

## Mice에서 CLA의 생물학적 활성이성체의 투여가 면역반응과 체구성에 미치는 영향

최미현 · 김진영<sup>1</sup> · 이병한 · 임좌진 · 정재홍\* · 정병현

건국대학교 수의과대학, \*안산공과대학

### Effect of Biologically Active Isomers of Conjugated Linoleic Acid on Immune Response and Body Composition in Mice

Mi-Hyun Choi, Jin-Young Kim<sup>1</sup>, Byung-Han Lee, Joa-Jin Lim, Jae-Hong Jeong\* and Byung-Hyun Chung

College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, 143-701, Korea

\*Ansan Technical College #170, choji-dong, Ansan city, Kyonggi-do Korea

**Abstract :** Numerous physiological effects are attributed to conjugated linoleic acid(CLA). The purpose of this study is to consider these effects with respect to the *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer. Both isomers are natural products. The c9,t11-CLA isomer is the principal dietary form of CLA, but the concentrations of this isomer and the t10,c12-CLA isomer in dairy products or beef vary depending on the diet fed to cows or steers, respectively. The influence of dietary CLA isomers on the immune response was examined, body weight and weight ratio of organ to body of Balb/C mice. Mice were divided into four groups of 8 mice. Balb/C mice were fed the experimental diets supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3) (Group 1), 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1) (Group 2), 1% safflower oil (Group 3) or nothing (Control) for 3 weeks. After 3 weeks, serum, gut lumen lavage, fat, liver, spleen and thymus were taken. Measurement of total immunoglobulin were executed using sandwich ELISA. Serum levels of IgA and IgM showed that group fed with t10,c12-CLA isomer significantly were higher than group fed with c9,t11-CLA isomer. In addition serum level of IgG showed that group fed with t10,c9-CLA isomer significantly were lower than group fed with c9,t11-CLA isomer. However, no significant differences were observed in the serum IgE and secretory IgA. Weight ratio of spleen to body showed no significant differences. In weight ratio of liver and thymus to body, t10,c9-CLA isomer significantly were respectively higher than group fed with c9,t11-CLA isomer. In weight ratio of fat to body, t10,c9-CLA isomer significantly were respectively lower than group fed with c9,t11-CLA isomer. In conclusion, t10,c12-CLA isomer produced a situation favorable for immunopotentiative effect and body composition. But it should be protected against hepatomegaly induced lipid accumulation in liver.

**Key words :** *cis*-9,*trans*-11 CLA isomer, *trans*-10,*cis*-12 CLA isomer, immunoglobulin, body composition, mice

## 서 론

CLA(conjugated linoleic acid)는 반추동물의 제1위에 서식하는 미생물인 *Butyrivibrio fibrisolvens*에 의해 linoleic acid로부터 소량 합성되어<sup>15,20</sup> 우유로 배설되어 유지방 1g당 2.9-11.3 mg의 CLA가 함유되어 있으며 그 외의 식품에서도 미량으로 존재한다<sup>18</sup>.

CLA는 오래 전부터 자연계에 존재하는 것으로 알려져 왔으나 1978년 Wisconsin 대학의 Dr. Pariza에 의해 우연히 발견되었으며<sup>27</sup> 항암효과가 있다는 것을 알게된 1987년 이 물질이 CLA임을 확인하였다<sup>11,27</sup>. 그 후 여러 연구진에 의해 항암성<sup>11,12,16,18</sup>, 항동맥경화성<sup>17</sup>, 당뇨병치료성<sup>14</sup>, 체지방 감소성<sup>9,24,29,30</sup>, 면역성증강<sup>6</sup> 등의 생리활성 기능을 갖는 물질로 확인되었다<sup>23,27</sup>.

CLA는 *cis*-9,*cis*-11 CLA isomer, *cis*-9,*trans*-11 CLA isomer, *trans*-9,*cis*-11 CLA isomer, *trans*-9,*trans*-11 CLA isomer, *cis*-10,*cis*-12 CLA isomer, *cis*-10,*trans*-12 CLA isomer, *trans*-10,*cis*-12 CLA isomer 및 *trans*-10,*trans*-12 CLA isomer의 8개의 이성체 혼합물을 종합적으로 명명한 것이다<sup>11</sup>. 화학적으로 linoleic acid로부터 합성한 CLA는 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer가 각각 41%, 44% 정도로 주요 isomer이고, 나머지는 미량으로 함유되어 있다<sup>22</sup>. CLA의 이성체 중에서도 가장 강력한 생물학적인 이성체는 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer인 것으로 알려져 있다<sup>3</sup>. c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer는 서로 다른 효과를 나타낸다는 연구가 있다. 또한 어떠한 효과는 이들 isomer들이 상호상승적으로 반응함으로써 야기되거나 증강된다고 생각된다<sup>23,25</sup>.

이 두가지 CLA isomer의 생리학적 효과의 차이에 대한 연구는 대부분 항암효과 등 *in vitro* 실험에 초점이 맞춰져 있다<sup>20-22</sup>. 그 예로 사람에게서 t10,c12-CLA isomer는 colorectal

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : kjunk215@hanmail.net

cancer 증식에 대하여 강한 항증식 효과를 나타내고, c9,c11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer는 prostate cancer에 대하여 중등도의 항증식 효과를 나타낸다<sup>21</sup>.

본 연구에서는 in vivo 실험에서 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer가 면역성 반응과 체지방 축적의 효과에서 각각 다른 효과가 있을 것으로 추정하고 그 효과를 확인하기 위하여 실험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 공시동물과 사육환경

실험동물은 평균체중 17.7±1.6 g 4주령 SPF Balb/c mice 약컷과 수컷이 각각 16마리로 총 32마리를 (주)바이오제노믹스(Charles River)에서 분양 받아 일주일 간의 적응사육 후 본 실험에 사용하였으며 실험은 3주간 진행되었다. 사육실의 환경온도는 23±2°C 이었고 습도는 60±20%로 유지하였고 12시간의 명암주기를 유지하였다.

4개의 실험군으로 나누어 각 실험군별로 암수 4마리씩 총 8마리를 배정하였고 각 실험군별로 두 개의 cage를 배당하여 암수를 격리하여 배치하였다.

사료는 Lab-Rodent Diet(Purina사 제품)를 물과 함께 자유 급여하였고, bedding은 Beta-Chip (Northeastern Products Corp.)을 사용하였다. 사료와 물은 이들에 한번씩 보충해주었으며 bedding은 일주일에 두번씩 교체하였으며 체중은 실험 기간 동안 주 2회씩 측정하였다.

### 실험군의 분류와 처치

본 실험은 3개의 실험군과 1개의 대조군으로 나누어서 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3이고 순도는 95%인 CLA를 투여한 실험군을 Group 1으로, c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1이고 순도가 75%인 CLA를 투여한 실험군을 Group 2로, 홍화씨유(linoleic acid가 풍부한 oil)<sup>20</sup>가 함유된 사료를 먹인 실험군을 Group 3으로, 일반 사료만을 먹인 실험군을 대조군으로 분류하였다.

사료와 CLA의 혼합비율은 사료 100 g에 CLA 1g을 첨가 하였으며 이와 같은 혼합비율이 최고의 항암 효과를 나타낸다는 보고를 기초로 하여 선택하였다<sup>13</sup>. Group 3에 투여된 사료는 사료 100 g에 홍화씨유 1g의 비율로 혼합하였으며 제조된 사료는 급여 때까지 -20°C 냉동실에서 보관하였다<sup>26</sup>.

### 혈청(Serum)의 분리

3 주간의 실험기간이 종료된 후 실험동물을 12시간 절식시킨 다음 ether로 가벼운 흡입마취를 하여 경정맥에서 채혈하였다. 채취된 혈액은 microfuge tube에 담고 37°C에서 한시간 동안 incubation 시킨 다음 4°C에서 3000 rpm으로 15분간 원심분리하였다. 분리된 serum은 56°C에서 30분간 waterbath에서 비동화시킨 다음 ELISA 분석 때까지 -70°C에서 냉동보관하였다.

### 장관 내 함유물(Gut lumen lavage)의 분리

혈액채취 직후 회복하여 십이지장 하단부와 맹장의 상단부를 절찰하고 양단 끝을 절제하여 분리하였다. 분리된 장의 한쪽 끝을 스탠드에 고정하여 매달아 세우고 하단부에 cornical tube를 위치시켰다. 2 ml의 cold PBS (4°C, contain soybean trypsin inhibitor 0.1 mg/ml)를 상단에서 아래로 흘러보내는 방법으로 장관내를 세척하였다. 세척된 장내용물은 2000 g에서 30분간 원심분리하여 분리된 상층액을 microfuge tube에 옮겨 담고 sandwich ELISA 분석 때까지 -70°C에서 냉동보관하였다.

### 복부장기(간, 비장, 흉선)와 복부지방의 분리

간과 비장 및 흉선은 적출하여 무게를 측정하였으며 복부지방은 생식기 주변의 지방만을 취하여 무게를 측정하였다.

### Sandwich ELISA

Primary antibody (capture antibody)로써 goat anti-mouse IgA (diluted 1/1000 in carbonate buffer), goat anti-mouse IgM (diluted 1/1000 in carbonate buffer), goat anti-mouse IgE (diluted 1/1000 in carbonate buffer)를 각각의 96-well flat bottom immuno plate (Maxisorp, NUNC)에 100 µl씩 분주하여 4°C에서 overnight 시켰다.

다음날 PBS with 0.05% Tween-20 (washing buffer)로 3회 세척한 후 PBS with 3% bovine serum albumin (3% BSA)를 각각의 well에 200 µl씩 분주한 다음 37°C에서 1시간 incubation 시킨 다음 washing buffer로 3회 세척한 후에 각 plate당 negative control을 포함하여 standard antibody인 purified mouse IgA, κ monoclonal Ig isotype standard (diluted 1/1000 in 1% BSA), IgG, whole molecule (diluted 1/2000 in 1% BSA), purified mouse IgM, κ (anti-TNP) monoclonal Ig isotype standard (diluted in 1/100 1% BSA), purified mouse Ig E, κ (anti-TNP) monoclonal Ig isotype standard (diluted 1/100 in 1% BSA)을 이진법으로 dilution한 Standard line과 검체를 100 µl씩 분주하고 다시 37°C에서 1시간 incubation 시켰다.

다시 washing buffer로 3회 세척한 다음 secondary antibody (detection antibody)인 goat anti-mouse IgA:HRP (diluted 1/1000 in 1% BSA), F(ab')<sub>2</sub> rabbit anti-mouse IgG(aff.pur):HRP (diluted 1/1000 in 1% BSA), goat anti-mouse IgM:HRP (diluted 1/1000 in 1% BSA)을 100 µl씩 분주하고 37°C에서 1시간 incubation시키고 washing buffer로 3회 세척하였다.

IgE의 경우는 secondary antibody detection 과정이 둘로 나뉜다. 우선 biotin-conjugated rat anti-mouse IgE monoclonal antibody (diluted 1/1000 in 1% BSA)을 100 µl씩 분주하고 37°C에서 1시간 incubation 시키고, washing buffer로 6회 세척한 후 avidine peroxidase conjugate (diluted 1/10000 in 1% BSA)을 마찬가지로 100 µl씩 분주한 후 37°C에서 1시간 incubation 하고 washing buffer로 6회 세

척한다.

최종적으로 substrate solution으로 ABTS를 사용하여 발색시켰다. ABTS solution을 100 μl씩 분주하여 반응시킨 후 충분히 발색이 이루어지면 여러 번에 걸쳐 405 nm의 wavelength로 ELISA reader (TECAN, Magellan version 3.0, Austria)을 이용하여 OD가를 측정하였다<sup>25</sup>.

통 계

실험결과의 유의성 및 통계처리는 SPSS 10.0을 이용하여 독립표본 T검정을 하였다 (P<0.05).

결 과

증체량

실험기간동안의 증체량은 Fig 1에서 보는 바와 같이 3주간의 체중변화에서 수컷은 각 군별로 일정한 체중증가율을 보였으나 암컷은 각 군별 체중증가율이 심한 차이를 나타내었다. 수컷의 체중증가에서 Group 3과 Control은 유사한 체중증가율을 나타낸 반면 CLA를 첨가한 Group 1과 Group 2의 체중증가율은 Group 3과 Control에 비교하여 낮았다. 하지만 각 군의 차이는 인정되지 않았다 (P>0.05).

체중에 대한 간, 비장, 흉선, 지방의 무게의 비율 차이

**Liver weight/Body weight.** 체중에 대한 간의 상대적인 무게의 차이는 Fig 2에서 보는 바와 같이 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control 군이 각각 6.64±0.79, 5.56±0.55, 4.93±0.58 그리고 5.26±0.29%로 나타났다.

c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이

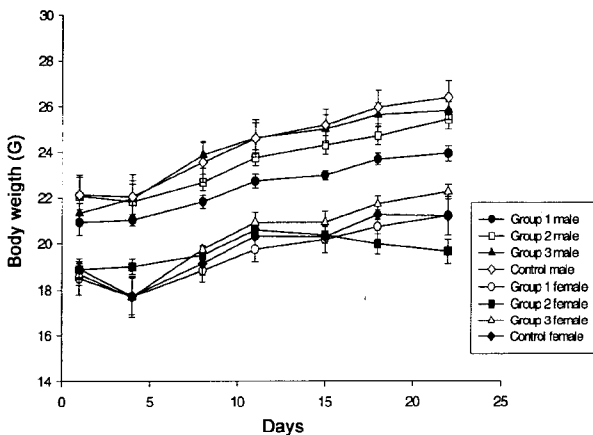


Fig 1. Body Weight

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer: t10, c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean weight ratio of liver to body and Y error bar is expressed as means±standard error (n=4).

2:3 인 순도 95% CLA를 첨가한 실험군은 다른 군들에 비해 체중에 대한 간의 상대적인 무게가 큰 것으로 나타났다(p<0.05).

**Spleen weight/Body weight.** 체중에 대한 비장의 상대적인 무게의 차이는 Fig 3에서 보는 바와 같이 Group 1,

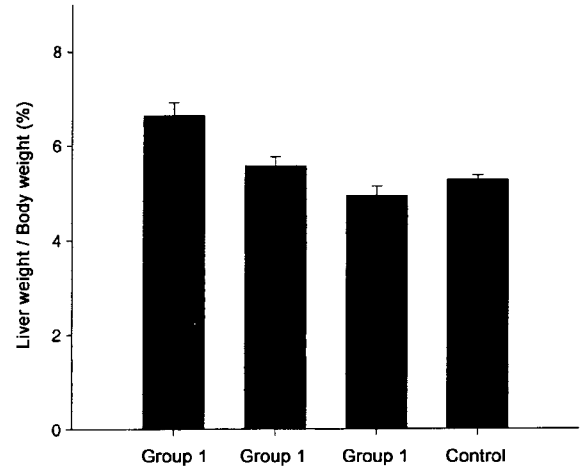


Fig 2. Weight ratio of liver to body.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer: t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean weight ratio of liver to body and Y error bar is expressed as means±standard error (n=8).

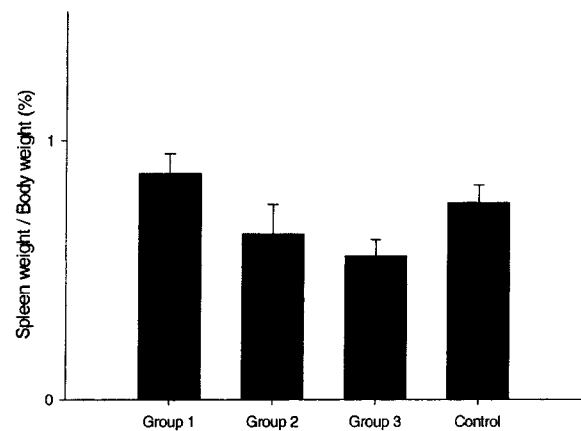


Fig 3. Weight ratio of spleen to body.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer: t10, c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean weight ratio of spleen to body and Y error bar is expressed as means±standard error (n=8).

Group 2, Group 3 그리고 Control 군이 각각  $0.87 \pm 0.22$ ,  $0.64 \pm 0.32$ ,  $0.55 \pm 0.18$  그리고  $0.76 \pm 0.19\%$ 를 나타냈다. Group 1과 Group 2의 차이는 유의성이 없었다 ( $P > 0.05$ ). 홍화씨유를 첨가한 Group 3에서는 다른 군에 비해 낮은 수준을 나타내지만, 각 군간의 차이에는 유의성을 나타내지 않았다 ( $P > 0.05$ ).

**Thymus weight/Body weight.** 체중에 대한 흉선의 상대적인 무게의 차이는 Fig 4에서 보는 바와 같이 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control 군이 각각  $0.32 \pm 0.06$ ,  $0.21 \pm 0.03$ ,  $0.26 \pm 0.10$  그리고  $0.31 \pm 0.08\%$ 를 나타냈다. c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1 인 순도 75% CLA가 첨가된 군에서 Group 1과 Control에 비해 유의성 있는 낮은 수준을 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).

**Fat weight/Body weight.** 체중에 대한 지방의 상대적인 무게의 차이는 Fig 5에서 보는 바와 같다.

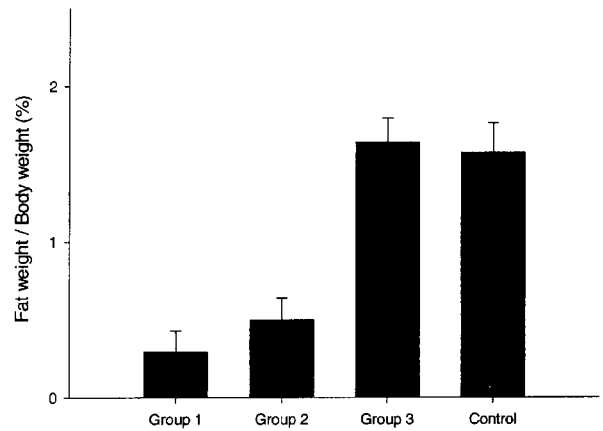
각 군의 체중에 대한 지방의 상대적인 무게 비율은 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control 군이 각각  $0.29 \pm 0.39$ ,  $0.50 \pm 0.40$ ,  $1.64 \pm 0.44$  그리고  $1.57 \pm 0.54\%$ 를 나타내어 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3인 순도 95% CLA를 첨가한 Group 1과 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1 인 순도 75% CLA가 첨가된 Group 2에서는 다른 군에 비해 상당히 낮은 수준을 나타냈고 ( $P < 0.05$ ), Group 1과 Group 2의 차이는 유의성이 인정되지 않았다 ( $P > 0.05$ ).

**혈청(serum)에서의 면역글로불린**

**Serum IgA.** 혈청 IgA의 농도는 Fig 6에서 보는 바와 같이 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control이 각각  $186.29 \pm 87.36$ ,  $108.23 \pm 38.69$ ,  $131.87 \pm 43.01$  그리고

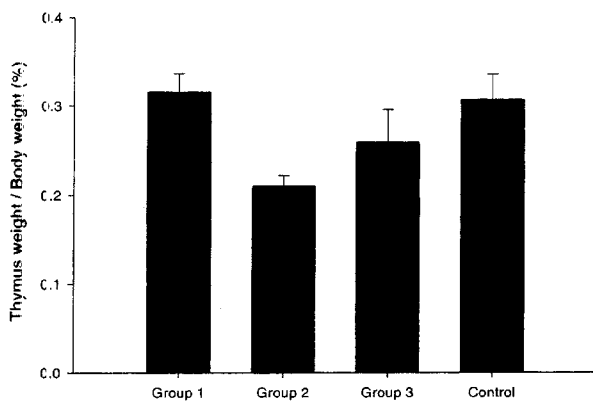
$141.77 \pm 31.26$  ng/ml을 나타냈다. c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3인 순도 95% CLA를 첨가한 Group 1은 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1 인 순도 75% CLA가 첨가된 Group 2에 비해 유의성 있는 높은 수준을 나타내었다 ( $P < 0.05$ )

**Serum IgG.** 혈청 IgG의 농도는 Fig 7에서 보는 바와 같이 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control이 각각



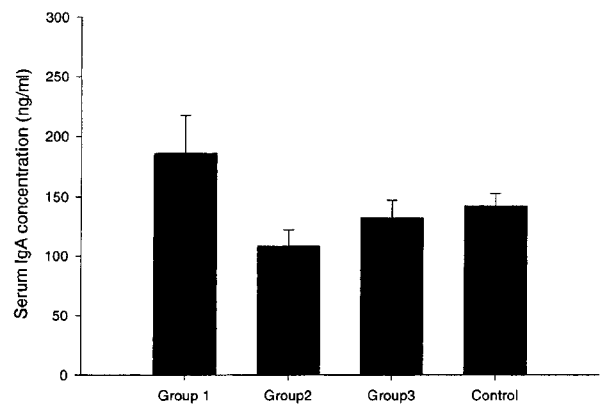
**Fig 5.** Weight ratio of fat to body.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean weight ratio of fat to body and Y error bar is expressed as means  $\pm$  standard error (n=8).



**Fig 4.** Weight ratio of thymus to body.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean weight ratio of thymus to body and Y error bar is expressed as means  $\pm$  standard error (n=8).

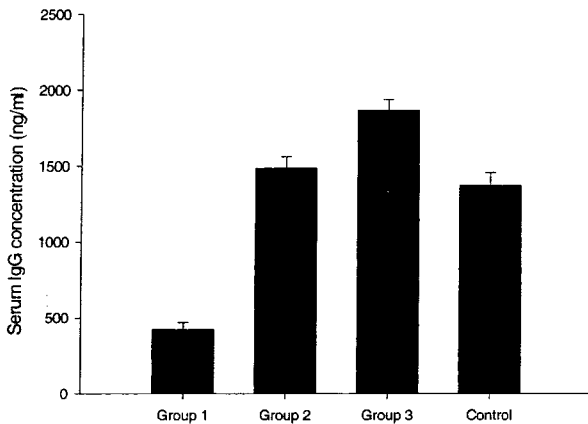


**Fig 6.** Serum Immunoglobulin A concentration.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean serum immunoglobulin A concentration and Y error bar is expressed as means  $\pm$  standard error (n=8).

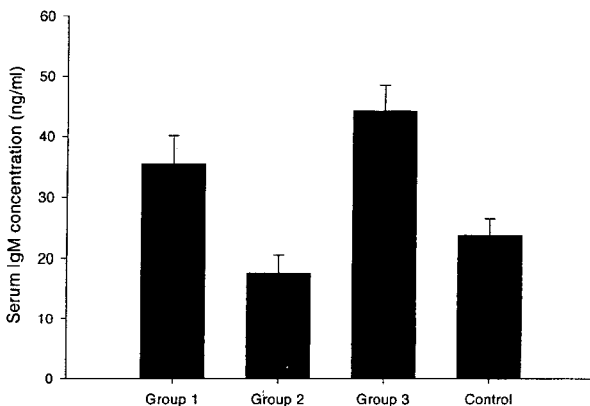
423.31±124.03, 1485.40±215.83, 1866.80±203.01 그리고 1371.09±247.43 ng/ml을 나타냈다. c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3 인 순도 95% CLA를 첨가한 Group 1은 다른 실험군에 비해 유의성이 인정되는 낮은 수준을 나타내었다 ( $P<0.05$ ).

**Serum IgM.** 혈청 IgM의 농도는 Fig 8에서 보는바와 같이 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control이 각각



**Fig 7.** Serum Immunoglobulin G concentration.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean serum immunoglobulin G concentration and Y error bar is expressed as means±standard error (n=8).



**Fig 8.** Serum Immunoglobulin M concentration.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean serum immunoglobulin M concentration and Y error bar is expressed as means±standard error (n=8).

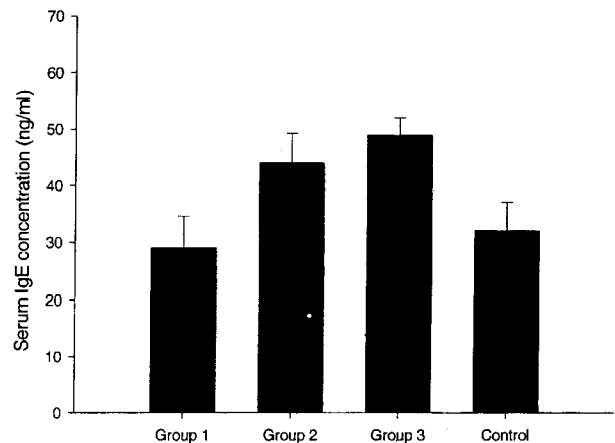
35.43±13.22, 17.63±7.91, 44.21±12.08 그리고 23.64±7.69 ng/ml을 나타냈다.

c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3 인 순도 95% CLA를 첨가한 Group 1은 c9,t11 CLA-isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1 인 순도 75% CLA가 첨가된 Group 2에 비해 높은 수준의 농도를 나타내었다 ( $P<0.05$ ). 또한, 홍화씨유를 첨가한 Group 3은 아무것도 첨가하지 않은 Control에 비해 높은 수준을 나타내었다 ( $P<0.05$ ).

**Serum IgE.** 혈청 Ig E의 농도는 Fig 9에서 보는 바와 같이 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control이 각각 29.03±15.75, 43.98±14.88, 48.84±8.83 그리고 32.07±14.03 ng/ml을 나타냈다. c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3인 순도 95% CLA를 첨가한 Group 1은 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1인 순도 75% CLA를 첨가한 Group 2과 홍화씨유를 첨가한 Group 3에 비해 낮은 수준을 나타내었지만 유의성은 나타나지 않았다 ( $P>0.05$ ).

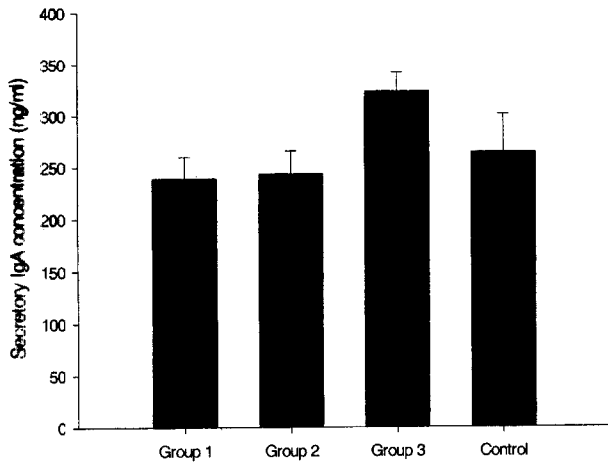
**장관 내(Gut lumen)에서의 분비성 IgA.** 장관 내로 분비되는 분비성 IgA의 농도는 Fig 10에서 보는 바와 같이 Group 1, Group 2, Group 3 그리고 Control이 각각 238.83±58.92, 243.19±62.59, 323.04±51.26 그리고 263.57±105.10 ng/ml을 나타냈다.

c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3 인 순도 95% CLA를 첨가한 Group 1과 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1인 순도 75% CLA를 첨가한 Group 2의 차이는 유의성이 인정되지 않았다



**Fig 9.** Serum Immunoglobulin E concentration.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control : group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean serum immunoglobulin E concentration and Y error bar is expressed as means±standard error (n=8).



**Fig 10.** Secretory Immunoglobulin A concentration.

Group 1: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 2:3), Group 2: group fed diet supplemented with 1% CLA (c9,t11-CLA isomer : t10,c12-CLA isomer = 1:1), Group 3: group fed diet supplemented with 1% safflower oil, Control: group fed diet supplemented with nothing. Each bar represents the mean secretory immunoglobulin A concentration and Y error bar is expressed as means  $\pm$  standard error (n=8).

( $P > 0.05$ ). 홍화씨유를 첨가한 Group 3은 CLA를 첨가한 Group 1과 Group 2에 비해 유의성 있는 높은 수준의 농도를 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).

## 고 찰

CLA는 mice<sup>24,30</sup>와 rats<sup>14</sup> 및 돼지<sup>10</sup>에서 체지방을 감소시키는 효과가 있다. CLA는 비록 사료섭취량의 감소에 중요한 역할을 하지만 크게 지방저장소인 adipocytes와 주요 지방연소 기관인 skeletal muscle cells에 직접적으로 큰 영향을 준다고 한다<sup>26</sup>. 이와 같이 서로 다른 요인들과의 관계는 명확하지는 않지만 CLA는 lipid metabolism에 밀접한 영향을 미친다<sup>26</sup>, 또한 CLA의 섭취는 apoptosis로 의해 adipose tissue를 감소시키고 lipodystrophy를 가져온다고 하였다<sup>29</sup>.

본 실험에서도 CLA를 섭취한 군(Group 1과 Group 2)과 섭취하지 않은 군(Group 3과 Control)에서의 체지방의 차이는 확연하게 CLA를 섭취한 군이 낮게 나타났다. 이 결과에 비하여, 체중의 차이는 체지방의 차이에 비해 큰 차이를 보이지 않았다.

이것은 Park *et al*<sup>24</sup>의 실험에서 논증된다. Park *et al*<sup>24</sup>은 CLA가 mouse의 body composition의 변화에 영향을 주는데 있어서 체지방 뿐만 아니라 체단백질에도 영향을 미친다고 보고했다. CLA는 체지방의 감소를 나타냄과 동시에 체단백질의 증가를 나타내기 때문에 총체중의 변화에는 그다지 많은 차이를 보이지 않으나 대조군에 대한 체지방 감소의 차이는 전체 체단백질의 증가의 차이에 비해 상당히 크

다고 했다<sup>24</sup>.

본 실험에서 순도 95%와 75%의 CLA를 섭취한 두 실험군을 비교했을 때 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3인 CLA를 섭취한 군이 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1인 CLA를 섭취한 군보다 체중에 대한 지방의 상대적 무게가 더 낮은 수준으로 나타내어, t10,c12-CLA isomer가 많이 혼합된 CLA에서 더욱 더 체지방 감소를 나타내었다.

Pariza *et al*<sup>14</sup>은 c9,t11-CLA isomer가 강화된 사료는 body composition과 관련되지 않았다고 보고하였다. Park *et al*<sup>26</sup>은 1999년에 실시한 실험에서 Body composition에 대한 CLA의 효과는 체지방 감소, 체내 수분 함량 증가, 체단백질 증가, body ash의 증가로 t10,c12-CLA isomer과 연관된다고 하였다<sup>26</sup>. t10,c12-CLA isomer는 adipocytes에 특별한 효과를 나타내는데 특히, lipoprotein lipase와 stearyl-CoA desaturase의 활성을 방해하여 지방섭취를 감소시킨다고 하였다<sup>26</sup>. 반면, Pariza *et al*<sup>14</sup>은 c9,t11-CLA isomer는 어린 설치류에서 성장과 사료효율을 증강시킨다고 하였다. 종합해 볼 때 CLA는 체지방 감소의 효과가 있는데, 특히 t10,c12-CLA isomer가 그 효과가 두드러진다고 생각된다.

참고로, Pariza *et al*<sup>14</sup>은 CLA (특히 t10,c12-CLA isomer)는 체지방 증가를 방해하지만, CLA 섭취 전에 축적된 체지방의 수준은 반드시 감소시키지는 않다고 하였다. 어린 성장하는 동물에서 CLA는 체지방 증가를 감소시켰다는 자료는 충분히 있지만, 동화작용이 없는 성숙한 동물에서의 효과의 증거는 거의 없다는 것을 근거로 하였다.

본 실험에서, 체중에 대한 간의 무게의 비율에서, c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3인 순도 95% CLA를 섭취한 군에서 다른 세 군에 비해 확연한 차이를 보이며 높은 수준을 나타내었다. 그러므로 t10,c12-CLA isomer가 c9,t11-CLA isomer에 비해 간에서의 지방 축적에 더욱 더 관여한다고 생각되어진다.

CLA는 hepatic lipid metabolism에 대한 여러가지 효과를 나타낸다고 한다<sup>23</sup>. CLA는 간에서 지방산의 대사적 상호전환이 일어난다. 결국 extrahepatic tissue에서 변화된 지방산이 축적되고 arachidonate-derived eicosanoid가 생산된다<sup>1</sup>. CLA에 의해 야기된 간에서의 지방 축적은 축중에 따라 차이가 있다고 한다. CLA가 보충된 사료를 섭취한 mice는 지질 축적으로 인해 명백하게 간이 증대된다<sup>29</sup>. 반면에 햄스터에서는 지질 축적에 의한 것이 아닌 간비대(hepatocyte enlargement)가 나타난다<sup>8</sup>. 반면에 rats나 돼지는 지질 축적이 나 간 무게의 증가가 없다<sup>23</sup>.

본 실험에서 spleen의 무게의 차이는 유의성을 나타내지 않았다 ( $P > 0.05$ ). Serum IgA는 각 군의 유의성 있는 차이는 보이지 않았지만, c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 2:3인 순도 95% CLA를 섭취한 군(Group 1)의 수준이 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 비율이 1:1인 순도 75% CLA를 섭취한 군(Group 2)에 비해 높은 수준을 보여준다. IgG은 군별 유의

성 있는 차이를 보여주는데 ( $P < 0.05$ ), Group 1의 수준이 Group 2에 비해 낮은 수준을 보이고, IgM은 역시 군별 유의성 있는 차이를 보여주는데 ( $P > 0.05$ ), Group 1의 수준이 Group 2에 비해 높은 수준을 보여준다. IgE는 군별 유의성 있는 차이는 보이지 않았지만 ( $P > 0.05$ ), Group 1과 Group 2에서는 Group 1이 Group 2보다 낮은 수준을 나타낸다 ( $P < 0.05$ ). 분비성 IgA는 군별 유의성 있는 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

Sugano *et al.*<sup>28</sup>이 실시한 rats를 이용한 실험에서 비장에서 immunoglobulin의 수준은 혈청에서의 수준을 반영하는데, 1% CLA를 급여한 rats의 비장의 IgA, IgG, IgM의 수준은 증가했으나, IgE는 매우 감소하였다. 또한 spleen의 무게가 대조군에 비해 높은 수준을 보여주었다<sup>28</sup>.

흥미로운 것은 CLA는 immunoglobulin의 생산에 있어서 그 종류에 따라 특이적으로 작용하여 조절한다는 것이다. Food allergy 반응은 allergen-specific IgE의 생산에서부터 처음 시작된다<sup>28</sup>. 따라서, c9,t11-CLA isomer에 비해 낮은 수준의 IgE를 나타내는 t10,c12-CLA isomer는 food allergy 반응이 상대적으로 적게 나타날 것이다.

t10,c12-CLA isomer는 c9,t11-CLA isomer와 종합적으로 비교할 때, CLA 섭취에 의한 allergy 반응은 IgE의 생산 수준이 낮기 때문에 덜 나타난다. 반면에, IgA와 IgM의 생산 수준이 높기 때문에 유입된 allergen에 대한 antiallergic factor로서의 역할은<sup>28</sup> 더 높은 수준으로 나타날 것이다. 체지방 감소의 효과 또한 월등하여 body composition 변화에 많은 영향을 미친다. 하지만, 간에서의 지질 축적 효과 또한 크기 때문에, t10,c12-CLA isomer의 섭취에 있어서 주의를 요한다.

## 결 론

본 연구는 면역성의 증강효과와 체지방 감소효과 뿐만 아니라, 항암효과, 항산화작용, 항콜레스테롤 효과, 성장촉진효과, 골대사 등 여러 효과가 있는 것으로 알려진 CLA의 여러 이성질체 중 가장 대표적인 c9,t11-CLA isomer와 t10,c12-CLA isomer의 생체 내에서의 면역성 증강효과와 체지방 감소효과를 비교하기 위하여 2종류의 CLA가 첨가된 사료와 홍화씨유가 첨가된 사료 그리고 일반 사료를 mice에게 3주간 자유급여시켰다.

3주 후, 혈청면역글로불린 IgA, IgG, IgM과 IgE와 장관 점막의 분비성 면역글로불린 IgA의 역가를 측정하고, 체중변화를 살펴보고, 각 장기의 무게를 측정하였다.

CLA 투여는 체중변화에 증체를 저하를 나타냈으나, 각 군의 차이는 유의성이 인정되지 않았다( $P > 0.05$ ). 혈청면역글로불린 IgA, IgM은 t10,c12-CLA isomer를 섭취한 군이 c9,t11-CLA isomer를 섭취한 군에 비해 높은 수준을 보였고( $P < 0.05$ ) 혈청면역글로불린 IgG는 t10,c12-CLA isomer를 섭취한 군이 c9,t11-CLA isomer를 섭취한 군에 비해 낮은 수준을 나타내었다( $P < 0.05$ ). 그러나 혈청면역글로불린 IgE

와 장관점막의 분비성 면역글로불린 IgA는 t10,c12-CLA isomer를 섭취한 군과 c9,t11-CLA isomer를 섭취한 군간의 차이를 보이지 않았다 ( $P > 0.05$ ).

체중에 비례한 간과 흉선의 무게는 t10,c12-CLA isomer를 섭취한 군이 c9,t11-CLA isomer를 섭취한 군에 비해 높은 수준을 보였었다 ( $P < 0.05$ ). 그러나 체중에 비례한 지방과 비장의 무게는 t10,c12-CLA isomer를 섭취한 군과 c9,t11-CLA isomer를 섭취한 군간의 유의성있는 차이는 없었다( $P > 0.05$ ).

이상을 종합해보면 t10,c12-CLA isomer는 c9,t11-CLA isomer에 비해 면역증강 효과와 체지방 감소 효과가 높았지만 간에 대해서는 무게가 증가하는 것으로 확인되었다.

## 참 고 문 헌

1. Belury MA, Kempa-Steczko A. Conjugated Linoleic Acid Modulates Hepatic Lipid Composition in Mice. *Lipids* 1997; 32: 199-204.
2. Belury MA, Moya-Camarena SY, Liu K, et al. Dietary conjugated linoleic acid induces peroxisome specific enzyme accumulation and ornithine decarboxylase activity in mouse liver. *Nutritional Biochemistry* 1997; 8: 579-584.
3. Berdeaux O, Voinot L, Angioni E, et al. A Simple Method of Preparation of Methyl trans-10,cis-12- and cis-9,trans-11-Ocradecadienoates from Methy Linoleate. *JAOCS* 1998; 75: 1749-1755.
4. Brown JM, Halvorsen YD, Lea-Currie YR, et al. Trans-10, cis-12, but not cis-9, trans-11, conjugated linoleic acid attenuates lipogenesis in primary culture of stromal vascular cells from human adipose tissue. *J Nutr* 2001; 131: 2316-2321.
5. Cochet O, Teillaud J, Sautes C. Isotype determination of antibodies by sandwich ELISA, in: *Immunological Techniques Made Easy*, WILEY, Chichester 1998: 172-174.
6. Cook ME, Miler CC, Pariza M. Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. *Poultry science* 1993; 72: 1301-1305.
7. Decker EA. The Role of Phenolics, Conjugated Linoleic Acid, Carnosine, and Pyrroloquinoline Quinone as Nonessential Dietary Antioxidants. *Nutrition Reviews* 1995; 53: 49-58.
8. de Deckere EAM, van Amelsvoort JMM, McNeil GP, et al. Effects of conjugated linoleic acid(CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. *British Journal of Nutrition* 1999; 82: 309-317.
9. DeLany JP, Blohm F, Truett AA, et al. Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Am J Physiol* 1999; 276: R1172-R1179.
10. Dugan ME, Aalhus JL, Schaefer AL, et al. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Canadian Journal of Animal Science* 1997; 77: 723-725.
11. Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 1987; 8: 1881-1887.
12. Ha YL, Storkson J, Pariza MW. Inhibition of benzo(a)pyrene-

- induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Research* 1990; 50: 1097-1101.
- 13 Hayek MG, Han SN, Wu D, *et al.* Dietary Conjugated Linoleic Acid Influences the Immune Response of Young and Old C57BL/6NCrIBR Mice. *J Nutr* 1999; 129: 32-38.
  - 14 Houseknecht KL, Vanden Heuvel JP, Moya-Camarena, *et al.* Dietary Conjugated Linoleic Acid Normalizes Impaired Glucose Tolerance in the Zucker Diabetic Fatty *fa/fa* Rat. *Biochem. Biophys. Res. Comm* 1998; 244: 678-682.
  - 15 Hughes PE, Hunter WJ, Tove SB. Biohydrogenation of Unsaturated Fatty Acids. *The Journal of Biological Chemistry* 1982; 257: 3643-3649.
  - 16 Ip C, Chin SF, Scimeca JA, *et al.* Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research* 1991; 51: 6118-6124.
  - 17 Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1994; 108: 19-25.
  - 18 Liew C, Schut HA, Chin SF, *et al.* 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 mechanisms. *Carcinogenesis* 1995; 16: 3037-3043.
  - 19 Miller A, Stanton C, Devery R. Modulation of Arachidonic Acid Distribution by Conjugated Linoleic Acid Isomers and Linoleic Acid in MCF-7 and SW480 Cancer Cells. *Lipids* 2001; 36: 1161-1168.
  - 20 Mir Z, Rushfeldt ML, Mir PS, *et al.* Effect of dietary supplementation with either conjugated linoleic acid (CLA) or linoleic acid rich oil on the CLA content of lamb tissue. *Small Ruminant Research* 2000; 36: 25-31.
  - 21 Palombo JD, Ganguly A, Bistrian BP, *et al.* The anti-proliferative effects of biologically active isomers of conjugated linoleic acid on human colorectal and prostatic cancer cells. *Cancer Lett* 2002; 177: 163-172.
  - 22 Pariza M, Park Y, Cook ME. Mechanisms of Action of Conjugated Linoleic Acid: Evidence and Speculation. *Pro Soc Exp Biol* 1999; Med 223: 8-13.
  - 23 Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research* 2001; 40: 283-298.
  - 24 Park Y, Albright KJ, Liu W, *et al.* Effect of Conjugated Linoleic Acid on Body Composition Changes in Mice. *Lipids* 1997; 32: 853-858.
  - 25 Park Y, Pariza MW. The effects of dietary conjugated nonadecadienoic acid on body composition in mice. *Biochimica et Biophysica Acta* 2001; 1533: 171-174.
  - 26 Park Y, Storkson JM, Albright KJ, *et al.* Evidence That the trans-10,cis-12 Isomer of Conjugated Linoleic Acid Induces Body Composition Changes in Mice. *Lipids* 1999; 34: 235-241.
  - 27 Scimeca JA, Miller GD. Potential Health Benefits of Conjugated Linoleic Acid. *Journal of the American College of Nutrition* 2000; 19: 470S-471S.
  - 28 Sugano M, Tsujita A, Yamasaki M, *et al.* Conjugated Linoleic Acid Modulates Tissue Levels of Chemical Mediators and Immunoglobulins in Rats. *Lipids* 1998; 33: 521-527.
  - 29 Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Tanemura K, *et al.* Conjugated Linoleic Acid Supplementation Reduce Adipose Tissue by Apoptosis and Develops Lipodystrophy in Mice. *Diabetes* 2000; 49: 1534-1542.
  - 30 West DB, Delany JP, Camet PM, *et al.* Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am J Physiol* 1998; 275: R667-R672.