

## Triton WR-1339 복강주사로 유도된 생쥐의 고지혈증에 대한 참흙파래 추출물의 영향

정영하 · 조용철\* · 박인식\*\* · 안상현\*\* · 김진택\*\* · 강용주 · 홍용기\*\*\*  
부경대학교 해양생물학과, \*\*\*생물공학과, \*수산진흥원 남해수산연구소 증식과,  
\*\*동국대학교 한의과대학 해부학교실

### Effect of the Seaweed (*Monostroma nitidum*) Extract on Triton WR-1339 Induced Hyperlipidemia in Mouse

Yeongha JUNG, Yong-Chul CHO\*, In-Sick PARK\*\*, Sang-Hyun AHN\*\*,  
Jin-Taek KIM\*\*, Yong-Joo KANG and Yong-Ki HONG\*\*\*

Dept. of Marine Biology, \*\*\*Dept. of Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea  
\*Department of Aquaculture, National Fisheries Reseach and Development Institute, Yosu 550-120, Korea  
\*\*Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Kyongju 780-714, Korea

An antihyperlipidemic effect was observed by intraperitoneal injection of the seaweed *Monostroma nitidum* extract. Hyperlipidemia was induced by intraperitoneal injection of Triton WR-1339 (60 µg/g-body weight) into a mouse. Maximum level of blood cholesterol was reached at 20 hours after Triton injection. By simultaneous injection of the *M. nitidum* extract (30 µg/g-body weight) with the Triton into each right and left sides of the peritoneal cavity, levels of total cholesterol and low density lipoprotein were decreased to 24% and 14% compared to Triton injection only. For histochemical changes, hepatic tissues obtained at 40 hours after injection of the Triton and the *M. nitidum* extract were fixed in fromol-calcium solution. The meshlike cytoplasmic structures disappeared and hepatic plates were recovered in mice injected with the *M. nitidum* extract. Numbers of lipid droplets and cholesterol particles also decreased in the portal space of the hepatic cytoplasm. This indicates that the accumulation of lipid, including cholesterol, caused by Triton was prevented by the antihyperlipidemic effect of extract from the seaweed *M. nitidum*.

Key words : antihypercholesterolemia, antihyperlipidemia, *Monostroma nitidum*, seaweed extract, Triton WR-1339

## 서 론

최근 식생활의 변화 등에 의하여 많이 유발되는 고지혈증 (hyperlipidemia)은 정상적인 지단백 (lipoprotein) 등의 대사가 균형을 잃어버린 결과로 나타나며 (Myant, 1991; Robbins et al., 1989), 가장 현저한 변화는 전체 콜레스테롤의 60~70%를 차지하는 저밀도지단백 (low density lipoprotein; LDL) 농도의 상승으로 간의 LDL receptor의 결핍 (Karen et al., 1994), apolipoprotein 과잉생성 (Hornick et al., 1983), 그리고 식이로 유발된 중성지방 (triglyceride; TG)이 풍부한 chylomicron과 초저밀도지단백 (very low density lipoprotein; VLDL)의 증가 (Lottenberg et al., 1992)가 그 주요 원인인 것으로 보고되었다. 임상적으로는 동맥경화 (atherosclerosis)의 가장 뚜렷한 위험인자인 고지혈증의 치료제의 개발은 동맥경화를 예방할 수 있다는 점에서 그 중요성이 인식된다 (Keith, 1991; 최, 1992; 최 와 양, 1993).

본 실험은 해조류중 참흙파래 (*Monostroma nitidum* Wittrock)의 추출물로 부터 항고지혈증 (antihyperlipidemia) 효과를 조사하기 위한 것으로, 중성지방 축적과 저밀도지단백을 증가시키는 고지혈증 유발제 (Hayashi et al., 1982; Zeniya and Reuben, 1988)인 Triton WR-1339를 복강주사한 생쥐에 참흙파래 추출물을 동시에 복강주사한 후, 혈중 총콜레스테롤 (total cholesterol; TC) 및 유리콜레스테롤 (free cholesterol; FC), 중성지방, 고밀도지단백 (high density lipoprotein; HDL), 및 저밀도지단백의 함량과 동맥경화지수 (atherogenic index; AI) 등의 변화를 측정하였으며, 동시에 간 조직내에서 일어난 형태학적인 변화를 관찰하였다. 해조류의 일종인 참흙파래는 옆면이 얇고 부드러우며 단백질 비타민등 영양가가 높을 뿐만 아니라 특유의 향기등으로 고급 식품으로도 애용되어 왔으며 현재 양식 품종으로서도 개발중에 있다 (조, 1995; 조, 1996). Abe and Kaneda (1973a; 1973b)는 참흙파래에 여러 종류의 betaine들이 함유되어 있으며, 특히

beta-homobetaine은 쥐의 인위적인 고콜레스테롤혈증을 강화하였으나 간의 콜레스테롤량은 감소시키지 못함을 밝혔다. Ren et al. (1994)에 의해서도 참홀파래 및 그의 glucuronoxylorhamnan이 항고지혈증에 대한 효과가 있다고 보고하였다. 이와같은 고지혈증에 대한 연구는 주로 식이섭취 실험을 통하여 이루어져 왔으며 이는 식품으로서의 효과를 조사하는 데에는 적합한 방법이 될 수 있으나, 장기간의 사육과 대량의 시료를 필요로하는 단점을 가진다. 따라서 단시간내 소량의 시료로서 항고지혈증의 효과를 검증하는 방법으로 Triton WR-1339의 주사로 유도된 고지혈증에 대한, 참홀파래 추출물의 동시 복강주사로 나타난 혈중 콜레스테롤 및 지질 성분들을 측정함으로써, 생체막 투과성의 저분자 물질중에서 항고지혈증 효과를 조사하였다. 또한 간 조직내의 지방의 분포변화를 관찰하기 위해서 Sudan black B 염색을 행하였고, 콜레스테롤의 분포변화는 perchloric acid-naphthoquinone 염색한 후 조사하여 본 결과, 단시간내 소량의 시료로서도 참홀파래의 항고지혈증 효과를 검증할 수 있는 방법을 확립할수 있었다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

실험에 사용한 쥐는 유전공학연구소 실험동물사육실에서 분양받은 태령 4주된 ICR계 생쥐 수컷을 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 30~40g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 생리식염수 주사군, Triton 주사군, Triton과 참홀파래 추출물 투여군으로 나누었으며 각각에 10마리 이상씩 배정하였다.

### Triton 주사에 의한 고지혈증 유발

혈중 콜레스테롤 및 지질 성분들을 인위적으로 증가시키기 위하여 생리식염수로 만든 120 mg/ml의 Triton WR-1339 (Sigma Chemical Co., USA) 용액을 사용하여, Triton 주사군과 또한 Triton-참홀파래추출물 투여군에 각각 생쥐 몸무게 1g당 600 µg씩 복강주사하였으며, 그리고 대조군에는 동량의 생리식염수를 주사하였다.

### 참홀파래 추출물의 투여

참홀파래는 전남 진도군 구자도리 외해지역 참홀파래 양식장에서 시험 양식중인 건강한 성숙 조체를 채취하여, 증류수로 세척한 후 실온에서 약 15시간 정도 완전 건조시켜서 조체 1g당 증류수 30 ml를 넣어 막사사발에서 약 3분간 충분히 마쇄한 다음 2,000 rpm에서 20분간 원심분

리하였다. 그 상등액을 모아 0.22 µm filter 여과로 제균한후 시료로 사용하였다. 시료는 생쥐 몸무게 1g당 추출물 건조 중량으로 30 µg 정도되게 주사하였다. 이때 Triton과 참홀파래 추출물은 복강 왼쪽과 오른쪽에 각각 위치를 달리하여 주사하였다.

### 혈장 분리

생쥐의 꼬리 정맥 혈관부분을 칼로 약간 상처를 낸후 혈액을 heparine처리된 모세관으로 채취한후 식고로 밀봉하고 원심관에 넣어 원심분리후 혈장과 혈구를 분리하여 사용하였다.

### 지질 정량

지질 정량에 쓴 시액은 각각 아산제약회사에서 제조한 측정시액을 사용하였으며, 혈중 총콜레스테롤은 총콜레스테롤 측정시액 (AM 202-K)을 사용하여 혈장 4 µl에 효소 시액 600 µl를 섞어 37°C에서 5분간 반응시켜 500 nm파장에서 그 흡광도를 측정하였다. 유리콜레스테롤은 측정시액 (AM 302-K)을 사용하여 혈장 20 µl에 효소정색시액 600 µl를 섞어 37°C에서 15분간 반응시켜 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 중성지방은 측정시액 (AM 157S-K)을 사용하여 혈장 4 µl에 측정시액 600 µl를 섞어 37°C에서 10분간 반응시켜 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 고밀도지단백은 측정시액 (AM 203-K)을 사용하여 혈장 40 µl에 분리침전시액 40 µl를 혼합하여 10분간 실온에 방치한후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액 20 µl에 측정효소시액 600 µl를 혼합한후 37°C에서 5분간 반응한 다음 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저밀도지단백은 총콜레스테롤에서 고밀도지단백의 함량을 뺀 값으로 표시하였다. 그리고 동맥경화지수는 저밀도지단백을 고밀도지단백으로 나눈 값으로 표시하였다. 항고지혈증값 (antihyperlipidemic value; %)은  $100 \times (TE-S)/(T-S)$ , 즉 TE는 Triton과 참홀파래 추출물을 주사한 군의 지질 성분 함량, S는 생리식염수를 주사한 군의 지질 성분 함량, T는 Triton만을 주사한 군의 지질 성분 함량으로 표시하였다.

### 통계 분석

실험 자료는 평균  $\pm$  표준편차로 표시하였으며, 유의수준  $p < 0.05$ 로 student t-test를 실시하였다.

### 간 조직 표본 제작

Triton을 주사한 후 40시간이 되었을 때 생리식염수 주사군, Triton 주사군, 그리고 Triton과 참홀파래 추출물

주사군의 생쥐들을 경추탈구로 희생시켜 phosphate-buffered saline (PBS)으로 cardiac perfusion한 후 간을 적출하였다. 적출된 간조직은 10% 중성 포르말린 (neutral-buffered formalin; NBF) 용액에 담구어 실온에서 24시간 동안 고정한 후, 통상적인 방법으로 paraffine에 포매하고 5  $\mu$ m 두께로 연속절편을 만들었다. 연속절편은 hematoxyline과 eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다.

#### 간 조직 냉동절편 제작

지방 염색에 사용될 간 조직의 냉동절편의 제작은 상기 서술한 방식대로 Triton 주사 후 40시간이 되었을 때 생쥐를 경추탈구로 희생시켜 PBS로 cardiac perfusion한 후 간을 적출하였다. Sudan black B를 이용한 지방염색에 필요한 냉동절편은 우선 NBF에 고정한 후 30% sucrose 용액에 침적시켰다. 그런 다음 냉동절편기로 5  $\mu$ m 두께의 냉동절편을 제작하였다. 한편 perchloric acid-naphthoquinone (PAN) 염색법을 통한 콜레스테롤 염색에 사용될 냉동절편은 fromol-calcium 용액에 1주일동안 고정한 후 위와 동일한 방법으로 냉동절편을 제작하였다.

#### 간 조직의 지방 염색

간 조직의 지방염색은 Sudan black B 염색법으로 행해졌는데 우선 냉동절편을 absolute propylene glycol로 10분간 탈수한 후 Sudan black B 용액에 10분간 염색하였다. 85% propylene glycol로 3분간 탈색한 후 증류수에 수세하고 nuclear fast red로 1분간 대조 염색하였다. 대조 염색 후 증류수로 3회 수세한 다음 glycerin jelly로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 간 조직의 콜레스테롤 염색

간 조직의 콜레스테롤 염색은 PAN 염색법으로 시행하였다. 우선 냉동절편위에 PAN 시약을 도포한 후 60°C incubator에서 용액의 색깔이 적색에서 청색으로 변화될 때까지 반응시킨다. 반응이 완료되면 60% perchloric acid를 적하한 후 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

#### 항고콜레스테롤혈증 효과

단시간내에 인위적인 고지혈증을 유발시키기 위하여 Triton WR-1339를 생쥐의 체중 1g당 600  $\mu$ g정도를 생리식염수에 녹여 복강내에 주사하고 난후, 시간별로 혈중 총콜레스테롤의 함량 변화를 조사한바 Table 1과 같다. Triton 주사후 20시간부터 최고치에 도달하여 생리식염수 투여구보다 약 8배 정도의 총콜레스테롤 함량이 30시간까지 유지하다가 서서히 감소되었다. 또한 Triton과 참홀과래 추출물을 양쪽 복강에 각각 동시에 주사하였을 경우에는, 전반적으로 Triton에 의한 총콜레스테롤의 혈중 함량의 증가분에 대한 약 1/3 정도량만의 콜레스테롤이 증가되었으며, 특히 10시간째의 경우는 Triton에 의한 증가분의 약 15% 정도량만 비울적으로 증가하였으므로, 참홀과래 추출물이 초기의 Triton에 의한 콜레스테롤의 혈중 유발을 상당량 방어하는 것으로 나타났다.

#### 지질 함량 변화

Triton 주사후 총콜레스테롤이 최고치에 도달하는 20시간후에 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤, 중성지방, 고밀도지단백, 저밀도지단백, 동맥경화지수등을 측정된 값은 Table 2와 같다. 이때 참홀과래 추출물을 반대편 복강에

**Table 1. Changes of total cholesterol in mouse injected with Triton WR-1339 and *M. nitidum* extract<sup>1</sup>**

Time (hr)	0	10	20	30	40	50	60
Saline	54.2 $\pm$ 7.0	55.2 $\pm$ 6.8	57.7 $\pm$ 5.6	59.1 $\pm$ 6.6	56.7 $\pm$ 10.7	62.4 $\pm$ 6.3	57.9 $\pm$ 7.2
Triton <sup>2</sup>	61.4 $\pm$ 5.4	382.7 $\pm$ 74.7	465.7 $\pm$ 11.6	466.1 $\pm$ 31.0	402.3 $\pm$ 76.4	365.8 $\pm$ 62.9	165.8 $\pm$ 53.8
Triton <sup>2</sup> & <i>M. nitidum</i> <sup>3</sup>	59.3 $\pm$ 4.8	106.1 $\pm$ 38.4	209.4 $\pm$ 70.6	202.6 $\pm$ 75.1	168.9 $\pm$ 48.7	135.1 $\pm$ 36.1	100.6 $\pm$ 22.7

<sup>1</sup> Expressed as mean value (mg/dl)  $\pm$  SD of at least 10 mice, and the statistical significance was  $p < 0.001$ .

<sup>2</sup> 600  $\mu$ g of Triton WR-1339 were injected intraperitoneally per one g of body weight.

<sup>3</sup> 30  $\mu$ g of *M. nitidum* were injected intraperitoneally per one g of body weight.

**Table 2. Levels of blood lipids in mouse injected with Triton WR-1339 and *M. nitidum* extract<sup>1</sup>**

	TC (mg/dl)	FC (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	AI (LDL/HDL)
Saline	62.7 $\pm$ 6.6	19.9 $\pm$ 1.0	267.0 $\pm$ 2.2	15.0 $\pm$ 0.8	47.7 $\pm$ 7.1	3.2
Triton <sup>2</sup>	505.4 $\pm$ 20.7 <sup>a</sup>	165.9 $\pm$ 25.1 <sup>a</sup>	863.1 $\pm$ 42.8 <sup>a</sup>	71.5 $\pm$ 6.4 <sup>a</sup>	434.0 $\pm$ 26.6 <sup>a</sup>	6.1
Triton <sup>2</sup> & <i>M. nitidum</i> <sup>3</sup>	169.8 $\pm$ 24.6 <sup>a</sup>	64.7 $\pm$ 4.8 <sup>a</sup>	759.9 $\pm$ 58.0 <sup>b</sup>	64.4 $\pm$ 9.9 <sup>c</sup>	102.9 $\pm$ 17.2 <sup>c</sup>	1.6
Antihyperlipidemic value (%)	24.2	30.7	82.7	87.5	14.3	

<sup>1</sup> Expressed as mean value (mg/dl)  $\pm$  SD of at least 6 mice, and the statistical significance was <sup>a</sup> $p < 0.001$ , <sup>b</sup> $p < 0.01$ , <sup>c</sup> $p < 0.05$ . <sup>2</sup> 600  $\mu$ g of Triton WR-1339 were injected intraperitoneally per one g of body weight. <sup>3</sup> 30  $\mu$ g of *M. nitidum* were injected intraperitoneally per one g of body weight. Abbreviations; TC=total cholesterol, FC=free cholesterol, TG=triglyceride, HDL=high density lipoprotein, LDL=low density lipoprotein, AI=atherogenic index.

Triton과 동시에 주사하였을 경우에 특히 총콜레스테롤 및 저밀도지단백이 Triton에 의해서만 증가하는 량에 대하여 각각 약 24% 및 14% 정도량으로 약간 증가되었을 뿐으로 강하게 이들의 생성 억제 효과를 나타내었다. 그리고 고밀도지단백에 대한 저밀도지단백 비율로 표시되는 동맥경화지수는 참홀파래 추출물의 동시 주사로 인하여 Triton 혹은 생리식염수 주사구에서 보다도 훨씬 낮은 수치로서 동맥경화 유발 가능성을 매우 낮추어주는 기능을 가지는 것으로 나타났다.

### 간 조직의 형태 변화

Triton 주사에 의하여 간 조직으로부터 지방 방울 및 콜레스테롤 입자의 수나 크기가 가장 많이 형성된 주사 후 40시간을 기준으로 하여, 이때의 Triton 및 참홀파래 추출물이 간 조직에 미치는 영향을 조사하였다. 생리식염수를 복강주사한 40시간 후의 대조군은 정상적인 간세포판(hepatic plate)의 배열을 볼 수 있었으며, 간조직 손상의 증거인 간세포의 괴사(necrosis), 괴사된 간세포 주변의 림프구나 섬유아세포의 침적(infiltration), 응혈(blood coagulation) 및 액포화(vacuolation)된 세포질 유실에 의한 간세포질의 그물구조 등의 형태적 변화는 나타나지 않았다(Fig. 1). Triton 주사군은 대조군과 다른 양상의 형태적 변화가 관찰되었는데, Triton 주사 후 생긴 세포질의 액포화된 부분이 유실됨으로서 생기는 그물구조를 가진 간세포가 중심정맥 주변부의 간세포에서 문맥공간 주변부의 간세포까지 끌고루 나타났다(Fig. 2). 특히 문맥공간 주변부의 간세포에서 세포질의 유실이 심해져 간세포들의 세포경계의 구분이 어려웠으며 그 결과

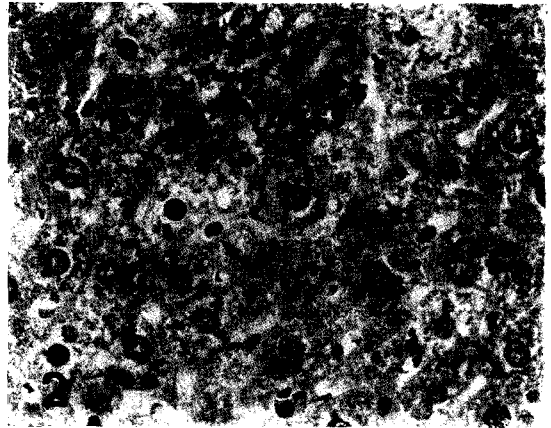


Fig. 2. Liver tissue of mouse 40-hr after intraperitoneal Triton WR-1339 injection. Hepatocytes having meshlike cytoplasm are shown in the portal space. Hepatic plates have disappeared in the aggregated region of meshlike hepatocyte. Arrows indicate meshlike cytoplasm. H & E stain.  $\times 400$ .

전체적인 간세포판의 배열이 사라졌다. 그러나 괴사 간세포주변부에서 나타나는 림프구나 섬유아세포의 침적, 응혈은 관찰되지 않았다. 한편 Triton과 참홀파래 추출물을 각각 양쪽 복강에 동시에 주사한 투여군에서 관찰된 간 조직의 형태적 변화의 차이는, Triton 주사군이 액포화된 세포질 성분의 유실에 의한 세포질의 그물구조가 간소엽전체에서 나타난 반면, Triton과 참홀파래 추출물 투여군에서는 일부 문맥공간 주변부의 간세포에서 나타났다(Fig. 3). 또한 Triton 주사군에서 파괴되어 사라진

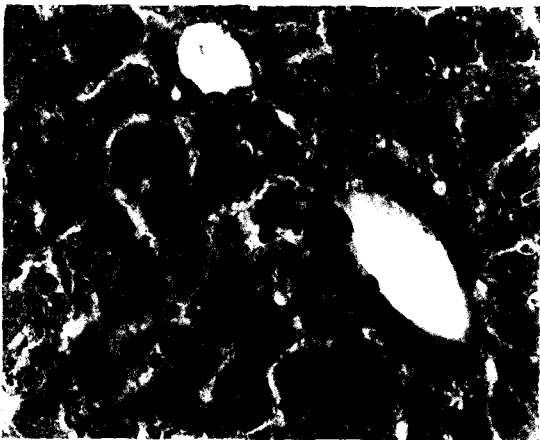


Fig. 1. Liver tissue of mouse 40-hr after intraperitoneal saline injection. Hepatocytes and hepatic plates appear normal. C, central vein. H & E stain.  $\times 400$ .

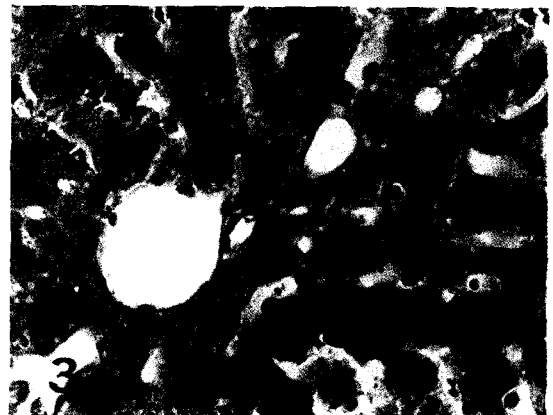


Fig. 3. Liver tissue of mouse 40-hr after intraperitoneal injection of each Triton and *M. nitidum* extract into left and right sides of peritoneal cavity. The meshlike cytoplasm has disappeared in hepatic lobule. H & E stain.  $\times 400$ .

간세포관의 배열은 Triton과 참홀파래 추출물 투여군에서는 관찰할 수 있었다. 한편 Triton과 참홀파래 추출물 투여군에서도 간 세포의 괴사로 인한 림프구나 섬유아세포의 침적 그리고 용혈등은 관찰되지 않았다.

#### 지방 분포 변화

생리식염수 주사군에서는 Sudan black B에 흑청색으로 염색된 지방방울이 간소엽 전체에 골고루 분포하는 양상이었으며 (Fig. 4), 그 염색된 지방입자의 크기도 적혈구에 비해 훨씬 작은 것으로 관찰되었다 (Fig. 5). 그러나 Triton 주사군에서 관찰된 지방방울은 중심정맥 주변부

에서부터 문맥공간 주변부까지 전체 간소엽에서 그 수가 증가한 것으로 관찰되었으며 (Fig. 6), 또한 간세포에 존재하는 지방입자의 크기도 커져 그 크기가 공모양 모세혈관에서 관찰되는 적혈구와 비슷하였다 (Fig. 7). Triton과 참홀파래 추출물 투여군의 지방염색 결과는 생리식염수 주사군과 비슷한 양상으로 관찰되었는데 (Fig. 8), 그 크기도 적혈구보다 훨씬 작았다 (Fig. 9). 그러나 일부 간소엽의 문맥공간 주변부의 간세포에서 지방방울의 축적이 생리식염수 주사군보다는 많은 것으로 나타났지만 Triton 주사군에 비해서는 적은 것으로 관찰되었다. 또한 이 지역에서 나타난 지방입자의 크기도 대조군에 비해

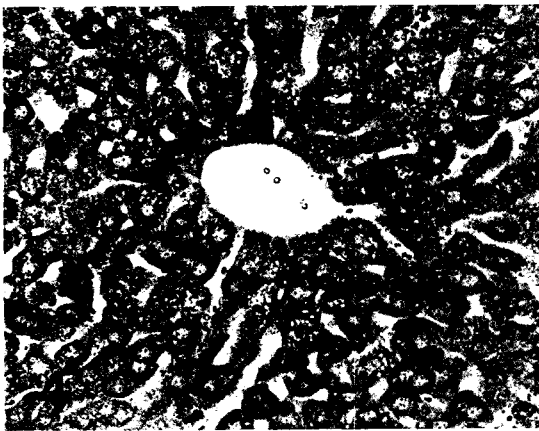


Fig. 4. Central vein area in liver tissue 40-hr after intraperitoneal saline injection. The lipid drops in hepatocytes were demonstrated by Sudan black B staining and appear as dark blue colored spot. Arrows indicate lipid drops. Sudan black B stain.  $\times 200$ .

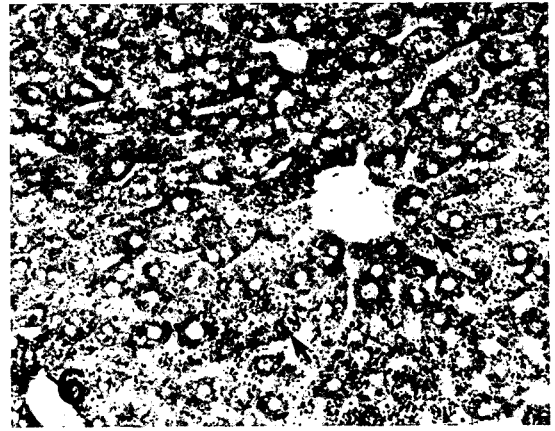


Fig. 6. Lipid drops in liver tissue 40-hr after intraperitoneal Triton injection. Numbers of lipid drops were remarkably increased in all hepatic area. Arrows indicate lipid drops. Sudan black B stain.  $\times 200$ .

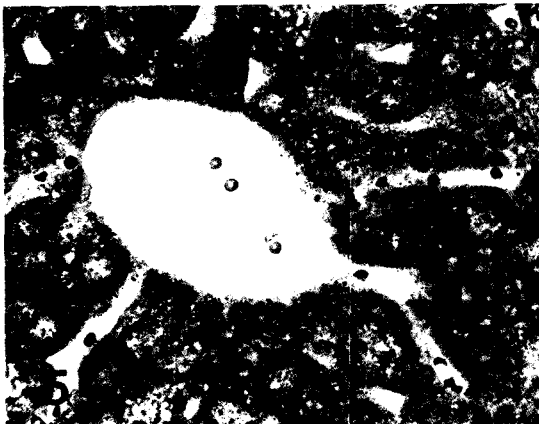


Fig. 5. Magnification of fig. 4. The size of lipid drops became smaller than RBCs in sinusoidal capillaries. Sudan black B stain.  $\times 400$ .

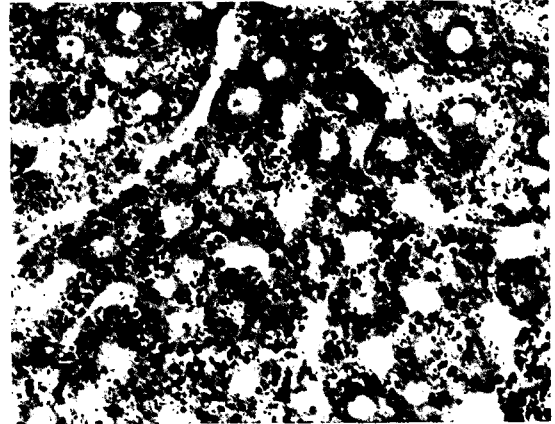


Fig. 7. Magnification of fig. 6. The size of lipid drops are larger than in saline injected group. Sudan black B stain.  $\times 400$ .

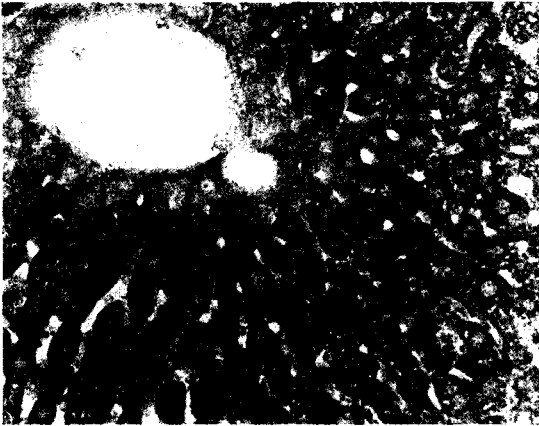


Fig. 8. Lipid drops in liver tissue 40-hr after intraperitoneal injection of each Triton and *M. nitidum* extract into left and right sides of peritoneal cavity. The lipid drops were conspicuously decreased in all hepatic areas compared with the Triton injected group. Arrows indicate lipid drops. Sudan black B stain.  $\times 200$ .

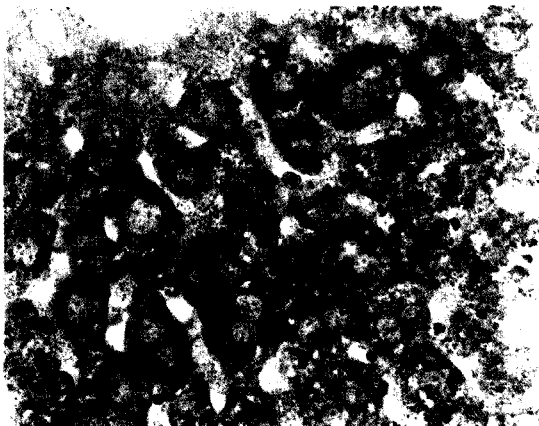


Fig. 9. Magnification of fig. 8. The size of lipid drops was diminished compared to the Triton injected group. Sudan black B stain.  $\times 400$ .

조금 큰 것으로 관찰되었지만, Triton 주사군에 비해서는 훨씬 작은 것으로 나타났다.

콜레스테롤 분포 변화

PAN에 짙은 흑녹색으로 염색된 콜레스테롤은 그 입자의 형태가 눈입자와 유사하며 생리식염수 군에서는 간소엽 전체에 골고루 분포하는 양상으로 관찰되었다 (Fig. 10). Triton 주사군에서 관찰된 콜레스테롤 입자의 분포 양상은, 생리식염수 군과 같이 전체에 골고루 분포하지만

생리식염수 군보다 많은 수의 콜레스테롤이 침착된 것이 확인되었다 (Fig. 11). 그리고 콜레스테롤 입자의 크기도 생리식염수 군보다는 커진 것으로 나타났다. Triton과 참홀파래 추출물 투여군의 콜레스테롤 염색 결과 그 분포는 생리식염수 군과 비슷한 양상으로 관찰되었다 (Fig. 12). 그러나 일부 문맥공간 주변부의 간세포에서는 생리식염수 군보다 많은 양의 콜레스테롤 침착이 나타났다. 그러나 이러한 Triton과 참홀파래 추출물 투여군의 변화는 Triton 주사군에 비해서는 그 침착되는 양이 훨씬 적은 것으로 관찰되었다.

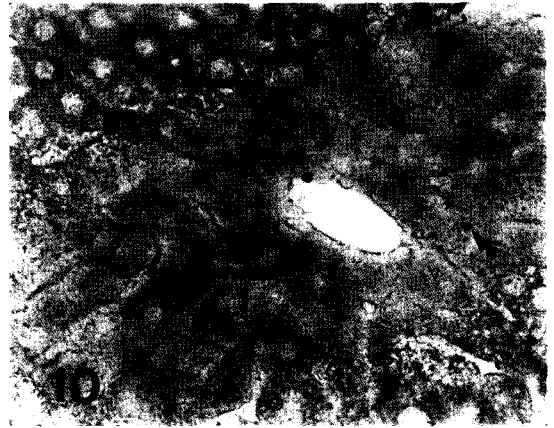


Fig. 10. Cholesterol particles in liver tissue 40-hr after intraperitoneal saline injection. The cholesterol particles in hepatocytes were demonstrated as dark green asterisk by the PAN method. Arrow indicates a cholesterol particle.  $\times 400$ .

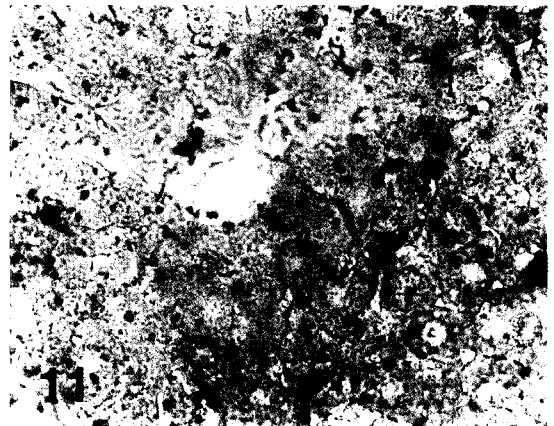


Fig. 11. Cholesterol particles in liver tissue 40-hr after intraperitoneal Triton injection. Numbers of particles were remarkably increased in all hepatic areas. Arrow indicates a cholesterol particle. PAN stain.  $\times 400$ .

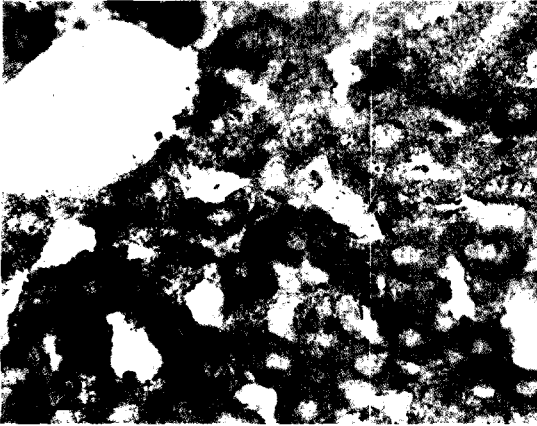


Fig. 12. Cholesterol particles in liver tissue 40-hr after intraperitoneal injection of each Triton and *M. nitidum* extract into left and right sides of peritoneal cavity. The cholesterol particles were conspicuously decreased in all hepatic areas compared with the Triton injected group. Arrow indicates a cholesterol particle. PAN stain.  $\times 400$ .

## 고찰

고지혈증은 혈액내 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스터 및 중성지방과 같은 지질의 농도가 증가되는 것으로 실질조직내에서는 지방의 비정상적 축적으로 인한 지방변성을 유도한다 (Catlos and Goetz, 1984). 이러한 고지혈증의 병인으로는 중성지방의 가수분해 저해 (Dominique et al., 1991), 저밀도지단백 수용체의 결핍 결과인 저밀도지단백의 대사이상 (Noriaki et al., 1989; Karen et al., 1994), Apo B의 전달율의 증가 (Vushkin and Dolgov, 1986)와 같은 지질과 지질단백의 대사 이상으로 생기는 원발성인 것과, 당뇨병, 갑상선 기능감퇴, 알콜성 간질환등 (Robbins et al., 1989) 의 속발성인 것으로 나눌수 있다. 특히 근래에 들어 식이성향의 서구화와 지방섭취량의 변화로 인해 계속적인 증가를 보이고 있는 고지혈증은 콜레스테롤이 혈관내막에 침적됨으로 야기되는 동맥경화의 발병 증가를 주도하고 있는 실정이다 (Keith, 1991; Myant, 1991).

이와같은 고지혈증은 지금까지 주로 쥐를 대상으로 한식이섭취 실험을 통하여 항고지혈증 인자의 탐색 등 많은 연구가 이루어져 왔다 (최 와 양, 1993; Ren et al., 1994). 그러나 이같은 항고지혈증 인자를 생산하는 생물종의 품종개량 등의 목적으로는 소량의 시료로서 단시간 내 효과 검증이 필요하며, 또한 생체막 흡수가 가능한 저분자 물질의 항고지혈증 인자의 탐색에는 복강 주사에

의한 방법이 우선 요구된다. 따라서 고지혈증을 인위적으로 유발시키기 위해서 Triton WR-1339를 복강주사하였으며, 동시에 참홀과래 추출물도 복강주사하여 나타나는 항고지혈증의 효과를 조사하여 보았다. 이때 사용한 Triton WR-1339는 non-specific lipase 저해제로서 (Borensztajn et al., 1976), 고지혈증을 유발 (Churr et al., 1971; Zeniya and Reuben, 1988)할 뿐만 아니라, 중성지방, 고분자 Apo B, 유리 및 ester 결합 콜레스테롤, 인지질, 지방산의 혈청농도 증가 (Hayashi et al., 1982; Vushkin and Dolgov, 1986; Raul et al., 1990; Dominique et al., 1991)와 in vivo 및 in vitro에서의 lysosomal cholesterol esterase의 활성 감소 (Hayashi et al., 1981; Larusso et al., 1982)가 보고되었다. 이와같은 Triton을 생쥐의 복강내 주사로서 혈중 총콜레스테롤 수치가 생리식염수 투여에 비해 8배나 증가하였으며, Triton과 참홀과래 추출물을 동시에 주사하였을 경우에는 초기 10시간째에 Triton에 의해 유발되는 콜레스테롤 량의 15%만 증가된 상태이며, 20시간 이후부터는 30~40% 정도로 유지되었다 (Table 1). 이는 참홀과래가 Triton에 의한 초기의 고콜레스테롤혈증을 상당량 방어하는 기작의 물질을 함유하는 것으로 여겨진다. 그리고 Table 2에서 보는바와 같이, 고밀도지단백에 대한 저밀도지단백의 비율로 표시되는 동맥경화지수에서, Triton과 참홀과래 추출물 투여군은 Triton 주사군보다 3.8배, 그리고 생리식염수 구에서 보다도 2배의 동맥경화 유발 가능성을 낮추어 주는 작용을 하는 것으로 나타났다.

또 간조직에서 나타나는 참홀과래 추출물의 항고지혈증 효과를 조사하기 위해서, 본 실험에서는 hematoxylin & eosin 염색을 통한 간조직의 일반적인 형태변화를, Sudan black B 염색을 통한 지방 분포 변화를, 그리고 perchloric acid-naphthoquinone 염색을 통한 콜레스테롤 분포 변화를 광학현미경으로 관찰하였다. Triton 주사후 간조직에서 나타나는 일반적인 형태변화는 간세포에 축적된 지방이 염색과정에서 유실되어 나타난 그물구조가 중심정맥에서 문맥공간 주변부까지의 전체 간소엽에서 나타나는 것이었다. 그러나 참홀과래 추출물 투여군에서는 일부 문맥공간 주변부를 제외하고는 Triton 주사군에 비하여 이러한 그물구조가 적게 나타났다. 지방의 분포는 Triton 주사군에서는 간소엽 전체에서 지방방울의 침착이 증가하였으며, 그 지방방울의 크기도 생리식염수 군에 비해 증가된 것으로 나타났다. 그러나 참홀과래 추출물 투여군에서는 일부 문맥공간 주변부를 제외하고는 지방방울이 크게 감소되어 생리식염수 군과 유사하였으며, 지방방울의 크기도 작아졌다. 콜레스테롤 입자의 분포

변화는 Triton 주사군에서는 간소엽 전체에서 콜레스테롤 입자의 침착이 증가하였으나, 참홀과래 추출물 투여군에서는 일부 문맥공간 주변부를 제외하면 콜레스테롤 입자가 크게 감소되는 것으로 나타났다. Triton 주사군에서 나타나는 일련의 변화는 고지혈증에서 나타나는 전형적인 병변으로서, 이것은 간세포에서 일시적인 지방대사 장애 즉, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG CoA) reductase에 의한 간세포 내에서의 콜레스테롤 합성의 증가로 야기된 plasma lipoprotein의 증가에 기인한다 (Goldfarb, 1978; Baran et al., 1985; Kasim et al., 1992). 그러나 참홀과래 추출물 투여군에서 나타나는 결과는 Triton 주사에 의해 야기될수 있는 지방대사의 손실을 참홀과래 추출물이 방어 내지는 회복시키는 역할을 수행함으로써, 간세포 내에서 지방축적이 Triton 주사군에 비해 저하된 것으로 생각할수있다. 이상의 결과로 미루어 보아 참홀과래 추출물은 항고지혈증에 유의한 작용을 하는 것으로 사료되며, 아울러 동맥경화의 예방인자로서의 역할도 기대되는 바 앞으로 이 부분의 연구도 진행되어야 할 것이다.

## 사 사

본 논문은 수산청에서 시행한 수산특정연구개발사업 (1994-1997)의 연구개발 결과의 일부입니다.

## 참 고 문 헌

- Abe, S. and T. Kaneda. 1973a. Studies on the effect of marine products on cholesterol metabolism in rats. VIII. The isolation of hypocholesterolemic substance from green laver. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 39, 383~389.
- Abe, S. and T. Kaneda. 1973b. Studies on the effect of marine products on cholesterol metabolism in rats. IX. Effect of betaines on plasma and liver cholesterol levels. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 39, 391~393.
- Baran, J. S., I. Laos, D. D. Langford, J. E. Miller, C. Jett, B. Taite, and E. Rohrbacher. 1985. 3-Alkyl-3-hydroxyglutaric acid: a new class of hypocholesterolemic HMG CoA reductase inhibitors. *J. Med. Chem.*, 28, 597~601.
- Borensztajn, L., M. S. Rone, and T. J. Kotlan. 1976. The inhibition in vivo of lipoprotein lipase (clearing-factor lipase) activity by Triton WR-1339. *Biochem. J.*, 156, 539~543.
- Catlos, T. and W. R. Goetz. 1984. Sandritter's color atlas and textbook of histopathology. 7th ed. Year Book Med. Co., pp. 153~155.
- Churr, P. E., J. R. Schultz, and T. M. Parkinson. 1971. Triton-induced hyperlipidemia in rats as an animal model for screening hypolipidemic drugs. *Lipids*, 7, 68~74.
- Dominique, H., H. Paul, and N. B. David. 1991. Effect of lipase inhibitor, triton WR-1339 and tetrahydrolipstatin, on the synthesis and secretion of lipids by rat hepatocytes. *FEBS.*, 286, 186~188.
- Goldfarb, S. 1978. Rapid increase in hepatic HMG CoA reductase activity and in vivo cholesterol synthesis after triton WR-1339 injection. *J. Lipid. Res.*, 19, 489~494.
- Hayashi, H., S. Ninobi, Y. Matsumoto, and T. Suga. 1981. Effect of triton WR-1339 on lipoprotein lipolytic activity and lipid content of rat liver lysosome. *J. Biochem.*, 89, 573~579.
- Hayashi, H., M. Shitara, and F. Yamasaki. 1982. The origin of lipid accumulated in the liver lysosomes after administration of triton WR-1339. *J. Biochem.*, 92, 1585~1590.
- Hornick, C. A., T. Kita, R. L. Hamilton, J. P. Kane, and R. J. Havel. 1983. Secretion of lipoproteins from the liver of normal and WHHR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80, 6096~6100.
- Karen, F. K., R. M. Dawn, L. A. Linda, E. R. Steven, D. S. Leslie, and M. W. James. 1994. In vivo correction of LDL receptor deficiency in the WHHR with recombinant adenoviruses. *J. Bio. Chem.*, 269, 13695~13702.
- Kasim, S. E., R. C. Leboeuf, S. Khilnani, L. Tallapaka, D. Dyananda, and K. L. Jen. 1992. Mechanisms of triglyceride-lowering effect of an HMG-CoA reductase inhibitor in a hypertriglyceridemic animal model, the Zucker obese rat. *J. Lipid. Res.*, 33, 1~7.
- Keith, E. S. 1991. Atherosclerosis. *Encyclo. Human Bio.*, 1, 447~455.
- Larusso, N. F., L. J. Kost, J. A. Carter, and S. S. Barham. 1982. Triton WR-1339, a lysosomotropic compound, is excreted into bile and alters the biliary excretion of lysosomal enzymes and lipids. *Hepatology*, 2, 209~215.
- Lottenberg, A. M., H. C. Oliveira, E. R. Nakandakare, and E. C. Quintao. 1992. Effect of dietary fish oil on the rate of very LDL, triacylglycerol formation and on the metabolism of chylomicrons. *Lipid*, 27, 326~330.
- Myant, N. B. 1991. Cholesterol. *Encyclo. Human Bio.*, 2, 411~418.
- Noriaki, K., K. Toru, M. Atsushi, Y. Masayuki, I. Kenji, N. Yutaka, and K. Chuichi. 1989. Induction of mRNA for LDL receptors in heterozygous Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit treated with CS-514 (Pravastatin) and Cholestyramine. *Circulation*, 79, 1084~1090.
- Raul, G. M., A. R. Ivete, and H. H. Mario. 1990. Effects of triton WR1339 and heparin on the transfer of surface lipids from triglyceride rich emulsions to HDL in rats. *Lipid*, 25, 701~705.
- Ren, D., H. Noda, H. Amano, T. Nishino, and K. Nishizawa.



1994. Study on antihypertensive and antihyperlipidemic effects of marine algae. *Fish. Sci.*, 60, 83~88.
- Robbins, S. L, R. Cotran, and V. Kumar. 1989. Robbins pathologic basis of disease. W. B. Saunders. 4th ed., pp. 556~561.
- Vushkin, M. L. and A. V. Dolgov. 1986. Activity of cholesterol metabolism enzymes and lipid levels in the rat liver, aorta, adrenals and serum after exposure to triton WR-1339. *Vopr. Med. Khim.*, 32, 98~101.
- Zeniya, M. and A. Reuben. 1988. Triton WR-1339 induced changes in serum lipids and biliary lipid secretion. *Am. J. Physiol.*, 254, 346~354.
- 조용철. 1995. 유용해조류 (홀파래, 툫, 갈래곰보) 양식개발 시험. 1차년도 중간보고서. 수산청. pp. 147.
- 조용철. 1996. 유용해조류 (홀파래, 툫, 갈래곰보) 양식개발 시험. 2차년도 중간보고서. 수산청. pp. 203.
- 최재수. 1992. 고지질혈증과 그 치료약. *생명과학*, 2, 134~137.
- 최재수, 양한석. 1993. 천연에 존재하는 고지혈증 개선 활성성분의 탐색. *생명과학*, 3, 79~90.

---

1997년 7월 11일 접수

1997년 9월 5일 수리