

## 단일지방산 첨가에 의한 간세포의 지질조성과 지방산조성에 미치는 영향

김대진<sup>†</sup> · 조병희\*

동아대학교 생명자원과학부

\*미국일리노이대학교 영양학부

## Effects of Stearic, Oleic and Elaidic Acid on Cellular Lipids and Their Fatty Acid Composition in Hep-G<sub>2</sub> Cells

Dae-Jin Kim<sup>†</sup> and Byung-Hui Cho\*

Faculty of Natural Resource and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

\*Division of Nutritional Sciences, University of Illinois, Urbana, IL, 61801, U.S.A.

### Abstract

The effects of stearic(18 : 0, SA), oleic(18 : 1 cis, OA) and elaidic acid(18 : 1 trans, EA) on the cell growth, contents of cellular lipids, and the fatty acid composition of cellular and medium lipids in Hep-G<sub>2</sub> cells were evaluated. The cells were incubated in serum-free medium containing 25, 50, 100 and 200μM of a fatty acid combined with albumin for 2 days. The fatty acid concentration up to 100μM showed the normal growth, but the cell growth decreased in the presence of 200μM fatty acid. The treatment of cells with 100μM of a fatty acid for two days significantly( $p<0.05$ ) increased the cellular triglyceride(TG) content in all fatty acid groups compared to control, but TG contents was not significantly different among all treatment group, but total cholesterol(TC) was the highest level in EA group. The level of free cholesterol(FC) and cholesteryl ester(CE) was similar to those of TC in all fatty acid treated groups. The cellular phospholipid(PL) contents were similar between the control and all fatty acid groups. The treatment of cells with SA had no notable effects on the fatty acid composition of TG, CE and PL. The OA treatment caused significant increases in CE(51.2%) and PL(29.8%), but not in TG. The EA treatment resulted in 10.1, 10.7 and 7.8% of C<sub>18 : 1</sub> trans content in cellular TG, CE, and PL. The TG, CE and PL of medium were relatively similar between SA and OA groups. In EA treated group, TG, CE and PL of medium contained 17.0%, 0.7% and 5.6% of C<sub>18 : 1</sub> trans, respectively.

**Key words:** elaidic acid, trans fatty acid, total cholesterol, Hep-G<sub>2</sub> cell

### 서 론

포화지방산은 혈청 cholesterol을 높이고, 불포화지방산은 혈청 cholesterol을 낮춘다는 보고(1,2)와 아울러, 최근에는 식품을 구성하고 있는 성분 중에서 지질의 총 섭취량 뿐만 아니라 단일 지방산 섭취량에 대한 관심이 높아지고 있다. 일반적으로 지방산은 이중결합의 유무에 따라 포화지방산(saturated fatty acid, SFA)과 불포화지방산(unsaturated fatty acid, UFA)으로 나눌 수가 있고, 불포화지방산은 단일불포화(monounsaturates)와 다가불포화지방산(polyunsaturates fatty acid, PUFA)으로 구분할 수가 있는데, 각각의 지방산이 혈

청 콜레스테롤에 미치는 다른 영양학적 특성을 가진다(2). 한편 생활수준의 향상과 더불어 육·유류의 소비가 증가되어지고 있는 시점에서 육제품과 유제품 중의 지방산 함량 중에서 포화지방산인 palmitic acid의 함량은 총 포화지방산의 거의 60%를 차지하며, 육제품 및 유제품 이외에도 식물성 유지인 팜유와 면실유에도 상당량 함유하고 있다. 단일지방산으로서 palmitic acid는 혈청 총 콜레스테롤을 증가시키고 주로 동맥경화증의 유발요인으로 알려진 low density lipoprotein cholesterol(LDL-cholesterol)을 증가시키는 것으로 알려지고 있다(3). 한편 포화지방산인 stearic acid는 전체적인 섭취 포화지방산 함량의 25% 정도를 차지하고 있

\* To whom all correspondence should be addressed

으나 혈청 총 콜레스테롤 함량을 증가시키지 않는 것으로 알려져 있다(4). 그리고 oleic acid는 섭취하는 총 식품지방산의 45%이며 주된 단일불포화지방산(MUFA)이다. 일반적으로 oleic acid의 영양특성에서 혈청 콜레스테롤 농도는 oleic acid 투여에 의하여 콜레스테롤 농도는 상승하지 않는 것으로 나타나 있다(5). 또 하나의 단일불포화지방산에는 elaidic acid로 식물성 기름을 경화유로 제조하기 위하여 수소 첨가공정에서 단일 불포화지방산과 다가불포화지방산으로 부터 생성되는 trans형 불포화지방산이 있다.

최근 연구에서는 trans fatty acid(TFA)가 LDL-cholesterol과 혈청 총 콜레스테롤을 증가시킨다고 하였다(6-8). 그러나 TFA이 혈청 총 cholesterol의 증가에 대한 기전은 아직 불분명하다. 따라서 본 실험은 TFA의 혈청 콜레스테롤 농도 상승 mechanism의 일원을 밝힐 목적으로 Hep-G<sub>2</sub> cell line을 이용하여 stearic acid(18 : 0, SA), oleic acid(18 : 1 cis, OA) 그리고 elaidic acid(18 : 1 trans, EA)를 25, 50, 100, 200μM을 serum free media에 첨가해서 세포의 성장, 세포 중의 지질 함량 및 세포로 부터 배양액에 분비된 lipoprotein의 지방산 조성에 대하여 조사 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 세포배양

간종양 세포에서 유래된 Hep-G<sub>2</sub> cell line은 ATCC(American Type of Cell Culture Collection)로 부터 구입하였다. Hep-G<sub>2</sub> 세포를 10%(v/v)의 fetal bovine serum(FBS)와 100units/ml의 penicillin-G, 100μg/ml의 streptomycin이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM) 배양액으로 37°C에서 5% CO<sub>2</sub> incubator에 배양했다.

세포 성장이 배양기 표면의 70~80%에 이르면 trypsin을 사용하여 세포를 수확하여 subculture를 하였다. 생 세포 측정은 trypan blue(0.04%) 염색방법을 사용하여 hemocytometer로 세포의 수를 측정했다. 세포의 지질 및 지방산 조성에 관한 실험에서는 개별지방산을 100μM의 농도로 FBS-free DMEM을 첨가해서 T-25 배양기에 배양하였다.

### Fatty acid/albumin complexes 조제

Fatty acid/albumin complexes용액은 멸균 상태로 조제하였다. 20μmoles의 단일지방산염, sodium salt(18 : 0, 18 : 1 cis, 혹은 18 : 1 trans)를 1ml의 멸균수

에 용해하였다. 5μmoles(300mg)의 bovine serum albumin(BSA, fatty acid-free)을 4ml의 DMEM(serum-free)에 용해시켰다. 이렇게 조제된 지방산과 BSA-용액을 완전히 혼합하였다. Fatty acid와 albumin의 molar ratio는 4 : 1이다. 조제된 fatty acid/albumin complexes 용액을 DMEM-serum free 배양액으로 희석하여 25, 50, 100, 200μM 농도의 지방산을 함유한 배지를 만들어 세포배양 실험을 하였다.

### 세포성장 측정

배양 용기 12-well flask의 각 well마다  $1 \times 10^6$ 의 세포를 접종하여 2ml의 DMEM(10% fetal bovine serum 포함)에 24시간 배양한 후, 배양액을 제거하고 HBSS으로 cell을 씻어주었다. 각 well마다 25, 50, 100 또는 200μM의 각 지방산(SA, OA 혹은 EA)을 함유한 DMEM(FBS-free) 배양액을 넣고 2일간 계속 배양했다. 제3일째에 배양액을 버리고, 세포를 HBSS으로 다시 씻은 다음 각 well마다 2ml phenol red-serum free DMEM 배양액을 넣고, 0.2ml의 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide ; thiazolyl blue)(Sigma chemical Co.)용액을 첨가한 후 3.5시간 동안 배양했다. 그후 2.2ml의 MTT solvent(0.1N HCl in anhydrous isopropanol)를 각 well에 넣고 MTT formazan crystals를 용해시킨 후에 spectrophotometer로써 570nm에서 흡광도를 측정하여 세포 성장을 측정하였다. 본 세포 측정의 원리는 MTT가 생세포의 mitochondrial dehydrogenases에 의하여 분해됨으로써 분홍색의 formazan crystals를 생성하는데 formazan 생성량은 metabolically active한 생세포의 수와 비례한다. 그러므로 불용성인 formazan crystal을 MTT solvent로 녹인 후에 그 흡광도를 측정하여 세포 성장을 측정하는 방법을 사용하였다.

### 세포의 단백질 및 지질 측정

Hep-G<sub>2</sub> cell의 protein은 Lowery 등(9)의 방법에 의해 측정하였으며 지질성분인 triglyceride는 Foster와 Dunn(10), phospholipid은 Batlett(11)방법으로, total cholesterol은 cholesterol kit(Sigma chemical Co.)를 이용하여 측정하였다.

### 지질과 지방산 분리

T-75 flask에  $2 \times 10^6$  세포를 접종하여 10%의 FBS를 포함한 DMEM에 24시간 배양한 후, 배양액을 제거하고 HBSS용액으로 세포를 씻어주었다. 각 flask마다

100μM 농도의 SA, OA 또는 EA의 지방산을 함유한 9ml의 FBS-free DMEM을 넣고 계속 2일간 배양했다. 제 3일째에 배양액을 분리 수집하고, 세포는 HBSS용액으로 씻은 다음 trypsin방법으로 수확하였다. 수집한 배양액은 freeze-dryer를 사용하여 전조시켰다. 세포와 전조된 배양액 분말은 Folch 등(12)의 방법으로 total lipids를 추출하였다. Phospholipid, triglyceride, 그리고 cholesteryl ester는 thin layer chromatography (TLC)를 사용하여 분리하였다. TLC 전개 용매로는 petroleum ether : diethyl dether : acetic acid/90 : 10 : 1로 하였다. TLC 전개 후에 여러가지 지질은 methanol에 함유된 5%의 sulfuric acid에 의하여 methyl화 시켰다. Fatty acid methyl esters는 column SP 2560(100m × 0.25mm ID 0.20μm film) 사용하여 dual flame ionization detector가 장착된 Hewlett-Packard model 5790A gas chromatography를 사용하여 분석하였다. Oven 온도는 160°C에 20분, 190°C까지 5°C/min, 그리고 190°C에서 35분간으로 program을 했고, injector와 detector 온도는 각 250°C를 유지했다.

### 통계처리

본 실험에서 얻은 data는 표준오차와 분산분석(ANOVA)을 실시하여 Duncan's multiple test로 각 실험구의 평균치간의 유의성(0.5%)을 검정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 세포성장과 최적 지방산농도

Table 1에는 Hep-G<sub>2</sub> 세포성장에 있어서 최적 지방산 농도를 알아서 실험을 원만히 행하기 위한 것으로

서 표준배지에 알부민, stearic acid(SA, C<sub>18:0</sub>), oleic acid(OA, C<sub>18:1</sub> cis), 그리고 elaidic acid(EA, C<sub>18:1</sub> trans) 첨가 농도를 달리했을 때의 세포 성장율에 미치는 효과에 대하여 나타내었다.

SA와 OA는 첨가 농도를 증가시키면, 단일지방산 무첨가구나 알부민 첨가구에 비해 100μM 첨가까지 성장율이 증가하여 최고에 도달하고 그 이후는 감소하는 경향으로 200μM 첨가시에는 100μM 첨가 때 보다 성장율이 낮은 값을 나타내었으며, EA 첨가의 경우는 50μM 첨가에서 지방산 무첨가구와 알부민 첨가구에 비해 세포 성장율이 증가하였지만 100μM과 200μM 첨가에 의하여 저하하는 경향이 나타났다. 따라서 단일지방산인 SA, OA 및 EA를 첨가시켜 Hep-G<sub>2</sub> 세포를 배양시킬 때의 조건은 표준배지에 100μM의 지방산 첨가가 적정 농도로 사료되어, 단일지방산은 그 첨가 농도에 따라 Hep-G<sub>2</sub> 세포의 성장과 지질대사에 영향을 미칠 것으로 생각되어진다.

### 단일지방산 첨가와 세포지질조성

앞서의 조건을 이용하여 Hep-G<sub>2</sub> 세포 배양배지에 100μM의 SA, OA, 그리고 EA를 첨가하였을 때의 배양 세포 중의 지질조성에 대하여 Table 2에 나타내었다.

본 실험에 사용한 3가지 단일지방산인 SA, OA 및 EA의 첨가배지 각각과 대조구와 비교했을 때 인지질의 양은 약간 증가하는 경향이었으나 유의차는 인정되지 않았다. 이러한 결과로 부터 위의 3가지 단일지방산 첨가에 의해 본 실험 조건하에서는 세포막에 존재하고 있는 인지질의 합성에는 영향을 미치지 않을 것으로 추측되어지며, triglyceride 합성은 대조구에 비하여 SA, OA 및 EA 첨가구에서 유의적으로( $p<0.05$ ) 증가

Table 1. Effects on fatty acid concentration on growth of Hep-G<sub>2</sub> cells in culture

Medium only	Albumin(μM)	Stearic acid(μM)				Oleic acid(μM)				Elaidic acid(μM)			
		25	50	100	200	25	50	100	200	25	50	100	200
Non	25												
0.51	0.56	0.52	0.55	0.65	0.60	0.59	0.67	0.70	0.61	0.60	0.59	0.54	0.41

<sup>1)</sup>Growth is expressed as an optical density(570nm) of MTT formazan with three replication assay

Table 2. Effect of stearic, oleic and elaidic acid on lipid concentrations in Hep-G<sub>2</sub> cells (μg/mg cell protein)

	PL	TG	TC	FC	CE
None	79.48±2.29	50.42±1.47 <sup>b</sup>	20.018±3.12 <sup>b</sup>	4.47±0.43 <sup>b</sup>	17.26±0.51 <sup>b</sup>
18:0	89.06±2.25	77.43±12.70 <sup>ab</sup>	23.85±2.59 <sup>b</sup>	6.32±0.32 <sup>b</sup>	17.34±1.44 <sup>b</sup>
18:1 cis	83.01±5.10	93.17±30.14 <sup>ab</sup>	25.28±7.31 <sup>ab</sup>	7.65±2.78 <sup>ab</sup>	19.11±1.69 <sup>b</sup>
18:1 trans	88.04±9.88	113.09±45.77 <sup>a</sup>	31.18±5.64 <sup>a</sup>	9.64±2.32 <sup>a</sup>	21.44±0.38 <sup>a</sup>

Values are mean±SE(n=3)

<sup>ab</sup>Means in the same column sharing common superscript letters are not significantly different( $p<0.05$ )

PL: Phospholipid, TG: Triglyceride, TC: Total cholesterol, FC: Free cholesterol, CE: Cholesteryl ester

하였다. 특히 EA 첨가구는 SA 및 OA 첨가구에 비해 서도 유의적으로 증가하였다( $p<0.05$ ). Total cholesterol 량에 있어서도 단일지방산 첨가배지에 있어서 EA 첨가배지구, SA 첨가배지, OA 첨가배지 순으로 증가하는 경향이었다. 한편, 무첨가배지구와 SA 첨가배지구에서는 유의적인 차( $p<0.05$ )가 인정되었다.

이러한 결과에서 볼 때 triglyceride(TG)량과 total cholesterol(TC)량은 거의 같은 경향으로 EA 첨가배지구에서 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다.

그리고 free cholesterol(FC) 및 cholestryl ester(CE) 량도 그와 같은 경향이었다. Trans형산(t-18 : 1)은 사람을 대상으로 한 실험에서 혈중 콜레스테롤 농도에 대

하여 포화지방산과 같은 성질로 작용한다고 보고 하였으며(6,8) 본 연구의 trans형산(t-18 : 1)에 대한 TC의 증가가 한층 지지해 주는 결과로 여겨진다. 한편, 성인 남자에게 trans형 지방산 섭취와 혈청 지질 농도와의 관계에서도 trans형 지방산 섭취에 의하여 직접적으로 총 혈청 콜레스테롤과 LDL-cholesterol의 상승에 관여를 하고 HDL-cholesterol 농도는 역으로 작용한다고 보고하였다(7). 지방이 동맥경화증과 만성 성인병의 요인으로 작용하기 때문에 최근들어 지방의 총 섭취량 뿐만 아니라 단일지방산의 생리적 특성에도 관심이 높아지고 있고 또한 포화지방산의 혈청 cholesterol을 높이고, 불포화지방산이 혈청 cholesterol을 낮춘다고 알

Table 3. Effect of stearic, oleic and elaidic acid on the fatty acid composition of cellular lipids in Hep-G<sub>2</sub> cells (area %)

	Control	Stearic acid	Oleic acid	Elaidic acid
<b>Triglyceride</b>				
14 : 0	4.1	4.7	4.3	5.7
16 : 0	19.6	29.0	26.7	29.9
16 : 1 $\omega$ 7	9.7	4.4	2.4	6.6
18 : 0	8.5	9.6	6.4	6.8
18 : 1 $\omega$ 9-t	—	—	—	10.1
18 : 1 $\omega$ 9-c	42.0	35.8	42.8	24.8
18 : 1 $\omega$ 7	13.5	12.7	12.7	13.7
18 : 2 $\omega$ 6	2.5	0.6	1.2	0.7
20 : 1 $\omega$ 9	0.1	3.2	3.5	1.7
<b>Cholesteryl ester</b>				
14 : 0	5.9	2.2	3.1	1.8
16 : 0	40.7	14.1	15.8	15.3
16 : 1 $\omega$ 7	2.8	8.9	10.0	11.6
18 : 0	15.0	5.6	4.4	5.5
18 : 1 $\omega$ 9-t	—	—	—	10.7
18 : 1 $\omega$ 9-c	20.4	53.3	51.2	40.5
18 : 1 $\omega$ 7	12.7	9.7	10.1	11.9
18 : 2 $\omega$ 6	0.5	3.7	2.8	2.1
20 : 1 $\omega$ 9	1.8	1.6	1.0	—
20 : 4 $\omega$ 6	0.2	0.9	0.6	0.6
<b>Phospholipid</b>				
14 : 0	4.0	2.6	3.0	4.6
16 : 0	28.5	23.2	23.4	28.6
16 : 1 $\omega$ 7	8.0	7.2	7.3	12.0
18 : 0	9.5	10.2	8.9	5.5
18 : 1 $\omega$ 9-t	—	—	—	7.8
18 : 1 $\omega$ 9-c	22.7	28.7	29.8	24.2
18 : 1 $\omega$ 7	12.0	10.9	10.3	13.6
18 : 2 $\omega$ 6	1.3	4.2	4.3	2.3
18 : 3 $\omega$ 3	—	0.5	0.3	0.8
20 : 1 $\omega$ 9	0.7	1.2	1.2	0.3
20 : 2 $\omega$ 6	10.3	8.4	7.7	—
20 : 4 $\omega$ 6	2.3	1.5	2.5	0.3
22 : 6 $\omega$ 3	0.7	1.4	1.3	—

Average area percent of duplicate analyses from the pooled samples of three flasks

려져 있지만(1,2), 아직까지 혈청 cholesterol이나 lipo-protein 농도에 미치는 단일지방산의 영향에 대해서는 지속적 연구가 필요하다고 생각된다.

#### 단일지방산 첨가와 세포내 지방산조성

Table 3에서는 단일지방산인 SA, OA 및 EA 첨가가 Hep-G<sub>2</sub> 세포내에서 합성된 triglyceride(TG), cholesteryl ester(CE) 및 phospholipid(PL)의 지방산 조성을 나타내었다. TG 지방산 조성에 있어서 SA, OA 와 EA 첨가구에서는 대조구와 비교해서 C<sub>16:0</sub>과 C<sub>20:1</sub> 함량이 높은 경향을 나타냈다. SA 첨가구는 OA나 EA

첨가구에 비해서 TG, CE, PL의 지방산 조성, 특히 C<sub>18:0</sub> 함량에 별 영향을 주지 않았으며, 이는 SA가 △-9-desaturase에 의해서 C<sub>18:1 cis</sub>로 용이하게 전환되기 때문으로 추측된다. 한편 EA 첨가구에서는 C<sub>18:1 trans</sub> 함량이 TG에서 10.1%, CE에서 10.7% 그리고 PL에서 7.8%로 증가되었는데 이는 EA가 세포내에서 각 지질의 합성에 용이하게 이용되고 있음을 나타내 주고 있다. OA 첨가구에서는 TG 지방산 조성에는 별 영향을 주지는 않았지만 CE에서는 대조구의 20.4%에 비해 51.2%, 그리고 PL에서는 대조구의 22.7%에 비해 29.8%의 높은 함량을 나타내었다.

Table 4. Effect of stearic, oleic and elaidic acid on the fatty acid composition of medium lipids in Hep-G<sub>2</sub> cells (area %)

	Stearic acid	Oleic acid	Elaidic acid
<b>Triglyceride</b>			
14 : 0	4.8	4.5	5.3
16 : 0	24.9	24.0	24.3
16 : 1 $\omega$ 7	5.6	5.8	8.5
18 : 0	9.7	4.7	4.5
18 : 1 $\omega$ 9-t	—	—	17.0
18 : 1 $\omega$ 9-c	41.3	46.5	25.1
18 : 1 $\omega$ 7	10.1	10.2	11.8
18 : 2 $\omega$ 6	0.7	1.1	1.2
18 : 3 $\omega$ 3	t	0.7	0.7
20 : 1 $\omega$ 9	2.1	1.8	0.7
20 : 4 $\omega$ 6	0.8	0.7	0.9
<b>Cholesteryl ester</b>			
14 : 0	9.0	9.0	5.5
16 : 0	6.5	6.9	6.5
16 : 1 $\omega$ 7	2.5	2.5	2.7
18 : 0	0.5	0.7	0.6
18 : 1 $\omega$ 9-t	—	—	0.7
18 : 1 $\omega$ 9-c	7.9	7.6	6.5
18 : 1 $\omega$ 7	0.7	0.8	0.8
18 : 2 $\omega$ 6	56.6	58.9	57.4
20 : 1 $\omega$ 9	1.5	0.8	1.3
20 : 4 $\omega$ 6	3.6	2.4	2.5
22 : 6 $\omega$ 3	11.2	10.4	15.6
<b>Phospholipid</b>			
14 : 0	3.0	3.9	4.0
16 : 0	32.5	33.4	32.6
16 : 1 $\omega$ 7	4.9	5.7	8.2
18 : 0	17.6	14.8	13.1
18 : 1 $\omega$ 9-t	—	—	5.6
18 : 1 $\omega$ 9-c	24.2	24.1	17.8
18 : 1 $\omega$ 7	4.8	5.0	5.9
18 : 2 $\omega$ 6	8.0	8.6	8.7
18 : 3 $\omega$ 3	0.5	0.6	0.2
20 : 4 $\omega$ 6	3.9	3.4	3.2
20 : 6 $\omega$ 3	0.6	0.5	0.7

Average area percent of duplicate analyses from the pooled samples of three flasks

### 단일지방산 첨가와 배지의 분비지방산 조성

Table 4에서는 배지에 세포로 부터 분비된 lipoprotein의 TG, CE와 PL의 지방산 조성을 나타내었다. SA 첨가구는 배지의 TG 조성에 있어  $C_{18:0}$  함량에는 별 영향이 없으나 배지의 TG는 세포의 TG에 비해  $C_{16:0}$  가 낮고  $C_{18:1\ cis}$  가 높은 경향을 보였다. 배지의 CE에서는 세포에서 보다  $C_{18:0}$  의 함량이 낮아졌고, PL에서는  $C_{18:0}$  의 함량이 세포에서 보다 훨씬 높은 추세를 보였다. EA 첨가구는  $C_{18:1\ trans}$  함량이 세포의 TG(10.1%)에서 보다 배지의 TG(17.0%)에서 훨씬 증가되었다. 배지의 CE는 EA의 첨가에도 불구하고  $C_{18:1\ trans}$  함량(0.7%)이 아주 낮은 것이 특징이었으며, 배지의 PL에서는 5.6%의  $C_{18:1\ trans}$  의 함량을 나타내었다. 배지의 CE 지방산 조성은 세포의 CE와는 큰 차이를 보였는데 전자는 다가불포화지방산( $C_{18:2}$ ,  $C_{20:4}$ ,  $C_{22:6}$ ) 함량이 특히 높은 반면 후자에서는  $C_{18:1\ cis}$  이 주성분으로 나타났다. OA의 첨가구에서 배지의 TG는 세포의 TG에 비해  $C_{16:0}$  가 낮고  $C_{18:1\ cis}$  가 높은 경향을 보였고, 배지의 CE는  $C_{18:1\ cis}$  함량(7.6%)이 세포의 CE  $C_{18:1\ cis}$  함량(51.2%)에 비해 아주 낮았으나 SA나 EA 첨가구의 CE 지방산 조성과 비교해 볼 때 별 차이가 나지 않았다. 배지의 PL은 OA의 첨가에도 불구하고  $C_{18:1\ cis}$  의 함량에 별 영향이 없었는데, 이는 PL의 지방산 조성에 있어서 포화지방산 및 단일불포화지방산의 합성 이용율이 낮기 때문으로 추산된다. 간의 microsomal fraction에서  $^{14}C$ -palmitic acid,  $^{14}C$ -oleic acid 그리고  $^{14}C$ -linoleic acid를 시료로 사용하여 PL합성을 본 결과 다가불포화지방산인 linoleic acid가 가장 높고, 다음에 palmitic acid 그리고 oleic acid 순서로 이용되었는데(13), 이는 PL 지방산 조성에 있어서 단일지방산이 선별적으로 합성에 이용되고 있음을 나타내 주고 있다.

대체적으로 포화지방과 불포화지방의 섭취가 혈청 cholesterol에 미치는 영향에 관해서는 많은 연구가 되어 왔지만, 단일지방산이 cholesterol 생성과 lipoprotein의 대사에 미치는 영향에 대해서는 아직까지 충분히 밝혀지지 않고 있다. 따라서 앞으로 동위원소를 이용해서 좀 더 표적하는 세포내의 cholesterol 생성에 관여하는 효소 및 bile acid의 합성, lipoprotein의 합성과 분비에 미치는 단일지방산의 영향에 대해서 심도있게 검토되어야 할 것으로 사료된다.

### 요 약

본 실험은 stearic acid(SA, 18:0), oleic acid(OA, 18:1 cis) 그리고 elaidic acid(EA, 18:1 trans)가

Hep-G<sub>2</sub> cell의 성장과 지방조성에 미치는 영향을 조사하였다. 단일지방산을 25, 50, 100 그리고 200μM의 농도로 serum free media에 첨가해서 세포를 2일 동안 배양했는데, 단일지방산의 100μM 까지의 농도에서는 세포가 정상적으로 성장했으나 200μM의 농도에서는 세포성장의 저하를 보였다. 세포를 각 지방산의 100μM 농도에서 2일간 배양한 결과 세포내의 triglyceride(TG) 양이 세 지방산 첨가구 모두 대조구에 비해 높게 나타났지만 이들간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. Total cholesterol(TC)량은 대조구와 SA, OA 첨가군이 서로 비슷한 양을 보였으며 EA 첨가군에서 비교적 높은 수치를 나타내었다. Cellular phospholipid(PL)량에 있어서는 실험군에 차이없이 모두 비슷한 양을 나타내었다. Fatty acid composition에 있어서 SA 첨가는 세포내의 TG, cholesteryl ester(CE), PL의 지방산 조성에 별 영향을 주지 않았다. OA 첨가는 TG의 지방산 조성에는 별 영향을 주지 않았지만 CE에서는 51.2% 그리고 PL에서는 29.8%의 높은  $C_{18:1\ cis}$  함량을 나타내었다. EA 첨가는 세포내의 TG, CE와 PL에 각기 10.1%, 10.7% 그리고 7.8%의  $C_{18:1\ trans}$  함량을 나타내었다. 배지의 TG, CE와 PL의 지방산 조성에 있어서는 SA와 OA 첨가구 사이에 별 차이가 없었으며, EA 첨가구는 배지의 TG, CE와 PL에 17.0%, 0.7% 그리고 5.6%의  $C_{18:1\ trans}$  함량을 나타내었다.

### 감사의 글

본 논문은 1994년도 동아대학교 교비지원 해외파견 연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사를 드립니다.

### 문 헌

1. Keys, A., Anderson, J. T. and Gronde, F. : Serum cholesterol response to changes in the diet, IV. Particular saturated fatty acids in the diet. *Metabolism*, **14**, 776(1965)
2. Hegested, D. M., McGandy, R. B., Myers, M. L. and Stare, F. J. : Quantitative effect of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **17**, 281 (1965)
3. Heimberg, M. and Wilcox, H. G. : The effects of palmitic acid, oleic acids, on the property and compositions of the very low density lipoproteins secreted by the liver. *J. Biol. Chem.*, **247**, 875(1972)
4. Mattson, F. H. and Grundy, S. M. : Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lipid Res.*, **26**, 194(1985)
5. Grundy, S. M. and Denke, M. A. : Dietary influences

- on serum lipids and lipoproteins. *J. Lipid Res.*, **31**, 1149(1990)
6. Mensink, R. P. and Katan, M. B. : Effect of dietary trans fatty acid on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N. Engl. J. Med.*, **323**, 439(1990)
7. Troisi, R., Willett, W. C. and Weiss, S. T. : Trans fatty acid intake in relation to serum lipid concentrations in adult men. *Am. J. Clin. Nutr.*, **56**, 1019(1992)
8. Judd, J. T., Clevidence, B. A., Muesing, R. A. and Wittes, J. : Dietary trans fatty acids : effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women. *Am. J. Cl. in Nutr.*, **59**, 861(1994)
9. Lowery, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 267(1951)
10. Foster, L. B. and Dunn, R. T. : Stable reagents for determination of serum triglycerides by a calorimetric Hantzsch condensation method. *Clin. Chem.*, **19**, 338 (1973)
11. Bartlett, G. R. : Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, **234**, 466(1968)
12. Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497(1957)
13. Cho, B. H. S. and Kummerow, P. A. : Lipid composition and metabolic activity of the microsomal fractions from the arterial and liver tissues of swine. *Biochem. Med.*, **20**, 267(1978)

(1996년 3월 27일 접수)