

# 지방세포 원형질막 단백질에 대한 다클론 항체의 수동면역이 수컷 흰쥐의 체조성에 미치는 영향

백경훈 · 최창본  
영남대학교 축산학과

## Effects of Polyclonal Antiserum Against Adipocyte Plasma Membrane Proteins on Body Composition of Passively Immunized Sprague-Dawley Male Rats

K. H. Baek and C. B. Choi  
Department of Animal Science, Yeungnam University

### ABSTRACT

The current study was conducted to investigate the effects of administration of antiserum against adipocyte plasma membrane(APM) proteins into rats on body fat mass. Twenty(20) male adult Sprague-Dawley rats were randomly allocated into either control or antiserum treatment group(10 rats/treatment) and immunized with physiological saline(control group) and polyclonal antiserum (treatment group), respectively, raised in sheep against rat APM proteins(5times, 2day interval). All animals were killed 4weeks after last injection. Intraperitoneal(i.p.) administration of antiserum significantly(P=0.0054 and P=0.0019, respectively) reduced subcutaneous(21.9%) and perirenal + mesentric + epididymic(36.0%) adipose tissue mass in rats of treatment group. Although body weights of antiserum treated rats were decreased during immunization, the rats recovered their body weight after 1 week of treatment. There were no significant changes in the level of blood glucose and in the contents of muscle protein and fat in antiserum treated animals. Current results indicate that polyclonal antibodies against APM proteins could be used to manipulate body fat mass in meat animals as well as laboratory animals. Further studies, however, are necessary for the practical applications of the current results.

(Key words : Polyclonal antiserum, Adipocyte, Passive immunization, Body composition)

I. 서 론  
국민 일인당 육류 섭취량이 매년 증가하고 있다. 육류 섭취량의 증가는 필연적으로 육류내 최근 우리 나라는 국민소득의 증가와 함께 포함된 지방의 섭취 증가를 동반하기 때문에

Corresponding author : Chang-Bon Choi, Department of Animal Science, Yeungnam University, Dae-dong 214-1, Kyungsan, 712-749, Korea. Tel : (053) 810-2932

최근 우리 나라에서도 고혈압, 심장질환, 및 대장관련 질병 등 서구형 대사성 질환이 급격하게 증가되고 있다.

그러나 실제 생산 현장에서 육생산 동물로부터 지방 함량이 적은 육류를 생산한다는 것은 결코 쉬운 일이 아니다. 더구나 과다한 체지방 함량의 감소는 육류의 풍미에 부정적인 영향을 미치기 때문에 적정량의 체지방을 함유한 육류를 생산한다는 것은 기술적으로 대단히 어려운 것으로 인식되고 있다.

약 10여년 전부터 영국의 Flint가 이끄는 연구팀을 중심으로 첨단 면역학적 기법을 이용한 안전하고 효과적인 저지방 육류의 생산 가능성에 대한 연구(Flint 등, 1986; Futter 등, 1986; Kestin 등, 1993; Panton 등, 1990; Flint, 1998)가 진행되고 있으며, 현재 영국에서는 상용화하는 단계에 이르렀다.

Kestin 등(1993)은 항체를 돼지에 수동면역시켰을 경우, 사료 섭취량, 도체무게 및 주요 장기의 무게에는 영향을 미치지 않았고, 등지방 두께가 30% 감소하고 저지방 돼지고기가 생산된다고 하였다. 또한 Flint(1998)는 고지방 식이로 비만을 유도한 암컷 Wistar 흰쥐에 지방세포 원형질막 단백질에 대한 항체를 수동면역시킨 결과, 장간막과 피하지방이 30~40% 감소함을 보고 하였다.

이에 본 연구자들이 지난 5년 동안 개발한 항체(최 등, 1998, 백 등, 2000)의 *in vivo* 효능을 검증하고, 또 육생산 동물에 이용하기 전 단계로서 실험동물에 대한 항체의 작용을 조사하고자 본 연구를 실시하게 되었다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 항체의 생산 및 정제

흰쥐 지방세포 원형질막 단백질 및 다클론 항체는 최 등(1998)의 방법에 따라 분리 및 생산하였다.

수동면역을 위한 항체의 준비 과정을 간단히 설명하면, 생산된 다클론 항체 원액을 90% ammonium sulfate와 교반하여 단백질을 침전시

킨 다음 3,000rpm에서 30분간 원심분리하여 침전된 pellet을 추출하였다. Pellet에 10mM phosphate용액을 첨가하여 녹인 후, Spectra/Polymembrane (diameter 16mm)에 넣고, 10mM phosphate로 24시간동안 buffer를 교체하면서 투석시켰다. 투석한 immunoglobulin-G fraction을 freeze dry시켜 lyophilized antiserum을 제조하였다. 이 lyophilized antiserum의 농도가 100 mg/ml가 되도록 생리식염수에 녹여 0.45 $\mu$ m의 membrane에 filtering하였다.

### 2. 실험동물 및 사육환경

본 실험에 사용된 실험동물은 20마리의 생후 24주령 수컷 Sprague-Dawley rat으로, 실내온도 22 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C, 습도 50 $\pm$ 5%의 환경에서 1주일간의 적응기간을 거친 후, 생후 25주령에 두 처리구, 대조구와 처리구로 완전 임의 배치시켰다(시험구 당 10마리). 실험 동물은 stainless steel cage에 개별 사육하였으며, 사료와 물은 자유채식시켰다. 기타 사양관리는 본 대학 실험동물사육사 일반 관행법에 준하여 실시하였다.

### 3. 항체의 수동면역

본 실험에 사용된 항체는 백 등(2000)의 보고에서와 같이 1:81,000의 희석배율에서도 반응을 나타낸 높은 역가의 항체로서, 지방세포 원형질막 단백질과는 특이적으로 결합하는 특성을 나타내었다.

항체의 수동면역은, 실험동물을 ether로 전신 마취시킨 후, 복강주사(i.p.)로 실시되었으며, 대조구 실험동물에게는 생리식염수를 1ml 주사하였고, 항체처리구에게는 미리 정제하여 생리식염수에 녹인 lyophilized antiserum을 각 1ml 씩 주사하였다. 면역접종은 실험개시일로부터 2일 간격으로 5회 실시하였고, 항체처리 전, 항체처리기간 및 시험종료시 실험동물로부터 안구채혈법으로 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 다음, 혈액내 glucose 농도를 측정하였다.

### 4. 조사항목

## (1) 체중 및 사료섭취량

실험동물의 체중은 시험 개시시(0 week)부터 시험 종료시까지 매주 측정하였으며, 사료 섭취량은 매주 2~3일 간격으로 측정하였다.

## (2) 혈액내 glucose 농도

실험동물의 혈액내 glucose 농도는 EMBIEL glucose test kit(엠비엘 주식회사, 서울, 한국)을 이용하여 500nm에서 흡광도를 측정함으로써 분석하였다.

## (3) 도체 분석

시험 개시 후 28일(4주)째에 실험동물을 모두 ether를 이용하여 마취사 시킨 다음, 도체로부터 피부를 제거한 후 피하지방을 적출하고, 개봉한 후, 복강내 지방을 적출하여 무게를 측정하였다. 또한 간장, 심장, 신장, 및 비장 등 주요장기의 무게를 측정하였다. 각 실험동물의 대퇴근을 sampling하여, 근육내 조단백질과 조지방 함량을 분석하였다(AOAC, 1990).

## 5. 통계 분석

사료 섭취량, 체중 및 glucose 농도에 관한 실험자료는 각각 다음과 같은 통계 모형을 가정하여 분석하였다.

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{ij} + \gamma_k + \delta_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

( $i = 1, 2, j = 1, \dots, 5, k = 1, \dots, 10$ )

여기에서  $\mu$ 는 전체평균,  $\alpha_i$ 는  $i$ 번째 집단 효과,  $\beta_{ij}$ 는  $i$ 번째 집단 내에서  $j$ 번째 개체의 효과,  $\gamma_k$ 는  $k$ 번째 처리의 효과,  $\delta_{ik}$ 는  $i$ 집단과  $k$ 처리의 상호작용이며,  $\epsilon_{ijk}$ 는 각각의 실험에서의 오차를 나타낸다.

각각의 자료에 대한 구형성(sphericity) 가정을 검토하고, 이에 따라 반복측정설계(repeated measure design) 중에서 단일변량분석 기법을 사용하였다. 사용한 통계 package는 SAS(1998)이며, 사용된 절차(procedure)는 GLM이다.

생체중 대비 체지방과 주요장기 무게의 비율 등에 대한 분산 분석은 SAS package의 GLM

procedure를 이용한 출력결과를 요약하여 정리하였다.

## III. 결과 및 고찰

## 1. 사료 섭취량 및 체중 변화

대조구와 처리구간 사료섭취량에는 유의한 차이가 없었고( $P=0.1155$ ), 처리와 주별 사이의 상호작용효과도 유의하지 않은 것으로 나타났다( $P=0.2494$ , Huynh-Feldt(H-F)에 의해 수정된  $P=0.2494$ ). 주별 사료섭취량의 변화는 당연히 예상되는 결과이겠지만, 분석결과 역시 유의적인 차이가 나타났다( $P=0.001$ , H-F에 의해 수정된  $P=0.001$ ).

대조구와 처리구간 체중변화도 유의적인 차이가 나타나지 않았으며( $P=0.8957$ ), 대조구와 처리구간 그리고 주별 사이의 상호작용효과도 없는 것으로 나타났다( $P=0.5416$ , H-F에 의해 수정된  $P=0.4382$ ). 주별 체중변화는 주별 사료 섭취량의 차이와 마찬가지로 유의적인 것으로 나타났다( $P=0.0001$ , H-T에 의해 수정된  $P=0.0001$ ).

특히, Fig. 1과 Fig. 2를 보면 사료섭취량 또는 체중이 증가하는 것을 알 수 있으며, 상호작용 효과가 없다는 것을 쉽게 확인할 수 있다.

Flint(1998)는 암컷 Zucker 쥐에 항혈청을 처리한 경우, 사료섭취량이 약 40% 감소하고 체중도 감소하였으며, 초기 면역주사 후 항혈청을 처리한 쥐는 비정상적인 움직임을 나타내었다고 하였다. 그러나 항혈청 주사 9일 이후, 처리구는 정상적인 체중으로 회복되었다고 하였다. Kestin 등(1993)은 항체를 돼지에 피하 주사시, 주사 직후 행동이 부자연스럽고 사료섭취량이 감소한다고 하였으며, 이는 항체의 주입이 돼지 체내 과다한 보체(complements)의 활성화와 anaphylatoxines(감작반응 유도물질)의 생산 때문이라고 하였다. 또한, 지방세포 원형질막에 대한 항체를 면양에 복강주사한 경우 사료 섭취량과 일당 증체량은 감소하였으나, 도체중과 정육율에는 부(-)의 영향이 없어 전체

적으로 항체의 처리가 도체의 생산에 부정적인 영향을 미치지 않는다고 하였다(Nassar와 Hu, 1991).

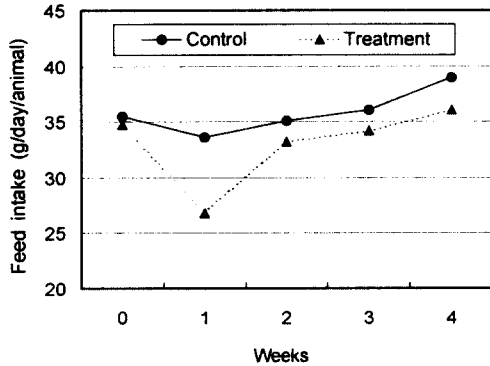


Fig. 1. Changes in feed intake of Sprague-Dawley male rats passively immunized with either physiological saline (control) or antiserum (treatment) raised in sheep against adipocyte plasma membrane proteins. The rats were immunized total 5 times at 2 day intervals beginning from day 0 of the experiment.

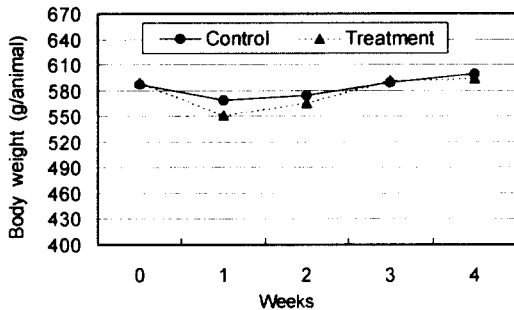


Fig. 2. Changes in the body weight of Sprague-Dawley male rats passively immunized with either physiological saline (control) or antiserum (treatment). Rats were immunized total 5 times at 2 day intervals beginning from day 0 of the experiment.

## 2. 혈액내 glucose 농도

Fig. 3은 항체의 수동면역이 흰쥐의 혈액내 glucose 농도에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

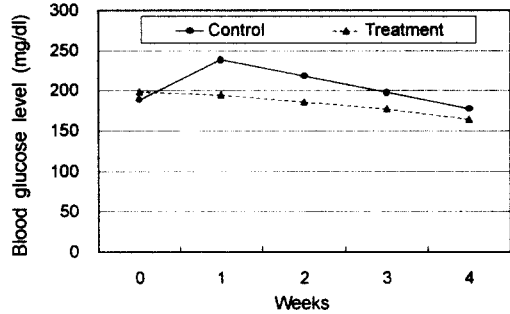


Fig. 3. Blood glucose level in Sprague-Dawley male rats treated with either physiological saline (control) or antiserum (treatment) against adipocyte plasma membrane proteins raised in sheep.

실험구의 주별 glucose 농도는 유의적인 차이를 나타내었으나( $P=0.0044$ , H-F에 의해 수정된  $P=0.0063$ ), 대조구와 처리구간의 glucose 농도는 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $P=0.1594$ ). 또한, 처리구와 주별간의 상호작용효과도 없는 것으로 나타났다( $P=0.0919$ , H-F에 의해 수정된  $P=0.1012$ ). 이는 당초 항체의 처리로 인하여 파괴된 지방세포에서 유리되는 중성지방의 대사 로 인하여 혈중 glucose 농도가 증가할 것이라는 예상과는 다소 상이한 결과로서, Moloney 등(1998)도 흰쥐 지방세포에 대한 항혈청을 흰 쥐에 수동면역 시켰을 때, 혈중 glucose와 triglyceride 농도에 큰 변화가 없었다고 한 보고와 일치한다.

## 3. 체지방 함량, 주요 장기 무게, 및 근육내 조단백질 및 조지방 함량

지방세포에 대한 항혈청의 면역주사는 흰쥐의 피하와 신지방, 장간막지방, 정소외막지방 함량을 유의하게 감소시켰다(Table 1). 대조구에 비하여 항체처리구의 피하지방은 21.9%( $P=0.0054$ ), 장기주위지방은 36.0%( $P=0.0019$ ) 감소시켰으며, 이러한 결과는 특히 복강내 지방이 현저히 감소하였다는데 매우 큰 의의가 있는 것으로 생각된다.

Futter와 Flint(1986)와 Flint(1998)는 쥐의 지

Table 1. Effects of antiserum against rat adipocyte plasma membrane proteins raised in sheep on adipose tissue mass and organ weights of passively immunized Sprague-Dawley male rats

	Control	Antiserum treatment	SE	P value
	..... % <sup>1)</sup> .....			
Adipose tissue depots;				
Subcutaneous	3.56	2.78	0.130	0.0054
Perirenal + mesentric + epididymic	2.92	1.87	0.140	0.0019
Organ weights;				
Heart	0.28	0.27	0.074	0.5926
Kidney	0.85	0.72	0.022	0.0070
Liver	3.78	3.48	0.097	0.0723
Lung	0.38	0.38	0.013	1.0000
Spleen	0.13	0.14	0.011	0.5504
Composite of femoral muscle;				
Crude protein	21.48	22.20	0.371	0.2220
Ether extract	3.51	3.49	0.500	0.9757

<sup>1)</sup> Values are expressed as a percentage of total body weight.

방세포에 대한 항혈청을 쥐에 수동면역 시킬 경우, 장간막지방은 7.2%, 피하지방은 19.1% 감소하였다고 하여 본 연구에서 이용된 항체가 지방세포에 대하여 훨씬 더 강한 세포독성을 나타내었다. 또한, Kestin 등(1993)은 돼지의 지방세포 원형질막 단백질에 대한 항체를 돼지에 복강주사할 경우 등지방 두께가 약 30% 감소한다고 하였으며, Panton 등(1990)은 쥐를 이용한 실험에서 항체의 복강주사는 복강지방을 50% 이상 감소시킨다고 보고하였다.

이러한 본 연구의 결과는, 향후 본 연구에서 생산된 항체를 육생산동물에 수동면역시킬 경우, 체지방이 현저히 감소할 것이라는 사실을 예측하게 하며, 특히 지방의 감소(중성지방의 유리)로 생성된 탄소원(carbon source)들은 체단백질의 축적(Panton 등, 1990)에 사용됨으로서 기축의 생산성을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

항체의 수동면역은 실험동물의 심장, 간장, 폐 및 비장의 무게에 뚜렷한 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다. 그러나, 신장의 무게는 항체처리구의 경우 대조구에 비해서 현저히(P=0.0070) 낮은 것으로 나타났다(Table 1).

지방세포 원형막 단백질에 대한 항체의 수동

면역은 실험동물의 대퇴근내 조단백질과 조지방 함량에는 뚜렷한 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다(Table 1). Nassar와 Hu(1991)는 면역을 이용한 실험에서, 항체의 처리로 유의성은 없었으나 근육내 수분과 단백질 함량을 증가시키고, 반면에 지방 함량은 감소시키는 경향이 있었다고 하였다. 이는 항체의 투여로 흰쥐의 체지방이 분해되는 과정에서 지방산을 구성하고 있던 carbon source들이 단백질 합성에 이용됨으로서 나타난 결과라 생각되며, 이러한 기작을 정확히 구명하기 위해서는 향후 보다 세밀한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

#### IV. 요약

본 연구는 흰쥐 지방세포 원형질막 단백질에 대한 항혈청의 면역주사가 흰쥐 체지방 함량에 미치는 영향을 구명하기 위하여 실시되었다. 20마리의 Sprague-Dawley 흰쥐를 대조구와 항체처리구(10두/구)로 완전 임의배치하였고, 대조구에는 생리식염수를, 항체처리구에는 면양으로부터 생산해 낸 흰쥐 지방세포 원형질막 단백질에 대한 다클론항체를 면역주사하였다.

항체의 수동면역(복강주사)은 실험동물의 피하 지방(21.9%)과 신지방+장간막지방+정소의막 지방조직(36.0%)을 유의적으로(각각  $P=0.0054$ ,  $P=0.0019$ ) 감소시켰다. 항체처리구의 체중은 항체처리기간동안 감소하였지만, 처리 후 1주를 경과하면서 다시 정상체중으로 회복되었다. 혈중 glucose 농도와 근육내 조지방 및 조단백질의 수준은 항체의 처리로 인한 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과들은 면양에서 생산한 지방세포 원형질막 단백질에 대한 다클론 항체들이 육생산동물의 체지방 함량을 조절할 수 있다는 가능성을 시사해 주고 있다. 앞으로 본 연구결과의 실용화를 위하여 실용적인 측면에서의 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 인 용 문 헌

1. AOAC. 1990. Official Method of Analysis(15<sup>th</sup> Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.
2. Flint, D. J., Coggrave, H., Futter, C. E., Gardner, M. J. and Clarke, T. J. 1986. Stimulatory and cytotoxic effects of an antiserum to adipocyte plasma membranes on adipose tissue metabolism *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Obesity*. 10:69-77.
3. Flint, D. J. 1998. Effects of antibodies to adipocytes on body weight, food intake, and adipose tissue cellularity in obese rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 252:263-268.
4. Futter, C. E. and Flint, D. J. 1986. Long-term reduction of adiposity in rats after passive immunization with antibodies to rat fat cell plasma membranes. *Proceedings of the 5th international congress on obesity*. september, Jerusalem, Israel. 181-185.
5. Kestin, S., Kenndy, R., Tonner, E., Kiemam, M., Cryer, A., Griffin, H., Butterwith, S., Rhind, S. and Flint, D. J. 1993. Decreased fat content and increased lean in pigs treated with antibodies to adipocyte plasma membranes. *J. Anim. Sci.* 71: 1486-1494.
6. Moloney, A. P. and Allen, P. and Enright, W. J. 1998. Passive immunisation of sheep against adipose tissue : effects on metabolism, growth and body composition. *Livest. Prod. Sci.* 56:233-244.
7. Nassar, A. H. and Hu, C. Y. 1991. Growth and carcass characteristics of lambs passively immunized with antibodies developed against ovine adipocyte plasma membranes. *J. Anim. Sci.* 69: 578-586.
8. Panton, D., Futter, C., Kestin, S. and Flint, D. 1990. Increased growth and protein deposition in rats treated with antibodies to adipocytes. *Am. Physiol. Soc.* E985-E989.
9. SAS. 1998. SAS/STAT software for PC. SAS/STAT User guide. Statistics SAS Inst., Cary, NC, USA.
10. 백경훈, 권은진, 광태효, 정근기, 최창분. 2000. 흰쥐 지방세포 원형질막에 대한 다클론항체의 *in vitro* 세포독성 효과. *한국동물자원과학회지*. 42: 261-268.
11. 최창분, 이명진, 권은진. 1998. 면양을 이용한 돼지 지방세포 원형질막 단백질 특이 항체의 생산. *Korean J. Biomed. Lab. Sci.* 4:57-63.

(접수일자 : 2001. 10. 9 / 채택일자 : 2002. 1. 15)