

어미 쥐의 ω 3계 및 ω 6계 지방산 식이가 제 2세대 쥐의 뇌조직 지방산 성분에 미치는 영향*

김미경 · 지규만** · 이양자
연세대학교 생활과학대학 식품영양학과
고려대학교 농과대학 축산학과**

Effect of Maternal Dietary ω 3 and ω 6 Polyunsaturated Fatty Acids on the Fatty Acid Composition of the Second Generation Rat Brain

Kim, Mi-Kyung · Chee, Kew-Mahn** · Lee, Yang Cha
Department of Food & Nutrition, Yonsei University, Seoul, Korea
Department of Animal Science,** Korea University, Seoul, Korea

ABSTRACT

The change in fatty acid composition in brain tissue of the second generation rats(Sprague-Dawley strain) was studied using four different fat diets(Corn oil=CO, Soybean oil=SO, Perilla oil=PO, Fish oil=FO, 10% by Wt.). The experimental diets were started from pregnancy in four different groups, each consisting of 9 rats. The second generation rats were fed the same diet as their mothers'. Animals were anesthetized with ether at 0, 3, 9 & 16 weeks of age. Whole brains were dissected out, brain tissues were, then, homogenized and lipids were extracted from brain tissues. The fatty acid compositions were measured after methylation by gas-liquid chromatography at 0, 3, 9 and 16 weeks of age of offspring. The changes in the relative concentrations of polyunsaturated fatty acids(PUFA) or more specifically docosahexaenoic acid(22 : 6, ω 3, DHA), the major ω 3 fatty acid component in rat brain at different age were similar to changes in the amount of DNA in brain tissue showing the maximum value during the lactation. The changes in saturated fatty acid(SFA) content showed a contrasting pattern to those of PUFA, while monounsaturated fatty acid(MUFA) increased steadily throughout the experimental period. At birth, the relative concentrations of ω 3 series fatty acids in rat brain somewhat reflected the dietary fatty acid patterns. At the age of 9 weeks, however, the relative concentrations of PUFA, MUFA and SFA converged to very similar values respectively regardless of the dietary fatty acid compositions. In brain tissue, it is of value to note that while changes in relative concentrations of linoleic acid(18 : 2, ω 6, LA) and arachidonic acid(20 : 4, ω 6, AA) showed a precursor-product-like relationship, α -linolenic acid(18 : 3, ω 3, α -LnA) and DHA showed a different pattern. Even when the ω 3 fatty acid content is very

채택일 : 1993년 8월 11일

*본 연구는 과학재단 목적기초 연구비(1990~1993)로 시행된 것임.

low in maternal diet(CO), the second generation rat brain tissues appeared to secure DHA content, suggesting an essential role of this fatty acid in the brain. The fact that a large amount of α-LnA in the maternal diet did not have a significant effect on the second generation rat brain α-LnA content, indicated that DHA seemed essential component for the brain development in our experimental condition. In all groups, the relative content of α-LnA in the brain tissues remained relatively constant throughout the experimental period at the very low level. The study of the specific concentrations and essential role(s) of DHA in each parts of brain tissue is needed in more details.

KEY WORDS : ω3 and ω6 fatty acids · docosahexaenoic acid(DHA) · DNA · brain development.

서 론

포유 동물의 central nervous system(CNS)은 다른 조직과는 달리 복합지질 성분을 함유하고 있고 이들은 주로 phospholipid(PL) 성분으로서 membrane 구조를 정상적으로 유지하여 모든 뇌세포의 작용을 원만하게 유지시켜 주는 역할을 한다. ω3계와 ω6계 지방산이 뇌조직과 망막구조 인지질의 필수 성분임은 물론 eicosanoids의 전구체로서의 중요성이 인정되면서 그 필수성이 강조되고 있다¹⁻⁴⁾. ω3계의 α-linolenic acid(18 : 3, α-LnA)를 전구체로 하는 docosahexaenoic acid(22 : 6, DHA)가 뇌조직 인지질의 구성분으로서 두뇌 발달 시기에 뇌조직에 축적됨은 이미 잘 알려진 사실이다⁵⁻⁶⁾. α-LnA가 풍부한 들깨기름 식이로 사육한 쥐의 경우, ω6계 지방산인 linoleic acid(18 : 2, LA)가 풍부한 safflower oil 식이로 사육한 쥐보다 행동 발달이 더 나옴이 보고되었지만⁷⁾, 실제 α-LnA가 사람의 혈액이나 기관에는 매우 소량 존재하며, α-LnA로부터 DHA로 전환되는 효율이 낮은 것으로 알려졌다⁸⁾. 쥐와 원숭이에 있어서 임신과 수유기 동안 ω3계 지방산이 결핍된 경우, 새끼쥐의 정상적인 visual function이 손상되고 learning ability가 저해되었다고 한다⁹⁻¹¹⁾. 원숭이의 경우 식이내 ω3계 지방산이 결핍되면 뇌조직과 망막조직내의 ω3계 지방산이 급속히 감소됨과 동시에 ω3계 지방산이 증가되었고¹²⁾, mental disorder¹³⁾, 비정상적인 electroretinogram(ERG)과 visual acuity threshold의 감소를 보였

고¹⁴⁾, 발달시기 동안의 ω3계 지방산의 결핍으로 인한 비정상적인 ERG는 다시 복원되지 않았다고 한다¹⁵⁾.

본 연구에서는 임신중인 쥐에게 식이내 ω3계 지방산인 α-LnA 또는 이의 long chain 지방산인 cis-pentapentaenoic acid(20 : 5, EPA)와 DHA가 풍부한 지방식을 섭취했거나, ω3계 지방산에 비해 ω6계 지방산의 비율이 상대적으로 매우 높은 ω6계 지방산 식이를 섭취할 경우 이것이 제 2세대 쥐의 뇌조직내 지방산 조성에 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 시도되었다. 쥐의 뇌조직 발달은, 태아기와 출생 초기에 두뇌발달이 완성되는 사람과 달리, 수유기 동안에 활발하게 일어나므로, 제 2세대 새끼 쥐에 있어서, 수유기와 성숙기의 뇌조직 지방산 조성의 변화를 비교 검토하였다.

실험재료 및 연구방법

1. 실험 동물

체중이 200~230g에 속하는 Sprague-Dawley 계통의 흰 쥐 암컷 45마리와 같은 계통의 수컷을 연세대학교 의과대학 동물 사육실에서 공급받아 사용하였다. 실험 동물들에게 5일간 시판 배합 사료를 주면서 환경에 적응시킨 후, 교배시키고, 질 내에 sperm이 발견되었을 때 임신이 시작된 것으로 간주하였으며, 임신이 된 쥐는 한마리씩 cage에 넣어 사육하였다. 이들을 각 실험군당 9마리씩 네 군으로 나누어 임신이 확인된 순간부터 실험 식이를

급여하여 분만 후 이유시까지 실험식이(Table 1)로 사육하였으며, 제 2세대 새끼들은 이유 후 16주까지 어미 쥐와 동일한 실험 식이를 섭취토록 하였다. 출생시 pups수는 각 어미당 8마리로 조절하였다. 뇌조직의 지방산과 DNA 분석을 위해 출생 후, 출생 후 3주(이유기)와 9주 및 16주에 각 실험군의 쥐들을 ether로 마취시킨 뒤 뇌조직 전체를 적출하였다(16주에 PO군의 data가 제시되지 못한 것은 동물수의 부족에 의한 것이나 차후의 실험²²⁾에서 PO군 뇌조직의 지방산 조성비율이 다른 군과 유사함을 확인하였다).

2. 실험 식이

네가지 실험군의 실험 식이는 Table 1에서와 같

다. 탄수화물, 단백질 및 지방질의 구성 비율은 중량을 기준하여 65 : 18 : 10으로 하였다. 지방은 전체 무게의 10% 수준으로 첨가하였는데 옥수수유 첨가군(CO군)의 주지방산은 LA(56.3%)이고, 대두유 첨가군(SO군)의 주지방산은 LA(56%)이나, α -LnA도 6.3% 함유하고 있었으며, 들깨기름군(PO군)에는 α -LnA가 57.7%나 함유되어 있다. 어유군(FO군)은 어유의 ω 3 지방산을 농축시켜 EPA(22.5%)와 DHA(6.1%) 함량을 높인 fish oil capsule(에파린, 풀무원 식품)을 사용하였다. FO군에는 10% 지방중 1%를 옥수수유로 대체하여 ω 6계인 LA를 보충하였다. 모든 실험 식이는 매주마다 새로 만들어 냉장고에 보관하여 사용하였으며, FO군의 경우 fish oil은 냉장보관하였고 고도의 불포화도를

Table 1. Formulation of experimental diets

Ingredients	Diets containing			
	Corn oil	Soybean oil	Perilla oil	Fish oil
	%			
Carbohydrate ¹⁾	65.0	65.0	65.0	65.0
Corn oil	10.0	—	—	—
Soybean oil	—	10.0	—	1.0
Perilla seed oil	—	—	10.0	—
Fish oil ²⁾	—	—	—	9.0
Miscellaneous ³⁾	25.0	25.0	25.0	25.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0
	Fatty acid compositions analyzed, %			
PUFA ⁴⁾	56.6	62.8	71.1	36.6
MUFA ⁵⁾	28.5	23.0	20.4	37.1
SFA ⁶⁾	14.8	14.2	8.5	26.2
ω 3 series	0.21	6.34	57.7	33.0
α -Linolenic acid	0.21	6.33	57.7	0.14
Eicosapentaenoic acid	—	0.01	—	22.5
Docosahexaenoic acid	—	—	—	6.09
ω 6 series	56.4	56.4	13.3	2.00
Linoleic acid	56.3	56.0	13.1	1.91
Arachidonic acid	0.07	0.34	0.1	0.09

¹⁾Mixed at the ratios of 70 : 20 : 10 for starch, glucose and sucrose.

²⁾Fish oil capsule(Eparine, 풀무원)

³⁾Miscellaneous contained(by %) casein 17.9 ; carboxymethyl cellulose 2.0 ; dl-methionine 0.1 ; salt mixture 4.0 and vitamin mixture 1.0¹⁰⁾

⁴⁾Polyunsaturated fatty acids

⁵⁾Monounsaturated fatty acids

⁶⁾Saturated fatty acids

고려하여 매주 2번씩 배합하여 사용하였다.

3. 뇌 조직의 지방산 분석

뇌조직의 지방산을 분석하기 위해 각 식이군별로 희생시킨 쥐의 마릿수는 갓 출생한 쥐 10마리, 이 유하기 직전인 3주령과 9주령에 각각 5마리, 그리고 16주령 실험종료시 5마리였다. 이들은 ether를 사용하여 마취시킨 후 두개골을 절개하고 뇌 전체를 적출하여 얼음에 냉각시켰고, 분석할 때까지 -20℃에 보관하였다.

뇌 조직의 균질용액은 조직 무게의 4배에 해당하는 0.9% NaCl 용액을 첨가하여 20% 용액이 되게 하였다. 이 균질 용액 100μl을 정확히 취하여 teflon-lined cap tube에 담은 후 Lcpagc와 Roy¹⁷⁾의 one-step methylation 방식에 따라 지방산의 methyl ester를 만들었다. 즉, 2ml의 methanol : benzene 혼합액(4 : 1 v/v)을 첨가하고 stirring하면서 200μl의 acetic chloride를 1분동안에 걸쳐 천천히 첨가하였다. Teflon-lined cap으로 시험관을 단단하게 막은 후 100℃에서 1시간 동안 methanolysis 과정을 거쳤다. 찬물에서 냉각시킨 후 5ml의 6% K₂CO₃ 용액을 천천히 가해 반응을 중단시키면서 혼합액을 증발시켰고 이를 1500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상부의 benzene층을 취하였다.

Total brain lipids의 지방산 조성은 Gas Liquid Chromatography(Model SHIMADZU GC-9A)를 이용하여 측정하였다¹⁸⁾. Flame Ionization Detector(FID)를 사용하였으며, column은 3mm×3 M stainless column(Supelco Inc.)이고, packing 물질은 10% SP-2330 on 100~120 mesh chromosorb WAW(Supelco Inc.)이었다. Injector와 detector temperature는 모두 300℃로 하였고, carrier gas인 nitrogen의 flow rate는 30ml/min으로 하였다. Column temperature는 185℃에서 245℃까지 1℃/min씩 상승하도록 program하였다. 표준 지방산(Nu Chek Prep, Inc., Minnesota, U.S.A.)을 사용하여 각 지방산의 retention time을 확인하였는데, 지방산 농도는 총 지방산량의 백분율로 표시하였다.

4. 두뇌 조직의 DNA 정량

뇌조직의 20% 균질 용액(0.9% NaCl 사용)을

이용하여 Burton¹⁹⁾ 및 Giles와 Meycr²⁰⁾의 방법에 의해 DNA를 정량하였다. 이 균질 용액 1ml을 취한 후 10% trichloroacetic acid(TCA) 용액 1ml을 가하여 잘 섞고, 얼음에서 냉각시킨 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 침전물에 10% TCA 용액 2.5ml을 가하고 잘 마쇄한 뒤 다시 원심 분리(3000 rpm, 15분)하였다. 상등액을 제거한 다음 침전물에 absolute ethanol 5ml을 가하고 잘 마쇄하여 3000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 다시 상등액을 제거하였다. 침전물을 TCA 용액으로 씻어낸 뒤 2.5ml의 5%의 TCA 용액을 가하여 침전물을 잘 분쇄시키고 90℃ 증탕기에서 10분간 가열한 후 냉각시켜 3000 rpm에서 원심 분리하여 상등액을 취하였다. 침전물에 다시 2.5ml의 5% TCA 용액을 가한 후 원심 분리하여 상등액을 취해 먼저의 상등액과 합쳐 DNA 정량 시료로 사용하였다.

이 핵산 추출액 1ml에 5% TCA 용액 1ml과 diphenylamine(DPA) 시약(DPA 1g을 취해 glacial acetic acid에 용해시키고, c-H₂SO₄ 2.5ml을 가한 후, 최종적으로 glacial acetic acid으로 100ml이 되게 한다) 2ml을 첨가, 혼합하고, 0.1ml acetaldehyde 용액(1.6mg acetaldehyde/ml H₂O)을 가해 혼합한 다음 마개를 씌워 30℃의 증탕기에서 16~18시간 방치하였다. Spectrophotometer를 사용하여 600nm에서 DNA 농도를 측정하였다. 표준 DNA 용액은 calf thymus DNA(Sigma Chem. Co.)를 5% TCA 용액에 용해시킨 후, 시료와 같은 방법으로 90℃에서 10분간 가열한 다음 식혀서 사용하였다.

5. 조사 자료의 통계 처리

모든 실험 결과는 one-way ANOVA에 의해 유의성을 검증하였고, Duncan's new multiple range test로 평균간 차이를 검증하였다²¹⁾. 모든 자료는 Statistical Package for the Social Science(SPSS)를 이용하여 통계 처리하였다.

실험결과 및 고찰

1. 뇌 조직의 지방산 조성 변화

Fig. 1에는 제 2세대 쥐의 뇌조직 ω6계 지방산의

조성 변화에 있어서 LA(18 : 2, ω 6)와 arachidonic acid(20 : 4, ω 6, AA)의 관계를 나타내었는데 일반적으로 모든 실험군에서 precursor와 product의 관계가 있음을 보여주었다. AA(20 : 4, ω 6)는 출생 후 3주에 급격한 증가를 보인 후 9주와 16주에 이르기까지 유사한 수준을 유지하였으며, LA(18 : 2, ω 6)의 조성은 전반적으로 감소하는 경향을 보였다. LA(18 : 2, ω 6)의 경우 FO군이 전 실험기간을 통하여 다른 군보다 낮게 나타난 반면, AA(20 : 4, ω 6)는 모든 군에서 유사한 값을 보여 AA 수준이 일정한 범위내에서 조절됨을 알 수 있었다.

Fig. 2에는 식이 지방에 따른 제 2세대 쥐의 뇌 조직 ω 3계 지방산 조성의 변화를 성장 시기별로 보여 주고 있다. 뇌조직의 ω 3계 지방산 조성의 변화에 있어서는 ω 6계 지방산의 경우와 다른 양상을 보여 주었다. 출생시에 실험군에 따라 다양하게 나타났던 DHA 농도가 실험 9주에 이르러 유사한 값으로 수렴되면서 16주에 이르기까지 서서히 감

소하는 경향을 보였다. 뇌조직에서 α -LnA(18 : 3, ω 3)로부터 DHA(22 : 6, ω 3)로의 전환은 가능한 것으로 알려졌으나, 뇌조직의 α -LnA(18 : 3, ω 3) 농도면에서 볼 때 식이 조성의 영향을 받지 않았을 뿐 아니라 매우 소량 존재하였다(본 연구에서 PO군의 16주 data가 결여되어 있으나, 뇌조직의 α -LnA 및 DHA의 농도에 있어서 차후의 실험²²⁾을 통하여 실험군간에 차이가 없음을 확인하였다). 이는 α -LnA의 함량이 총 지방산의 약 60%나 되는 들깨 기름 식이를 공급받은 경우, 혈액, 간조직, 모유 및 지방 조직에서 식이지방 조성을 반영하여 ω 3계 지방산인 α -LnA 농도의 증가가 뚜렷한 사실^{23,24)}과 매우 대조되는 현상이다.

두뇌 성장의 'spurt' 기간에 ω 3계 및 ω 6계의 long chain polyunsaturated fatty acids(LCPUFA)가 빠른 속도로 축적됨은 이미 알려진 사실이다. 이 'spurt' 시기 또는 'critical'시기가 사람의 경우 임신 3기에 최대에 이르러 생후 1년반정도까지 계속되는 것으로

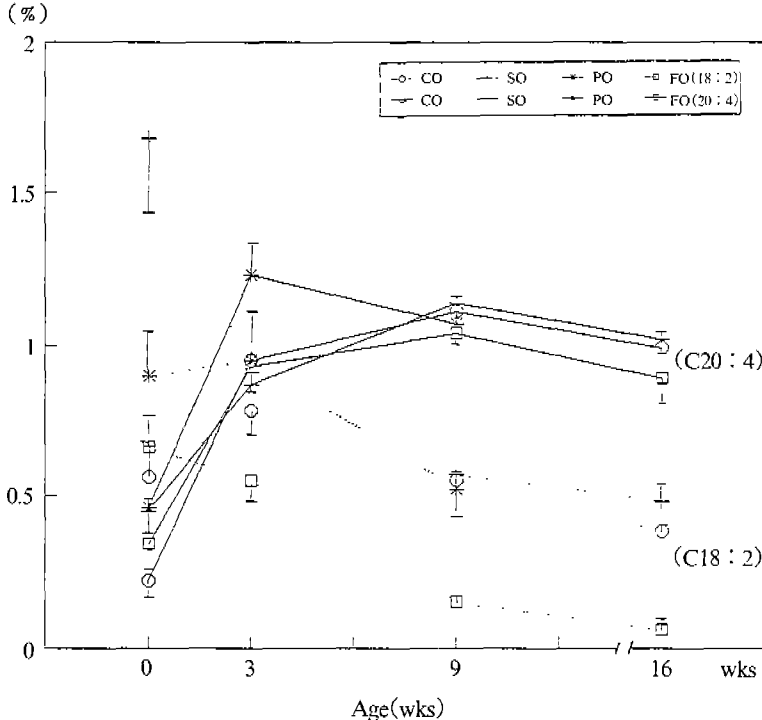


Fig. 1. Changes in percentages of linoleic acid(18 : 2, ω 6) and arachidonic acid(20 : 4, ω 6) throughout the experimental periods.

로 알려졌다. 이 시기에 microsomes에서의 desaturation이나 elongation 과정의 발달이 저조하므로²⁵⁾ placenta를 통하거나 또는 식이를 통해서 preformed ω3계와 ω6계 지방산의 전구체인 LA(18 : 2, ω6)와 LnA(18 : 3, ω3)가 desaturation되고 elongation되는 과정에서 서로 경쟁하게 되므로 식이로부터 많은 LA(18 : 2, ω6)가 존재하면 ω3계 지방산의 LC-PUFA로의 전환이 약화되어 DHA의 합성이 감소될 수 있고, 반대로 ω3계 지방산의 존재가 많으면 ω6계 LCPUFA인 AA의 합성이 제한될 수 있으나, 그 영향은 뇌조직의 경우 다른 조직보다 비교적 적게 나타남을 알 수 있다. 뇌조직에서의 원만한 대사를 위해서는 ω3계 지방산인 α-LnA와 DHA의 공급이 충분하면서도 ω6계 LCPUFA 즉, AA(20 : 4, ω6)의 합성 또는 공급을 저해하지 않는 적절한 ω3와 ω6계 지방산의 비율을 가진 지방의 섭취가 중요하다.

Fig. 3은 식이 지방이 제 2세대 쥐의 뇌조직 지방산 조성에 미치는 영향을 polyunsaturated fatty

acids(PUFA), monounsaturated fatty acids(MUFA)와 saturated fatty acids(SFA) 별로 변화되는 경향을 보여주고 있다. 전 실험 기간을 통하여 PUFA, MUFA 및 SFA의 조성의 변화는 뇌조직 발달이 왕성한 출생 후 2주에 가장 큰 변화를 보이며, 그후 포화 지방산은 plateau에 이르고 단일불포화 지방산은 증가하는 경향이 16주까지 계속되었고, 고도 불포화 지방산은 출생 후 3주 이후 16주에 이르기까지 서서히 감소하는 경향을 나타냈다. PUFA, MUFA 및 SFA 조성에 있어서 16주에 이르러 모든 실험군간에 매우 유사한 값으로 각각 수렴되었다 (PUFA : 5.0~5.7, MUFA : 40.0~41.8, SFA : 50.8~52.4). 뇌세포의 확보(hyperplasia)가 이루어진 후 계속되는 myelination 과정에 필요한 단일불포화 지방산인 oleic acid가 실험 초기에 상대적으로 증가됨을 보여 주어 두뇌 발달 시기에 MUFA도 중요한 역할을 함을 알 수 있다.

출생 초기에 있어서 뇌조직내 ω3 지방산 함량

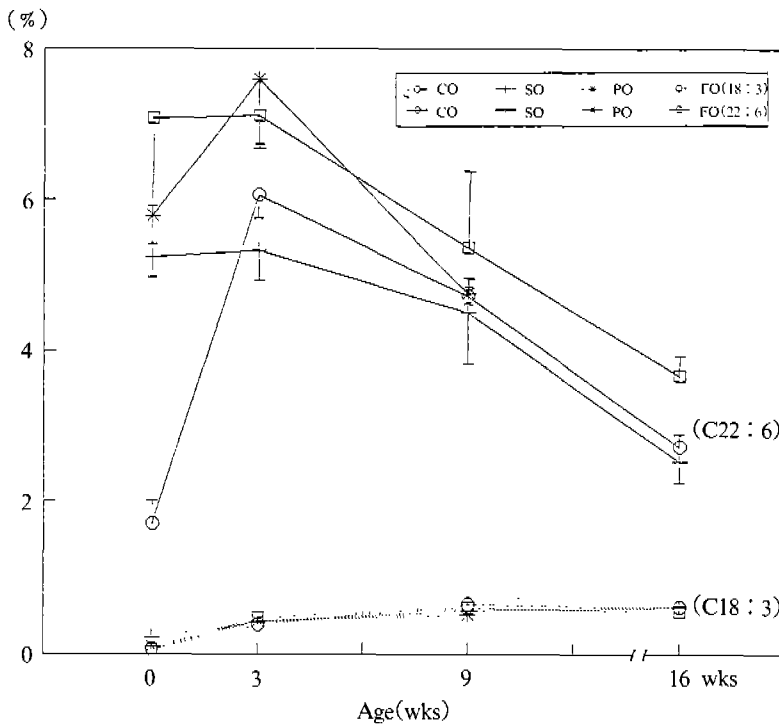


Fig. 2. Changes in percentages of α-linolenic acid(18 : 3, ω3) and docosahexaenoic acid(22 : 6, ω3) throughout the experimental periods.

비율은 식이중 $\omega 3$ 계 지방산 함량 비율을 반영하는 경향을 보였는데 FO군과 PO군의 경우 식이(Table 1)나 조직내 $\omega 3$ 계 지방산의 상대적 함량(Fig. 2)이 가장 많은 편이었고 CO군은 그 반대였다. Fig. 1에 나타난 바에 의하면 출생시 뇌조직내 총 $\omega 6$ 지방산 함량이 가장 많은 것은 SO군으로, 어미의 식이지방 종류가 출생시 pups의 뇌조직내 총 $\omega 6$ 지방산 함량에 미치는 영향은 다양하게 나타났다.

출생 초기에 비해 수유 말기(3주령)의 뇌조직 지방산 함량 비율은 어미에게 각 실험군별로 지방산 조성이 크게 다른 식이가 계속 급여되었음에도 불구하고 모든 식이군에서 그 차이가 크게 감소함을 보여 주고 있다. 특히 식이내 총 $\omega 3$ 지방산 함량 비율이 매우 낮은 CO군(0.21%)의 경우도 3주령에는 뇌조직내 함량 비율이 다른 군과 유사하게 되었다. 뇌조직의 $\omega 3$ 지방산의 급원에 대해서 검

토해 볼 때, 어미 쥐 유선조직(mammary gland)의 기능에 의해 새끼에게 전달되는 지방산 조성이 조절될 수 있는 가능성, 또는 새끼 뇌조직의 기능에 의해 조직 발달에 필요한 지방산이 선택적으로 합성 및 축적되는 것을 생각해 볼 수 있으며 이러한 현상이 동시에 작용할 가능성도 있다²⁶⁻³⁰). 뿐만 아니라 출생 초기의 뇌조직내 $\omega 3$ 지방산 함량비율에 있어서도 CO군의 경우 식이중의 비율에 비해 현저히 높은 수준(1.93%)을 유지한 것은 태반을 통한 $\omega 3$ 지방산의 공급 가능성도 검토할 점이 있음을 말해주며, 또한 오랜 기간 동안 즉, 실험식이 이전부터 어미 쥐의 지방 조직에 축적되어 있던 지방산이 급원이 될 수 있는 가능성도 배제할 수 없다²³). Sanders등³¹)은 어미 쥐에게 butter와 linoleic산이 풍부한 soft margarine을 유일한 지방 공급원으로 공급하였을 때 본 연구 결과와 유사한

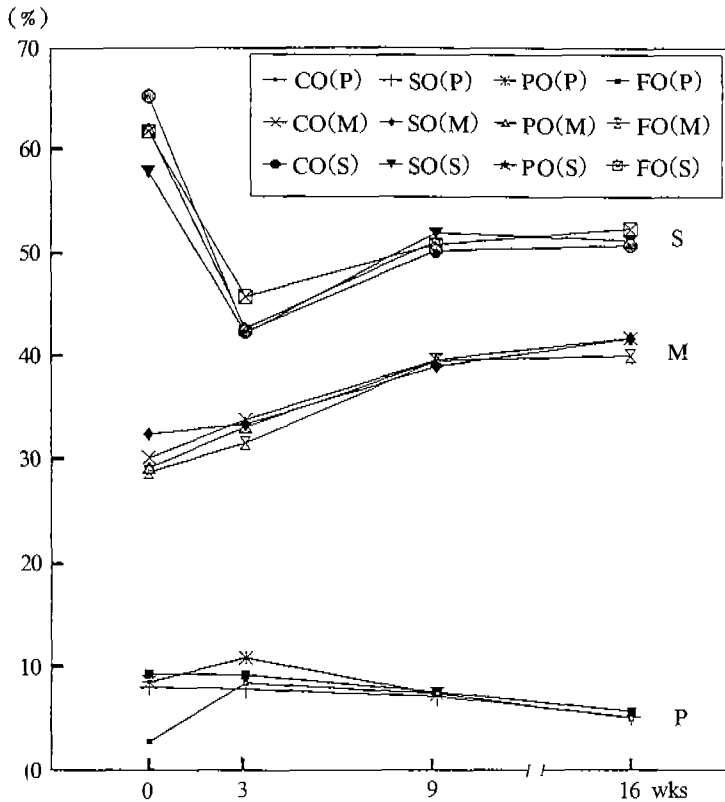


Fig. 3. Changes in percentages of Saturated(S), monounsaturated(M) and polyunsaturated(P) fatty acids throughout the experimental periods.

경향을 보고하여, 출생시 새끼 쥐의 뇌와 retina에 DHA의 함량 비율이 실제로 감소되었으나 수유기 동안에는 margarine group 새끼 쥐의 뇌조직내 phosphoglycerides의 DHA 함량이 감소되지 않았다. 이는 뇌조직의 δ-6-desaturase 활성이 출생 후 급격히 감소함에도 불구하고 모유에 있는 preformed DHA에 의해 DHA가 계속 공급되기 때문인 것으로 설명하기도 하였다.

그러나 rhesus monkey의 연구에서, Neuringer등³²⁾은 α-LnA가 매우 소량인 약 0.3% 함유되어 있는 safflower oil을 급여하였을 때, 성장하면서 cerebral cortex와 retina에서 ω3 지방산 함량이 계속 저하됨을 지적하였다. Safflower oil 식이로 사육된 어미에게서 태어난 새끼 원숭이의 출생 직후 뇌조직의 DHA 함량 비율은 soybean oil군보다 적었지만 식이에 함유되어 있는 비율보다는 높았으며, 이는 태반이나 모유를 통해 어미로부터 ω3 지방산이 우선적으로 공급되었기 때문일 것이라고 주장하였다.

사람을 대상으로 한 연구는 극히 제한되어 있으나 최근에 Innis등³³⁾이 영아의 경우 LA와 α-LnA의 chain elongation 능력이 충분치 않으므로 영아용 formula에 뇌 발달에 필수적인 long chain PUFA를 공급해 주는 것이 중요하다고 주장하였다. 실제로 Carroll³⁴⁾은 표준 formula에 ω3계 지방산 함량의 상한선을 총 지방산 양의 20%로 제시하며 ω6계와 ω3계 지방산의 적절한 비율까지 권장하고 있다. 그가 제안한 식이 지방의 ω6/ω3계 지방산의 비율의 범위는 5/1~10/1로서 이는 Carlson등³⁴⁾이 제시한

수준 모유내 ω6/ω3계 지방산의 비율의 범위인 4/1~10/1과 비슷하다. 또한 최근에 보고한 캐나다의 ω3와 ω6계 지방산의 권장량⁵⁾을 보면, 0~12개월의 영아에 있어서 ω3계 PUFA는 하루에 0.5g, ω6계 PUFA는 3g으로서 ω6/ω3계 지방산 비율이 6/1로 되어 있다.

대체로 식이내 ω6/ω3 비율이 출생시 뇌조직내 비율에 반영되어서 CO군에서 가장 높고 FO군이 가장 낮은 비율을 보여 이들 실험군간에 유의한 차이가 인정되었다(P<0.05). SO군은 3주령까지 유의하게 높은 수준을 유지하였고, 9주령에는 FO군을 제외한 모든 식이군간에 뇌조직내 비율(0.29~0.36)이 유사해졌다(Table 2).

2. 뇌 조직에서의 DNA 함량이 변화

Fig. 4에는 실험 전기간을 통한 뇌 무게, DNA 농도 및 DHA의 조성이 나타나 있다. 뇌조직의 단위 무게당 DNA 함량은 출생 직후 0.9~1.3mg/g이었고, 3주령 이유시에는 2.0~2.7mg/g으로 크게 증가하였으나, 9주령에 다시 1.4~1.8mg/g 수준으로 감소하여 16주까지는 일정한 수준을 유지하였다. 각 시기별로 식이군간의 DNA 함량에는 통계적인 차이가 없었다. 출생 직후부터 DNA 함량이 증가하여 3주령에 가장 높은 함량에 도달한 것은 쥐의 경우에 있어서 사람과는 달리 수유기 동안 두뇌 성장이 가장 활발하여 세포분열이 왕성하게 일어나기 때문이라고 본다. 따라서 세포 분열을 반영해 주는 DNA 함량이 크게 증가하고, hyperplasia와 hypertrophy의 성장이 계속되면서 DNA 농도가 일정한 수준을 유지하게 됨을 알 수 있다³⁶⁾.

Table 2. Effect of various dietary oils on ω6/ω3 ratios of the rat brain during the experimental period¹⁾

Basal diets added with	Dietary ω6/ω3 ratios	ω6/ω3 ratios in brain(weeks after birth)			
		0	3rd	9th	16th
Corn oil	268.7	0.46 ± 0.28 ^a	0.30 ± 0.10 ^{ab}	0.33 ± 0.09	0.41 ± 0.08 ^a
Soybean oil	8.9	0.36 ± 0.47 ^a	0.33 ± 0.08 ^a	0.36 ± 0.30	0.46 ± 0.29 ^a
Perilla oil	0.2	0.21 ± 0.34 ^b	0.26 ± 0.39 ^b	0.29 ± 0.39	— ²⁾
Fish oil	0.06	0.14 ± 0.36 ^b	0.20 ± 0.09 ^b	0.19 ± 0.92	0.20 ± 0.37 ^b

¹⁾Data are Mean ± SEM. Means carrying a different alphabet within a column are significantly different (p<0.05).

²⁾Not detected.

성장 시기에 따른 ω 3계 PUFA, 특히 DHA의 변화 양상을 DNA 변화 양상과 비교하여 보면 유사한 경향을 나타내고 있음을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 DNA의 증가가 곧 두뇌 세포 수의 증가를 의미한다고 볼 때, 두뇌의 성장이 활발하게 일어나고 있는 시기에 두뇌의 ω 3계 DHA 함량 비율도 증가하고 있음을 보여 주는 것이다.

뇌조직의 발달이란 관점에서 세포 분열 및 세포분화와 조직내 DHA의 공급량 간에 어떤 관계가 있는지에 대하여, 그리고 뇌조직의 각 부분에 있

어서 DHA의 기능을 구체적으로 밝혀내기 위하여 보다 많은 연구가 요구된다.

요약 및 결론

2세대에 걸친 식이 변화에 따른 흰쥐의 뇌조직 ω 3계 지방산 조성의 비교에서 DHA(22:6)가 양적으로 가장 많으며, 이의 함량 비율이 실험 기간을 통해 볼 때 DNA 농도 패턴과 유사하게 나타났다. 따라서 DHA가 두뇌의 성장 발달에 매우 중요한 요소임을 알 수 있다.

2세대에 걸친 식이 변화에 따른 두뇌 조직의 PUFA, MUFA 및 SFA의 함량 비율을 비교할 때, PUFA의 변화 양상이 DNA 농도의 변화 양상과 유사한 반면, SFA는 PUFA의 양상과 대응되는 양상을 보이며, MUFA는 실험기간 동안 계속 증가하는 것으로 나타났다. PUFA, MUFA 및 SFA 모두가 출생시에 비해 시간이 갈수록 모든 실험군에서 유사한 수치로 수렴됨이 특이하다.

결론적으로, 뇌조직에서 ω 3계와 ω 6계 지방산의 상대적 함량비율에 있어서 precursor(α -LnA ω 3, LA ω 6)와 products(DHA ω 3, AA ω 6)간의 관계가 ω 6계 지방산(LA와 AA)간에는 비교적 분명히 나타났으나, ω 3계 지방산(α -LnA와 DHA)간에는 다른 양상으로 나타났다. 그리고 본 연구의 실험 조건하에서, 어미의 식이에 ω 3계 지방산의 전구체나 LCPUFA의 함량이 매우 낮더라도 제 2세대 새끼 쥐의 뇌조직은 DHA를 확보하는 것으로 나타나 뇌조직에서의 DHA가 매우 필수적 역할을 함을 알았다. 한편, DHA의 전구체인 α -LnA의 함량은 어미의 식이에 과량 존재하더라도 제 2세대 쥐의 뇌조직 α -LnA에는, 다른 조직이나 혈액 및 모유의 경우와 달리 거의 영향이 없으며, 모든 식이군에서 뇌조직 α -LnA의 상대적 함량이 매우 낮은 수준으로 일정하게 유지되었으므로 blood brain barrier의 절묘한 조절 기능의 존재를 확인할 수 있었으며, 뇌조직 발달을 위해서는 preformed DHA가 α -LnA보다 더 유리할 수 있음을 지적해 주었다. 뇌조직의 각 부분에 있어서 DHA의 특수한 기능이 세부적으로 연구 규명되어야 하겠으며, ω 3계와 ω 6계 지방산간의 균

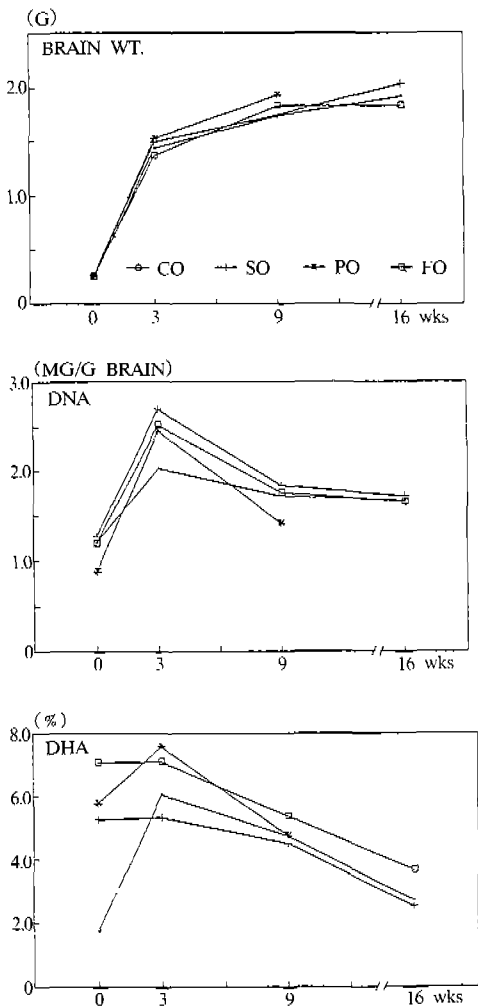


Fig. 4. Changes in weight and relative concentrations of DNA & DHA in brain of the rats fed different oils throughout the experimental periods.

형은 체내 모든 기관과 각각의 조직에 대한 종합적 접근에 의해 연구되고 평가되어야 하리라고 생각된다.

감사의 글

본 연구가 수행될 수 있도록 적극적으로 지원해 주신 다음 분들과 진심으로 사의를 표합니다.

- 재정적 지원 - 한국과학재단
- GC-고려대 축산학과 영양연구실
- Perilla oil과 Fish oil - 풀무원식품(주)

Literature cited

- 1) Crawford MA. The role of essential fatty acids in neural development : implications for perinatal nutrition. *Am J Clin Nutr* 57(5) : 703s-710s, 1993
- 2) Cook HW. Metabolism of alpha-linolenic acid in brain during development. 3rd Toronto Work on Essential Fatty Acids, 1991
- 3) Wainwright P. Alpha-linolenic acid, long chain omega-3 fatty acids and neonatal brain development. 3rd Toronto Work on Essential Fatty Acids, 1991
- 4) Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of ω3 fatty acids for development and function of the retina and brain. *Ann Rev Nutr* 8 : 517-541, 1988
- 5) Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 54 : 438-463, 1991
- 6) Anderson GJ, Connor WE. On the demonstration of ω3 essential fatty acid deficiency in humans. *Am J Clin Nutr* 49 : 585-587, 1989
- 7) Neuringer M, Connor WE, van Petten C, Barstad L. Dietary ω3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkey. *J Clin Invest* 73 : 272-276, 1984
- 8) Dietary fish oil increases ω3 long chain polyunsaturated fatty acids in human milk. *Nutr Rev* 43 (10) : 302-303, 1985
- 9) Bourre JM, Durand G, Pascal G, Youyou A. Brain cell and tissue recovery in rats made deficiency in ω3 fatty acids by alteration of dietary fat. *J*

Nurt 119 : 15-22, 1989

- 10) Levitsky DA, Barnes RH. Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat : long-term effect. *Science* 176 : 68-71, 1972
- 11) Lampty MS, Walker BL. A possible role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. *J Nutr* 106 : 86-93, 1976
- 12) Lin DS, William EC, Gregory JA, Neuringer M. Effects of dietary ω3 fatty acids on the phospholipid molecular species of monkey brain. *J Neurochem* 55 : 1200-1207, 1990
- 13) Fiennes RN, Sinclair AJ, Crawford MA. Essential fatty acid studies in primates : linolenic acid requirements of capuchins. *J Med Primatal* 2 : 155-169, 1973
- 14) Connor WE, Neuringer M, Barstad L, Lin DS. Dietary deprivation of linolenic acid in rhesus monkeys : effects on plasma and tissue fatty acid composition and on visual function. *Trans Assoc Ann Physicians* 97 : 1-9, 1984
- 15) Benolken RM, Anderson RE, Wheeler W. Membrane fatty acids associated with the electrical response in visual excitation. *Science* 182 : 1253-1254, 1973
- 16) Rogers QR, Harper AE. Amino acid diets and maximal growth in the rat. *J Nutr* 87 : 267-273, 1965
- 17) Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27 : 114-120, 1986
- 18) McNair HN, Bonelli EJ. Basic gas chromatography. 5th Ed., Varian Instrument Division Office, 1968
- 19) Burton K. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *J Biol Chem* 62 : 315-322, 1956
- 20) Giles KW, Myers A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature* 93, 1965
- 21) 김중수 · 안윤기 · 윤기중 · 윤선운. SPSS를 이용한 통계 자료 분석, 박영사, 1987
- 22) 정은정. 식이성 ω3/ω6계 지방산 조성이 흰쥐 뇌 조직의 신경전달물질 농도에 미치는 영향. 연세

- 대학교 박사학위논문, 1992
- 23) Chung HY, Choi YJ, Lee YC. Effects of ω 3 and ω 6 fatty acid diets of fatty acid composition of mesenteric and subcutaneous fat of lactation rat. Proc 6th Asian Cong Nutr, 1991
- 24) Hwang HJ, Chung EJ, Kim MK, Chee KM, Lee JH, Lee YC. Effects ω 3/ ω 6 polyunsaturated fatty acid diets on fatty acid composition and vitamin E levels in milk and serum of the rat. Proc 6th Asian Congr Nutr, 1991
- 25) Ayoko K, Kenshiro F. The capability of the microsomal synthesis of docosahexaenoic acid in livers and brains of suckling and weaning rats. Advances in Polyunsaturated Fatty Acid Research 35-36, 1993
- 26) Jensen RG, Hagerty MM, MacMahon KE. Lipids of human milk and infant formulas : A review. *Am J Clin Nutr* 31 : 990-1016, 1978
- 27) Nouvelot A, Delbart C, Bourre JM. Hepatic metabolism of dietary α -linolenic acid in suckling rats and its possible importance in polyunsaturated fatty acid uptake by the brain. *Ann Rev Metab* 90 : 315-323, 1986
- 28) Budowski P, Crawford MA. Effect of dietary linoleic acid and α -linolenic acid on the fatty acid composition of brain lipids in the young chick. *Prog Lipid Res* 25 : 615-618, 1986
- 29) Dwyer BE, Bernsohn J. The effect of fatty acid deprivation on the metabolic transformation of 14 C-linolenate in developing rat. *Biochem Biophys Acta* 575 : 309-317, 1979
- 30) Bourre J, Bonneil M, Dumont O, Pociotti M, Nalbone G, Lafont H, High dietary fish oil alters the brain polyunsaturated fatty acid composition. *Biochem Biophys Acta* 960 : 458-461
- 31) Sanders TAB, Mistry L, Naismith DJ. The influence of a maternal diet rich in linoleic acid on brain and retinal docosahexaenoic acid in the rat. *Br J Nutr* 51 : 57-66, 1984
- 32) Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L, Luck S. Biochemical and functional effect of prenatal and postnatal ω 3 fatty acid deficiency of retinal and brain in rhesus monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 83 : 4021-4025, 1986
- 33) Innis SM, Hebotiky N, Foote KD. Essential fatty acids and brain development and function. 14th Intern'l Cong Nutr, Seoul, Korea, 1989
- 34) Carroll KK. Upper limits of nutrients in infant formulas : polyunsaturated fatty acids and trans fatty acids. *J Nutr* 119 : 1810-1813, 1989
- 35) Carlson SE, Rhodes PG, Ferguson MG. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *Am J Clin Nutr* 42 : 798-804, 1986
- 36) Kim MK, Lee YC, Chee KM. Effect ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acid diets on the fatty acid composition of the rat brain and behavioral developments. 14th Intern'l Cong Nutr, Seoul, Korea, 1989