

Xylooligo당이 고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 간조직 HMG-CoA Reductase 활성과 지질 조성에 미치는 영향

김성옥 · 최정화 · 홍희진 · 주길재* · 이인구* · 이순재†

대구가톨릭대학교 식품영양학과

*경북대학교 농화학과

Effects of Dietary Xylooligosaccharides on HMG-CoA Reductase Activity and Lipid Composition of Liver in Rat Fed High Cholesterol Diets

Sung-Ok Kim, Jeong Hwa-Choi, Hee-Jin Hong, Gil-Jae Joo*, In-Koo Rhee* and Soon-Jae Rhee†

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Daegu 712-702, Korea

*Dept. of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

This study was conducted to examine the effects of dietary xylooligosaccharides on HMG-CoA reductase activity and lipid composition of liver in rat fed high cholesterol diet. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly divided into groups of one normal diet, and four high cholesterol diet containing 1% cholesterol. The high cholesterol (1%) diet groups were classified into xylooligosaccharides free diet (C group), 5% xylooligosaccharides diet (C5XO group), 10% xylooligosaccharides diet (C10XO group), and 15% xylooligosaccharides diet (C15XO group) according to the levels of dietary xylooligosaccharides supplementation. The experimental diets were fed ad libitum for 4 weeks. The hepatic lipid contents, cholesterol and triglycerides in xylooligosaccharides supplemented groups were significantly lower than those of C group. An antithrombosis index, a ratio of n-3 to n-6 fatty acids of liver was significantly increased in 10% xylooligosaccharides supplemented groups compared to that of C group. The activity of hepatic HMG-CoA reductase, a rate limiting enzyme of cholesterol biosynthesis, in xylooligosaccharides supplemented groups was more significantly increased than in C group. These results suggest that dietary xylooligosaccharide may be act as potential substitute for a dietary fiber to improve lipids metabolism in rat fed high cholesterol diet.

Key words: xylooligosaccharides, high cholesterol diet, HMG-CoA reductase

서 론

최근 선진국이나 개발도상국에서는 에너지의 과잉 및 지질섭취량이 증가되면서 비만환자나 고혈압, 뇌혈관질환, 동맥경화증 등의 심혈관계 환자의 수가 급증하고 있다. 따라서 포만감을 주면서 저칼로리 식품을 섭취하려는 욕구가 높아지면서 많은 섬유소를 함유한 저칼로리 식품이나 기능성 식품 개발에 많은 관심을 갖게 되었다(1).

기능성 식품은 생체조절 기능을 갖는 생리활성 물질을 함유한 식품을 총칭하며 섬유소, 올리고당, 당알콜, 다가불포화지방산, 펩티드 및 단백질, 유산균류, 각종 플라보노이드 화합물, 무기질 등이 포함되어 있다. 이 중에서 식이섬유소는 그동안 심혈관 질환, 당뇨병, 비만 및 대장암 등과 같은 퇴행성 질환의 예방효과를 지니고 있다는 역학적, 실험적 연구가 이루어져 왔다(2). 최근에는 기능성 식품에 대한 관심의 고조

와 효소공학의 발달로 천연 식이섬유소와 물리적, 생리적 성질이 유사한 올리고당이 개발되어 그 기능이 새롭게 평가되어지고 있다(1,3).

올리고당은 비소화성 다당류로 2~10개의 단당이 글리코사이드 결합으로 탈수 축합된 것으로 감미를 가진 수용성의 결정성 물질이다(4). 그 중에서 xylooligo당은 자연계에 존재하는 xylan의 효소가수분해시 생성되는 xylose의 oligomer로서 수용성 헤미셀룰로스로 분류되며 다른 올리고당보다 장내 환경을 개선하는 효과가 높다고 한다(5,6).

헤미셀룰로스중 xylan 및 xylose 유도체의 함량은 침엽수제에 20~45%, 활엽수제에 80~90%, 밀, 보리, 벼 등의 짚에 68~78% 정도로 식물체의 종류에 따라 다양하다. Xylan은 xylose가 β-(1,4) 결합으로 중합된 주쇄를 공통적으로 가지고 있지만 식물의 종에 따라 다양한 구조를 가지고 있다(7). Xylooligo당은 생리적 기능으로는 저에너지의 생성과 설탕

*Corresponding author. E-mail: sjrhee@cataegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3523, Fax: 82-53-850-3504

과 비슷한 감미도를 가지고, 충치 예방효과와 장내 유익균인 비피더스균의 증식촉진 및 부페균의 증식억제 등 그 기능성이 다른 올리고당에 비해 우수하다고 알려져 있다(4). 지금까지 연구에서 올리고당은 생체내에서는 천연 식이섬유소와 유사한 역할로 혈장 중성지질과 콜레스테롤의 함량을 저하시키므로써 심장·순환기계 질환을 예방하는 효과가 있다고 보고되고 있다. 현재 증가되고 있는 심혈관계질환의 주요 요인이 되는 혈중 총 콜레스테롤을 저하시키는 기능성 식품의 개발에 관한 연구가 절실히 필요하다. 그러나 지금까지 혈중 콜레스테롤 농도를 낮추는 효과에 대한 연구로는 대부분 식이 섬유소를 대상으로 한 연구가 많이 보고되고 있으며(8, 9), 올리고당을 이용한 연구로는 주로 fructooligo당, isomaltoligo당이며 xylooligo당을 이용한 지질대사 개선에 대한 구체적인 기전 연구는 거의 보고된 바 없다.

한편 체내 콜레스테롤 수준에 미치는 효소로는 간조직중의 HMG-CoA reductase를 들 수 있다. HMG-CoA reductase 효소는 혈장 콜레스테롤 농도를 일정하게 유지하는 조절효소로서 간으로 유입되는 콜레스테롤양에 의해 조절된다.

따라서 본 연구에서는 고콜레스테롤 공급 흰쥐에서 식이 xylooligo당의 조직중의 콜레스테롤 및 지질대사에 미치는 영향을 관찰하기 위해 간에서의 지방 및 지방산 조성과 HMG-CoA reductase 활성을 관찰하였다.

재료 및 방법

Xylooligo당의 제조

원료인 birchwood xylan 100 g을 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0) 1 L에 혼탁한 후 미리 준비한 *Streptomyces thermocyanoviolaceus* M049가 생산하는 xylanases를 염석 및 투석한 효소액을 최종농도 10 unit/mL 되게 첨가한 후 60°C shaking water bath에서 100 strokes/min의 속도

로 진탕하면서 12시간 반응하였다. 반응종료 후 60°C에서 가열하면서 회전진공농축기(evaporator)로 최대한 농축하고 그 농축액을 60°C에서 열풍 건조하여 조제한 xylooligo당을 본 실험에 사용하였다.

실험동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 100 ± 10 g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 한국화학연구소에서 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일주일간 예비사육 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 대조군과 실험군으로 나눈후 실험군을 다시 Table 1과 같이 식이내에 조제한 xylooligo당의 농도별로 나누어 각 군마다 10마리씩 5군으로 나누어 4주간 사육하였다. 기본 실험 식이조성은 Table 1과 같다. 실험기간중 식이는 4°C에서 보관하였고 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취하게 하였다. 이때 사육실의 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 였고, 습도는 $50 \pm 10\%$ 이었다

간조직 채취

간조직을 적출하여 차가운 생리 식염수로 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C 에 보관하였다.

간조직의 triglyceride, cholesterol 및 phospholipid 함량 측정

간조직의 지질은 Folch 등의 방법(10)에 의해 추출하여 Sale 등(11)의 수정된 방법으로 triglyceride와 cholesterol 측정용 효소시액에 유화제로서 0.5% Triton X-100과 3 mM sodium cholate를 혼합하여 발색시 일어나는 탁도(turbidity)를 제거하여 간조직의 triglyceride와 cholesterol 농도를 550 nm와 500 nm에서 각각 흡광도를 측정하였다.

조직중의 인지질은 Takayama 등의 방법(12)를 이용하여 정량하였다. Folch 법(10)으로 추출한 간조직중의 지질에 BD

Table 1. Classification of experimental groups according to dietary levels of xylooligosaccharides

Ingredients	Groups ¹⁾	High cholesterol diet			
		Normal	C	C5XO	C10XO
Casein	18	18	18	18	18
Mineral mixture	4	4	4	4	4
Vitamin mixture	1	1	1	1	1
Cellulose	5	5	5	5	5
Corn oil	5	5	5	5	5
Sucrose	5	5	5	5	5
Starch	61.80	60.55	55.55	50.55	45.55
Sodium Cholate	-	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-methionine	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	-	1	1	1	1
Xylooligosaccharides	-	-	5	10	15
Total(%)	100	100	100	100	100

¹⁾Normal: basal diet.

C: basal diet + 1% cholesterol + 0% xylooligosaccharides.

C5XO: basal diet + 1% cholesterol + 5% xylooligosaccharides.

C10XO: basal diet + 1% cholesterol + 10% xylooligosaccharides.

C15XO: basal diet + 1% cholesterol + 15% xylooligosaccharides.

용액(butanol: diisopropyl ether, 40 : 60, v/v)을 가하고 실온에서 1시간 30분 방치후, $1,600 \times g$ 에서 2분간 원심분리하여 상층액을 취하여 질소 가스로 말린다. 여기에 CHCl_3 0.4 mL, chromogen 용액 0.1 mL을 가하여 2분간 가열하여 발색시킨 후, 실온에서 냉각시켜 H_2O 0.5 mL, heptane 2 mL 넣고 $1,500 \times g$ 에서 5분간 원심분리하여 상층액을 채취하여 710 nm에서 흡광도를 측정하였다.

간조직의 microsomal HMG-CoA reductase 활성 측정
 간으로부터 microsome을 분리한 다음 Hulcher와 Oleson의 방법(13)을 수정 보완하여 사용하였다. 즉 150 μmole HMG-CoA와 2 mM NADPH를 500 μg microsome protein과 잘 섞은 후 0.1 M triethanolamine, 0.02 M EDTA(pH 7.4) 완충 용액으로 1 mL를 채우고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 그 다음 0.01 M sodium arsenite 20 μL 를 넣고 상온에서 1분이상 반응시킨 후 100 μL 의 2 M citrate (pH 3.5), 3% Na-tungstate 완충 용액을 넣고 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응물을 25,000 $\times g$ 에서 10분간 4°C에서 원심분리한 다음 상층액 1 mL를 새로운 tube에 옮겼다. 여기에 200 μL 의 2 M tris(pH 10.6)와 100 μL 2 M tris(pH 8.0)를 섞어 pH를 8.0으로 조절하고 50 μL 의 0.4 M sodium arsenite를 섞어 실온에서 3~4분간 반응시킨 후 분광광도계용 cubette에 옮겼다. 마지막으로 20 μL 의 3 mM 5,5-dithiobis 2-nitrobenzoic acid(DTNB), 0.1 M triethanolamine, 0.2 M EDTA(pH 7.4) 완충용액을 넣고 잘 섞은 후 412 nm에서 4분간 흡광도를 측정하였다. 효소 활성도는 nmoles/min/mg(nmoles CoA-SH formed/min/mg microsomal protein)으로 환산하여 나타내었다. HMG-CoA reductase에 의해 HMG-CoA가 mevalonate와 반응하여 생성된 Co A-SH가 DTNB와 반응하여 para-nitrothiophenolate를 형성하고, 이 이온이 arsenite와 반응하여 노란색깔을 띠게 된다.

간조직의 지방산 조성

간조직 1 g을 침탕한 후 Folch 법(10)에 의해 지질을 추출한 후 CHCl_3 : MeOH(2 : 1)을 가하여 10분간 homogenate 후 1시간동안 상온에 두었다가 여과하여 0.05% CaCl_2 를 2 mL 첨가하여 $1,600 \times g$ 에서 10분간 원심분리 하였다. 하층액을 pasteur pipet으로 취하여 50°C이하의 온도에서 질소 gas로 휘발시켜 얻은 지질을 hexane으로 용해시켜 14% BF_3 /methanol 1.5 mL를 가하여 95°C에서 1시간 가열하여 냉각시킨다. 1 mL 증류수를 가하여 20분간 상온에서 방치한 다음 methyl ester를 포함한 상층액을 여과하여 질소 gas로 건조시킨 후 1 mL hexane으로 용해시켜 시료로 사용하였다.

시료를 gas chromatography(Varian 3000, USA)로 구성지방산을 분석하였으며, 분석조건으로 column은 SP-2330 Fused silica capillary column(0.25 mm \times 30 m)을, carrier gas는 N_2 를 사용하였다. Detector는 FID를 쓰고 column temperature는 165~240°C, injection temperature는 250°C, detector temperature는 250°C로 하였다.

단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 각 효소의 단백질 정량은 Lowry 법(14)을 이용하여 정량하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 표준차이가 있는가를 검증하기위해 분산분석을 수행하였으며 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다. 각 지표간의 상관관계는 SAS program을 이용하여 correlation coefficient를 구하여 분석하였다.

결 과

간조직중의 triglyceride, cholesterol 및 phospholipid 함량

간조직중의 중성지방, 콜레스테롤 및 인지질 함량 측정 결과는 Fig. 1과 같다. Xylooligo당의 농도별 실험에서 중성지방 함량은 고콜레스테롤 식이군(C군)에 비해 C5XO, C10XO 및 C15XO군에서 각각 26%, 45% 및 23%씩 유의적($p<0.05$)으로 감소하였다.

간조직의 콜레스테롤 함량에 대한 식이 xylooligo당의 영향을 관찰한 결과 C5XO, C10XO 및 C15XO군에서는 C군에 비해 43%, 50% 및 37%씩 각각 유의적($p<0.05$)으로 감소하였다. 간조직중의 인지질 함량은 실험군간의 유의적인 차이는 없었다. 간조직중의 중성지방, 콜레스테롤 함량은 C10XO군에서 가장 많이 감소하였다.

간조직의 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase)의 활성

콜레스테롤 생합성의 조절효소로 알려진 간조직중의 HMG-CoA reductase의 활성 관찰 결과는 Fig. 2와 같다. Xylooligo 당 보충 실험에서 간조직중의 HMG-CoA reductase 활성은 정상군에 비해 고콜레스테롤 식이군(C군)에서 45%가 감소

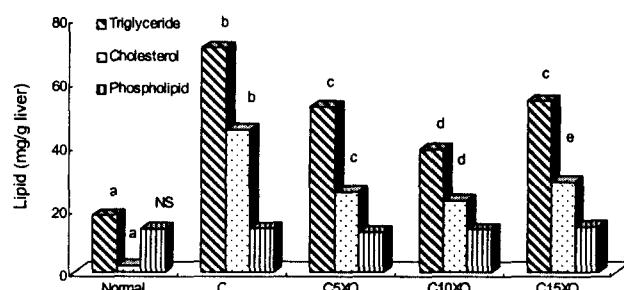


Fig. 1. Effects of dietary xylooligosaccharides on hepatic triglyceride(TG), cholesterol and phospholipid levels in rats fed high cholesterol diets.

All values are mean \pm SE ($n=10$). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1.

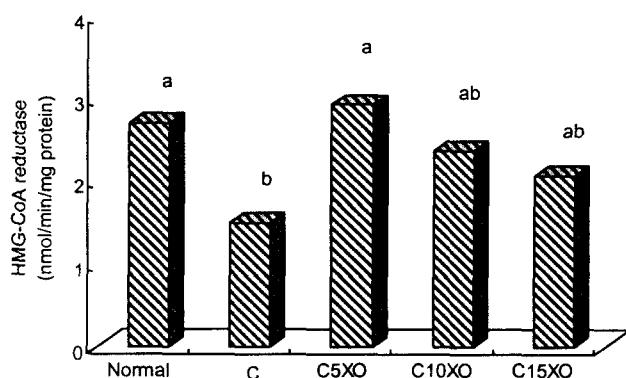


Fig. 2. Effects of dietary xylooligosaccharides on hepatic HMG-CoA reductase activities in rats fed high cholesterol diets.

All values are mean \pm SE ($n=10$). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 1.

되었고, C군에 비해 xylooligo당 공급군들에서는 정상군 수준이었다.

간조직의 지방산 조성

간조직중의 지방산 조성 결과는 Table 2와 같다. 모든 실험군에서 oleic acid($C_{18:1}$)의 함량이 가장 높으며 stearic acid ($C_{18:0}$), palmitic acid($C_{16:0}$) 순으로 각각 그 함량이 낮았다.

Palmitic acid($C_{16:0}$)과 stearic acid($C_{18:0}$)의 함량은 고콜레스테롤 식이군(C군)에서 정상군에 비해 유의적으로 낮아졌고 xylooligo당 공급군과는 유의성은 없었다. Oleic acid($C_{18:1}$)과 linoleic acid($C_{18:2}$)의 함량은 정상군에 비해 C군에서 유의적으로 증가하였고 xylooligo당 공급군에서 감소하는 경향이 있으나 유의성은 없었다. n-3계인 linolenic acid는 정상군에 비해 고콜레스테롤군(C군)에서 감소되었으나 xylooligo당 공급군에서는 증가되었다. 단일불포화지방산(MUFA) 조성은 C군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가하였으며 C군에 비해 10% xylooligo당 공급한 C10XO군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었다. Arachidonic acid($C_{20:4}$)의 함량은 정상군에 비해 C군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었고, C군에 비해 xylooligo당 공급군에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었으며, C10XO군에서 정상군 수준이었다. 항혈전 지수인 n-3/n-6 지방산비는 정상군에 비해 C군에서 유의적($p<0.05$)으로 감소되었으나 xylooligo당 10% 공급군인 C10XO 군은 C군에 비해 유의적으로 증가하였다. 또한 P/S ratio는 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

고 칠

본 연구는 xylooligo당의 콜레스테롤 대사 개선 기능을 관

Table 2. Profiles of hepatic fatty acid compositions in rats fed high cholesterol diets with different levels of dietary xylooligosaccharides

Fatty acid	Normal	C	C5XO	C10XO	C15XO
$C_{16:0}$	$17.03 \pm 1.36^{1)a2)}$	13.36 ± 1.03^b	14.24 ± 1.25^{ab}	14.96 ± 2.0^{ab}	14.50 ± 1.91^{ab}
$C_{18:0}$	22.08 ± 1.60^a	18.03 ± 1.54^b	14.91 ± 1.72^{ab}	14.02 ± 1.80^{ab}	15.43 ± 1.24^{ab}
$C_{18:1}$ (n-9)	26.54 ± 1.08^a	30.54 ± 1.09^b	29.42 ± 1.62^{ab}	28.45 ± 1.43^{ab}	29.11 ± 2.10^{ab}
$C_{18:2}$ (n-6)	20.74 ± 0.95^a	23.44 ± 1.90^b	20.82 ± 1.22^{ab}	21.05 ± 1.86^{ab}	20.55 ± 1.13^{ab}
$C_{18:3}$ (n-3)	0.24 ± 0.05^a	0.13 ± 0.03^b	0.15 ± 0.07^{ab}	0.19 ± 0.04^{ab}	0.15 ± 0.07^{ab}
$C_{20:0}$	0.42 ± 0.18^{NS}	0.33 ± 0.26	0.35 ± 0.15	0.30 ± 0.10	0.30 ± 0.19
$C_{20:1}$ (n-9)	0.33 ± 0.08^{NS}	0.34 ± 0.07	0.37 ± 0.05	0.35 ± 0.09	0.35 ± 0.09
$C_{20:2}$ (n-6)	0.27 ± 0.06^{NS}	0.19 ± 0.08	0.20 ± 0.01	0.23 ± 0.05	0.23 ± 0.07
$C_{20:3}$ (n-6)	0.39 ± 0.02^a	0.23 ± 0.04^b	0.25 ± 0.09^{ab}	0.30 ± 0.02^{ab}	0.28 ± 0.04^b
$C_{20:4}$ (n-6)	8.06 ± 0.23^a	3.62 ± 0.42^b	7.55 ± 0.19^c	7.98 ± 0.20^{ac}	7.34 ± 0.26^c
$C_{22:0}$	0.34 ± 0.14^{NS}	0.41 ± 0.18	0.39 ± 0.12	0.37 ± 0.10	0.35 ± 0.20
$C_{22:6}$ (n-3)	0.26 ± 0.02^a	0.14 ± 0.01^b	0.17 ± 0.03^{bc}	0.19 ± 0.02^c	0.17 ± 0.04^b
$C_{24:0}$	1.08 ± 0.32^a	1.04 ± 0.24^a	1.18 ± 0.29^b	0.12 ± 0.03^a	1.10 ± 0.18^a
$C_{24:1}$ (n-9)	0.14 ± 0.67^{NS}	0.93 ± 0.44	0.15 ± 0.35	0.39 ± 0.46	0.42 ± 0.28
$C_{20:4}/C_{18:2}$	0.57 ± 0.04^a	0.38 ± 0.03^b	0.52 ± 0.04^a	0.55 ± 0.05^a	0.51 ± 0.05^a
$\Sigma n - 6$	29.46 ± 2.76^a	23.43 ± 1.70^b	25.82 ± 1.86^{bc}	26.56 ± 0.94^c	25.4 ± 1.27^{bc}
$\Sigma n - 3$	0.50 ± 0.08^a	0.27 ± 0.06^b	0.32 ± 0.10^{ab}	0.38 ± 0.09^{ab}	0.32 ± 0.08^{ab}
$n-3/n-6$	0.017 ± 0.002^a	0.012 ± 0.001^b	0.012 ± 0.002^{bc}	0.014 ± 0.001^c	0.012 ± 0.002^{bc}
$\Sigma SFA^{3)}$	39.13 ± 1.47^a	33.39 ± 2.52^b	39.15 ± 1.43^a	38.98 ± 1.59^a	39.93 ± 2.14^a
$\Sigma MUFA^{4)}$	28.01 ± 0.91^a	42.81 ± 0.87^b	40.94 ± 0.67^{bc}	40.19 ± 0.66^c	40.88 ± 0.82^{bc}
$\Sigma PUFA^{5)}$	32.40 ± 3.42^a	26.70 ± 1.38^b	29.14 ± 1.98^c	29.94 ± 1.03^c	28.72 ± 1.68^c
P/S ⁶⁾	0.83 ± 0.17^{NS}	0.79 ± 0.10	0.74 ± 0.20	0.77 ± 0.15	0.72 ± 0.10

¹⁾All values are mean \pm SE ($n=10$).

²⁾Values within a raw with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

³⁾SFA: Saturated fatty acid.

⁴⁾MUFA: Monounsaturated fatty acid.

⁵⁾PUFA: Polyunsaturated fatty acid.

⁶⁾P/S: Polyunsaturated fatty acid/saturated fatty acid.

찰하기 위해 HMG-Co A reductase 활성변화와 간조직의 지질 및 지방산 조성변화를 관찰하였다.

간조직중의 중성지방과 총 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 C군에서 증가되었고 C군에 비해 xylooligo당 공급군에서는 감소하였으며 그 중에서도 10% 농도군에서 가장 많이 감소되었다. 이러한 올리고당의 지질개선 효과에 대해 Fiordaliso 등(15)은 올리고당이 가용성 식이섬유소와 유사하게 간의 지질대사에 영향을 주어 간의 중성지방 함량이 감소되고 혈청의 VLDL의 감소를 나타내었다고 한다. Choi 등(16)은 식이 5% 수준으로 soyoligo당, branched oligo당, fructooligo 당을 4주간 공급한 결과 혈액중의 총지방량, 중성지방 함량은 감소되었으나 간조직내 총지방량, 콜레스테롤, 중성지방 함량이 혈액과 달리 올리고당의 유의적 효과는 없었다고 보고하였다. 그러나 Fiordaliso 등(15)은 fructooligo당을 1 g/kg 섭취시킨 흰쥐 간 세포에서 *in vitro* 실험결과 중성지질의 합성과 분비능력이 54%까지 감소하였다고 하였다. 또 Imaizumi 등(17)의 보고에 의하면 당뇨쥐에 식이 xylooligo당을 공급한 결과 혈청 중성지방, 콜레스테롤 수준 및 간조직중의 중성지방 수준 개선에 효과적이었다고 보고하여 본 실험 결과와 유사하였다.

이러한 조직중의 지질성상 개선에 대한 대사적 기전을 규명하기 위한 일환으로 간의 HMG-CoA reductase 활성에 미치는 xylooligo당의 영향을 관찰하였다. 콜레스테롤은 모든 포유동물의 세포막의 필수 구성성분이고 체내에서 합성되는 총콜레스테롤의 80%가 간에서 합성된다. 세포내에서 합성되는 콜레스테롤의 조절효소인 HMG-CoA reductase 활성도는 혈장 콜레스테롤 농도를 일정하게 유지하는데 중요한 역할을 한다. 이 효소는 간의 세포막에 존재하고 비교적 높은 활성을 가지며 간으로 유입되는 콜레스테롤 양에 의해 조절된다. Arjmandi(8)는 식이중의 콜레스테롤은 콜레스테롤 합성 효소 활성을 억제시키지만 콜레스테롤과 함께 투여된 식이섬유소는 효소의 활성 억제를 반전시킨다고 보고하였다. 또 Nishina와 Freedland(18)는 섭취하는 섬유소에 따른 콜레스테롤 대사와 관련있는 효소의 활성을 관찰한 결과 HMG-CoA reductase 활성은 무섬유소 식이군에 비해 식이 섬유소 공급군에서 증가하는 경향이 있었으며 특히 페틴 공급군에서 유의적으로 증가하였다고 보고하였다.

본 연구에서 내인성 콜레스테롤의 합성 조절효소인 HMG-CoA reductase 활성을 관찰한 결과, 정상군에 비해 C군은 45% 감소되었고 C군에 비해 xylooligo 공급군인 C5XO, C10XO, C15XO군은 정상군 수준이었다. 이와 같이 C군에 비해 xylooligo당 공급군에서의 간의 HMG-CoA reductase 활성 증가는 간에서의 담즙합성 촉진과 콜레스테롤의 소장내 흡수지연 및 분변중 중성스테롤과 담즙산 배설 증가로 체내의 콜레스테롤의 소모가 증가하여 HMG-CoA reductase 활성이 증가되는 생체의 항상성 기작으로 사료되어진다.

식이 xylooligo당의 공급으로 간조직의 지질함량이 감소

되었고 체내 지질조성에 영향을 미침으로 지방산 조성에도 영향을 미칠 것으로 보고 간조직에서의 지방산 조성 변화를 알아보았다.

생체막의 구성요소인 지질은 막의 물리적 특성을 결정짓는 중요한 요소이다. 막의 인지질 성분에 불포화지방산의 비율이 높아지면 유동성과 투과성을 감소시키는 것으로 알려져 있다(19). 한편 생체막의 환경에서 콜레스테롤은 불포화지방산이 많은 부분에서 막의 유동성을 감소시키고 포화지방산이 많은 부분에서 막의 유동성을 증가시키는 조절기능을 지니는 것으로 알려져 있다(20,21). 그리고 생체막에 존재하는 여러 단백질들의 활성은 막의 물리적 특성에 의해 밀접한 영향을 받고 있다(22,23). 고콜레스테롤 식이에서는 Δ6 desaturase 및 Δ5 desaturase 활성 저하로 arachidonic acid의 함량의 변화가 있는 것으로 알려져 있으며(24) 본 연구에서는 이에 미치는 xylooligo당의 영향을 관찰하고자 하였다. 본 연구에서 간조직의 지방산 조성 관찰에서 oleic acid(C_{18:1})의 함량이 가장 높았고 stearic acid(C_{18:0}), palmitic acid(C_{16:0})순으로 그 함량이 각각 낮았고 간조직에서 이 지방산들은 양적으로 주된 지방산이었다. Stearic acid(C_{18:0})과 palmitic acid(C_{16:0})은 정상군에 비해 C군에서 낮아졌고 xylooligo당 공급군에서 증가하는 경향이었다. Oleic acid(C_{18:1})과 linoleic acid(C_{18:2})은 정상군에 비해 C군에서 증가되었고 xylooligo당 공급군에서 감소하는 경향이었다. Arachidonic acid(C_{20:4})는 정상군에 비해 C군에서 유의적(p<0.05)으로 감소하였으나 xylooligo당 공급군에서는 C군에 비해 유의적(p<0.05)으로 증가되었다. Froyland 등(25)은 콜레스테롤 공급 hamster에서 C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2} 등이 양적으로 주된 지방산으로 보고하여 본 실험의 결과와 일치되었다. 또한 Manohar 등(24)의 보고에서 식이중 cholesterol을 공급한 흰쥐 간조직의 지방산 조성을 관찰한 결과 Δ5-desaturase 활성의 저하로 arachidonic acid(C_{20:4})함량이 감소한 결과와도 일치하였다. 그리고 고콜레스테롤식이군은 정상군에 비해 SFA 조성을 유의하게 감소시키는 반면 MUFA의 조성을 유의적으로 증가시켜 지방산의 조성을 변화시켰으나 xylooligo당의 공급으로 정상군 수준으로 유지되었다. 그리고 항혈전 지수인 n-3/n-6 비는 정상군에 비해 C군에서 유의적(p<0.05)으로 감소하였으나 xylooligo당 10% 공급군인 C10XO군은 정상군 수준으로 증가하여 전보에서 식이 xylooligo당이 고콜레스테롤 식이 공급 흰쥐에서 혈중 총콜레스테롤의 감소와 HDL-C 함량을 증가시키므로 동맥경화지수가 감소된 결과와 같은 경향으로 나타났다. P/S ratio는 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

이상의 결과에서 xylooligo당은 체내의 지질대사 관련 효소인 간조직중의 HMG-CoA reductase활성을 조절하여 콜레스테롤수준을 개선시켰다. 결과적으로 xylooligo당의 공급은 고콜레스테롤 식이로 인한 고지혈증이나 고콜레스테롤혈증의 유발 위험인자인 중성지방과 콜레스테롤을 감소시키며 특히, xylooligo당의 농도가 10%일 때 가장 효과적임이 입증

되었다.

요 약

고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 xylooligo당이 간장에서의 콜레스테롤대사에 미치는 영향을 관찰하였다. 실험동물은 100±10 g의 Sprague-Dawley 흰쥐를 이용하여 정상 식이군과 1% 고콜레스테롤 실험군으로 나누고 다시 실험군은 1%의 고콜레스테롤 식이에 xylooligo당을 0%, 5%, 10% 및 15% 농도 첨가군(C, C5XO, C10XO 및 C15XO군)으로 나누어 4주간 자유선험식시킨 후 콜레스테롤 대사 개선효과를 알아보았다. 간조직중의 중성지방과 콜레스테롤함량은 정상군에 비해 C군에서는 각각 3.9배, 20배씩 증가되었으며 C군에 비해 C10XO군은 거의 절반으로 감소되었다. 간조직의 HMG-CoA reductase 활성은 정상군에 비해 C군은 45% 감소되었으나, xylooligo당 공급군에서는 정상군 수준이었다. 간조직중의 지방산 조성은 oleic acid(C_{18:1})과 linoleic acid (C_{18:2})은 정상군에 비해 C군에서 유의적(p<0.05)으로 증가되었고, arachidonic acid(C_{20:4})는 감소되었으나 xylooligo당 공급으로 증가되었다. 총포화지방산(SFA)은 정상군에 비해 고콜레스테롤 식이로 인해 감소되었으나, xylooligo당 공급으로 정상화되었다. 고콜레스테롤군에서는 총 단일불포화지방산(MUFA)은 증가되었으나, xylooligo당 공급으로 감소되었다. 항혈전지수인 n-3/n-6 지방산 비는 정상군에 비해 C군에서 감소되었으나, xylooligo당 10% 공급군에서는 C군에 비해 유의적으로 증가하였다. 결론적으로 식이 xylooligo당은 고콜레스테롤 식이로 인한 고콜레스테롤 혈증이나 고지혈증의 위험인자인 콜레스테롤을 감소시킬 수 있는 콜레스테롤 대사 개선기능이 우수하므로 기능성 식품 신소재나 식이섬유의 대용품으로 활용될 수 있으리라 생각된다.

감사의 글

이 논문은 1998년 농림수산부에서 시행한 농림수산특정 연구사업 연구비 지원(과제번호: 296064-3)에 의해 수행된 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 현

- Oku, T. : Special physiological functions of newly developed mono and oligosaccharides. In *Functional Foods*, Goldberg, I. (ed.), Chapman & Hall, New York and London, p.202, (1994)
- Trock, B., Lanza, E. and Greenwald, P. : Dietary fiber, vegetables and colon cancer : critical review and meta-analysis of epidemiological evidences. *J. Nat'l Cancer Inst.*, **82**, 650-660 (1990)
- Kohomoto, T., Fukui, F., Takaku, H., Machida, Y. and Mitsuoka, T. : Does-response of isomaltooligosaccharide for increasing fecal bifidobacteria. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2157-2164

(1991)

- Kim, S.O., Rhee, S.J., Rhee, I.K., Joo, G.J. and Ha, H.P. : Effects of dietary xylooligosaccharide on lipid levels of serum in rats fed high cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 945-951 (1998)
- Howard, M.D., Gordon, D.T., Garleb, K.A. and Keerley, M. S. : Dietary fructooligosaccharid, xylooligosaccharide and gum arabic have variable effects on cecal and colonic microflora and epithelial cell proliferation in mice and rats. *J. Nutr.*, **125**, 2604-2609 (1995)
- Oku, T. : Oligosaccharides with beneficial health effect. Japanese perspective. *Nutrition Review*, **54**, S59-S66 (1996)
- Whyte, J., Mcintosh, G.H., McArthur, R.M. and Nestel, P.J. : Barley and wheat foods influence on plasma cholesterol concentration in hyper-cholesterolemic man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 1205-1209 (1991)
- Arjmandi, B.H. : Soluble dietary fiber and cholesterol influence *in vivo* hepatic and intestinal cholesterol biosynthesis in rats. *J. Nutr.*, **122**, 1559-1565 (1992)
- Mazur, A. : Effects of diets rich in fermentable carbohydrates on plasma lipoprotein levels and on lipoprotein catabolism in rats. *J. Nutr.*, **120**, 1037-1045 (1990)
- Folch, J.M., Lees, M. and Stanley, G.H.S. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957)
- Sale, F.D., Marchesini, S., Fishman, P.H. and Berra, B. : A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. *Anal. Biochem.*, **142**, 347-350 (1984)
- Takayama, M., Itoh, S. and Nagasaki, T. : A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids. *Clin. Chem. Acta*, **79**, 93-98 (1977)
- Hulcher, F.H. and Oleson, W.H. : Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J. Lipid Res.*, **14**, 625-631 (1973)
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)
- Fiordaliso, M., Kok, N., Desager, K.P., Goethals, F., Deboyser, D., Roberfroid, M. and Delzenne, N.O. : Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very density lipoproteins of rats. *Lipid*, **30**, 163-167 (1995)
- Choi, E.H., Kim, H.Y., Kim, Y.H., Kim, W.K., Oh, S.J. and Kim, S.H. : Effects of selected oligosaccharides on fecal microflora and lipid constitution in rats. *Korean J. Nutr.*, **32**, 221-229 (1999)
- Imaiizumi, K., Nakatsu, Y., Sato, M., Sedamawati, Y. and Sugano, M. : Effects of xylooligosaccharide on blood glucose, serum and liver lipid and cecum short-chain fatty acids in diabetic rats. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 199-205 (1991)
- Nishina, P.M. and Freedland, R.A. : The effect of dietary fiber feeding on cholesterol metabolism in rats. *J. Nutr.*, **120**, 800-805 (1990)
- Sardesai, V.M. : The essential fatty acids. *Nutr. Clin Pract.*, **7**, 179-186 (1992)
- Mellchior, D.L., Scavutto, F.J. and Steim, J.M. : Dilatometry of dipalmitoyllecithin-cholesterol bilayers. *Biochemistry*, **19**, 4828-4834 (1980)
- Shinitzky, M. and Inbar, M. : Difference in microviscosity induced by different cholesterol levels in the surface membrane lipid layer of normal lymphocytes and malignant lymphoma cells. *J. Mol. Biol.*, **85**, 603-615 (1974)
- Sinensky, M., Minnerman, K.P. and Molinoff, P.B. : Increased Membrane acyl chain ordering activates adenylate cyclase.

J. Biol. Chem., **254**, 9135-9141 (1979)

23. Brenner, R.R. : Effect of unsaturated fatty acids on membrane structure and enzyme kinetics. *Prog. Lipid Res.*, **23**, 69-96 (1984)
24. Kang, H.J. and Song, Y.S. : Dietary fiber and cholesterol metabolism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 358-369

(1997)

25. Froyland, L.D.K., Vaagenes, H., Garras, A., Lie, O., Totland, G.K. and Berge, R.K. : Tetradecylthioacetic acid incorporated into very low density lipoprotein: changes in the fatty acid composition and reduced plasma lipids in cholesterol-fed hamsters. *J. Lipid Res.*, **36**, 2529-2540 (1995)

(2001년 8월 9일 접수)