

오로트산 유발 지방산의 간장 트리아실글리세롤 축적간 지방산 조성의 변화

차재영 · 김경숙 · 조영수*

佐賀大學 농학부 응용생물학과, *동아대학교 생명자원과학부

Change of Fatty Acid Compositions during Hepatic Triacylglycerol Accumulation in Dietary Orotic Acid-induced Fatty Liver

Jae-Young Cha, Kyung-Sook Kim and Young-Su Cho*

Faculty of Agricultural, Saga University, Saga, 840, Japan

* Faculty of Life Science and Bioresource, Dong-A University, Pusan, 604-714, Korea

Abstract

Dietary orotic acid is known to induce the fatty liver. Fatty acid profiles in the lipid fraction of the liver and the serum in rats fed with or without orotic acid diet were analyzed. In all the hepatic lipid fractions of rats fed on the supplemented orotic acid diet, there was a significant increase in linoleic acid. In addition, linoleic acid was also increased in the triacylglycerol fraction of hepatic endoplasmic reticulum and the triacylglycerol and diacylglycerol fractions of hepatic Golgi apparatus of the orotic acid-feeding rats. In the time course study of the fatty acid profile in the hepatic triacylglycerol and diacylglycerol fractions, an increase of linoleic acid was observed similarly in the initial stages of orotic acid intake in the both fractions. However, linoleic acid in the serum triacylglycerol fraction of orotic acid-feeding rats increased from day 1, but it began to decrease the increment from day 2, resulting in the lower level of linoleic acid in the serum triacylglycerol fraction of orotic acid-feeding rats than that of rat fed a orotic acid-free diet after 10 days. Oleic acid (18:1) was increased in the only cholesteryl ester fraction of hepatic. However, oleic acid level in other fractions was not changed. The compositions of 14:0, 16:0 and 18:0 was reduced in the hepatic triacylglycerol, diacylglycerol and cholesteryl ester fractions by orotic acid-feeding. However, these saturated fatty acids were significantly increased in the serum triacylglycerol fraction. The orotic acid induced changes in linoleic acid level in hepatic triacylglycerol may be explained by the impaired fatty acid metabolism and limited excretion of this fatty acid from liver to serum.

Key words : orotic acid, fatty liver, triacylglycerol, fatty acid.

서 론

오로트산은 카르바모일 인산과 아스파르트산 등의 폐환반응으로 생성된 피리미딘 뉴클레오티드 생합성의 중간 생성물로서¹⁾ 미생물 및 환경의 성장을 촉진시키고, 우유 핵산의 70 %를 차지하고, 과잉 섭취하면 지방간을 유발시킨다고 알려져 있다^{2,3)}. 오로트산에 의한 지방간 유발 메카니즘은 골지체 내에서의 아

포프로틴의 글리코실화 저해와 그에 따른 지방단백질, 초저밀도지방단백질(VLDL) 방출저해가 알려져 있고^{4,5,6)}, 다른 원인에 대해서는 밝혀진 것이 거의 없다. 그리고 오로트산의 간장 지질대사에 미치는 영향은 오로트산 투여 기간에 따라 결과가 다르게 보고되어 있다. 차⁷⁾ 등은 오로트산 투여 후 초기에는 간장 트리아실글리세롤량과 phosphatidate phosphohydrolase 활성이 동시에 저하되었지만, 5일후에는 두 가지 모두 현저히 증가하고, 동시에 간장 디아실글리

Corresponding author : Jae-Young Cha

세를량도 증가하였다고 한다. 간장 미크로솜 결합 phosphatidate phosphohydrolase 는 트리아실글리세롤 합성단계를 담당하고 있을 것으로 보이기 때문에⁸⁻¹⁰⁾ 오로트산 유발 지방간 유발증에 간장 트리아실글리세롤 합성의 향진이 관여할 가능성이 강하다. 한편, 오로트산은 지방산 합성에 필요한 NADPH의 공급에 관여하는 지방산 합성계 효소의 활성도 증가시키기 때문에^{7,11)} 오로트산 식이가 지방산 합성을 증가시켜서 지방산 풀의 증가가 트리아실글리세롤 합성을 향진시키는 것으로 보인다. 이 결과는 간장 내의 지방산이 지방간 유발에 깊이 관련되어 있다는 것을 의미한다. 그러나 오로트산 투여에 의한 간장 및 혈청 지질의 구성지방산 조성의 변화가^{12,13)} 지방간 유발에 어떻게 관여하고 있는가에 대한 보고는 없다.

본 연구는 식이성 오로트산 투여가 흰쥐의 간장 각 지질과 간세포 및 혈청지질의 구성 지방산 조성에 미치는 영향과 지방산 조성의 변화에 대해서 검토하여 지방간 유발증의 메카니즘을 이해하는데 필요한 정보를 얻기 위해 분석한 결과이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

오로트산은 Wakojunyaku (Osaka, Japan) 에서 구입하였다. 비타민 혼합물 (AIN-93)¹⁴⁾, 미네랄 혼합물 (AIN-93)¹⁴⁾은 Oriental 효모 (Tokyo, Japan) 에서 구입하였다. 기타 시약은 특급을 사용하였다.

2. 실험동물 및 식이조성

실험동물은 4주령의 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐를 Kyoto (Tosu, Japan) 로부터 구입하였다. 각군의 체중을 거의 균일하게 분배하여 스테인레스 망제의 개별 케이지를 사용하여 사육온도 22±2℃, 습도 50±5%의 사육실에서 사육하였다. 명암은 12시간 주기로서 07:00~19:00시까지의 명기, 19:00~07:00시까지의 암기로 하였다. 식이 및 음료수는 09:00~10:00시 사이에 급여하였으며, 이 때 식이 섭취량 및 체중 증가량 등을 작업하였다. 본 실험 개시전에, 각 흰쥐에 반합성 대조식을 4일간 급여, 평균 체중이 거의 같도록 6마리씩 대조 식이군과 오로트산 첨가 식이군으로 나누었다. 기본식이 조성은 Table 1과 같다. 카제인을 단백질원으로 하여 20%, DL-메티오닌 0.3%, 비타민 혼합물 1.0%¹⁴⁾, 미네랄 혼합물 4.0%¹⁴⁾, 콜린 바이타르테이트 0.2%, 셀룰

Table 1. Composition of diets and fatty acid composition of dietary fat

Ingredients	Orotic acid	Control
Casein	20.0	20.0
DL-methionine	0.3	0.3
Vitamin mixture*	1.0	1.0
Mineral mixture*	4.0	4.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
Cellulose	5.0	5.0
Fat	10.0	10.0
α-Corn starch	15.0	15.0
Orotic acid	1.0	—
Sucrose	44.0	45.0

*AIN 93¹⁴⁾, unit: composition of basal diet (%).

로오스 5.0%, 지방 10.0%, 옥수수전분 15.0%, 수크로오스를 첨가하여 100% 로 하였다. 오로트산 첨가 식이군은 대조식에 오로트산을 1% 첨가하였다. 식이와 물은 1, 2, 3, 5, 10 및 14일간 사육 종료까지 경시적으로 자유섭취시켰다.

3. 간장 및 혈청의 지방산 분석

실험기간 종료일의 오전 8:00~9:00시에 흰쥐를 도살하여 혈액을 채취하고, 간장은 적출하여 생리적 식염수에 충분히 씻어서 -70℃ 의 냉동고에 보관, 사용하였다. 간장의 총 지질은 Folch 등의 방법¹⁵⁾으로 추출하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분 정치시킨 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 만들어 사용하였다. 간장의 일부는 4배량의 10mM Tris-HCl (pH7.4)-1mM EDTA-250mM 수크로오스 용액에 간균질물을 제조하여, 이 용액으로부터 소포체와 골지체를 Croze와 Edward 등의 방법¹⁶⁾으로 분리하였다. 혈청과 세포질의 총지질은 Bligh-Dyer 법¹⁷⁾으로 추출하였다. 각 지질은 석유 ether : diethyl ether : acetic acid (80 : 20 : 1, v/v/v) 용매로 박층크로마토그래피 (TLC) 하여 분리하였다¹⁸⁾. 분리된 지질에 데탄올 : 염산 (5 : 1, v/v) 액을 가하여 65℃ 에서 3시간 트랜스메틸화한 후, 헥산으로 지방산 메틸에스테르를 추출하여, Omega wax capillary column (30m×0.25μm, Supelco, USA) 을 사용하여 가스크로마토그래피 (GC-17A, Shimadzu, Kyoto, Japan) 로 분석하였다. 캐리어가스는 헬륨을 사용하였다. 인젝트온도는 250℃, 오븐온도는 180℃ 및 디텍터온도는 260℃로 하였다.

4. 통계처리

실험에 의하여 얻어진 데이터는 Duncan's multiple range test 및 paired t-test 를 사용하여 통계 처리하였다¹⁹⁾.

결과 및 고찰

기본 실험식에 오로트산 첨가 및 첨가하지 않은 간장 지방질의 지방산 패턴과, 중성 지방질이 간장에서 혈청으로 이행하는 패턴을 검토했다. 식이중의 지방산 포화도가 생체내의 지방산 조성에 큰 영향을 미치는 것은 이미 알려져 있기 때문에^{9,20)} 양군간의 다가 불포화지방산 : 단일불포화지방산 : 포화지방산을 1:1:1 로 조제하였다(Table 2). 간장 각 지방질 및 혈청중성 지방질의 지방산 조성은 Table 2와 같다. 오로트산 투여 흰쥐의 간장지방질 중 가장 많이 증가한 것은 리놀레산 (18:2, n-6)으로서 대조군에 비하여 트리아실글리세롤, 디아실글리세롤, 인지질, 콜레스테릴 에스테르, 유리 지방산이 각각 3배, 1.5배, 1.7배, 2배, 1.5배 증가되었다. 리놀레산이 간장에 많이 축적된 것은 그 지방산의 대사 저해와, 간장에서 혈청으로 이행하는 경로가 저해된 때문으로 추정된다. Witting 은 오로트산 (1.5%) 첨가식의 흰쥐로부터 분리시킨 간장 마이크로솜을 이용하여 [¹⁴C]-리놀레산에 의해 디세추레이션의 저해가 나타났고, 원인은 간장 Δ6-desaturase의 작용이라고 하였다²¹⁾. 본 연구에서 식이지방은 다가불포화지방산 전체를 18:2 짜리로 첨가했기 때문에 오로트산 투여에 의해 디세추레이션 저해가 간장 지질에 있어서 18:2 증가의 원인으로 나타났다. 간장 트리아실글리세롤 및 디아실글리세롤의 지방산 조성은 두 가지 모두 18:2 가 오로트산 투여 1일째부터 증가하고 있었다(Table 6, 7). 또, 혈청 트리아실글리세롤에서도 18:2 는 오로트산 1일째부터 저하되어, 간장으로부리의 이행저해가 나타났다.

Table 2. Fatty acid composition of dietary fat

Fatty acid	Weight %
myristic acid (14:0)	0.9
palmitic acid (16:0)	31.1
palmitoleic acid (16:1)	0.1
stearic acid (18:0)	3.0
oleic acid (18:1)	32.3
linoleic acid (18:2)	31.9
Saturated fatty acid	34.9
Monounsaturated fatty acid	32.4
Polyunsaturated fatty acid (n-6)	31.9

간장 콜민소포체에서 트리아실글리세롤 글리세롤-3-인산경로에서 합성되어, 소면소포체에서 합성된 apoB 와 골지체에서 당이 부가된 후, 초저밀도지방단백질성분으로서 디스관을 개입시켜 혈청으로 분비된다^{22,23)}. 그때 트리아실글리세롤 합성 및 초저밀도지방단백질 합성과 분비 과정에서 저해가 생기면 지방간이 생성되는 것으로 생각된다²⁴⁻²⁶⁾. 간장 트리아실글리세롤 합성 및 분비와 관련되어 있는 소포체와 골지체에서의 트리아실글리세롤 및 디아실글리세롤의 지방산 조성에 대해서 검토한 결과는 Table 3과 같다. 그 결과, 소포체에 있어서도 18:2는 증가하였다. 한편, 골지체의 양지질 트리아실글리세롤에서는 18:2 가 현저하게 상승하여, 트리아실글리세롤에서는 1.4배 및 디아실글리세롤에서는 5배로 나타났다(Table 4). 오로트산 유발지방간의 원인으로 초저밀도지방단백질 분비저해의 가능성이 강하다^{27,28)}. 최근, 현저한 저 트리아실글리세롤 혈증을 나타내는 무 β-지방단백질혈증에서 마이크로솜 트리글리세리드 수송 단백질 유전자의 결손이 해명되어²⁹⁾, apoB 함유 지방단백질의 분비에 마이크로솜의 트리글리세리드 수송 단백질이 필수로 생각되고 있다. 본 단백질은 간세포 및 소장상피세포의 마이크로솜에 존재하고, 세포내의 트리아실글리세롤, 콜레스테롤 에스테르 및 인지질을 발생시 지방단백질로 수송되지만, 트리아실글리세롤에 대한 친화성이 높다³⁰⁾. 저자들은 오로트산의 마이크로솜의 트리글리세리드 수송 단백질 활성화에 대한 영향을 검토한 결과, 간장 마이크로솜의 트리글리세리드 수송 단백질 활성화는 오로트산 무첨가군보다 오로트산 첨가군이 약 30% 낮았다(미발표). 따라서 오로트산 투여 흰쥐에 있어서 골지체의 양지질에서 증가한 18:2는 마이크로솜의 트리글리세리드 수송 단백질 활성화의 저해에 따른 초저밀도지방단백질 분비 저해에 따라 골지체에 트리아실글리세롤이 축적하여, 구성지방산 중 18:2가 간장에서 증가하는 것을 볼 수 있다. 오로트산 투여 흰쥐의 간장에서 18:2가 가장 많이 상승한 결과는 본 연구의 결과와 일치하였다^{12,19)}. 그들은 간지질 지방산 중에서 18:1도 다량 축적되어, 간장에서 혈청으로 이행되는데 저해작용을 하고 있는 것으로 확인하였다. 그러나, 간장의 각 지방질의 지방산 패턴을 분석한 본결과에서는 18:1은 콜레스테릴 에스테르에서만 약 1.45배 상승되었지만, 다른 지방산 분석에서는 차이가 나타나지 않았다(Table 3).

저자들은 오로트산 투여후의 경시적인 간 지방질량에 대하여 검토한 결과, 오로트산 투여초기(1~3일)에서는 간장 트리아실글리세롤량이 저하되지만, 5일

Table 3. Effect of dietary orotic acid on fatty acid compositions of serum and hepatic lipid fractions in SD rats

Fatty acids	Serum						Liver					
	Triacylglycerol		Triacylglycerol		Diacylglycerol		Phospholipid		Cholesteryl ester		Free fatty acid	
	CONT	OA	CONT	OA	CONT	OA	CONT	OA	CONT	OA	CONT	OA
14:0	1.3±0.4	5.0±0.9*	1.8±0.1	1.0±0.1*	1.5±0.2	0.6±0.2*	0.2±0.1	0.2±0.3	1.9±0.3	1.1±0.6	2.5±0.5	2.0±0.1
16:0	34.1±1.3	43.0±3.2*	40.9±1.3	28.7±0.4*	37.0±1.5	36.6±1.6	16.8±0.6	19.2±0.7*	29.9±2.4	12.9±0.6*	31.9±0.7	34.8±1.4
16:1	1.4±0.1	0.7±0.3*	6.6±0.5	4.1±0.5*	3.9±1.0	1.9±0.2	0.7±0.1	0.5±0.1*	8.1±0.5	5.2±0.5*	5.2±0.5	3.0±0.3*
18:0	4.8±0.3	7.2±1.9*	1.9±0.0	1.7±0.1	11.5±2.0	7.5±0.5*	27.8±0.6	24.7±0.4	3.6±0.2	2.1±0.1	8.5±0.5	6.7±0.3*
18:1	38.8±1.6	27.9±3.3*	40.6±0.8	39.1±0.9	25.9±0.5	27.7±0.7	7.7±0.2	7.2±0.4	34.6±1.7	50.3±1.7*	33.7±1.1	31.5±1.1
18:2 n-6	17.9±0.7	15.5±1.1	7.7±0.9	22.3±0.8*	12.7±1.4	18.4±0.9*	7.2±0.2	12.0±0.5	8.6±0.3	18.0±0.9*	11.3±0.7	17.1±0.3*
18:3 n-3	ND	ND	0.03±0.0	0.1±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0	ND	ND	ND	0.1±0.0	0.2±0.0	0.2±0.1
20:4 n-6	1.7±0.4	0.8±0.2*	0.5±0.1	2.5±0.3*	7.1±0.6	6.0±1.6	33.8±0.5	30.2±0.7*	11.5±1.8	10.0±1.2	6.7±0.7	4.5±0.5*
20:5 n-3	ND	ND	ND	ND	ND	0.1±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	1.7±0.9	0.1±0.0	ND	1.2±0.7*
22:6 n-3	ND	ND	ND	0.6±0.1	0.5±0.1	1.2±0.2*	5.6±0.4	5.9±0.3	0.2±0.1	0.7±0.2	ND	ND
SFA	40.2	55.2	44.6	31.3	50.0	44.7	44.7	44.0	35.5	16.1	42.8	43.5
MUFA	40.2	28.6	47.2	43.2	29.8	29.6	8.4	7.7	42.7	55.5	39.0	34.5
PUFA n-6	19.6	16.3	8.2	24.7	19.8	24.4	41.0	42.2	20.0	28.1	18.1	21.6
n-3	0.0	0.0	0.03	0.68	0.7	1.4	5.9	6.1	1.8	0.8	0.2	1.4

Rats were fed semipurified diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 14 days. Results are expressed in percentages as mean ± SEM of six animals for each group. Significance: orotate-supplemented diet compared with the control diet, p<0.01. Abbreviation: ND, not detected; CONT, control; OA, orotic acid.

Table 4. Effect of dietary orotic acid on fatty acid compositions of hepatic endoplasmic reticulum and Golgi apparatus in SD rats

Fatty acids	Endoplasmic reticulum				Golgi apparatus			
	Triacylglycerol		Diacylglycerol		Triacylglycerol		Diacylglycerol	
	CONT	OA	CONT	OA	CONT	OA	CONT	OA
14:0	1.3±0.1	1.0±0.1	0.5±0.3	1.6±0.8	1.5±0.1	1.1±0.1	6.9±1.1	2.3±0.6*
16:0	36.5±2.5	32.4±2.0	31.3±4.9	25.1±1.8	39.3±1.0	32.5±2.3	30.7±2.9	29.5±4.2
16:1	4.1±0.5	3.4±0.4	1.5±0.2	2.1±0.2	4.6±0.4	3.5±0.5	5.3±2.3	1.9±0.4
18:0	2.4±0.1	2.5±0.2	25.2±1.8	31.5±1.9*	2.3±0.1	2.5±0.1	31.6±1.8	22.1±1.3*
18:1	38.1±0.8	38.2±0.4	26.2±2.8	18.5±2.6	34.5±2.3	37.1±0.9	22.9±2.8	23.7±3.1
18:2 n-6	16.0±2.7	19.6±1.8	7.2±2.3	6.4±1.2	14.5±1.2	20.3±1.8	2.2±0.8	11.0±2.4*
18:3 n-3	0.1±0.0	0.2±0.0	ND	ND	ND	0.2±0.0	ND	ND
20:4 n-6	1.2±0.4	2.0±0.4	6.9±0.8	9.0±2.9	0.8±0.1	2.2±0.5	0.9±0.2	9.3±3.5*
20:5 n-3	0.2±0.1	0.2±0.1	ND	4.4±0.3	ND	0.1±0.0	ND	ND
22:6 n-3	0.2±0.0	0.6±0.2	1.2±0.2	1.5±0.9	ND	0.7±0.2	ND	ND
SFA	40.2	35.9	57.0	58.2	43.1	36.1	69.2	53.9
MUFA	42.2	41.6	27.7	20.6	39.1	40.6	28.2	25.6
PUFA n-6	17.2	21.6	14.1	15.4	15.3	22.5	3.1	20.3
n-3	0.5	1.0	1.2	5.9	0.0	1.0	0.0	0.0

Rats were fed semipurified diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 14 days. Results are expressed in percentages as mean ± SEM of six animals for each group. Significance: orotate-supplemented diet compared with the control diet, $p < 0.01$. Abbreviation: ND, not detected; CONT, control; OA, orotic acid.

Table 5. Effect of dietary orotic acid on fatty acid compositions of liver triacylglycerol in SD rats

Fatty acids	Orotic acid (days)					
	0	1	2	3	5	10
14:0	0.8±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1	0.7±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1
16:0	32.5±1.1	33.5±1.1	33.7±0.6	34.9±1.5	30.8±0.3	32.4±0.4
16:1	3.5±0.5	1.7±0.1*	1.6±0.2	1.8±0.6	4.6±0.6	4.1±0.7
18:0	2.7±0.3	3.4±0.1	3.4±0.3	3.0±0.4	2.5±0.4	2.1±0.2
18:1	45.2±1.1	42.4±0.9	35.8±2.3*	31.7±2.7*	39.8±1.5*	40.9±3.2*
18:2 n-6	13.5±0.5	16.3±0.5	21.1±1.9*	21.1±1.0*	19.4±0.8*	18.6±2.8*
18:3 n-3	0.2±0.0	0.2±0.0	0.4±0.1*	0.3±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0
20:4 n-6	1.0±0.1	0.9±0.1	2.2±0.6*	2.8±0.4*	2.2±0.2*	0.8±0.5
20:5 n-3	0.2±0.0	1.1±0.2	0.7±0.2	0.5±0.2	0.2±0.0	0.2±0.0
22:5 n-3	0.3±0.1	0.3±0.1	1.0±0.1*	0.9±0.1*	0.4±0.1	0.3±0.0
SFA	38.0	37.6	37.9	40.9	33.9	35.2
MUFA	48.7	44.1	37.4	33.5	44.4	45.0
PUFA n-6	14.5	17.2	23.3	23.9	21.6	19.4
n-3	0.7	1.6	2.1	1.7	0.8	0.6

Rats were fed semipurified diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 1, 2, 3, 5 and 10 days. Results are expressed in percentages as mean ± SEM of six animals for each group. Significance: orotate-supplemented diet compared with the control diet, $p < 0.05$. Abbreviation: ND, not detected.

제 이후에 현저하게 증가하고, 디아실글리세롤량도 거의 같은 경향으로 증가되었다²⁾. 한편, 혈청 트리아실글리세롤량은 오로트산 투여 1일째부터 저하가 나타났다. 간장의 트리아실글리세롤의 구성지방산 중의 18:1은 오로트산 투여 1일째부터 저하가 시작되어, 3일째에 가장 낮고 그후부터 증가하였지만, 10일째에

서는 큰 변동은 없었다(Table 5). 혈청의 트리아실글리세롤 지방산의 18:1도 오로트산 투여 1일째부터 5% 수준에서 유의적으로 저하되었다(Table 6). 이러한 변동은 간장 및 혈청 트리아실글리세롤량의 변동과 거의 같은 경향이다. 오로트산 투여 후의 혈청 트리아실글리세롤 지방산은 14:0, 16:0, 18:0의 포

Table 6. Effect of dietary orotic acid on fatty acid compositions of serum triacylglycerol in SD rats

Fatty acids	Orotic acid (days)					
	0	1	2	3	5	10
14:0	1.3±0.4	1.6±0.1	2.0±0.2	2.1±0.3	2.3±0.5	5.0±2.9
16:0	34.1±1.3	36.7±1.8	39.9±1.3*	39.8±1.4*	38.3±2.3*	43.0±3.2*
16:1	1.4±0.1	1.2±0.1	0.9±0.1	1.1±0.1	1.7±0.2	0.7±0.4*
18:0	4.8±0.3	4.8±0.1	5.8±0.4	6.0±0.4	6.9±1.6	7.2±1.9*
18:1	38.8±1.6	29.7±0.6*	28.5±0.5*	25.7±1.1*	30.6±3.5*	27.9±3.3*
18:2 n-6	17.9±0.7	24.3±0.9*	20.6±0.9	21.3±1.3	18.2±1.1	15.5±4.1
18:3 n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20:4 n-6	1.7±0.4	1.8±0.3	2.4±0.7	4.1±1.3*	2.0±0.5	0.8±0.2
SFA	40.2	43.1	47.7	47.9	47.5	55.2
MUFA	40.2	30.9	29.4	26.8	32.3	28.6
PUFA n-6	19.6	26.1	23.0	25.4	20.2	16.3

Rats were fed semipurified diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 1, 2, 3, 5 and 10 days. Results are expressed in percentages as mean ± SEM of six animals for each group. Significance: orotate-supplemented diet compared with the control diet, $p < 0.05$. Abbreviation: ND, not detected.

Table 7. Effect of dietary orotic acid on fatty acid compositions of liver diacylglycerol in SD rats

Fatty acids	Orotic acid (days)					
	0	1	2	3	5	10
14:0	2.5±0.5	2.4±0.2	3.4±0.3	2.5±0.3	1.8±0.6*	1.6±0.3*
16:0	35.6±0.5	38.5±0.8	37.4±0.9	38.4±2.9	35.8±1.5	33.0±1.6
16:1	3.2±0.3	3.1±0.9	2.7±0.3	3.6±0.8	2.5±0.78	4.0±0.4
18:0	11.8±1.7	11.2±0.1	16.4±1.7*	12.5±0.7	9.0±0.8	6.0±0.4*
18:1	29.0±1.8	24.7±1.1	19.5±1.1*	22.5±2.0	28.3±1.2	33.6±1.4*
18:2 n-6	11.6±0.7	14.6±0.5	13.0±1.3	14.8±1.4	17.2±1.3*	16.7±1.3*
18:3 n-3	0.3±0.1	0.1±0.0	0.3±0.1	0.8±0.3*	0.3±0.1	0.1±0.0
20:4 n-6	5.7±0.8	5.4±0.4	7.0±0.7*	4.6±0.5	4.4±0.3	4.5±0.5
22:5 n-3	0.3±0.0	0.0±0.0	0.4±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1
SFA	49.9	52.1	57.2	53.4	46.6	40.6
MUFA	32.2	27.8	22.2	26.1	30.8	37.6
PUFA n-6	17.3	20.0	20.0	19.4	21.6	21.2
n-3	0.6	0.1	0.7	1.1	0.7	0.4

Rats were fed semipurified diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 1, 2, 3, 5 and 10 days. Results are expressed in percentages as mean ± SEM of six animals for each group. Significance: orotate-supplemented diet compared with the control diet, * $p < 0.05$. Abbreviation: ND, not detected.

화지방산이 증가하고, 단일불포화지방산인 18:1은 5%수준에서 유의적으로 저하하였다. 간장 트리아실글리세롤과 소포체 및 골지체에서 14:0, 16:0의 포화지방산은 상당히 저하하여, 오로트산 투여에 의한 간장 트리아실글리세롤이 축적할 때에 14:0, 16:0, 18:0의 포화지방산은 간장에서 혈청으로의 이행에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터 오로트산 유발지방간에 있어서 간장의 지질에서 18:2가 매우 상승하고, 간세포 핵분의 소포체 및 골지체에서도 상승하여, 간장으로부터 선택적인 분비 저해를 받고 있는 것으로 나타났다.

요 약

본 연구는 오로트산 투여가 흰쥐의 지방간 유발형성과정에서 간장 및 혈청의 각 지질과 간세포의 지방산 조성에 대하여 경시적으로 함량 변화를 분석하였다. 그 결과 오로트산 투여 흰쥐의 간장 지질의 구성 지방산 중에서 리놀레산 (18:2, n-6)이 모든 각 지방질 중 가장 많이 증가하였다. 리놀레산은 간세포의 소포체 및 골지체의 트리아실글리세롤에서도 증가하였다. 이 지방산 페텐을 경시적으로 분석한 결과, 간장

트리아실글리세롤에서는 오로트산 투여 1일째부터 증가하고, 디아실글리세롤에서도 같은 결과를 나타냈다. 그러나 혈청 트리아실글리세롤에서는 오로트산 투여 1일째에서는 증가하였으나, 2일째부터는 증가율이 둔화되었고, 10일째에서는 대조군보다 저하하였다. 한편, 지방산 중에서 올레인산 (18:1, n-9) 은 간장 콜레스테릴 에스테르에서만 현저히 상승하였으나, 다른 것에서는 차이가 없었다. 간장 트리아실글리세롤, 디아실글리세롤, 콜레스테릴 에스테르의 구성 지방산 중에서는 14:0, 16:0, 18:0의 포화지방산은 오로트산 투여로 저하하였고, 역으로 혈청 트리아실글리세롤에서는 이런 지방산이 증가하였다.

이러한 결과로부터, 오로트산 유발 지방간에 있어서 간장 트리아실글리세롤이 축적될 때, 간장지질의 구성 지방산 중에서 18:2의 비율이 현저하게 증가한 바, 지방산의 대사 저해와, 간장에서 혈청으로 이행하는 경로가 저해되고 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Pottenger, L.A. and Getz, G.S. : Serum lipoprotein accumulation in the livers of orotic acid-fed rats, *J. Lipid Res.*, 12, 450~459(1972).
- Novikoff, P.M., Roheim, P.S., Novikoff, A.B. and Edelstein, D.B. : Production and prevention of fatty acid liver in rats fed clofibrate and orotic acid diets containing sucrose, *Laboratory Investigation*, 30, 732~740(1974).
- 조영수, 김석환, 차재영 : Orotic acid 투여가 흰쥐의 혈청, 간장 및 신장지질 농도에 미치는 영향, *한국농화학회지*, 39, 206~211(1996).
- Hay, R., William, R.F., OC'onnell, W., Kirschner, J. and Oppliger, W. : Apolipoprotein of the orotic acid fatty liver : implication for the biogenesis of plasma lipoprotein, *J. Lipid Res.*, 29, 981~995(1988).
- Hamilton, R.L., Guo, L.S.S., Felker, T.E., Chao, Y. and Havel, R.J. : Nascent high density lipoprotein from liver perfusates of orotic acid fed rats, *J. Lipid Res.*, 27, 967~978(1986).
- Catwright, I.J., Hebachi, A.M. and Higgins, J.A. : Transit and Sorting of apolipoprotein B within the endoplasmic reticulum and golgi compartments of isolated hepatocyte from normal and orotic acid-fed rats, *J. Biol. Chem.*, 268, 20937~20949(1993).
- Cha, J.Y., Mameda, Y., Oogami, K., Yamamoto, K., and Yanagita, T. : Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and enhanced phosphatidate phosphohydrolase activity in rats, *Biosci. Biotech. Biochem.* 62, 508~513(1998).
- Lamb, R.G., and Fallon, H.J. : Glycerolipid formation the glycerol-3-phosphate by rat liver cell fractions. The role of phosphatidate phosphohydrolase, *Biochim. Biophys. Acta*, 348, 166~178(1974).
- Fremont, L., and Gozzelino, M.T. : Dietary sunflower oil reduces plasma and liver triacylglycerols in fasting rats and is associated with decreased liver microsomal phosphatidate phosphohydrolase activity, *Lipids*, 31, 871~878(1996).
- Ikeda, I., Cha, J.Y., Yanagita, T., Oogami, K., Yazawa, K., Nakatani, N., and Imaizumi, K. : Effects of dietary α -linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on hepatic lipogenesis and β -oxidation in rats, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 62, 675~680(1998).
- Bogin, E., Avidar, Y., and Merom, M. : Biochemical changes in liver and blood during liver fattening in rats, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 24, 621~626(1986).
- Ayudarte, M.V., Nunen, M.C., Boza, J., Jimenez, J., Gil, A., and Suarez, M.D. : Changes in liver microsome lipids and plasma fatty acids induced by dietary orotate in the weanling rat, *Comp. Biochem. Physiol.*, 103B, 65~69(1992).
- Hosoyamada, Y., Kuroda, K., and Kobatake, Y. : Effect of fish oil on liver lipid accumulation and decrease of serum lipid in rats dosed with orotic acid, *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.*, 49, 95~100(1996).
- American Institute of Nutrition : AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 123, 1939~1951(1993).
- Folch, J., Lees, M. and Sloane-Starley, G.H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, 226, 497~509(1957).
- Croze, E.M., and Morre, D.J. : Isolation of plasma membrane, Golgi apparatus, and endoplasmic reticulum fractions from single homogenates of mouse liver, *J. Cell. Physiol.*, 119, 46~57(1984).
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. : A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911~917(1959).
- Yanagita, T., Satoh, M., Enomoto, N., and Sugano, M. : Di (2-ethylhexyl) phthalate enhances hepatic phospholipid synthesis in rats, *Biochim. Biophys. Acta*, 919, 64-70(1987).
- Duncan, D.B. : Multiple range test for correlated and heteroscedastic means, *Biometrics*, 13, 164~176(1957).
- Ikeda, I., Wakamatsu, K., Inayoshi, A., Imaizumi, K., and Yanagita, T. : Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and enhanced phosphatidate phosphohydrolase activity in rats, *Biosci. Biotech. Biochem.* 62, 508~513(1998).

- umi, K., Sugano, M., and Yazawa, K. : α -Linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids affect lipid metabolism differently in rats, *J. Nutr.*, 124, 1898~1906(1994).
21. Witting, L.A. : Fatty liver induction : Inverse relationship between hepatic neutral lipid accumulation and dietary polyunsaturated fatty acids in orotic acid-fed rats, *J. Lipid Res.*, 13, 27~31(1972).
22. Bell, R.M. and Coleman, R.A. : Enzymes of glycerolipid synthesis in eukaryotes, *Annu. Rev. Biochem.*, 49, 459~487(1980).
23. Swift, L.L. : Assembly of very low density lipoprotein in rat liver : A study of nascent particles recovered from rough endoplasmic reticulum, *J. Lipid Res.* 36, 395~406(1995).
24. Yanagita, T., Oogami, K., Yamamoto, T., Cha, J. Y., and Nunez, J. : Triglyceride metabolism of fatty liver and the prevention by dietary n-3 fatty acid, *Proc. Jpn. Conf. Biochem. Lipids*, 38, 3~6 (1995)
25. Higgins, J.A., and Hutson, J.L. : The role of Golgi and endoplasmic reticulum in the synthesis and assembly of lipoprotein lipid in rat hepatocytes, *J. Lipid Res.*, 25, 1295~1305(1984).
26. Cartwright, I.J., Hebbachi, A.M., and Higgins, A. : Transit and sorting of apolipoprotein B within the endoplasmic reticulum and Golgi compartments of isolated hepatocytes from normal and orotic acid-fed rats, *J. Biol. Chem.*, 268, 20937~20952(1993).
27. Pottenger, L.A., Frazier, L.E., Du, Bein, L.H, Getz, G.S., and Wissler, R.W. : Carbohydrate composition of lipoprotein apoproteins isolated from rat plasma and from the livers of rats fed orotic acid, *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 54, 770~776(1973).
28. Tomakjian, S.D., and Haines, D.S.M. : Early effects of dietary orotic acid upon liver lipid synthesis and bile cholesterol secretion in rats, *J. Lipid Res.*, 26, 478~486(1985)
29. Wetterau, J.R. and Aggerbeck, L.P. : Absence of microsomal triglyceride transfer protein in individuals with abetalipoproteinemia, *Science*, 258, 999~1001(1992).
30. Jamil, H., Dickson, J.K., and Wetterau, J.R. : Microsomal triglyceride transfer protein, *J. Biol. Chem.*, 270, 6549~6554(1995).

(1998년 9월 22일 접수)