韓國營養學會誌 34(8) : 843~849, 2001

N-3계 지방산과 단백질 수준이 나이가 다른 흰쥐에서 신장 기능에 미치는 영향*

김화영§ · 정명지 · 정현주**

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과, 연세대학교 의과대학 병리학교실**

Effect of N-3 Fatty Acids and Dietary Protein Levels on Renal Function in Rats of Different Ages*

Kim, Wha Young§ · Chung, Myung Ji · Jeong, Hyoen Joo**

Department of Food & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea
*Department of Pathology,** College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea*

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of n-3 fatty acids and dietary protein levels on renal function. Fifteen-month old male Sprague-Dawley rats were divided into 4 diet groups. Two-month old rats were used as a control group. The experimental diets contained either 8% or 25% casein and lipid levels of the diets were 20% by weight. For the control group, the lipid was composed of beef tallow and corn oil on a 1 : 1 basis, and fish oil was comprised 75% of the fat mixture for the fish oil group. Rats were fed the diets ad libitum for 8 weeks. GFR and urinary protein excretion were higher in high protein groups, while fish oil exhibited no effects. Renal medulla TXB_2 and PGE_2 concentrations tended to be higher in high protein groups and lower in fish oil groups. Light microscopic examinations showed that glomerulosclerosis, tubular atrophy, tubular cast, interstitial inflammation and interstitial fibrosis tended to be higher in aged rats and in high protein groups and lower in fish oil groups. Serum levels of total lipid, triglyceride and total cholesterol were higher in aged rats and lower in fish oil groups while serum HDL-cholesterol level was higher in young rats and in fish oil groups. However, dietary protein level had no effect on serum lipid levels. Serum TBARS concentration was higher in aged rats and in fish oil groups. In conclusion, fish oil caused changes in serum lipid concentrations and eicosanoids metabolism. The effect of fish oil on renal function was less obvious than dietary protein. However, fish oil seemed to be effective in lessening deterioration of renal function due to aging and/or high protein diets through changes in lipid and eicosanoids metabolism. (*Korean J Nutrition* 34(8) : 843~849, 2001)

KEY WORDS: n-3 fatty acids, protein, renal function, urinary protein, eicosanoids metabolism.

서 론

신장의 노화(kidney senescence)는 식이의 영향을 받는 것으로 보고되고 있다.[1] 신장기능은 식이 단백질의 영향을 받아 단백질 수준이 높을 때 사구체 여과율(GFR)은 증가하나 또한 신장의 조직학적 변화도 일어나 뇨 단백질 배설량이 증가하고 신장 조직내 thromboxane B_2(TXB_2)의 함량도 증가하여 신장 기능이 손상되는 것이 관찰되었다.[2,3] 또한 지방산의 조성이 다른 여러 가지 식이 지방을 공급할 경우 신장 기능에 차이를 보였는데, 포화 지방산이 다량 함유된 우지를 공급할 경우 신장 기능 손상이 촉진되며, n-3 지방산이 풍부한 어유를 공급할 경우 이와는 반대로 노화로 인한 신장 기능의 저하를 예방해 주는 것으로 나타났다.[4]

신장 조직내의 eicosanoids 대사는 식이 단백질과 지방의 영향을 받고 이러한 eicosanoids가 신장 혈동력학(hemodynamics)에 영향을 주어 신장 기능의 변화가 일어난다는 기전이 제시되고 있다.[5-7] 강력한 혈관 수축제인 thromboxane A_2(TXA_2)는 신장의 보우만 주머니의 압력을 증가시켜 GFR과 신혈류를 감소시키고 이로 인해 보상적으로 과잉 여과 현상이 유발되어 결국 사구체 경화와 같은 조직학적 변화를 초래하며 사구체 기저막의 투과도를 변화시켜 뇨 단백질 배설량을 증가시키는 작용을 한다.[8] 반면에 prostaglandin E_2(PGE_2)는 혈관 이완 기능을 하며 TXA_2의

접수일 : 2001년 8월 14일
채택일 : 2001년 11월 15일
*This research was supported by grants(981-0610-051-1) from Korea Science and Engineering Foundation.
§To whom correspondence should be addressed.

© 2001 The Korean Nutrition Society

작용으로 인해 감소된 신장 기능을 정상으로 유지하기 위한 작용을 한다.

최근 활발히 연구되고 있는 n-3계 지방산은 체내에서 혈청 콜레스테롤과 중성 지방의 감소 및 항혈전 효과를 가지며, 노화로 인한 신장 기능의 감소를 예방해 주는 것으로 보고되고 있다.[4,9] 그러나 n-3계 지방산은 불포화도가 높고 불안정한 이중결합을 가지고 있으므로 체내에서 산화되어 free radical과 peroxide를 생성할 가능성이 높으며 생성된 과산화물은 세포막 파괴, 지단백의 산화, 체조직의 노화, 암 및 여러 종류의 퇴행성 질환을 일으킬 수도 있다.[7]

식이 n-3계 지방산과 단백질은 체내 지질 대사의 변화를 통하여 신장 기능에 영향을 미친다는 가설이 대두되고 있으므로[10] 이들의 복합적인 관계에 대한 연구가 필요하다고 생각된다. 본 연구에서는 식이 n-3계 지방산이 식이 단백질 수준에 따라 신장의 노화와 신장의 기능에 미치는 영향을 규명하고자 한다. 15개월령의 늙은 흰쥐와 2개월령의 어린 흰쥐에게 지방 급원으로 어유를 공급하고 8%와 25% casein식이를 공급하였을 때 지질 대사 및 신장 기능의 변화에 미치는 영향이 나이에 따라 다른가를 살펴보았다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육 및 식이

본 연구에서는 13개월령의 Sprague-Dawley 종의 수컷 흰쥐를 구입하여 15개월령이 될 때까지 고형배합사료(삼양사료)로 사육하여 늙은 쥐의 모델로 사용하였고, 2개월령의 쥐를 구입하여 고형배합사료로 일주일간 적응시켜 대조군으로 사용하였으며, 각 나이에서 체중에 따른 난괴법(Randomized-block design)에 의해 각군당 10마리씩 4개의 실험군으로 분류하여 8주간 사육하였다. 그러나 사육기간 중 죽은 쥐가 있어 자료 분석에 사용한 쥐는 각군당 8~10마리였다.

실험 식이는 단백질 함량을 8% casein(저단백식이)과 25% casein(고단백식이)으로 하고 이를 각각 어유 첨가군과 대조군으로 나누었다. 식이 지방 함량은 식이 무게의 20%로 하였고, 대조군에는 우지(beef tallow, 롯데 삼강)와 옥수수유(corn oil, 제일제당)를 동량으로 섞어 사용하였으며, 어유군에는 대조군 식이의 지방 25%와 어유(fish oil, 풀무원 제공) 75%를 섞어 공급하였다. 탄수화물 함량은 저단백군이 67%, 고단백군이 50%가 되었고, 무기질과 비타민은 American Institute of Nutrition(AIN)의 식이 조성[11]을 참고로 제조하여 사용하였다(Table 1). 따라서 대조군과 어유군의 식이 지방산 구성은 Table 2와 같았다. 실험 기간 중 산패되기 쉬운 어유식이는 일주일에 한 번씩 제조하여 공급하였고, 모든 식이는 냉장 보관하였다. 실험 동물은 한 마리씩 분리하여 사육하였고 물과 식이는 제한없이 공급하였다.

2. 시료의 채취 및 신장의 처리

뇨와 혈액은 실험 식이로 8주간 사육 후 채취하였다. 뇨는 이미 보고된 방법[2]대로 24시간 동안의 뇨를 수집하였다. 혈액은 사육 기간이 끝난 뒤 12시간을 굶긴 후 ethyl eth-

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diets)

	Control diet		Fish oil diet	
	Low protein	High protein	Low protein	High protein
Corn starch	670	500	670	500
Casein	80	250	80	250
Fat				
Mixed oil[1]	200	200	50	50
Fish oil[2]	0	0	150	150
Salt mixture[3]	35	35	35	35
Vitamin mixture[4]	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2
DL-methionine	3	3	3	3

1) Beef tallow: Corn oil = 50 : 50
2) Fish oil was supplied by Pulmuone
3) AIN-76 Salt mixture 4) AIN-76 Vitamin mixture

Table 2. Fatty acid composition of experimental diets (%)

Fatty acids	Control diet[3,4]	Fish oil diet[3-5]
C 14 : 0	1.20	3.28
C 16 : 0	16.20	18.50
C 16 : 1	1.05	4.95
C 18 : 0	10.10	6.29
C 18 : 1(n-9)	33.40	19.62
C 18 : 2(n-6)	32.10	9.09
C 18 : 3(n-3)	0.85	0.85
C 20 : 4(n-6)	-	1.43
C 20 : 5(n-3)	-	4.28
C 22 : 5(n-6)	-	2.21
C 22 : 6(n-3)	-	20.41
Unknown	5.1	9.09
ΣPUFA	32.95	38.27
ΣSFA	27.50	28.07
P/S ratio[1]	1.20	1.36
Σn-3	0.85	25.54
Σn-6	32.10	12.73
n-3/n-6 ratio[2]	0.03	2.01

1) P/S ratio: $\frac{\Sigma \text{polyunsaturated fatty acid}}{\Sigma \text{saturated fatty acid}}$

2) n-3/n-6 ratio: $\frac{\Sigma \text{n-3 fatty acid}}{\Sigma \text{n-6 fatty acid}}$

3) Fatty acid composition of beef tallow was analyzed by Lotte Samgang co.
4) Fatty acid composition of corn oil was analyzed by Cheil Jedang co.
5) Fatty acid composition of fish oil was analyzed by Pulmuone co.

er로 마취하고 개복하여 심장에서 채취해 혈청을 얻어 분석시까지 냉동 보관하였으며 일부는 혈청내 지질과산화물양의 측정을 위해 -70℃에 보관하였다.

. 혈액을 채취한 후 즉시 신장을 떼어내서 신장 조직내 eicosanoids 분석용과 조직 검사용으로 나누어 처리하였다. 신장 조직내 eicosanoids 분석을 위해서는 이미 보고된 방법[3]대로 신장 수질을 처리하여 분석시까지 냉동 보관하였다. 또한 즉시 간을 떼어 ice-cold saline에 넣어 세척한 다음 무게를 측정하고 바로 -70℃에 보관하여 지질과산화물양의 측정에 사용하였다.

신장 조직 검사를 위해 각 실험군에서 무작위로 6마리씩 선택하여 오른쪽 신장의 1/3지점을 잘라 10% 포르말린 용액에 보관하였다. 이것을 paraffin에 포매하여 microtome으로 4μm 두께로 연속 절편한 뒤 hematoxylin-eosin과 periodic acid-Schiff stain을 시켜 광학현미경으로 관찰하였다. 조직의 처리 및 판독은 맹검법으로 같은 병리학자에 의해 행해졌으며 그 결과는 /, ±, +, ++, +++의 순으로 조직의 손상된 정도를 나타내었다.

3. 생화학적 분석

혈청의 총 지방량은 Frings법[12]에 의해, 혈청의 총 콜레스테롤량은 Zak법[13]에 의하여 측정하였다. 또한 혈청의 중성 지방량은 lipoprotein lipase를 포함하는 효소법 kit(영동제약, Seoul, Korea)을 사용하였으며, HDL-콜레스테롤은 cholesterol esterase를 이용한 효소법 kit(아산제약, Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였다. 지질의 산화 정도를 측정하기위한 혈청의 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 함량은 Yagi의 방법[14]을 이용하여 측정하였고 간 TBARS는 Buckingham법[15]을 변형하여 정량하였다.

사구체 여과율을 구하기 위해 크레아티닌 제거율(creatinine clearance)을 측정하였다. 뇨의 creatinine 함량은 Folin의 방법[16]에 의해, 혈청의 creatinine 농도는 Folin and Wu의 방법[17]을 이용하여 520nm에서 비색정량하였다. 뇨 단백질 함량은 Lowry의 방법[18]을 이용해 750nm에서 비색정량하였다.

Eicosanoids 중에서 신장 기능과 관련있는 것으로 보고되고 있는 것들은 TXA_2, PGI_2, PGE_2 등[19]인데 본 연구에서는 TXA_2와 PGE_2의 농도를 신장 수질에서 측정하였다. 이 중 TXA_2는 반감기가 짧아 측정하기 어려우므로 생리적으로 안정된 대사물질인 TXB_2를 측정하여 TXA_2 생성량의 지표로 사용하였다. TXB_2와 PGE_2의 농도는 enzyme immunoassay(EIA) kit(Amersham, Uppsala, Sweden)을 사용하여 측정하였으며, 신장 조직내의 TXB_2와 PGE_2를 나타내기 위한 pellet의 단백질은 Lowry법[18]을 이용하여 뇨 단백질 함량 분석법과 동일한 방법으로 정량하였다.

4. 자료의 처리

모든 실험 결과는 평균치와 표준 오차로 나타내었고 각 실험군의 평균치들간의 유의성은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다. 나이, 식이 단백질 수준, n-3계 지방산에 의한 영향은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 three-way ANOVA로 분석하였다.

Table 3. Serum lipid concentrations in aged and young rats fed diets containing different protein level or fat source[1]

Groups	Total lipid(mg/dl)	Triglyceride(mg/dl)	Total cholesterol(mg/dl)	HDL-cholesterol(mg/dl)
OLC[2](n = 9)	345.57 ± 31.15[a3]	139.03 ± 19.46[a]	117.56 ± 7.46[a]	10.31 ± 1.46[b]
OHC(n = 9)	339.52 ± 30.11[a]	111.20 ± 12.28[ab]	132.85 ± 9.25[a]	12.44 ± 1.94[ab]
OLF(n = 9)	185.68 ± 14.19[c]	70.14 ± 9.91[cd]	85.93 ± 6.25[b]	14.81 ± 1.94[ab]
OHF(n = 10)	200.93 ± 11.82[c]	66.67 ± 9.66[cd]	88.19 ± 5.31[b]	16.48 ± 1.39[ab]
YLC(n = 9)	269.55 ± 17.31[b]	94.81 ± 7.85[bc]	112.20 ± 8.87[a]	13.66 ± 1.93[ab]
YHC(n = 9)	284.52 ± 19.24[ab]	97.99 ± 9.83[bc]	116.99 ± 4.81[a]	17.81 ± 2.64[a]
YLF(n = 8)	147.15 ± 13.74[c]	67.40 ± 10.50[cd]	79.45 ± 4.90[b]	19.01 ± 1.91[a]
YHF(n = 9)	163.04 ± 13.77[c]	51.15 ± 8.11[d]	79.76 ± 6.02[b]	18.76 ± 2.76[a]
SF[4]	A, C	A, C	C	A, C

1) Mean ± S.E.
2) OLC: Aged rats fed low-protein control diet
OHC: Aged rats fed high-protein control diet
OLF: Aged rats fed low-protein fish-oil diet
OHF: Aged rats fed high-protein fish-oil diet
YLC: Young rats fed low-protein control diet
YHC: Young rats fed high-protein control diet
YLF: Young rats fed low-protein fish-oil diet
YHF: Young rats fed high-protein fish-oil diet
3) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.
4) Significant factor
A: Effect of age was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
C: Effect of n-3 fatty acid was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.

Table 4. TBARS level in serum and liver in aged and young rats fed diets containing different protein level or fat source[1]

Groups	Serum (nmol/ml serum)	Liver (nmol/g wet liver)
OLC[2](n = 9)	4.14 ± 0.46[b3]	4.55 ± 0.81[ns]
OHC(n = 9)	4.37 ± 0.41[b]	3.96 ± 0.38
OLF(n = 9)	7.57 ± 1.67[a]	4.23 ± 0.89
OHF(n = 10)	4.87 ± 0.21[b]	3.98 ± 0.67
YLC(n = 9)	3.78 ± 0.49[b]	4.77 ± 0.46
YHC(n = 9)	3.92 ± 0.22[b]	4.25 ± 0.48
YLF(n = 8)	5.17 ± 0.49[b]	4.48 ± 0.69
YHF(n = 9)	4.19 ± 0.39[b]	5.63 ± 1.16
SF[4]	A, C, BC	NS

1) Mean ± S.E.
2) Same as Table 3.
3) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.
4) Significant factor
A: Effect of age was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
C: Effect of n-3 fatty acid was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
BC: Interaction of protein level and n-3 fatty acid was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
NS: Not significant at $\alpha = 0.05$ by 4-way ANOVA.

실험 결과

1. 지질 대사

사육기간 8주 후에 측정한 혈청 지질 농도는 Table 3과 같이 대체로 나이와 어유 식이에 의한 영향은 나타났으나 식이 단백질 수준에 의한 영향은 없었다. 혈청 총 지방과 중성 지방의 농도는 나이에 의한 영향이 유의적으로 나타나 늙은 쥐에서 높았으며 HDL-콜레스테롤은 낮았다. 또한 어유 식이군에서 혈청 총 지방, 중성 지방, 총 콜레스테롤의 농도가 낮았고 HDL-콜레스테롤은 높았다.

2. 과산화물 대사

혈청과 간의 지질과산화물 생성량을 조사하기 위하여 지질과산화물값인 TBARS 함량을 Table 4에 제시하였다. 혈청 지질과산화물 함량은 나이와 어유 식이에 의한 영향이 유의적으로 나타나 늙은 쥐에서 높았고 또한 어유군에서 높았다. 이러한 현상은 저단백-어유식이로 사육된 늙은 쥐(OLF)에서 현저하여 다른 실험군들에 비하여 TBARS가 유의적으로 높았으며 저단백-어유식이로 사육된 어린 쥐(YLF)의 경우에도 다른군에 비해 높은 경향을 보였다. 간의 지질과산화물 함량은 어린 쥐에서 높은 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다.

3. 신장의 조직학적 변화

광학 현미경으로 관찰한 신장의 조직학적 변화의 결과는

Table 5. Light microscopy findings in aged and young rats fed diets containing different protein level or fat source

Groups	Glomerulosclerosis (%)					Tubular atrophy										Tubular cast								Interstitial inflammation								Interstitial fibrosis							
						Cortex							Medulla									Cortex							Medulla											
	0	5	10	15	20	25	-[3]	±	+	++	+++	+	-	±	+	++	+++	+	-	±	+	++	+++	+	-	±	+	++	+++	+	-	±	+	++	+++	+	-	±	+	++	+++
OLC[1](n = 6)	0[2]	3	3	0	0	0	0	3	3	0	0	3	1	2	0	0	5	0	1	0	0	0	2	4	0	0	0	5	1	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OHC(n = 6)	0	3	1	1	0	1	0	2	4	0	0	3	1	2	0	0	4	0	2	0	0	0	0	3	2	1	2	0	3	1	0	5	0	0	0	1	0	0	0	0
OLF(n = 6)	1	4	1	0	0	0	1	3	2	0	0	4	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0	0	4	1	1	1	0	5	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
OHF(n = 6)	0	4	2	0	0	0	1	4	1	0	0	2	3	1	0	0	6	0	0	0	0	0	1	0	2	2	1	0	0	6	0	0	5	0	1	0	0	0	0	0
YLC(n = 6)	2	0	4	0	0	0	3	2	0	1	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	1	3	2	0	1	0	4	0	1	6	0	0	0	0	0	0	0	0
YHC(n = 6)	0	2	1	2	1	0	1	3	2	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	1	4	1	0	0	2	0	3	1	5	0	0	0	1	0	0	0	0
YLF(n = 6)	2	3	1	0	0	0	2	3	1	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	2	1	1	2	0	0	0	4	2	0	6	0	0	0	0	0	0	0
YHF(n = 6)	1	2	2	1	0	0	3	2	1	0	0	4	2	0	0	0	5	0	1	0	0	0	1	5	0	0	1	0	5	0	0	5	0	0	0	1	0	0	0	0

1) Same as Table 3.
2) Values are number of rats.
3) Degree of histological change: - : normal, ± : minimal, + : mild, ++ : moderate, +++ : marked

Table 5에 제시하였다. Glomerulosclerosis는 각 실험군 6마리 중 15% 이상의 경화를 보인 쥐의 수가 고단백 식이군인 OHC, YHC, YHF군에서 각 2, 3, 1마리였으며 저단백 식이군에서는 한 마리도 없었고, OHC군 중 1마리는 25%의 경화 현상을 보여 고단백군에서 사구체 경화의 비율이 높았다. 그러나, 고단백 · 어유식이로 사육했을 때는 경화비율이 감소하여 늙은 쥐(OHF)에서는 6마리 모두 10% 이하의 낮은 경화 비율을 보였고 어린 쥐에서도 대조군에서는 3마리가 15% 이상의 경화현상을 보인데 반해 어유군에서는 1마리만이 15%의 경화를 나타내어 식이 단백질 수준이 높아도 어유에 의해 사구체 경화의 현상이 완화됨을 관찰할 수 있었다.

신장 피질의 tubular atrophy는 늙은 쥐에서 경증(mild) 이상의 증상을 보인 쥐가 어린 쥐보다 많았고(10마리 vs 5마리) 늙은 쥐의 경우 어유의 효과를 보여 대조군(OLC, OHC)에서 어유군(OLF, OHF)보다 경증의 증세가 많이 나타났으나(7마리 vs 3마리), 어린 쥐에서는 이러한 어유의 효과가 없었다. 또한 신장 수질의 tubular atrophy는 늙은 쥐에서는 6마리가 경증의 증세를 보인 반면 어린 쥐에서는 발견되지 않아 나이에 의한 영향을 볼 수 있었다.

Tubular cast는 늙은 쥐의 대조군(OLC, OHC)에서는 3마리가 경증의 증세를 보였으나 어유군(OLF, OHF)에서는 모두 정상(normal) 상태를 나타내었고 어린 쥐에서는 1마리를 제외하고는 모두 정상 상태였다.

Interstitial inflammation은 전체적으로 많이 발견되었는데, 신장 피질에서는 나이에 따른 차이가 나타나 대부분의 늙은 쥐가 경증 이상의 증세를 보였으며 심한 증세(marked)를 보인 쥐도 3마리나 있었다. 그러나 어린 쥐에서는 심한 증세를 보인 쥐는 없었다. 신장 수질의 interstitial inflammation은 두 나이군에서 모두 어유 식이를 섭취한 경우에 그 증세가 완화되어 대조군에 비하여 보통(moderate) 또는 심한(marked) 증세를 보인 쥐가 적었다. Interstitial fibrosis는 두 나이군 모두 고단백 식이군에서 각 1마리씩 경증 또는 보통정도의 증상을 나타내 식이 단백질 수준에 의한 영향을 보여주었다.

4. 신장 기능

1) 사구체 여과율 및 뇨 단백질 배설량

사육기간 8주 후에 측정한 뇨 크레아티닌과 혈청 크레아티닌으로부터 구한 크레아티닌 제거율(GFR: 사구체 여과율)과 뇨 단백질 배설량을 Table 6에 나타내었다. 사구체 여과율은 늙은 쥐에서 높았으나 식이 단백질 수준과 어유 식이에 의한 유의적인 차이는 없었다. 뇨단백질은 식이 단백질 수준에 의한 차이를 뚜렷하게 나타내어 고단백군에서 유의적으로 높았으며, 어유 식이에 의한 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 고단백 식이로 사육된 늙은 쥐의 경우 대조군(OHC)보다 어유군(OHF)에서 낮은 경향을 보였다.

Table 6. Creatinine clearance rate(GFR) and urinary protein excretion in aged and young rats fed diets containing different protein level or fat source[1]

Groups	Creatinine clearance[5] (ml/min, GFR)	Urinary protein (mg/day)
OLC[2](n = 9)	0.93 ± 0.10^{abc}[3]	0.77 ± 0.16^{c}
OHC(n = 9)	1.17 ± 0.11^{a}	2.08 ± 0.67^{a}
OLF(n = 9)	1.08 ± 0.11^{ab}	0.93 ± 0.15^{bc}
OHF(n = 10)	1.03 ± 0.11^{ab}	1.23 ± 0.17^{abc}
YLC(n = 9)	0.82 ± 0.11^{bc}	0.79 ± 0.13^{c}
YHC(n = 9)	0.90 ± 0.13^{abc}	1.70 ± 0.28^{abc}
YLF(n = 8)	0.68 ± 0.07^{c}	0.90 ± 0.24^{bc}
YHF(n = 9)	0.96 ± 0.08^{abc}	1.89 ± 0.28^{ab}
SF[4]	A	B

1) Mean ± S.E.
2) Same as Table 3.
3) Values with different alphabet within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.
4) Significant factor
A: Effect of age was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
B: Effect of protein level was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
5) $Ccr(ml/min) = \frac{Ucr(mg/day)}{Scr(mg/ml) \times 1440(min/day)}$
where Ccr: Creatinine clearance(ml/min)
Ucr: Urinary creatinine excretion(mg/day)
Scr: Serum creatinine(mg/ml)

2) 신장 수질의 Eicosanoids 함량

신장 조직의 수질에서 측정한 TXB_2와 PGE_2 함량을 Table 7에 수록하였다. TXB_2 함량은 나이에 따른 차이는 없었으나 식이 단백질 수준에 의한 영향을 받아 고단백군에서 높았는데 이는 어린 쥐에서 현저하였다. 또한 어유 식이에 의한 영향을 받아 어유군에서 유의적으로 낮은 값을 보였다. PGE_2 함량은 나이에 의한 유의적인 차이를 보여 늙은 쥐에서 높게 나타났고 식이에 의한 유의적인 차이는 없었으나 어린 쥐에서는 고단백군에서 높고 어유군에서 낮은 경향을 보였다.

고찰 및 결론

식이내 단백질과 지방은 신장의 발달과 노화에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다.[25-27] 고단백식이로 사육된 동물은 신장의 발달이 촉진되나 노화 또한 촉진되며 고지방식이는 신장기능의 퇴화를 가속화시킨다. 이러한 영향은 식이내 단백질과 지방 구성에 따라 신장 조직내에서 생성되는 ei-

Table 7. Renal medulla concentration of TXB_2 and PGE_2 in aged and young rats fed diets containing different protein level or fat source[1]

Groups	TXB_2 (ng/g tissue protein)	PGE_2 (ng/g tissue protein)
OLC[2](n = 9)	84.87 ± 2.47[a3]	475.44 ± 20.69[ab]
OHC(n = 9)	84.25 ± 2.34[a]	440.75 ± 30.26[abc]
OLF(n = 9)	76.45 ± 2.25[b]	419.37 ± 33.75[bc]
OHF(n = 10)	78.00 ± 3.19[ab]	507.80 ± 22.88[a]
YLC(n = 9)	73.92 ± 2.50[b]	428.98 ± 30.05[abc]
YHC(n = 9)	84.60 ± 1.78[a]	452.35 ± 16.72[ab]
YLF(n = 8)	76.08 ± 2.85[b]	364.11 ± 27.24[c]
YHF(n = 9)	81.67 ± 2.40[ab]	393.18 ± 28.04[bc]
SF[4]	B, C, AB	A

1) Mean ± S.E.
2) Same as Table 3.
3) Values with different alphabets within the column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.
4) Significant factor
A: Effect of age was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
B: Effect of protein level was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
C: Effect of n-3 fatty acid was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.
AB: Interaction of age and protein level was significant at $\alpha = 0.05$ by 3-way ANOVA.

cosanoids에 변화를 초래하고 eicosanoids는 신장 혈동력학(hemodynamics)에 영향을 미치기 때문이라고 생각한다. 사구체에서 TXB_2 합성량이 많으면 GFR이 감소하고 뇨 단백질 배설량이 증가하는 등[8,28] 신장 기능 저하를 초래하며 이에 대한 보상 작용으로 PGE_2가 분비되어 정상 기능을 유지하기 위한 작용을 한다. 고단백 식이를 섭취한 후 신장세포에서 TXB_2가 증가하고 이에 따라 PGE_2의 합성이 증가한다는 보고[6]가 있다.

본 연구에서는 식이 단백질의 수준과 지방의 종류에 따라 신장의 노화에 미치는 상호작용을 알아보기 위하여, 흰쥐를 n-3지방산을 포함한 어유 첨가군과 대조군으로 나누고 이를 다시 8%와 25% casein을 포함한 실험식이군으로 나누어 15개월령의 늙은 흰쥐와 2개월령의 어린 흰쥐를 8주간 사육하여 신장 기능의 변화를 살펴보았다. 본 연구 결과 식이가 신장기능에 미치는 영향이 나이에 따라 다르게 나타났다. 고단백식이를 섭취시켰을 때 뇨단백 배설량 증가 경향을 나타냈는데 이러한 영향은 늙은 쥐에서 더 현저하여 유의적인 차이가 있었다. 신장 수질의 TXB_2에 미치는 영향도 단백질의 영향은 어린쥐에서, 어유의 영향은 늙은쥐에서 뚜렷하여 나이에 따라 다른 영향을 미침을 알 수 있었다.

고단백식이를 섭취하면 GFR이 증가한다는 결과는 여러 연구에서 보고되고 있는데[2,3,25] 본 연구에서도 어린 쥐에서 이러한 경향이 나타났다. 이는 성장기부터 고단백식이를 먹이면 신장의 성숙이 빨라지고 GFR도 크게 증가한다는 기존의 연구 결과[26]를 뒷받침한다. 나이가 증가하면 사구체의 기능이 저하되어 고분자 물질의 투과성이 증가된다. 그 결과 늙은 동물은 단백질이 여과되므로 단백뇨가 나타나게 되는데, 본 연구에서는 고단백군에서 뇨 단백질 배설량이 높게 나타나 고단백 식이가 신장 기능의 퇴화를 촉진했음을 알 수 있다. 또한, 저단백 식이로 사육된 늙은 쥐(OLC, OLF)의 경우 고단백 식이로 사육된 어린 쥐(YHC, YHF)보다 단백뇨가 적게 나타나는 것을 볼 때, 저단백 식이는 노화에 의한 사구체 손상에 보호 효과를 갖는다고 하겠다. 신장 수질의 TXB_2가 높은 경향을 보인 어린쥐의 고단백군(YHC, YHF)과 OHC군에서 뇨단백 배설량이 증가하는 경향을 보인 것은 신장기능에 지질대사가 영향을 미칠 수 있음을 부분적으로 설명한다고 보겠다.

나이가 들면 신장은 구조적인 변화가 일어나 여과, 재흡수, 배설 등의 기능을 제대로 수행할 수 없게 된다. 본 실험에서 조사한 glomerulosclerosis, tubular atrophy, tubular cast, interstitial inflammation, interstitial fibrosis 등의 조직학적 변화는 다른 보고[4,24]와 마찬가지로 전체적으로 늙은 쥐에서 많이 발견되었으며 고단백식이 공급시 조직 변화의 정도가 심해지는 경향을 보였다. 그러나 식이 지방으로 어유를 공급하면 고단백식이에 의한 구조적 손상이 완화되는 경향을 나타내었으며 이러한 어유의 효과는 어린 쥐보다 늙은 쥐에서 현저하였다. 그러므로 어유는 노화에 따른 신장기능 퇴화를 지연시키는 기능이 있는 것으로 사료된다.

그러나 본 연구에서 어유식이는 GFR이나 단백뇨에는 영향을 미치지 않고 있다. 이는 흰쥐에서 creatinine clearance가 단기간의 식이 지방의 변화에 의해 별 차이를 보이지 않았다는 Grne 등[27]의 연구 결과와 17개월된 수컷 흰쥐에게 식이 무게 20%의 어유를 16주간 공급한 선행 실험[4]에서 8주 이후에 어유에 의한 뇨 단백질 배설량의 감소가 나타난 결과로 미루어 볼 때, 본 연구의 실험 기간인 8주는 이러한 변화를 보기에는 부족한 것으로 추측된다.

기존의 여러 보고[20,21]에서와 같이 어유 식이군에서 혈청 총 지방, 중성 지방, 총 콜레스테롤의 농도가 낮았고 HDL-콜레스테롤은 높았으며, 또한 늙은 쥐에서 혈청 총 지방, 중성 지방의 농도는 높게 나타난 반면 HDL-콜레스테롤의 농도는 낮았다. 그러므로 어유의 신장기능 퇴화 속도를 지연시키는 기전은 혈청 지질 농도를 저하시키므로서 신장 조직으로의 지방 유입을 감소시키므로 나타난다고 볼 수 있다. 혈청 콜레스테롤 농도가 높은 사람에게서 신장 기능의 저하가 촉진되었다는 보고는 이러한 가설을 뒷받침하고 있다. 혈청 지질 수준이 높은 경우 신장에 지질 성분이 침착되어

사구체의 손상을 촉진하는 등 신장의 구조 및 기능에 영향을 미친다는 보고들[30,31]이 있으므로 n-3계 지방산에 의한 혈청 지질의 변화는 신장 기능의 변화와 관련이 있다고 할 수 있겠다. 혈청 지질과산화물 함량은 나이와 어유 식이에 의한 영향이 유의적으로 나타나 늙은 쥐에서 높았고 또한 어유군에서 높았다. 또한 저단백-어유식이를 제공한 경우 두 나이군(OLF, YLF) 모두 TBARS가 다른 군에 비해 높은 경향을 보여 혈청 지질과산화물은 식이 단백질이 낮으면 더 많이 생성되는 것으로 보이며 이러한 경향은 늙은 쥐에서 현저하게 나타나고 있다. 이는 지질과산화물의 양이 나이가 많아지거나 식이 지방의 불포화도가 높으면 증가한다는 주장과 일치하는 결과이다.[22,23] 신장기능의 저하를 지연시킨 조건인 어유와 저단백식이를 공급한 경우 지질 과산화물의 농도가 높은 것으로 보아 체내지방의 산화도와 신장기능의 저하와는 관계가 없는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 보면, 고단백 식이 공급시 신장 조직의 변화와 기능의 손상을 초래하였다. 늙은 쥐의 고단백-대조군(OHC)은 다른 실험군에 비해 혈청 지질 수준이 높고 신장 조직의 이상이 가장 많이 발견되었으며 뇨 단백질 배설량이 높았으나 어유 공급시(OHF)에는 이러한 손상이 감소되었다. 즉 노화와 고단백 식이로 인해 신장의 구조적 퇴화 및 기능적 손상이 일어난 경우에는 식이 지방을 어유로 바꾸어 주면 이러한 고단백에 의한 손상을 완화시킬 수 있음을 시사한다. 이러한 어유의 효과는 n-3계 지방산에 의한 혈청 지질의 변화에 따른 신장 기능의 변화와 관련이 있다고 할 수 있겠으며 n-3계 지방산에 의한 혈청 지질과산화물의 양의 증가와는 관련이 없는 것으로 사료된다. 또한 이들 늙은 쥐에서 TXB_2나 PGE_2에 유의적인 차이가 없는 것으로 보아 신장내의 eicosanoids 변화가 중심적인 역할을 하지는 않는 것 같다.

Literature cited

1) Rudman D, Cohan ME. Nutritional causes of renal impairment in old ages. *Am J Kidney Dis* 16(4): 289-295, 1990
2) Lee JA, Jang YA, Kim WY. The effects of age and dietary protein level on Ca metabolism in rats. *Korean J Nutr* 25(7): 569-577, 1992
3) Kim WY, Lee HS, Jeong HJ. Effect of dietary protein level on renal functions and structure in uninephrectomized aging model in rat. *Korean J Nutr* 29(10): 1059-1071, 1996
4) Kim WY, Lee SJ, Jeong HJ. Effect of different types of dietary fats on renal functions in aged rats. *Korean J Nutr* 31(3): 253-262, 1998
5) Klahr S. Effect of protein intake on the progression of renal disease. *Ann Rev Nutr* 9: 87-108, 1989
6) Hutchison FN, Don BR, Kaysen GA, Blake S, Schambelan M. Dietary protein intake modulates glomerular eicosanoid production in nephrotic rats. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 17B: 725-728, 1987
7) Kelley VE, Ferretti A, Izui S, Strom TB. A fish oil diet rich in eicosapentaenoic acid reduces cyclooxygenase metabolites, and suppresses lupus in MRL-lpr mice. *J Immunol* 134(3): 1914-1919, 1985
8) Schlondroff D, Neuwirth R. Platelet-activating factor and the kidney. *Am J Physiol* 251(1 Pt 2): F1-F11, 1986
9) Bang HO, Dyerberg J. Personal reflections on the incidence of ischemic heart disease in Oslo during the second world war. *Acta Med Scan* 210(4): 245-248, 1981
10) Schreiner GF, Klahr S. Diet and kidney disease: the role of dietary fatty acids. *Proc Soc Exp Biol Med* 230(1): 1-11, 1991
11) Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc committe on standard for nutritional studies. *J Nutr* 107(7): 1340-1348, 1977
12) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophospho-vanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53(1): 89-91, 1970
13) Zak B. Total and free cholesterol. In: Standard method of clinical chemistry. pp.79-89, Acad Press, New York, 1968
14) Yagi K. Assay for blood plasma or serum. In: Method in enzymology. pp.328-331, Acad Press vol 105, 1984
15) Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115(11): 1425-1435, 1985
16) Oser BL. "Hawk's physiological chemistry" 4th edition. pp.1040-1231, McGrow-Hill Book, New York, 1965
17) Lee GN, Kim JG. Clinical medicine. pp.72, Uihak press, Seoul, 1988
18) Lowry OH, Resebrouh NJ, Farr AC, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
19) Levenson DJ, Simmons CE, Brenner BM. Arachidonic acid metabolism, prostaglandins and the kidney. *Am J Med* 72(2): 354-374, 1982
20) Norum KR. Dietary fat and blood lipids. *Nutr Rev* 50(4 Pt 2): 30-37, 1992
21) Sanders TA, Roshanai F. The influence of different type of ω-3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64(1): 91-99, 1983
22) Kim WY, Jang YA. The effect of lipid concentration in culture medium on senescenece and lipid peroxides production of fibroblast from neonate rats. *Korean J Nutr* 29(1): 97-103, 1996
23) Meydani M, Natiello F, Goldin B, Free N, Woods M, Schaefer E, Blumberg JB, Gorbach SL. Effect of long-term fish oil supplementation on vitamin E status and lipid peroxidation in women. *J Nutr* 121(4): 484-491, 1991
24) Kim WY, Hwang SY, Lee HS, Jeong HJ. Effects of N-3 fatty acids on renal function in rats of different ages. *Korean J Nutr* 33(2): 134-137, 2000
25) Lee HS, Kim WY. The effect of level of dietary protein on kidney development and function in growing rats. *Korean J Nutr* 23(6): 401-407, 1990
26) Meyer TW, Lawrence WE, Brenner BM. Dietary protein and the progression of renal disease. *Kidney Int Suppl* 24: S243-S247, 1983
27) Grne HJ, Walli A, Grne E, Niedmann P, Thiery J. Induction of glomerulosclerosis by dietary lipids: a functional and morphologic study in the rat. *Lab Invest* 60(3): 433-446, 1989
28) Linos EA, Andres GA, Dunn MJ. Glomerular prostaglandin and thromboxane synthesis in rat nephrotoxic serum nephritis. *J Clin Invest* 72 (4): 1439-1448, 1983
29) Boudreau MD, Chanmugam PS, Hart SB, Lee SH, Hwang DH. Lack of dose response by dietary n-3 fatty acids at a constant ratio of n-3 to n-6 fatty acids in supressing eicosanoid biosynthesis from arachidonic acid. *Am J Clin Nutr* 54(1): 111-117, 1991
30) Bernard DB. Extrarenal complications of the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 33(6): 1184-1202, 1988
31) Kasiske BL, O'donnel MP, Garvis WJ, Keane WF. Cholesterol synthesis inhibition reduces golmerular injury in the rat 5/6 nephrectomy model of chronic renal failure. *Clin Res* 35(6): 549A, 1987