사 및 면역능력에 대한 연구. *한국영양학회지* 22 : 42-53, 1989
 - 17) 이종미 · 김화영 · 김숙희. 한국인 상용 식이지방이 흰쥐의 지방 대사 및 면역 능력에 미치는 영향. *한국영양학회지* 20 : 350-366, 1987
 - 18) James WD, Pamela JF, Dale RR. Effects of essential fatty acid deficiency, and various levels of dietary polyunsaturated fatty acids, on humoral immunity in mice. *J Nutr* 109 : 1018-1027, 1979
 - 19) Mariangela S, Juan JL, Diego S. Immunology and aging, T-helper, T-suppressor and B-cell functions in aging mice. pp78-85, 1982
 - 20) 윤균애 · 김화영 · 김숙희. 고 · 저 탄수화물 식이로 사육된 흰 쥐의 노화 과정중 나타나는 지방과 Ca 대사 및 면역 능력에 미치는 영향 연구. *한국영양학회지* 20(2) : 135-144, 1987
 - 21) Report of the american institute of nutrition ad hoc ccommittee on standards for nutritional studies. 1340-1348,1976.