

다시마섭취가 정상과 당뇨 생쥐 대식세포의 Cytokine 분비에 미치는 영향

조성희[†] · 양경미 · 배복선 · 임선아 · 유리나*

대구효성가톨릭대학교 식품영양학과

*울산대학교 식품영양학과

Effect of Sea Tangle Intake on Cytokine Production in Macrophage from Normal and Diabetic Mice

Sung-Hee Cho[†], Kyung-Mi Yang, Bokson Bae, Suna Im and Rina Yu*

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungsan 712-702, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Ulsan University, Ulsan 680-749, Korea

Abstract

To investigate the effect of sea tangle on macrophage activity in normal and diabetic states, 10-week old ICR mice were fed control(C) and sea tangle(S) diet containing 5%(w/w) cellulose and 13.6% (w/w) dry sea tangle for four weeks, after which two thirds of mice(CD and SD) were made diabetic by intramuscular injection of streptozotocin(150mg/kg bw). At 4th day after diabetes was apparent by urinary glucose, one half of diabetic mice(CDM and SDM) were treated with metformin(500mg/kg bw) orally. Peritoneal macrophages obtained from 3%-thioglycollate treated mice were cultured in the presence of lipopolysaccharide from *Salmonella abortus equi*(10 μ g/ml) for 24 hrs and tumor necrosis factor- α (TNF α), interleukin-1 β (IL-1 β) and prostaglandin E₂(PGE₂) were measured in culture media. Release of IL-1 β and PGE₂ from macrophage were increased in normal mice by sea tangle diet and had the same tendency in diabetic mice with or without metformin treatment although not statistically significant. Release of TNF α tended to be reduced by diabetes but were not changed significantly by sea tangle diet. Fatty acid compositions of macrophage and liver phospholipids showed that diabetes reduced arachidonic acid/linoleic acid ratio and sea tangle diet appeared to increase contents of poly-unsaturated fatty acids.

Key words: sea tangle, diabetes, IL-1 β , TNF- α , PGE₂

서 론

체내 면역 기능은 생명유지와 건강에 가장 기본적인 작용이며 면역 기능의 장애는 많은 질환의 발생과 관련되어 있다. 우리나라 인구의 2% 이상, 65세 성인의 6.5% 이상의 유병율을 보이는 당뇨병은 원인과 결과에 있어 면역기능의 이상을 수반하고 있다. 제 1형 당뇨의 주요인이 자가 면역이라는 것이 잘 알려져 있으며 제 2형도 병의 진전에 따라 면역 체계에 이상이 생겨 제 1형과 혼합되는 수가 많다(1). 면역이상의 기전으로 인슐린 의존형 당뇨의 경우, 체장의 interferon(IFN)- γ , 혈청 interleukin(IL)-2, IFN- γ , tumor necrosis factor(TNF)- α , IL-1 α 등(2-4) 여러 면역 관련 cytokine의 증가가 보

고되었고, 비만성 인슐린 비의존성 당뇨의 경우에는 지방세포에서 TNF- α mRNA와 단백질의 과잉생산(5), intraperitoneal macrophage의 활성 증가(6)가 보고되었다. 한편 streptozotocin(STZ)으로 유도된 당뇨쥐에서 delayed type hypersensitivity(DTH), plaque-forming cell(PFC) activity 등의 면역기능이 저하됨이 보고된 바 있으며(7) 간과 비장에서 IL-1 β 이 저하되었다고(8) 한 바 있어 당뇨와 관련되어 면역관련 요인들의 변화가 다양한 양상을 보이고 있다.

최근에 와서는 식품 성분들의 기존적 영양 역할 외에 여러 생리작용에 다양하게 작용할 수 있다는 연구들이 많이 보고되고 있으며(9) 이 중 면역능의 변화가 기능성 측면에서 관심을 끌고 있다. 면역작용에 cytokine

[†]To whom all correspondence should be addressed

들 및 eicosanoid의 매개 역할이 밝혀지면서 상기에 언급된 당뇨와 같은 질환상태 뿐 아니라 식품성분의 영향도 이 cytokine들과의 관련성을 조사하는 연구가 늘고 있다. N-3 지방산 섭취로 단백질로부터 IL-1, IL-2, IL-6 및 TNF- α 생산이 감소되었다는 것이 여자를 대상으로 한 연구에서 보고되었고(10), 대식세포의 TNF- α 생산감소가 동물 실험에서 보여진 바 있다(11). 단백질이나 비타민 A, E의 보충이 IL-1과 IL-2의 생성을 증가시킨 반면 D₃는 IL-2의 생성을 억제시키는 효과를 보였다(12). 영양성분 뿐 아니라 발효유에서 분리된 sphingolipid류(13)와 우리나라 장류에서 분리한 고분자물질(14)도 interferon- γ 및 IL-6, IL-12등의 생성에 영향을 주는 것으로 보고된 바 있다. 또한 많은 cytokine들이 PG, leukotriene(LT)과 같은 eicosanoid들과 상호 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(15).

만성질환에 장기적으로 복용하는 약물들에 의한 면역능 변화는 매우 중요한 문제라고 사료되는데 혈압강하제로 사용하는 captopril은 prostacyclin의 생성을 증가시키고 LT₄ 생성을 억제한 반면(16), 비스테로이드계 진통 소염제인 piroxicam은 PG₂ 생성을 억제하고, T 임파구의 증식 및 lymphokine의 생성을 촉진시켰다(17). 당뇨시 혈당강하제로 복용되는 약물들에 대한 면역기능의 변화에 대한 보고가 적는데 당뇨에서의 혈당 조절 뿐 아니라 면역능의 강화가 매우 중요한 문제이므로 약물복용에 따른 변화나 당뇨식에 추천되는 식품의 성분에 대한 영향을 조사할 필요가 있다. 당뇨식에 많이 추천되는 해조류 중 다시마는 수용성 섬유소인 alginate를 주성분으로 함유하고 있고(18), 다시마를 섭취시킨 당뇨동물(19)과 당뇨병 환자(20,21)에게서 혈당 및 혈청 지질의 저하가 관찰되어 당뇨환자 관리에 우수한 식품임을 입증한 바 있다. 또한 이러한 해조류는 면역능을 강화한다고 보고된 여러 종류의 carotenoid와 xanthophyll 등(22)이 함유되어 면역 증진 효과가 기대된다. 그러나 해조류를 이용한 당뇨실험은 주로 탄수화물과 지질대사에 국한되어 있고, 면역기능에 대하여는 조사된 바가 적다. 따라서 본 연구에서는 다시마 식이가 STZ로 당뇨가 유발된 생쥐(mouse)의 대식세포에서의 IL-1 β , TNF- α 와 이들의 생산에 상호 영향을 갖는 PGE₂에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

실험식이 및 동물의 사육

다시마는 포항에서 1997년 4~5월에 수확한 양식산을 대구시 신암동에 소재한 수산업 협동조합을 통해 11

월에 구입한 후, 흐르는 물에 몇번 씻어 소금기를 제거한 다음 일광하에 건조하였다. 어느 정도 건조된 다시마를 수분함량이 8%(dry basis)가 되도록 재차 열풍건조하에서 건조한 후 가루로 만든 다음 30 mesh 체로 쳐서 미세분말 상태로 실험식이 조제에 사용하였다.

실험식은 AIN-76 diet를 기본으로 하여, 섬유소(cellulose)를 함유하는 대조식이와 다시마(sea tangle)를 첨가하는 실험식으로 조제하였다. 섬유소의 공급량은 정상수준인 전체식이 함량 중 5%로 하고, 다시마는 섬유소 함량이 중량의 1/3 정도 되므로 15% 수준이 되도록 조제하였다. 실험식이 성분의 함량은 Table 1과 같다. 이렇게 조제된 두 종류의 식이는 체중 35~40g의 수컷 ICR mouse(대한실험동물센터)에게 주어 4주를 사육하였다.

당뇨유도와 혈당강하제 투여

대조식이와 실험식이로 4주 사육한 생쥐들을 각각 C군, S군으로 명명하고 이들 중에 당뇨를 유도시킨 동물들을 각각 CD, SD군으로 명명하며 당뇨 유발 후 혈당강하제인 metformin(M, 대웅제약)을 투여한 동물들을 CDM, SDM으로 명명하였다. 각 실험군은 8~10마리의 생쥐로 구성되었다. 당뇨유발은 streptozotocin(STZ, Sigma Chemical Co. MO, USA)을 0.01M citrate buffer(pH 4.2)에 녹여 생쥐에게 150mg/kg BW의 수준으로 대퇴부 근육에 주사하여 유발시켰다. 당뇨 확인은 STZ 투여 후 1~2일에 뇨당 test tape(Einken Chemical Co.)로 시행하였고 혈당치는 꼬리 혈액에서 혈당측정기(Lifescan, California, USA)를 사용하여 측정하였다. 혈당강하제는 당뇨가 4일 지속된 상태에서 metformin 500mg/kg BW를 feeding tube를 이용하여 경구로 1일 1회씩 6일간 투여하였다. 비당뇨군(C, S군)은 상기의 실험식이지만 마친 후에, 4군의 당뇨군(CD, SD, CDM, SDM

Table 1. Composition of Experimental Diets

Ingredient	(g/100g)	
	Control	Sea tangle
Corn starch	15	15
Sucrose	50	50
Casein	20	20
Corn oil	1.7	1.7
Lard	3.3	3.3
Cellulose	5	-
Sea tangle	-	15
Vitamin Mix.	1	1
Mineral Mix.	3.5	3.5
DL-methionine	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2

군)은 혈당강하제 투여 여부에 관계없이 당뇨 유발 후 10일 후에 희생시켰다.

복강 대식세포 분리 및 cytokine 측정

생쥐의 복강 대식세포를 분리하기 위해 3% thioglycollate 용액 3ml을 희생 4일 전에 복강으로 주사하였다. 시료를 채취할 때, 척추 탈골법으로 희생시킨 쥐의 복강을 1~2ml의 Hank's buffer를 주사기로 주입한 후, 복부를 맞사지하고 다시 6~7ml을 주입한 다음 7~9ml을 회수하였다. 대식세포가 들어 있는 회수액은 멸균 tube로 옮겨 1,500 rpm에서 15분간 원심분리하고 Eagle's minimum essential medium(EMEM, Gibco)으로 3번 세척한 후 세포를 모았다. 이 세포들을 5% fetal calf serum이 함유된 EMEM에 1×10^6 cell/ml 농도로 분산시켜 100 μ l씩을 96 well microtiter plate에 넣어 5% CO₂/95% air incubator에서 37°C, 2시간 배양하여 비부착성 세포를 제거하였다. 부착성 세포를 Hank's buffer로 3번 세척한 후, 5 μ g/ml *Salmonella abortus equi* lipopolysaccharide(LPS, Sigma Chemical Co. St. Louis, USA)가 포함된 EMEM 200 μ l 배양액에서 24시간 배양한 후 상등액을 취하여 cytokine의 분석 시료로 사용하였다. IL-1 β , TNF- α 및 PGE₂는 모두 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)로 정량하였으며 전자들은 Mouse Intertest IL-1 β 와 TNF- α kit(Genzyme, Cambridge, USA)를 사용하여 450nm에서 측정하였고, PGE₂는 TiterZyme PGE₂ kit(PerSeptive Biosystems, USA)를 사용하여 405nm에서 측정하였다.

대식세포의 지방산 조성조사

복강에서 분리하여 세척한 대식세포는 일부를 4~5

초간 sonicate(50 Watt)하여 파쇄한 액을 사용하고, 간 조직은 약 10% homogenate를 CHCl₃/methanol(2/1) 혼합액으로 지질을 추출하였다. 추출한 총지질은 thin layer chromatography(petroleum ether/ethyl ether/acetic acid; 90/10/1)로 인지질을 분리하여 CHCl₃/methanol(1/1)으로 추출하여 지방산 분석 시료로 사용하였다. 시료를 14% BF₃/methanol로 시료의 지방산을 methylation 한 후(23), gas chromatography(Varian Star 3400)로 분석하였다. 이 때 사용한 column은 SupelcowaxTM 100 fused silica capillary column(60m, 0.32mm ID, 0.25 μ m film thickness)이었고, injection과 detector 온도는 250 °C, oven 온도는 초기 150°C에서 1분간 둔 후, 2°C/min으로 상승하여 190°C에 도달하였을 때 다시 1분간 두고, 4°C/min으로 다시 승온한 후 220°C 도달 후 3분간 지속한 후 종료하였다. 결과의 peak는 Nu Chek(Nu Chek Prep, Inc. MN, USA) GLC standard # 96을 표준품으로 사용하여 동정하였다

통계처리

실험결과는 평균과 표준오차로 표시하였으며 실험군간의 통계적 유의성 검정은 ANOVA와 Student's t-test를 사용하였고 ANOVA의 경우 실험군간의 차이는 Tukey test를 검정하였다.

결 과

당뇨 유발에 따른 실험군들의 체중 및 혈중 glucose 농도

당뇨를 유발하기 전 4주간 다시마 식이를 섭취한 생쥐들은 cellulose를 첨가식이를 섭취한 대조군의 사료

Table 2. Changes in body weights and blood glucose levels of experimental mice groups by streptozotocin(STZ)-induced diabetes and metformin treatment

Group ¹⁾	C	S	CD	SD	CDM	SDM
Body weight(g)						
Before STZ ²⁾	42.4 \pm 0.5	41.8 \pm 0.5	41.7 \pm 1.0	43.3 \pm 1.0	42.1 \pm 0.6	42.7 \pm 0.5
After STZ	41.6 \pm 0.4	40.8 \pm 0.3	34.1 \pm 1.2	36.3 \pm 0.7	33.1 \pm 1.1	33.7 \pm 0.8
Blood glucose(mg/dl)						
Initial	147 \pm 8	141 \pm 6				
After STZ						
Before metformin			487 \pm 38 ³⁾	507 \pm 23 ^a	494 \pm 26 ^a	503 \pm 42 ^a
After metformin					484 \pm 38 ^a	510 \pm 41 ^a

¹⁾ICR mice were fed control(C) and sea tangle(S) diet containing 5%(w/w) cellulose and 13.6%(w/w) dry sea tangle for 4 weeks, after which two thirds of mice(CD and SD) were made diabetic by intramuscular injection of streptozotocin (150mg/kg bw). At 4th day after diabetes was apparent by urinary glucose, one half of diabetic mice were treated with 500mg metformin/kg bw(CDM and SDM) orally.

²⁾Streptozotocin

³⁾Values are means \pm SE and those with superscript a are significantly different from initial blood glucose levels at $p < 0.05$.

섭취량과 거의 같았으나(4.89g과 4.88g) 체중 증가량이 대조군의 1.31g에 비해 16.8%나 높아 높은 사료효율을 보였다. Streptozotocin 투여한 후 1~3일 사이에 당뇨 반응이 나타났으며, 다시마 공급군이 cellulose 공급군에 비해서 뇨 반응이 약하면서도 늦게 나타나고 치사율도 14%(5/26)인 반면에 섬유소 공급군은 심한 뇨당 반응과 24%(9/28)의 높은 사망율을 보였다. 따라서 cellulose에 비해서 다시마의 성분 중에 당뇨에 대한 저항력을 나타내는 물질이 존재하는 것으로 여겨진다. 그러나 Table 2에 나타난 바와 같이 당뇨 유발군(CD, SD, CDM, SDM)에서는 STZ 투여 10일 동안 체중이 7~9 g 감소하였다. 당뇨에 의한 혈당 상승은 초기(비당뇨군 C, S군의 혈당치)의 140~155mg/dl에서 거의 500mg/dl에 달하였고, 혈당강화제 투여로 감소하지 않았다. 이는 STZ에 의한 췌장손상이 지속되는 상태에서 투여하여 효과가 없었던 것으로 추정되며 장기간 당뇨가 진행된 상태에서의 효과에 대하여 다시 조사해 볼 필요가 있다고 사료된다.

대식세포의 cytokine 분비

Fig. 1에 정상(normal)과 당뇨(diabetes)쥐와 당뇨쥐에게 metformin을 투여한 생쥐들에게서 대조식이(control)와 다시마식이(sea tangle) 후 대식세포로부터 분비된 IL-1 β , TNF- α 와 PGE₂의 양이 나타나 있다. IL-1 β 는 세 종류의 생쥐(정상; C 대 S, 당뇨-metformin; CD 대 SD, 당뇨+metformin; CDM 대 SDM)에서 모두 다시마섭취군에서 분비가 높은 경향이였으며 정상군에서는 p=0.058 수준으로 다시마군이 높았다. 대조식을 할 경우 당뇨를 유발했을 때 IL-1 β 의 분비가 증가되는 경향이였으며 metformin 투여로 더 증가되었다. 반면 TNF- α 의 분비는 군간의 차이는 없었으나 당뇨군들에서 정상군에 비하여 낮아지는 경향이였고, 다시마식에 의하여도 다소 낮아지는 경향을 보였으나 유의하지 않았다. PGE₂의 분비는 상기의 cytokine들에 비하여 다시마효과가 비교적 잘 보여 정상군에서는 p=0.055로, 당뇨에 metformin을 투여한 군에서는 p=0.059의 유의성을 가지며 다시마 섭취군이 높게 나타났다. 실험동물들을 식이로만 분류하여 대조(n=24)군과 다시마군(n=32)으로 나누어 PGE₂ 분비를 비교하였을 때, 다시마에 의한 상승은 p=0.03으로 매우 유의하였다.

대식세포와 간조직의 인지질 지방산 구성

Table 3에 대식세포에서 분리한 인지질의 지방산조성이 나타나 있다. 포화지방산 중에서 CD군의 palmitic

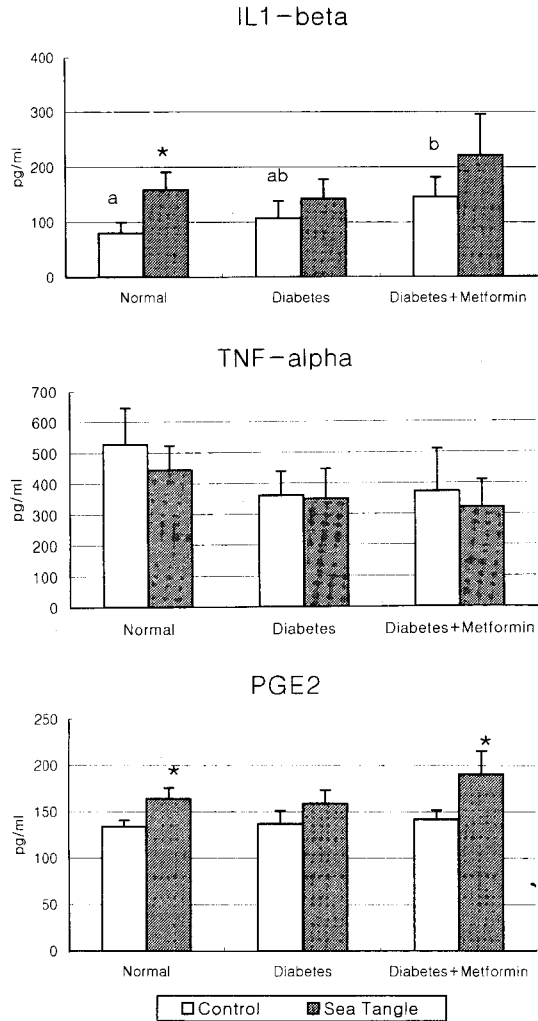


Fig. 1. Production of IL-1beta, TNF-alpha and PGE2 from LPS-treated macrophages from normal and diabetic mice fed control and sea tangle diets. Values are means \pm SE and those with different alphabets are significantly different within control groups and those with * different from corresponding controls.

acid(C16:0)나 SD군의 stearic acid(C18:0)가 타군에 비해 상당히 낮은 값을 보이고 있으나 분석 개체 수가 적어 차후 확인이 필요하다. 반면 당뇨에 의하여(군명에 D가 들어간 실험군) 대체로 arachidonic acid(AA, C20:4n-6)의 함량이 낮아짐을 볼 수 있었다. 이는 Table 4에서 보는 바와 같이 간조직에서도 같은 경향을 확인할 수 있었다. Arachidonic acid는 체내에서 전구체인 linoleic acid(LA, C18:2n-6)로부터 desaturation-elongation 과정을 통하여 생성되므로 이들간의 비율 C20:4/C18:2를 산출한 결과 특히 당뇨생쥐에서 met-

Table 3. Fatty acid compositions of Macrophage phospholipids from six experimental groups (weight %)

Fatty acid	Groups ¹⁾					
	C	S	CD	SD	CDM	SDM
14:0	2.87	1.59	1.34	1.22	1.40	0.61
16:0	26.39	29.00	21.83	30.11	29.94	21.97
18:0	17.28	16.64	16.28	10.30	13.23	13.94
18:1n-9	19.36	19.25	23.72	23.43	18.73	25.33
18:2n-6	11.17	12.30	11.88	13.93	16.41	14.24
18:3n-3	0.31	0.23	0.71	0.24	0.25	0.52
20:0	0.51	0.05	0.54	0.11	0.20	0.57
20:1n-9	0.16	0.40	0.58	1.27	0.12	0.33
20:2n-9	1.59	1.46	0.88	1.53	0.49	1.30
20:4n-6	11.36	12.39	12.52	9.84	9.38	8.31
22:0	0.16	0.11	0.14	1.12	0.12	1.71
22:4n-3	1.79	3.64	3.12	3.52	2.48	4.81
22:6n-3	1.97	1.88	1.85	2.59	4.13	1.62
>24	3.57	1.07	4.28	0.79	3.12	2.26
20:4/18:2	1.02	1.01	1.05	0.71	0.57	0.58
n6	22.53	24.69	24.40	23.77	25.79	22.55
n3	4.06	5.75	5.67	6.35	6.87	6.95
PUFA	28.18	31.90	30.95	31.65	33.14	30.80

¹⁾Groups are same as described for Table 2.

Table 4. Fatty acid compositions of liver phospholipids from six experimental groups (weight %)

Fatty acid	Groups ¹⁾					
	C	S	CD	SD	CDM	SDM
16:0	22.88	21.53	21.07	19.72	19.37	19.54
16:1	0.45	0.41	0.10	0.03	0.12	0.10
18:0	19.18	18.95	0.30	21.04	20.46	21.08
18:1n-9	11.60	11.08	11.14	9.71	10.43	10.01
18:2n-6	14.87	14.97	15.46	15.63	14.51	15.32
18:3n-3	0.29	0.31	0.33	0.98	0.39	0.32
20:0	0.42	0.37	0.33	0.37	0.38	0.32
20:1n-9	0.39	0.32	0.23	0.79	0.26	0.25
20:2n-9	0.21	0.29	0.39	0.32	0.42	0.36
20:4n-6	21.12	21.48	19.23	19.41	20.16	20.00
22:0	0.36	0.41	0.53	0.46	0.49	0.34
22:5n-3	0.71	1.48	1.50	1.56	2.07	1.31
22:6n-3	7.38	8.08	8.79	9.52	10.47	10.42
20:4/18:2	1.42	1.43	1.24	1.24	1.39	1.31
n6	35.96	36.45	34.69	35.04	34.90	38.18
n3	8.94	9.87	10.62	12.26	12.93	13.02
PUFA	44.90	46.32	45.31	47.30	47.83	51.20

¹⁾Groups are same as described for Table 2.

formin을 투여함으로써 뚜렷히 낮아졌다. Metformin을 투여하지 않은 당뇨생쥐들은 다시마식으로 C20:4/C18:2의 비율이 감소함을 보였으나 metformin 투여 당뇨군은 낮아진 비율에 더 변화는 없었다. 당뇨에 의하여 그리고 다시마섭취에 의하여 다불포화지방산 중

n-3 지방산이 증가됨을 보였는데 이는 간조직 인지질 조성에서 발견된 것과 같았다.

고 찰

식품성분들의 면역 관련성은 단백질과 열량과 같은 다량 영양소의 부족에 의한 항체생성 감소 문제가 초기에 대두되었으나 최근에 들어서는 지방 및 비타민 뿐만 아니라 식품 및 약용식물들에 들어 있는 미량 성분들의 면역 조절 기능에 대하여 연구가 확대되고 있다(24). 갈조류에 속하는 다시마(*laminaria japonica*)는 Ca를 다량 함유할 뿐 아니라(25) Fe, Zn와 같은 미량원소(26)와 비타민 B군과 C 및 carotenoid(25)도 상당량 함유되어 있다. 그러나 다시마의 식품영양학적 특성은 건조중량의 30% 이상이 되는 식이섬유의 작용으로 주로 설명되고 있다. 대표적인 다당류 식이섬유 성분인 alginic acid 외에도 다시마에는 중성다당인 laminaran과 함유 산성 다당류인 fucoidan을 포함하고 있다(27). 따라서 alginic acid가 소화관내에서 점성 gel을 형성하여 전반적으로 영양소흡수를 지연하고 담즙산 배설을 증가시키므로서 혈당 및 혈청 지질을 저하시키는 작용 이외에 난소화성 당류들의 화학적 특성에 따른 생리효과도 기대할 수 있다. 이러한 측면에서 다시마 섭취가 방사능으로 조사된 쥐의 감염을 예방할 수 있었다는 결과(28)와 다시마에서 추출한 당단백질이 sarcoma-180을 주사한 쥐에서 암 발생을 낮추었다는 보고(29)는 흥미롭다. 본 실험에서 다시마식이군들로부터 분리한 macrophage에서 IL-1 β 분비가 높다는 것은 보여 주었다. IL-1 β 는 전구체인 IL-1 α 의 활성화형으로 T 임파구를 활성화시키고 B 림파구의 성장과 분화를 자극하며 항체 생산을 증가시키는 역할을 한다. 본 연구자들은 전보(30)에서 다시마섭취에 의하여 비장세포의 증식이 증가하는 경향을 관찰한 바 있는데 이는 본 결과의 IL-1 β 분비증가와 관련이 있는 것으로 사료된다. Lin 등(31)은 *in vitro* 첨가한 해조류 추출물에 의하여 mouse 비장세포 증식이 증가하였고 B 임파구로부터 항체 생성과 macrophage로부터 TNF- α 의 생성도 증가하였다고 보고하였다. 이들은 IL-1 β 의 분비는 측정하지 않았으나 TNF- α 가 B 임파구 분화와 증식에 작용하지 않으므로 B-임파구에 대한 결과는 IL-1 β 을 포함한 다른 cytokine의 작용으로 생각된다. 본 실험에서는 다시마 식이에 의해 TNF- α 의 증가를 볼 수 없어 Lin 등(31)의 결과와 차이가 있었다. 그러나 그들이 사용한 추출물의 중요 성분이 100 kD에 해당하는 고분자의 당단백질이었고, 본 실험은 *in vivo* 식이로서 다시마에 있는 고분자 자체가 흡수되지는 않았을 것이므로 주요 작용 물

질이 다른데서 오는 결과로 사료된다. IL-1 β 의 생성변화는 PGE₂의 분비와 같은 경향을 보였는데 이는 IL-1 β 가 PGE₂의 생산을 촉진시킨다는 점(32)에서 이해된다. TNF- α 의 경우 다시마 섭취로 약간 감소되는 경향을 보였는데 이 또한 TNF- α 의 생산이 PGE₂에 의하여 억제된다는 많은 보고들(33,34)로 설명할 수 있겠다. 그러나 cytokine들간의 상호작용과 여러 체성분과 대사물들이 cytokine의 생산을 조절한다고 알려져 있어(32) 다른 기전들이 관련되었을 가능성이 많다.

본 실험의 당뇨는 매우 심한 상태로 유도 후 10일 생쥐를 희생시킬 때까지 혈당이 지속적으로 증가하였고 metformin의 혈당 강하 효과를 볼 수 없었다. Metformin은 세포의 포도당 uptake를 촉진시키는 작용으로 혈당강하 효과를 나타내는데, 본 실험에서는 급성으로 유도된 당뇨로 인해 혈당 상승이 빠르게 증가되는 상태에서 투여하여 효과가 나타나지 않은 것으로 사료되며 최근에 본 연구자들이 시행하고 있는 소량의 STZ를 반복 투여하여 유도되는 만성 당뇨(35)에서는 결과가 다를 것으로 예상된다. 따라서 본 실험조건에서의 중증의 고혈당 상태로 인한 체내 면역계는 경증과 차이가 있었을 것으로 생각되며 본 실험에서 보여진 대식세포능에 대한 다시마 영향에 대하여 재삼 확인할 필요가 있겠다. 그러나 짧은 시간에 유도된 당뇨 상태에서 대식세포 인지질 지방산 구성의 변화가 장기간 당뇨인 동물에서 보고된 바와 같으므로 지방산과 관련된 면역기능의 변화, 즉 PGE₂와 그에 영향을 받는 cytokine들에 대한 본 실험결과는 의의가 있다고 판단된다. 간조직 인지질 지방산 변화는 대식세포능 변화에 직접적인 영향을 주는 것은 아니나 당뇨 및 식이로 인한 체내 지방산의 변화에 가장 민감하므로 대식세포 및 체내 타 조직의 변화를 예견 또는 확인해 준다고 보겠다. 본 실험에서 당뇨로 인한 대식세포내 arachidonic acid가 감소는 간조직의 변화와 같이 진행됨을 알 수 있었다. 당뇨상태의 arachidonic acid 감소조건에서 PGE₂의 감소도 예상하였는데 결과는 오히려 반대의 경향이였다. 정상인 경우 arachidonic acid의 감소는 어유나 들기름과 같은 n-3 다불포화지방 섭취로 유도하는 경우가 많으며 이럴 경우, 대부분의 연구에서 n-3 지방산에 의하여 PGE₂는 감소되었다(11,15,36). 그러나 본 실험에서 arachidonic acid의 감소는 식이에 의한 변화가 아니라 insulin 부족으로 linoleic acid의 desaturation-elongation의 억제의 결과이며 당뇨시 phospholipase A₂, cyclooxygenase 활성의 증가(37)가 전구체인 arachidonic acid의 감소를 상쇄한 것으로 보여진다. Metformin 투여로 다시마식에서 나타난 경향들이 조금 더 강화되는 것으로 보여 다

시마 성분과 약물과의 작용이 있었을 것으로 생각되며 metformin으로 혈당강하가 없었으므로 이 작용은 혈당 수준과 관계없이 약물 자체의 작용으로 예상된다.

IL-1 β 나 TNF- α 는 면역기능을 활성화시키므로서 항균, 항virus, 항암 작용에 기여하는 한편 비임파조직에서는 염증반응에 관여하므로서 연골조직에서 분비증가는 류마티스 등의 원인으로 작용한다(38). 따라서 이들이 작용하는 표적세포에서의 성격이 중요하다고 보겠다. Macrophage 활성 물질로 가장 많이 연구되고 있는 것들은 대부분 동식물성 또는 합성 복합다당류이며(39,40) 특히 지방산 10-hydroxy-2-decenoic acid(41)에 대한 보고도 있다. 다시마의 주성분인 polyuronic acid alginate도 사람의 monocyte 배양에 첨가하였을 때 LPS보다는 적지만 tumor necrosis factor 및 IL-6의 생성을 유도하였다고 보고되었다(42). 본 실험의 다시마식이 대조식에 비하여 가장 차이가 나는 것은 섬유소의 종류이며 단백질과 지방은 1%와 0.2%의 증가가 있을 뿐이고 무기질이 대조식에 비하여 거의 2배가 되었다. 따라서 본 다시마식의 작용성분으로 수용성 섬유소 외에도 기존의 비타민과 무기질 성분에 대하여도 고려를 해야할 것으로 사료된다. 다시마식이를 섭취한 쥐(rat)에서 간조직의 비타민 A가 축적된 반면 혈청에서는 비타민 E와 함께 수준이 다소 낮아진 것으로 관찰되었다(미발표 결과). Macrophage에서의 이러한 비타민의 변화와 무기질의 역할도 조사해야 할 부분이며 다시마의 고분자물질의 분해산물의 작용도 앞으로 조사해야 할 과제로 남아 있다.

요 약

다시마 섭취가 흰쥐의 정상과 당뇨상태에서 면역기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 ICR mouse에게 섬유소원으로 cellulose를 첨가한 대조식이(C)와 다시마(S)를 첨가한 실험식이로 4주 사육한 후, streptozotocine 투여(150mg/kg BW) 유무에 따라 정상(C, S)과 당뇨군(CD, SD)으로 다시 나누고, 각 당뇨군의 절반에게 혈당강하제 metformin(500mg/kg BW)을 1일 1회씩 6회 투여하였다. 이에 따라 실험군은 정상 2군(C, S), 당뇨에 혈당강하제 투여하지 않은 2군(CD, SD), metformin을 투여한 2군(CDM, SDM)으로 총 6군이었으며 이들에게서 대식세포의 cytkine 분비능에 대하여 조사하고 대식세포와 간조직 인지질의 지방산 구성을 조사하였다. 당뇨유발시 다시마 섭취군들의 치사율은 14%로 대조군 24%에 비하여 낮았으나 혈당상승에는 차이가 없었고 당뇨군에게 metformin을 투여하였을 시

에도 혈당감소가 별로 없었다. 당뇨의 유발로 IL-1 β 와 PGE₂의 분비가 증가하는 경향이었고, 다시마섭취로도 대체로 증가하였다. 그러나 이러한 현상은 당뇨시보다는 정상쥐에서 더 유의하였다. 그러나 TNF- α 는 당뇨 유발과 다시마섭취로 다소 감소하는 경향이었으나 유의하지는 않았다. 대식세포와 간조직 인지질의 지방산 구성에서 당뇨에 의하여 arachidonic acid/linoleic acid의 비율이 저하됨을 볼 수 있었고, 간조직에서는 다시마 섭취로 다불포화지방산 함량이 증가되는 경향을 보였다. 이상의 결과로서 다시마가 흰쥐의 대식세포능을 증진시켜 면역증진의 효과가 있는 것으로 보이지만 심한 당뇨 상태나 약물이 복합적으로 작용할 때는 효과가 적은 것으로 보인다. 본 연구를 보완하기 위하여 경증이나 제 2형의 당뇨를 사용하는 것이 필요하다고 사료된다.

문 헌

- 민현기 편저 : 임상내분비학, 내분비 췌장 : 당뇨병. 고려의학, 서울, p.225(1990)
- Huang, X. J., Yuan, J., Goddard, A., Foulis, A., James, R. F. L., Lermark, A., Pujolborrel, R., Rabinovitch, A., Somoza, N. and Stewart, T. A. : Interferon expression in the pancreases of patients with type I diabetes. *Diabetes*, **44**, 658(1995)
- Vial, T. and Descotes, J. : Immune-mediated side effects of cytokines in humans. *Toxicology*, **105**, 31(1995)
- Hussain, M. J., Peakman, M., Gallati, H. and Vergani, D. : Elevated serum levels of macrophage-derived cytokines precedes and accompany the onset of IDDM. *Diabetologia*, **39**, 60(1996)
- Hotamisligil, G. S., Arner, P., Caro, J. F., Atkinson, R. L. and Spiegelman, B. M. : Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, **95**, 2409(1995)
- Kobayashi, S., Luo, B., Okabe, M., Kimura, I. and Kimura, M. : The diabetic state increases the activity but not the number of peritoneal macrophage in the G rat promoting the tube formation of cultured endothelial cells in rat aorta. *Biol. Pharm. Bulletin*, **19**, 199(1996)
- Ishibashi, T., Kitahara, Y., Harada, Y., Harada, S., Takamoto, M. and Ishibashi, Y. : Immunologic features of mice with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes*, **29**, 516(1980)
- Bistar, M. S. and Desouza, E. B. : Insulin-dependent reduction in hepatic and splenic contents of interleukin-1 beta in experimental diabetes. *Hormone and Metabolic Res.*, **27**, 306(1995)
- Goldberg, I. : Functional foods, designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. Chapman & New York(1994)
- Meydani, S. N., Endres, S. and Woods, M. M. : Oral n-3 fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphokine proliferation : comparison in young and older women. *J. Nutr.*, **121**, 547(1991)
- Blliar, T., Bankey, P. and Svingen, B. : Fatty acid intake and Kuffer cell function : fish oil alters eicosanoid and monokine production to endotoxin stimulation. *Surgery*, **104**, 343(1988)
- Meydani, S. N. : Dietary modulation of cytokine production and biological functions. *Nutr. Rev.*, **48**, 361(1990)
- Shirahata, S. : Immnu-regulating function of food. Abstracts from 42nd Fall Conference of Korean, Society of Food Science and Nutrition. SL1, p.21(1997)
- 이봉기, 장윤수, 이숙이, 정진섭, 최신양 : 식품과 면역증진 효과 -된장의 면역조절 기능과 그 작용기전- 1997년 한국식품영양과학회 추계학술대회 초록, SL5, p.25(1997)
- Endres, S. : Messengers and mediators : interactions among lipids, eicosanoids, and cytokines. *Am. J. Clin. Nutr.*, **57(suppl)**, 798S-800S(1993)
- Orning, L., Krivi, G., Bild, G., Gierse, J., Aykent, S. and Fitzpatrick, F. A. : Inhibition of leukotriene A4 hydrolase/aminopeptidase by captopril. *J. Biol. Chem.*, **266**, 16507(1991)
- Earnest, D. L., Hixson, L. J. and Albert, D. S. : Piroxicam and other cyclooxygenases inhibitors : potential for cancer chemoprevention. *J. Cell. Biochem.*, **161**, 156(1992)
- 김은희, 맹영선, 우순자 : 채소류 및 해조류 식품의 식이섬유 함량. *한국영양학회지*, **26**, 196(1993)
- 이혜성, 최명숙, 이연경, 박수현, 김유정 : 당뇨병 환자를 위한 고식이섬유 보충물의 개발을 위한 연구(II). *한국영양학회지*, **29**, 296(1996)
- 이연경, 이혜성, 김보완 : 단기간의 식이섬유 첨가물 섭취가 인슐린 비의존성 당뇨병환자의 당질대사에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*, **15**, 846(1996)
- 이연경, 이혜성, 김보완 : 단기간의 식이섬유 첨가물 섭취가 인슐린 비의존성 당뇨병환자의 지질대사에 미치는 영향. *당뇨병*, **19**, 80(1995)
- Bendich, A. : Carotenoids and the immune response. *J. Nutr.*, **119**, 112(1989)
- Lee, SH-C. and Clandinin, M. T. : Effect of dietary fat on the utilization of fatty acids by myocardial tissue in rat. *J. Nutr.*, **116**, 2096(1986)
- Borchers, A. T., Hackman, R. M., Keen, C. L., Stern, J. S. and Gershwin, M. E. : Complementary medicine: a review of immunomodulatory effects of Chinese herbal medicine. *Am. J. Clin. Nutr.*, **66**, 1303(1997)
- 농촌진흥청 : 식품성분표 제 5 개정판(1996)
- 이종우, 성낙주 : 해조류의 무기성분. *한국수산학회지*, **9**, 51(1980)
- 구재근, 조길석, 도정룡, 우순자 : 한국산 다시마 및 미역으로부터 fucoidan의 추출 및 정제. *한국수산학회지*, **28**, 227(1995)
- Kuznetzova, T. A., Krylova, N. V., Besednova, N. N., Vasil'eva, V. N., Zviagintseva, T. N., Krashevski, S. V. and Eliakova, L. A. : The effect of translam on the natural resistance indices of the irradiated organism. *Radiats. Biol. Radioecol.*, **34**, 236(1994)
- Ryu, B. H., Kim, D. S., Cho, K. J. and Sin, D. B. : Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korean Food Sci. Technol.*, **5**, 595(1989)
- 조성희, 양경미, 배복선, 임선아, 유리나 : 다시마섭취가

- 정상과 당뇨쥐의 비장세포 증식에 미치는 영향. 한국영양학회지, **31**, 973(1998)
31. Lin, J. N., Yoshida, Y., Wang, M. Q., Okai, Y. and Yamashita, U. : B-cell Stimulating activity of seaweed extracts. *International J. Immunopharmacology*, **19**, 135 (1997)
 32. 정태호, 김정철, 김문규 : 최신면역학 강의. 경북대학교 출판부, p.214(1996)
 33. Kunkel, S. L., Wiggins, R. C., Chensue, S. W. and Larrick, J. : Regulation of macrophage tumor necrosis factor production by prostaglandin E₂. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **137**, 404(1986)
 34. Watanabe, S., Onozaki, K., Yamamoto, S. and Okuyama, H. : Regulation by dietary essential fatty acid balance of tumor necrosis factor production in mouse macrophages. *J. Leukoc. Biol.*, **53**, 151(1993)
 35. Rossini, A. A., Williams, R. M., Apple, M. C. and Like, A. A. : Complete protection from low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice. *Nature*, **276**, 182 (1978)
 36. Caughey, G. E., Mantzioris, E., Gibson, R. A., Cleland, L. G. and James, M. J. : The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1 β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am. J. Clin. Nutr.*, **63**, 116(1996)
 37. 양정아 : Streptozotocin 유발 당뇨쥐에서의 항혈전에 미치는 녹차 catechin의 영향 및 그 작용 기전. 대구효성가톨릭대학교 박사학위논문(1997)
 38. Starkebaum, G. : Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Science & Medicine*, **5**, 6(1998)
 39. Tanizaki, H., Tanaka, H., Iwata, H. and Kato, A. : Activation of macrophage by sulfated glycopeptides in ovomucin, yolk membrane and Chalazae in chicken eggs. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **61**, 1883(1997)
 40. Kerekgyarto, C., Virag, L., Tanko, L., Chihara, G. and Facht, J. : Strain differences in the cytotoxic activity and TNF production of murine macrophages stimulated by Lentinan. *International J. Immunopharmacology*, **18**, 347(1996)
 41. Wang, G. Y. and Lin, Z. B. : Effects of 10-hydroxy-2-decenoic acid on phagocytosis and cytokine production of peritoneal macrophage *in vitro*. *Acta Pharmacologia Sinica*, **18**, 180(1997)
 42. Espevik, T., Otterlei, M., Skjak, B. G., Ryan, L., Wright, S. D. and Sundan, A. : The involvement of CD14 in stimulation of cytokine production by uronic acid polymers. *Eur. J. Immunol.*, **23**, 255(1993)

(1998년 5월 7일 접수)