

OLETF 비만쥐에서 CLA 첨가 식이가 혈장의 포도당과 지질농도 및 간조직의 Lipogenic Enzyme 활성도에 미치는 영향

박현서[§] · 고은경 · 김영설*

경희대학교 식품영양학과, 경희대학교 의과대학 내과*

Effect of Dietary Conjugated Linoleic Acid on Plasma Levels of Glucose and Lipids and Hepatic Lipogenic Enzyme Activity in Otsuka Long Evans Tokushima Fatty Rats

Park, Hyun-Suh[§] · Ko, Eun-Kyoung · Kim, Young-Seol*

Department of Food & Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea
Department of Internal Medicine,* Kyung Hee Medical School, Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

The study was designed to observe whether the conjugated linoleic acid supplemented to diet could reduce plasma levels of glucose and lipids which were increased in 27-weeks old Otsuka Long Evans Tokushima Fatty(OLETF) rats. Twenty male OLETF rats of 7 weeks old were fed an experimental diet containing 4.5%(w/w) total fat including 1% CLA and six of twenty rats were sacrificed at 6 weeks feeding. The rest of OLETF rats was divided into 2 groups, one group was continuously fed for 14 weeks more the same experimental diet containing 1% CLA and the other group was fed control diet which eliminated CLA. CLA did not significantly reduce food intake and body weight gain in OLETF obese rats. Plasma triglyceride and total cholesterol level were significantly increased at older age of OLETF obese rats, but CLA could significantly reduce plasma cholesterol and triglyceride increased in obese rats. However, CLA was not strong enough to reduce the increased plasma glucose level and hepatic lipogenic enzyme activities. CLA was mostly deposited in epididymal fat pad and could be incorporated into hepatic microsomal membrane and did interfere the conversion of C18 : 0 into C18 : 1 in liver. In conclusion, CLA could have anti-atherogenic effect by reducing plasma cholesterol and triglyceride which was increased in genetically obese rats, but CLA(1%) was not good source of dietary fatty acid to reduce body fatness and plasma glucose which was increased by obese gene in older rats. (*Korean J Nutrition* 34(8) : 850~857, 2001)

KEY WORDS: CLA, hypolipidemic effect, plasma glucose, lipogenic enzymes, OLETF obese rats.

서 론

우리나라 국민영양보고서에 의하면 20세 이상 조사대상자 중 체질량지수(body mass index: BMI)가 25를 넘는 사람이 1991년에는 17.1%,¹⁾ 1992년에는 19.6%,²⁾ 1995년에는 20.5%³⁾로써 해마다 빠르게 증가하고 있는 추세이다. 비만은 특히 당뇨병, 고혈압, 고지혈증 및 심혈관 질환 등의 질병유발을 증가시킬 수 있는 위험요인이 될 수 있어^{4,6)} 비만 예방은 중요한 건강문제로 대두되고 있다.

Linoleic acid의 이성체인 conjugated linoleic acid(CLA) 중 생리적으로 활성이 가장 높은 cis-9, trans-11 CLA와

trans-10, cis-12 CLA는 항암효과^{7,8)} 뿐 아니라 토끼, hamster, 쥐 등에서 혈중 지질을 낮추어 항동맥경화 효과를 보였으며,^{9,11)} 또한 생쥐, 쥐, 닭 등에서 체지방량도 감소시켰다는 보고도 있었지만 그 기전은 아직 규명되지 않았다.¹²⁻¹⁶⁾

Otsuka Long Evans Tokushima Fatty(OLETF)인 비만쥐는 제2형 당뇨병의 유전적인 model로써 고혈당, 인슐린 저항성, 고인슐린혈증, 고지혈증 증세가 생후 18주 이후에 나타나며, 연령이 증가할수록 증세가 심해지고,¹⁷⁾ Kawano 등¹⁷⁾의 연구에 의하면 수컷에 의해서만 유전이 되고 생후 25주 후 인슐린비의존형 당뇨병이 나타났다고 하였다.

그러므로 본 연구에서는 비만 쥐인 OLETF를 구입하여 생후 27주까지 사육하면서 20주 동안 CLA를 첨가한 실험 식이를 공급하여 혈중 포도당과 지질농도가 연령이 증가하면서 높아지는 것을 CLA가 억제시킬 수 있는지 관찰하고자 하였다.

접수일 : 2001년 10월 5일

채택일 : 2001년 11월 23일

[§]To whom correspondence should be addressed.

실험재료 및 방법

1. 실험계획

생후 6주된 수컷 Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rats(OLETF, obese rats) 20마리(체중 약 235g)를 일주일동안 고형사료로 적응시켰다. 그 후 Fig. 1에서처럼 CLA를 첨가한 실험식으로 모든 동물을 6주동안 사육한 후 이중 6마리를 희생시키고(CLA6w), 나머지 동물은 다시 두 군으로 나누어 한 군은 계속 같은 CLA 첨가식을 14주 공급하고(CLA20w), 다른 한 군(Control 20w)은 CLA를 제거한 control 식이를 14주간 공급하였다. 따라서 이들을 희생시킬 때는 출생후 27주이었다.

2. 실험식이

실험식은 고당질식이로써 식이무게중 당질은 68g(70.7% Kcal), 단백질은 18g(18.7% kcal), 지방은 4.5g(10.5% kcal)이 되도록 구성하였으며, 다른 영양소의 양은 동일하게 하였다(Table 1). CLA 첨가군에는 총 식이무게의 1%(w/w) 수준으로 CLA를 첨가하였으며, 이때 CLA-rich oil의 CLA 함량은 약 50%이다. CLA 첨가식이와 control 식이의 필수 지방산을 1.6%(w/w) 수준으로 맞추기 위해서 corn oil을 첨가하였다. 실험식의 지방산 함량은 Table 2에서와 같았다. 실험동물의 사육은 12시간 명암주기로 조절되었으며 물과 식이는 자유롭게 먹을 수 있도록 공급하였다. 동물의 체중은 1주일에 한번 같은 시간에 측정하였다.

3. 시료채취

6주와 20주의 각 실험기간이 끝나는 날 overnight fasting하여 ethyl ether로 마취시킨 후 심장에서 혈액을 채취하였으며, heparin으로 처리된 tube에 넣어 원심분리(800g, 15min, 4℃)하여 상층액을 취하여 -70℃에 보관하였다. 간 조직은 채혈 후 즉시 취하여 0.9% NaCl로 씻은 후 물기를 제거하고 lipogenic enzyme를 측정하기 위해 간 1g을 취하여 phosphate buffer(pH 7.4)로 10% homogenate를 만든

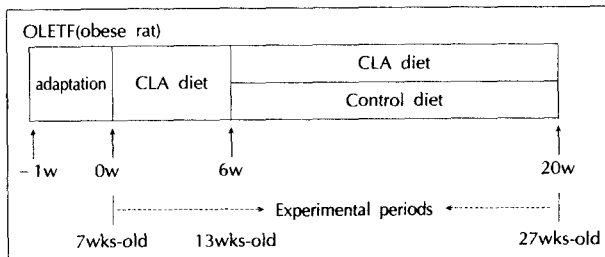


Fig. 1. Experimental design. CLA: Conjugated linoleic acid, OLETF: Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rats.

후 원심분리(5000g, 30min, 4℃)하여 상층액을 취하였다. 이 상층액은 다시 초고속 원심분리(105,000g, 1hr, 4℃)하여 cytosol과 microsome fraction을 각각 취하여 -70℃에 보관하였다. 양쪽의 부고환지방(epididymal fat)과 뇌조직도 취하여 0.9% NaCl로 씻은 후 물기를 제거하고 총 무게를 측정 한 후 -70℃에 보관하였다.

4. 생화학적 분석

혈장의 중성지방 농도는 lipoprotein lipase와 glycerokinase를 포함하는 효소시약 kit(영동제약, 서울)를 사용하여 측정하였다. 포도당 농도는 효소방법을 이용한 kit(영동제약, 서울)로 측정하였으며 총 cholesterol 농도는 효소 방법을 이용한 kit(영동제약, 서울)로 측정하였다.

간조직의 cytosol fraction에서 lipogenic enzyme중 6-phosphogluconate dehydrogenase(6PGDH)와 glucose-6-

Table 1. Basal composition of experimental diets g/100g diet

Ingredients(g)	CLA diet	Control diet	% kcal
Corn starch	68.0	68.0	70.7
Casein	18.0	18.0	18.7
L-methione	0.2	0.2	-
Total fat	4.5	4.5	10.5
beef tallow	-	1.8	
corn oil	2.5	2.7	
CLA-rich oil ¹⁾	2.0	-	
α-cellulose	4.0	4.0	
Mineral mix(AIN-76)	4.0	4.0	
Vitamin mix(AIN-76)	1.0	1.0	
Choline bitartrate	0.3	0.3	
Total	100	100	99.9

1) CLA rich oil contained CLA mixture at 50% of total fatty acids.

Table 2. Fatty acid composition of experimental diets* g/100g diet

Fatty acids	CLA diet	Control diet
14 : 0	0	0.05
16 : 0	0.48	0.74
16 : 1	0	0.06
18 : 0	0.14	0.38
18 : 1	1.14	1.39
18 : 2	1.61	1.60
20 : 0	0.02	0.02
18 : 3	0	0
20 : 1	0	0
CLA	1.01	0.01
20 : 2	0	0
22 : 4	0.01	0.01
unknown	0.06	0.23
Total	4.5	4.5

phosphate dehydrogenase(G6PDH)의 활성도는 Glock와 McLean¹⁸⁾의 방법에 의해서 측정하였으며, 단백질 농도는 Lowry 등¹⁹⁾의 방법에 의해 측정하여 각 효소의 활성도는 specific activity를 구하여 서로 비교하였다.

간조직의 homogenate와 microsome, 부고환조직과 뇌조직의 지방산 조성은 Lepage와 Roy의 one-step methylation 방법²⁰⁾을 이용하여 methylation한 후 gas chromatograph(Hewlett Packard 5890-II series)를 사용하여 측정하였다. Omega wax 320 fused silica capillary column(0.32mmID × 39m, film thickness 0.25µm)과 flame ionization detector(FID)를 사용하였고, gas flow rate는 N₂ 28.57cm/sec, Air 362.7ml/min, H₂ 33.33ml/min이었으며, split ratio는 100 : 1이었고, injection temp와 detector temp는 각각 250°C이었고, column temp는 200°C의 isothermal 상태에서 측정하였다.

5. 통계처리

모든 실험결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 연령과 CLA의 효과를 Student t-test로 p < 0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 식이섭취량과 체중의 변화

식이섭취량과 체중의 변화는 Fig. 2에서와 같았다. CLA

를 첨가한 식이를 6주동안 먹이다가 제거한지 2주후(그림에서 8주때) Control군의 식이섭취량이 유의하게 증가하였으나 이후 20주 때까지 약간 높은 수준을 유지하였으나 통계적으로 유의한 수준은 아니었다. 체중의 변화는 식이섭취량과 같은 양상을 보여 Control(20w)군에서 약간 높았으나 유의한 차이는 아니었다.

2. 혈중 포도당과 지질 농도

혈중 포도당 농도는 Fig. 3에서와 같았다. 우선 CLA 첨가에 의해 혈중 포도당 농도에 미친 영향을 보기 위해 CLA(20w)군과 Control(20w)군을 비교해 보면 두 군간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 CLA 첨가식이를 6주동안 먹은 CLA(6w)군에 비해 연령이 많은 CLA(20w)군에서 유의하게 증가되었다. Fig. 4에서 혈중 지질중 cholesterol 농도는 CLA(20w)군이 Control(20w)군에 비해 유의하게 더 낮았다. 그러나 CLA(6w)군에 비해 연령이 높은 CLA(20w)군에서 증가는 되었으나 유의한 수준은 아니었다. Fig. 5에서 혈중 중성지방농도는 CLA(6w)군에 비해 연령이 높은 CLA(20w)군에서 유의하게 증가되었지만 CLA를 제거하였을 경우(Control 20w)에는 더욱 증가되어 CLA(20w)군보다 유의하게 더 높았다.

3. 간조직의 lipogenic enzyme 활성도

간조직의 lipogenic enzyme중 G6PDH와 6PGDH 활성도는 Table 3에서와 같이 CLA(6w)군에 비해 CLA

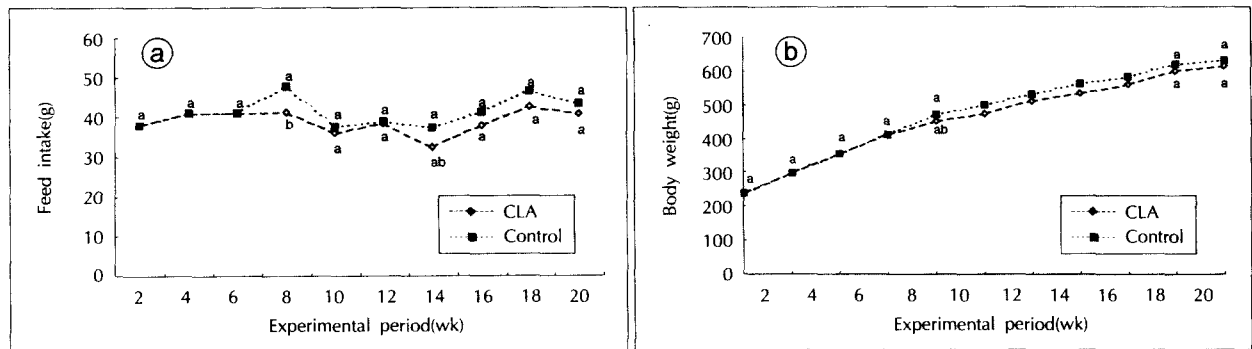
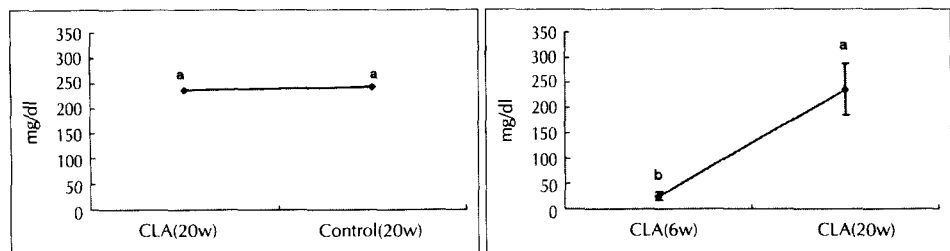


Fig. 2. Change of feed intake(a) and body weight(b) during experimental periods in OLETF rats. Values with different letters are significant at p < 0.05.

Fig. 3. Effect of CLA and age on plasma glucose level in OLETF rats. Values with different letters are significant at p < 0.05.



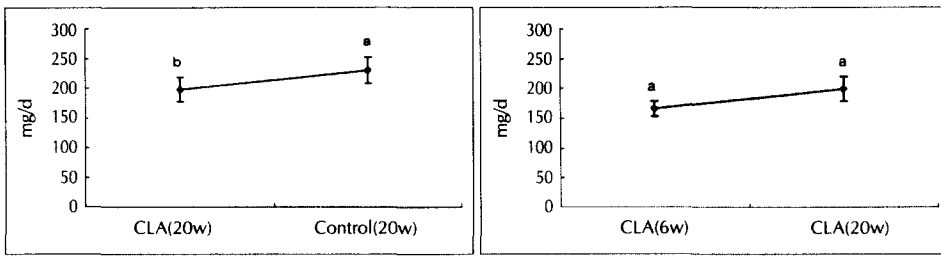


Fig. 4. Effect of CLA and age on plasma total cholesterol level in OLETF rats. Values with different letters are significant at $p < 0.05$.

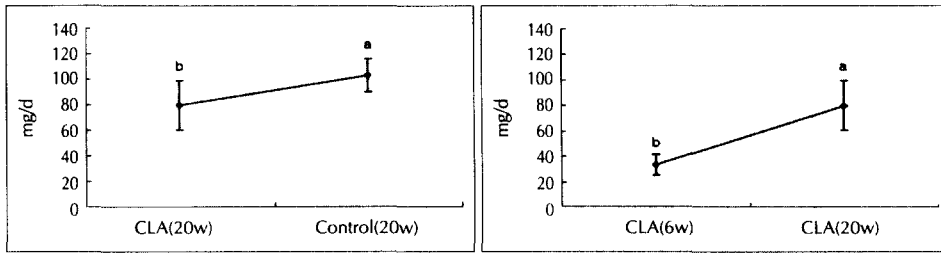


Fig. 5. Effect of CLA and age on plasma triglyceride level in OLETF rats. Values with different letters are significant at $p < 0.05$.

(20w)군에서 모두 유의하게 증가되었으며 Control(20w)군에서도 증가하여 CLA(20w)군과 비슷하였다.

4. 조직의 지방산조성

본 연구에서 CLA 첨가에 의한 각 조직(부고환지방, 간조직, 간소포체막, 뇌)의 지방산 조성을 Table 4~7에서 살펴보면, C18 : 0은 부고환지방 보다는 주로 간조직, 간소포체막 및 뇌조직에 분포되었다. 간조직과 소포체막의 C18 : 0의 분포는 CLA(20w)군이 Control(20w)군에 비해 유의하게 높았고, 부고환지방과 뇌조직에서는 두 군간에 CLA 첨가에 의한

차이를 보이지 않았다. C18 : 1은 C18 : 0과는 다르게 두 군 모두 부고환지방에 집중 분포되었으며 CLA 첨가에 의한 차이는 없었다. 특히 C18 : 1 분포는 간조직에서 Control(20w)군에 비해 CLA(20w)군에서 유의하게 낮았다. CLA 분포는 부고환지방에서 가장 높게 나타났지만 CLA(6w)군에 비해 CLA를 계속 먹인 CLA(20w)군에서 더 이상 증가되지 않고 같은 수준을 보였으나 CLA를 제거한 Control(20w)군에서는 유의하게 감소되었다. C20 : 3 + C20 : 4의 경우는 두 군 모두 부고환지방에는 거의 분포되지 않았으나 간 소포체막에는 가장 많은 양 분포되었고 간조직과 뇌조직에도 높게

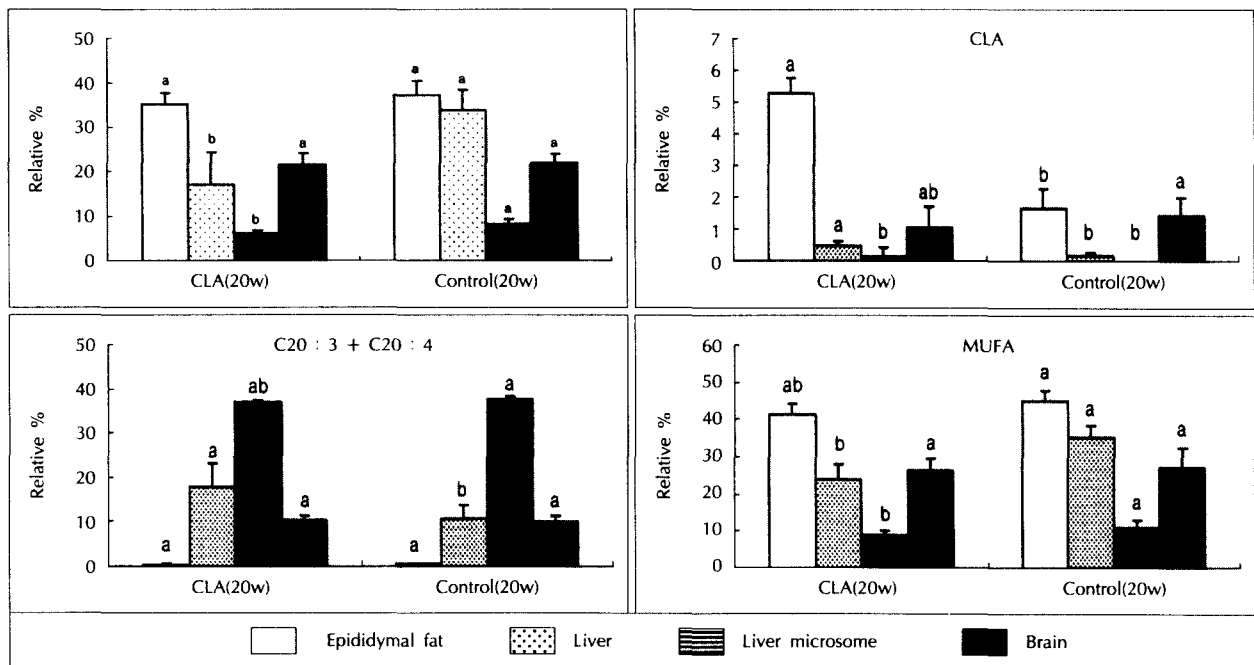


Fig. 6. Comparison of the effect of CLA on C18 : 1, CLA, C20 : 3 + 20 : 4, MUFA between different tissues. Values with different letters are significant at $p < 0.05$.

Table 3. Effect of CLA mixture on hepatic lipogenic enzyme activities of rats

Dietary groups	Periods	G6PDH	6PGDH
nmol/min/mg protein			
CLA(6w)	6wk	81.59 ± 17.52 ^b	84.27 ± 16.93 ^b
CLA(20w)	20wk	109.78 ± 19.68 ^a	115.04 ± 23.95 ^a
Control(20w)	20wk	112.11 ± 26.39 ^a	118.43 ± 33.54 ^a

Values with different letters are significant at $p < 0.05$.
 Values are mean ± SD. Number of rats: 5 - 7
 G6PDH: glucose-6-phosphate dehydrogenase
 6PGDH: 6-phosphogluconate dehydrogenase

Table 4. Effect of CLA on the relative % of fatty acids in epididymal fat pad of rats

Fatty acids	CLA(6w)	CLA(20w)	Control(20w)
14 : 0	2.07 ± 0.23 ^a	1.78 ± 0.13 ^b	1.92 ± 0.18 ^{ab}
16 : 0	30.28 ± 2.64 ^a	29.27 ± 1.88 ^a	28.33 ± 2.66 ^a
16 : 1	5.57 ± 0.78 ^b	6.38 ± 1.18 ^b	7.77 ± 0.72 ^a
18 : 0	3.42 ± 0.30 ^b	3.14 ± 0.35 ^b	3.34 ± 0.38 ^b
18 : 1	33.14 ± 2.57 ^a	35.11 ± 2.51 ^a	37.24 ± 3.20 ^a
18 : 2	19.24 ± 2.00 ^d	18.24 ± 1.34 ^d	18.80 ± 3.69 ^d
20 : 0	0.45 ± 0.18 ^a	0.26 ± 0.08 ^b	0.35 ± 0.17 ^{ab}
CLA	5.47 ± 1.39 ^a	5.27 ± 0.48 ^a	1.68 ± 0.61 ^b
20 : 2	0.08 ± 0.10 ^a	0.11 ± 0.10 ^a	0.05 ± 0.08 ^a
20 : 3 + 20 : 4	0.27 ± 0.15 ^b	0.45 ± 0.10 ^a	0.51 ± 0.19 ^a
SFA	36.23 ± 2.98 ^a	34.45 ± 2.21 ^a	33.95 ± 2.99 ^a
MUFA	38.71 ± 3.07 ^b	41.49 ± 2.53 ^{ab}	45.01 ± 2.84 ^a
PUFA	25.06 ± 3.45 ^a	24.06 ± 1.69 ^a	21.05 ± 4.39 ^a

Values with different letters are significant at $p < 0.05$. Values are mean ± SD.

Table 5. Effect of CLA on the relative % of fatty acids in rat liver homogenate

Fatty acids	CLA(6w)	CLA(20w)	Control(20w)
14 : 0	0.75 ± 0.26 ^b	0.89 ± 0.22 ^b	1.30 ± 0.16 ^a
16 : 0	24.82 ± 2.64 ^b	26.43 ± 2.15 ^b	33.48 ± 2.83 ^a
16 : 1	4.87 ± 8.85 ^a	6.15 ± 8.67 ^a	1.36 ± 2.12 ^a
18 : 0	17.87 ± 8.43 ^a	20.41 ± 1.99 ^a	9.99 ± 1.77 ^b
18 : 1	15.54 ± 2.25 ^b	17.22 ± 7.30 ^b	33.71 ± 4.70 ^a
18 : 2	10.79 ± 5.43 ^b	5.74 ± 3.95 ^b	7.36 ± 3.18 ^b
20 : 0	2.57 ± 5.34 ^a	0.25 ± 0.19 ^a	0.17 ± 0.04 ^a
CLA	0.57 ± 0.09 ^a	0.50 ± 0.12 ^a	0.21 ± 0.07 ^b
20 : 2	0.21 ± 0.17 ^b	0.32 ± 0.07 ^b	0.04 ± 0.09 ^c
22 : 0	0.33 ± 0.05 ^b	0.29 ± 0.04 ^b	0.13 ± 0.16 ^c
20 : 3 + 20 : 4	17.95 ± 4.34 ^a	17.92 ± 5.30 ^a	10.70 ± 3.32 ^b
24 : 1	0.64 ± 0.14 ^b	0.98 ± 0.29 ^a	0.47 ± 0.13 ^b
22 : 6	2.47 ± 1.00 ^a	1.96 ± 0.83 ^{ab}	1.04 ± 0.48 ^b
SFA	46.35 ± 7.04 ^a	48.26 ± 3.43 ^a	45.07 ± 2.04 ^a
MUFA	20.98 ± 7.49 ^b	23.86 ± 4.02 ^b	35.29 ± 3.14 ^a
PUFA	33.13 ± 8.54 ^{ab}	27.92 ± 5.81 ^{bc}	19.68 ± 4.33 ^c

Values with different letters are significant at $p < 0.05$. Values are mean ± SD.

분포되었으며, 간조직에서는 CLA(20w)군에서 유의하게 더 높았다. DHA는 부고환지방에는 거의 분포되지 않았으나 간조직보다 소포체막에는 약 4~6%로 더 많이 함유되었으며 뇌조직에는 10~13%정도 분포되었고 CLA를 제거한 경우에 소포체막에는 유의하게 낮게 분포되었다. MUFA의 경우에는 부고환지방에 그 분포량이 가장 높았으나 Control(20w)군에 비해 CLA(20w)군에서 더 낮은

Table 6. Effect of CLA on the relative % of fatty acids in hepatic microsomal lipid of rats

Fatty acids	CLA(6w)	CLA(20w)	Control(20w)
14 : 0	0.40 ± 0.09 ^a	0.35 ± 0.17 ^a	0.42 ± 0.24 ^a
16 : 0	16.30 ± 0.76 ^{bc}	15.56 ± 0.50 ^c	16.59 ± 0.64 ^b
16 : 1	0.75 ± 0.09 ^c	1.27 ± 0.29 ^b	2.03 ± 0.57 ^a
18 : 0	27.25 ± 0.82 ^b	29.25 ± 1.15 ^a	24.89 ± 0.84 ^c
18 : 1	4.65 ± 0.38 ^c	6.11 ± 0.71 ^b	8.12 ± 1.20 ^a
18 : 2	6.62 ± 0.74 ^b	4.11 ± 0.28 ^c	5.00 ± 2.22 ^{bc}
20 : 0	ND ^b	ND ^b	ND ^b
CLA	0.85 ± 0.14 ^a	0.16 ± 0.27 ^b	ND ^b
20 : 2	ND ^b	ND ^b	ND ^b
22 : 0	0.18 ± 0.20 ^{bc}	ND ^c	0.44 ± 0.47 ^{ab}
20 : 3 + 20 : 4	35.94 ± 0.73 ^{bc}	37.12 ± 0.51 ^{ab}	37.75 ± 0.82 ^a
24 : 1	0.90 ± 0.06 ^c	1.67 ± 0.11 ^a	0.97 ± 0.05 ^{bc}
22 : 6	6.16 ± 0.41 ^a	4.40 ± 0.33 ^b	3.79 ± 0.46 ^c
SFA	44.14 ± 0.59 ^{ab}	45.16 ± 0.84 ^a	42.34 ± 0.85 ^c
MUFA	6.30 ± 0.41 ^c	9.05 ± 0.95 ^b	11.11 ± 1.72 ^a
PUFA	49.57 ± 0.60 ^a	45.79 ± 0.73 ^b	46.55 ± 2.21 ^b

Values with different letters are significant at $p < 0.05$. Values are mean ± SD. ND: not detected.

Table 7. Effect of CLA on the relative % of fatty acids in rat brain

Fatty acids	CLA(6w)	CLA(20w)	Control(20w)
14 : 0	0.16 ± 0.02 ^a	0.13 ± 0.06 ^a	0.14 ± 0.01 ^a
16 : 0	19.03 ± 1.72 ^a	18.79 ± 1.51 ^a	17.87 ± 2.12 ^a
16 : 1	0.46 ± 0.06 ^a	0.52 ± 0.04 ^a	0.47 ± 0.04 ^a
18 : 0	22.69 ± 0.06 ^a	22.35 ± 1.21 ^a	21.73 ± 3.86 ^b
18 : 1	20.20 ± 2.20 ^a	21.57 ± 2.54 ^a	21.73 ± 2.18 ^a
18 : 2	0.80 ± 0.33 ^a	0.61 ± 0.09 ^{ab}	0.45 ± 0.04 ^b
20 : 0	0.99 ± 0.28 ^a	0.89 ± 0.18 ^a	1.05 ± 0.32 ^a
20 : 1	2.92 ± 1.15 ^{ab}	3.30 ± 1.30 ^{ab}	4.06 ± 1.51 ^b
CLA	0.99 ± 0.54 ^{ab}	1.07 ± 0.64 ^{ab}	1.44 ± 0.56 ^a
22 : 0	1.11 ± 0.38 ^a	1.12 ± 0.30 ^a	1.15 ± 0.38 ^a
20 : 3 + 20 : 4	10.71 ± 0.93 ^a	10.53 ± 1.11 ^a	10.02 ± 1.54 ^a
24 : 1	3.25 ± 1.13 ^{ab}	4.05 ± 1.24 ^{ab}	4.59 ± 1.37 ^a
22 : 4	4.19 ± 0.25 ^b	4.30 ± 0.16 ^{ab}	4.57 ± 0.39 ^a
22 : 6	12.51 ± 1.49 ^{ab}	10.80 ± 1.33 ^{bc}	10.18 ± 1.89 ^c
SFA	43.98 ± 2.22 ^a	43.27 ± 2.26 ^a	41.95 ± 3.64 ^a
MUFA	23.91 ± 3.07 ^a	26.38 ± 3.05 ^a	27.33 ± 5.02 ^a
PUFA	25.01 ± 2.09 ^{ab}	23.00 ± 1.76 ^{ab}	22.10 ± 2.86 ^b

Values with different letters are significant at $p < 0.05$. Values are mean + SD.

수준이었지만 유의성은 없었고, 간세포채막에서는 두 군다 가장 낮게 분포되었으나 CLA(20w)군에서 더 낮은 분포를 보였다. 뇌조직에서는 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았으나 간조직에서는 C18 : 1 경우와 마찬가지로 CLA를 제거한 Control(20w)군에서 유의하게 높은 양이 분포되었다.

고 질

1. CLA가 식이섭취량과 체중에 미치는 영향

본 연구에서 식이섭취량과 체중증가량은 식이에 첨가한 CLA의 영향을 받지 않았다(Fig. 2). 생쥐에게 CLA 혼합물을 먹었을 때 체중이 감소되었다는 보고가 있었는데,^{15,16} 이에 대한 기전으로는 여러 가지로 설명되었다. West 등¹⁵의 보고에서는 생쥐에게 고지방과 저지방 식이에 CLA(2.46 mg/Kcal)를 첨가하여 6주동안 투여했을 때 모두 CLA 첨가시에 식이섭취율과 체중이 유의적으로 감소되었다고 하였다. Delany 등²¹의 연구에서는 생쥐에게 고지방식에 CLA 함량을 식이무게당 0.00, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00% 수준으로 달리하여 먹었을 때 모든 농도에서 West 등¹⁵의 결과와는 다르게 식이섭취율에는 변화가 없지만 CLA 함량이 0.50% 이상이었을 때 체중과 체지방량이 감소되었고, CLA 함량이 1.00% 이상이었을 때 다른 함량에 비해 체지방량과 체중이 크게 감소됨을 관찰하였다. 반면에 Sisk 등²²의 보고에서는 Sprague Dawley종 암컷 쥐에게 CLA를 0.50%를 먹었을 때 식이섭취와 성장률에는 영향을 미치지 않았다. 이처럼 생쥐에서는 CLA가 체중과 체지방량을 감소시켰다는 보고가 있었지만, 쥐에서는 체중에 영향을 미치지 않았다는 보고와 마찬가지로 본 연구에서도 식이섭취량과 체중증가량이 CLA에 의한 영향을 보이지 않았다.

2. CLA가 혈장 포도당과 지질함량에 미치는 영향

본 연구에서는 Fig. 3에서처럼 비만유전자를 가진 OLETF 쥐에서 CLA는 연령이 증가될수록 높아지는 혈당 농도를 유의하게 낮추지는 못했다. 보고된 바¹⁷에 의하면 OLETF종 비만 쥐는 생후 18주 이상일 때 고혈당증, 인슐린저항성, 고인슐린혈증, 고지혈증이 나타나며, 수컷의 경우 생후 25주 후부터는 인슐린비의존형 당뇨병 증상이 나타난다고 하였다. 본 연구에서는 Control군에서 6주때와 20주때 비교할 포도당 농도의 자료는 없으나 CLA를 첨가한 군에서 6주때와 20주때 혈당량을 비교하면 20주때 유의하게 증가된 것을 보면 이미 발표된 바와 같이¹⁷ 본 연구의 비만 쥐에서도 생후 27주때에 혈당량이 유의하게 높게 증

가된 것을 볼 수 있었다. 그러므로 본 연구에서 혈중 포도당 농도는 식이에 첨가한 CLA양이 OLETF종의 비만인자에 의해 생후 25주 이후에 혈당이 증가한 정도를 극복할 만큼 충분하지 못했을 것이라고 사료된다.

Fig. 4와 5에서와 같이 연령이 증가되면서 높아진 중성지방과 총 cholesterol 농도는 모두 CLA 첨가에 의해 유의하게 감소되었음을 볼 수 있었다. Lee 등¹⁰의 연구에서 고콜레스테롤 유발식이(14% fat, 0.1% cholesterol 함유)에 0.5g CLA를 첨가한 식이를 토끼에게 12주 동안 섭취시켰을 때 중성지방 농도가 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. 또한 동맥경화를 유발한 쥐에서 CLA는 혈장에서 총 cholesterol 농도를 유의하게 감소시켰으며 HDL-Chol 농도는 유의한 차이가 없었다.¹⁰ Jung 등¹¹의 보고에서는 CLA 이성체 혼합물을 식이무게의 1.0% 수준으로 첨가하여 30주동안 먹었을 때 혈장의 VLDL-Chol과 중성지방 농도에 유의한 영향을 주지는 않았으나 총 cholesterol과 LDL-Chol 농도는 감소되었고, HDL-Chol 농도는 증가되어 항동맥경화의 효과를 보였다. 이와 같은 보고에서처럼 본 연구에서도 CLA는 비만 쥐에서 증가되는 혈중 cholesterol 농도를 유의하게 낮추는데 효과적이었다. Yamasaki 등²³의 보고에서는 쥐에서 CLA는 간의 중성지방 함량을 감소시킨 경향만을 보였다. Jung 등¹¹의 보고에서도 CLA가 혈장의 VLDL과 중성지방 함량에 유의한 영향이 없었다고 하였으나 이 연구에서는 식이지방이 비교적 높은 수준이어서(약 25% kcal) 중성지방 합성이 활발하지 않아 CLA의 효과가 미약하였지만 본 연구에서는 고당질식이므로 간에서 중성지방 합성이 활발하여 CLA가 혈중 중성지방 농도에 미치는 효과가 더욱 뚜렷하게 나타났다고 사료된다. 그리고 CLA첨가군에서 6주때 비해 20주때 혈중 중성지방 농도가 유의하게 증가되었지만 이것을 억제할 수 있었을 정도로 CLA(20w) 군에서 효과적으로 중성지방 농도가 감소된 것을 감안하면 CLA는 중성지방 합성이 활발하게 일어나는 식이를 섭취할 때는 CLA의 억제효과가 더욱 잘 표현되는 것이 아니냐 추측된다.

간에서의 지방산 합성은 acetyl CoA carboxylase(ACC), fatty acid synthetase(FAS), G6PDH, malic enzyme (ME) 같은 lipogenic enzyme의 활성도에 의해 조절되므로 간조직에 함유된 lipogenic enzyme의 수준은 혈액 내 중성지방량을 조절하는데 중요한 역할을 한다. 본 연구에서는 Table 3에서와 같이 lipogenic enzyme 활성이 CLA 첨가에 의해 차이를 보이지 않았다. 본 연구에서 사용한 실험식은 당질이 70%를 차지하는 고당질식이므로 간에서 lipogenic enzyme의 활성도가 높기 때문에 CLA의 효

과가 있을 것이라고 생각하였다. 그러나 보고된 바²⁴⁾에 의하면 정상적인 Long Evans Tokushima(LETO)쥐에 비해 비만유전인자를 가진 Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rats(OLETF)쥐에서는 같은 연령에서 lipogenic enzyme 활성도가 유의하게 2~4배가 더 높았다고 하였으며, 본 연구에서 CLA첨가군에서 연령이 증가하였을 때 유의하게 G6PDH와 6PGDH 활성도가 증가되었던 것으로 미루어 본 연구에서 사용한 CLA의 첨가량이 비만쥐가 나이가 들어가면서 증가되는 lipogenic enzyme 활성을 억제할 수 있을 만큼 충분하지 않았을 것으로 사려된다.

3. CLA가 각 조직의 지방산 조성에 미치는 영향

본 연구에서 각 조직의 지방산 조성중 C18 : 1, CLA, C20 : 3 + 20 : 4, MUFA 분포를 Fig. 6에서 다시 CLA의 영향을 서로 비교해 보면 C18 : 1은 주로 부고환지방에 가장 많이 분포된 것으로 보아 이 지방조직에 저장된 것으로 사료되며, CLA도 간소포체막에 유입이 가능하였던 것으로 보인다. 또한 CLA를 제거한 후 간조직에서는 C18 : 1 합성이 정상대로 진행되어 그 분포량이 CLA(20w) 군에서 보다 유의하게 더 높았던 것으로 보아 CLA는 간조직에서 C18 : 0에서 C18 : 1 합성을 억제하였을 것으로 사료된다. 이와 같이 CLA는 hepatic stearyl-CoA desaturase mRNA expression을 억제하였다는 보고²²⁾와 일관성이 있었다. 또한 CLA는 C18 : 2와 경쟁적으로 elongation과 desaturation에 작용하여 conjugated diene C20 : 4가 검출됨으로써 CLA가 인지질로 유입되어 C20 : 4로 대사된다고 하였다.^{23,25)} 본 실험에서도 C20 : 3 + C20 : 4의 분포가 간조직보다 소포체막에서 더 높게 분포되었다. MUFA는 주로 C18 : 1이 가장 많았는데 소포체막에 비해 지방조직, 간조직 및 뇌조직에 상당히 높은 수준으로 저장되었음을 볼 수 있었고, 이미 보고된 것처럼²⁶⁾ PUFA는 어느 조직보다도 생체막을 구성하는데 가장 높게 유입되었다.

요약 및 결론

본 연구에서는 Otsuka Long Evans Tokushima Fatty중(obese rats) 수컷 쥐에서 CLA(1% w/w)를 먹었을 때 혈액의 포도당과 지질농도 및 간에서 지방산 합성과 각 조직의 지방산조성에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) CLA는 비만 쥐에서 연령이 증가되면서 높아지는 혈중 중성지방과 cholesterol 농도를 유의하게 감소시켰다. 그러나 증가되는 혈중 포도당 농도와 간조직의 lipogenic

enzyme 활성도를 유의하게 감소시키지는 않았다.

2) CLA와 C18 : 1, MUFA는 주로 지방조직에 축적되었으며, 간조직에서 C18 : 1 합성이 CLA에 의해서 유의하게 감소되었으며, CLA는 간소포체막에 낮은 수준이지만 유입되었다.

결론적으로, 본 연구에서는 1% 수준으로 첨가한 CLA는 비만 쥐에서 연령이 증가할수록 높아지는 혈중 중성지방과 cholesterol 농도는 유의하게 낮출 수 있어 항동맥경화 효과를 보였으나, 비만 유전자에 의해서 증가되는 혈당량을 낮추지는 못하였다.

■ 감사의 글

OLETF 비만쥐를 공급해 주신 (주)Otsuka(Korea)에 깊은 감사를 드립니다.

Literature cited

- 1) National nutrition survey report. *Ministry of Health and Welfare*, 1993
- 2) National nutrition survey report. *Ministry of Health and Welfare*, 1994
- 3) National nutrition survey report. *Ministry of Health and Welfare*, 1997
- 4) Lee HK. Disease related to obesity. *Korean J Nutr* 23(5): 341-346, 1990
- 5) Brag GA. Complications of obesity. *Annals of Internal Medicine* 103: 1052-1062, 1985
- 6) Sjostrom LV. Morbidity of severely obese subjects. *Am J Clin Nutr* 55: 508s-515s, 1992
- 7) Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rats. *Cancer Res* 54: 1212-1215, 1994
- 8) Liew HA, Shut HAJ, Chin SF, Pariza MW, Dashwood RH. Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanism. *Carcinogenesis* 16: 3037-3043, 1995
- 9) Nicolosi RJ, Courtemanche KV, Laitnen L, Scimeca JA, Huth PJ. Effect of feeding diets enriched in conjugated linoleic acid on lipoproteins and aortic atherosclerosis in hamsters. *Circulation* 88 suppl: 2458, 1993
- 10) Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108: 19-25, 1994
- 11) Jung SM, Kang KJ, Park HS. Effect of dietary conjugated linoleic acid on plasma lipid composition in rats. *Korean J Lipidology* 9(4): 439-447, 1999
- 12) Kang KJ. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body fatness and triglyceride metabolism in rats. *PhD Dissertation Kyung Hee University*, 2000
- 13) Pariza MW, Park YH, Kim S, Sugimoto K, Liu W, Storkson J, Cook M. Mechanism of body fat reduction by conjugated linoleic acid. *FASEB* 11: A139, 1997
- 14) Park YH, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 32(8): 853-858, 1997
- 15) West DB, Delany JP, Camet PM, Blohm F, Truett AA, Scimeca J. Effect of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am J Physiol* R667-672, 1998
- 16) Park YH, Albright KJ, Storkson JM, Liu W, Cook ME, Pariza MW. Changes in body composition in mice during feeding and with-

- drawal of conjugated linoleic acid. *Lipids* 34: 243-248, 1999
- 17) Kawano K, Hisahara T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. *Diabetes* 41: 1422-1428, 1992
 - 18) Glock GE, McLean P. Further studies on the properties and assay of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochem* 55: 400-408, 1953
 - 19) Lowry OH, Rosebrough NJ, Ferr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 - 20) Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27: 114-120, 1989
 - 21) Delany JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, West DB. Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Am J Physiol* R1172-1179, 1999
 - 22) Sisk M, Azain MJ, Ntambi JM. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun* 248: 817-821, 1998
 - 23) Yamasaki M, Manshok, Mishima H, Kasei M, Sugano M, Tachibana H, Yamada K. Dietary effect of conjugated linoleic acid on lipid levels in white adipose tissue of Sprague-Dawley rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 63(6): 1104-1106, 1999
 - 24) Ko EK. Effect of dietary conjugated linoleic acid on hepatic lipogenic enzyme and obesity gene expression on brown adipose tissue in Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rats. *Dissertation Kyung Hee University*, 2001
 - 25) Liu KL, Belury MA. Conjugated linoleic acid reduces arachidonic acid content and PGE₂ synthesis in murine keratinocytes. *Cancer Lett* 127: 15-22, 1998
 - 26) Belury MA, Kemap-Steczko A. Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice. *Lipids* 32(2): 199-204, 1997