

ω -3 및 ω -6계 지방산 첨가 사료의 급여가 어린 병아리에서 면역기관 내 지방산 조성에 미치는 영향

안병기¹ · 연제영² · 지규만*

고려대학교 생명과학대학, ¹건국대학교, ²(주) CKF

Effects of Dietary ω -3 and ω -6 Polyunsaturated Fatty Acids on Fatty Acid Composition of Immune Organs in Young Chicks

B. K. Ahn¹, J. Y. Youn² and K. M. Chee

College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University,

¹Kunkuk University, ²CKF

ABSTRACT : Effects of various combinations of corn oil (CO) and perilla oil (PO) as respective dietary sources of ω -6 and ω -3 polyunsaturated fatty acids on fatty acid profiles of immune organs were studied in young chicks. Seventy-five 1-day-old male (ISA Brown) chicks were assigned to five treatments with three replications. Semi-purified-type diets containing glucose and soybean meal as major ingredients were added with 8% CO, 6% CO+2% PO, 4% CO+4% PO, 2% CO+6% PO and 8% PO and fed for 7 weeks. There were no significant differences in body weight gain, feed intake and relative weights of liver and immune organs (g/100g body weight) among dietary groups. Dietary fatty acid patterns were generally reflected in the fatty acid compositions of all immune organs such as spleen, thymus and bursa of Fabricius. The levels of α -linolenic acid (LNA), eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid in various immune organs increased with increasing levels of perilla oil in the diets, while the levels of linoleic acid (LA) and arachidonic acid (AA) decreased. Thymus appeared to have capacity to retain remarkably higher ($P<0.05$) levels of LA and LNA up to 37 and 22%, respectively, compared to the other organs. Thymic tissue contained ω -3 fatty acid and ω -6 fatty acid 10~36 times and 3~5 times higher than the other organs, respectively. Spleen tissue was specifically higher ($P<0.05$) in the levels of AA and EPA and the ratios of AA/LA and EPA/LNA, compared to the other organs, suggesting that the tissue might have high desaturase activity to convert LA or LNA to AA or EPA, respectively. BSA antibody production tended to increase by 18~32% with higher levels of perilla oil in diet, although the increase was not statistically significant.

In conclusion, fatty acid compositions of immune organs vary depending on the lipid composition of the diets and each organ appears to respond differently for its fatty acid profile to dietary lipids. Considering AA and EPA are precursors of many important eicosanoids, further studies are required to clarify the responses of the immune organs to the dietary fatty acids.

(Key words: dietary fatty acids, fatty acids in immune organs, ω -6/ ω -3 ratio, perilla oil, chicks)

서 론

지방산이 면역세포에 작용하여 면역반응에 영향을 미친다는 것을 잘 알려져 있다. ω -6 및 ω -3계의 다불포화지방산(polyunsaturated fatty acid, PUFA)은 체내에서 에너지 공급원으로서의 기능 이외에 prostaglandins, leukotrienes이나 throm-

boxanes와 같은 eicosanoids의 전구체로서 세포성(cell-mediated) 면역과 체액성(humoral) 면역의 중요한 조절 역할을 한다(Kinsella et al., 1990; Fritsche et al., 1991a).

이 두 가지 계열의 지방산은 생체 내에서 생리적, 생화학적으로 서로 다른 기능을 나타낼 수 있는데, 그 이유는 이들을 전구체로 하여 만들어지는 eicosanoids의 기능이 서로 상

이 연구는 고려대학교 특별 연구비에 의해 수행되었음.

* To whom correspondence should be addressed : cheekm@korea.ac.kr

반되거나 정도의 차이가 있는 것들이 많기 때문이다 (Simopoulos, 1989). 예를 들어 ω -3 계열의 지방산인 EPA (eicosapentaenoic acid, C20: 5 ω -3)로부터 합성되는 eicosanoids는 ω -6 계열 지방산인 AA (arachidonic acid, C20:4 ω -6)로부터 합성되는 것들에 비해 inflammation mediator로서의 기능이 떨어진다. 이들 지방산의 섭취 비율이 달라지면 생산되는 eicosanoids의 종류가 달라져 결국은 직접, 간접적으로 생체의 면역 반응에 영향을 미칠 수 있다(Kelly, 2001).

육계 병아리 생체나 면역세포(Friedman과 Sklan, 1995; Fritsche와 Cassity, 1992), 산란계 (Sijben 등, 2002), 칠면조 (Friedman과 Sklan, 1997) 또는 인체 (Calder 와 Grimble, 2002)에서도 불포화지방산의 섭취 수준이나 섭취 비율이 변함에 따라 이질 단백질에 대한 항체 반응이 달라졌다는 보고가 있다. 이와 같이 섭취한 사료 지방산량과 ω -3/ ω -6 지방산의 비율에 따라 면역 반응이 달라질 수 있다는 것은 닭의 질병에 대한 생체 방어 능력이란 관점에서 사료지방산의 의미가 단순한 에너지 급원의 차원을 넘어 그 이상으로 중요해질 수 있음을 뜻한다.

Fritsche 등(1991b)은 암컷 병아리에서 섭취한 지방산이 면역조직의 지방산 조성에 미치는 영향을 조사하면서 면역 조직에 따라 지방산의 조성과 PUFA 축적량이 달라짐을 보고 하였다. 옥수수유, 아미인유, 카놀라유와 어유 등을 급여할 때 비장, F낭 및 흉선의 지방산 조성이 달라지며, 특히 어유와 아미인유 섭취군의 면역조직에서 EPA와 DHA (docosahexaenoic acid, C22: 6 ω -3) 함량이 크게 증가하였음을 보였다. 이 두 가지 지방산 함량은 아미인유 섭취군에서 어유군에 비해 절반의 수준에 불과하였다.

본 연구에서는 Fritsche 등(1991b)의 연구와 약간 다른 실험설계에 의해 사료 지방산 조성이 면역기관의 지방산 조성에 미치는 영향을 조사코자 하였다. 사료에 첨가할 지방산 급원을 단순화 시켜 ω -3 지방산 급원으로 아미인유 대신 우리나라에 풍부하며 우리 식생활에서 많이 활용되고 있는 들깨유를 선택하였고 ω -6 지방산 급원은 옥수수유를 그대로 사용하였다. 이 두 가지 지방의 첨가비율을 달리하면서 사료 내 ω -3/ ω -6 지방산 비율을 단계적으로 변화시켰다. 실험사료의 탄수화물 원료로 포도당을, 단백질 원료로 탈지된 대두박을 사용하여 사료 원료의 구성 지방산으로부터의 영향을 최소화 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 설계, 실험사료 및 공시동물

실험동물로 1일령 ISA-Brown 수평아리 75수를 사용하였다. 병아리의 체중을 개체별로 측정하여 각 반복구별로 평균 체중이 동일하도록 하였고, 5개의 처리구에 처리당 3반복, 반복당 5수씩 나누어 배터리형 케이지에 임의배치하였다. 실험사료는 대두박과 포도당을 위주로 한 반정제(semi-purified) 사료였으며, 옥수수유(corn oil, CO)와 들깨유(perilla oil, PO)를 중량비로 각각 8과 0% (CO 8%군), 6과 2%(CO 6%+PO 2%군), 4와 4% (CO4%+PO4%군), 2와 6% (CO 2%+PO 6%군), 0과 8% (PO 8%군)씩 첨가하였다.

이 사료를 1일령부터 실험 종료 시까지 7주간 급여하였다. 대사에너지와 조단백질 및 기타 영양소 수준은 NRC 요구량 (1994)에 맞추어 배합하였다. 실험 사료조성은 Table 1에서와 같다. 실험기간의 사육관리는 일반관행에 따랐으며, 실험기간 내내 종일점등을 실시하였다. 실험 사료와 물은 자유롭게 섭취토록 하였다.

2. 재료 및 방법

1) 사료섭취량, 증체율, 간 및 면역기관 중량

사료섭취량과 체중은 정기적으로 측정하였다. 실험종료시에 간조직 및 면역기관 (비장, 흉선, F낭)을 채취하여 무게를 측정하였고, 체중 100g당 상대적 중량으로 환산하여 표시하였다. 채취한 면역기관은 지방산 조성을 조사하기 위해 분석 전까지 -30℃에서 동결 보존되었다.

2) 항체 형성 조사

실험 사료 급여 2주후에 각 반복구별로 평균체중에 해당하는 개체 3수씩을 선발하여 bovine serum albumin (BSA)과 Freund's Adjuvant (complete type)를 혼합한 혼합 용액을 1 ml 씩 복부 주위에 피하 주사하였다 (Friedman과 Sklan, 1995). 주사 후 2주째와 4주째에 익하정맥에서 채혈한 혈액에서 혈청을 분리하였고, 혈청 내 anti-BSA antibody 의 생성량을 측정하였다.

항체가 측정은 Leiter 등(1989)의 방법에 의하였다. Blocking buffer로 1,000배 희석한 혈청을 BSA로 코팅해 둔 Maxisorp ELISA plate에 150 μ l 씩 주입하였다. Washing buffer로 2~3차례 세척한 후 peroxidase-labeled rabbit anti-chicken IgG antibody를 주입하여 혈청 내의 anti-BSA antibody와 결합시켰다. o-Phenylene-diamine 반응액을 주입하여 발색시킨 후 결합된 anti-BSA antibody의 흡광도를 ELISA reader로 405 nm에서 측정하여 항체가로 나타냈다.

Table 1. Composition of semi-purified type experimental diets to provide various ratios of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids

Ingredients and Nutrient contents	Dietary groups ¹				
	CO 8%	CO 6%+ PO 2%	CO 4%+ PO 4%	CO 2% PO 6%	PO 8%
			%		
Corn oil	8.00	6.00	4.00	2.00	-
Perilla oil	-	2.00	4.00	6.00	8.00
Glucose	41.70	41.70	41.70	41.70	41.70
Soybean meal	43.20	43.20	43.20	43.20	43.20
α -Cellulose	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91
Dicalcium phosphate	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
Limestone	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
NaCl	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
Vitamin mixture ²	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Mineral mixture ³	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
DL-methionine	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
Total	100	100	100	100	100
	Nutrients contents, calculated				
AME, kcal/kg	3,064	3,064	3,064	3,064	3,064
Crude protein, %	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0
Linoleic acid, % fatty acid	56.7	45.5	34.4	23.2	12.1
α -Linolenic acid, % fatty acid	0.4	16.8	33.1	49.5	65.8

¹ CO, corn oil; PO, perilla oil.

² Vitamin mixture provides the followings per kg of diet: vitamin A, 10,000 IU; vitamin D₃, 600 IU; vitamin E, 20 mg; menadione 5 mg; vitamin B₁, 100 mg; vitamin B₂, 16 mg; vitamin B₆, 6 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; niacin, 100 mg; Ca-pantothenate, 20 mg; biotin, 0.6 mg; folic acid, 4 mg; inositol, 100 mg; PABA, 2 mg; vitamin C, 250 mg.

³ Mineral mixture provides the followings per kg of diet: K, 2.0 mg; Fe, 80 mg; Zn, 40 mg; Mn, 55 mg; Mg, 600 mg; Cu, 4.0 mg; I, 0.35 mg; Mo, 3.9 mg; Se 0.1mg; Co, 0.21 mg; B 1.58 mg.

3. 면역기관 내 지방산 조성

채취한 면역조직은 별다른 가공처리를 없이 모든 조직전체를 그대로 분석에 사용하였다. 균질화한 조직 시료 일정량에 20배에 해당하는 Folch용액(chloroform: methanol=2:1, v/v)을 넣어 총지질을 추출하였다(Folch et al., 1957). 추출한 지질은 Lepage와 Roy(1986)의 one step direct transesterification 방법에 의해 methylation 처리하였다. 지방산은 0.25 mm×30 m(Omegawax-320, Supelco Inc., Bellefonte, PA) capillary column을 사용하여 gas chromatography(5890-A, HP Co., Avondale, PA)로 분석하였다. Carrier gas로 헬륨을 이용하였으며 splitless mode로 하였고 column의 초기온도를 220℃로 하고

isocratic 조건에서 분석하였다. Injector와 detector의 온도는 각각 250℃와 270℃로 설정하였다. Heptadecanoic acid (C17:0, Nu-Chek Co.)를 내부표준물질로 사용하여 각 지방산의 무게를 정량하였다. 각 지방산 종류는 표준 지방산 (Nu-Check Prep, Inc., Elysian, MN)과 data acquisition system (CR-4AD, Shimadzu, Japan)을 이용하여 retention time 방법으로 확인하였으며, 결과는 총지방산 함량에 대한 비율로 표시하였다.

4. 통계 분석

모든 실험결과들의 분산분석은 SAS[®] (SAS Institute, 1990)의 General Linear Model (GLM) program을 이용하여 one-way

ANOVA에 의해 수행하였다. 실험 처리평균간의 유의차는 Duncan의 다중검정법에 의해 $p < 0.05$ 를 기준하여 조사하였다 (Duncan, 1955).

실험결과

각 처리구별 평균 증체량, 사료섭취량, 체중 100 g당 간장 및 면역 기관의 중량은 전반적으로 처리구간에 유의한 차가

없었고, 어떤 경향도 보이지 않았다. 전체 실험기간의 증체량은 개체 간에 차이가 커서 407~536 g의 변이를 보였고, 사료섭취량도 개체별 하루 평균 25~30 g으로 차이가 큰 편이었다. 체중의 백분율로 나타낸 간 중량은 2.0~2.3 g, F낭 0.4~0.5 g, 흉선 0.4~0.6 g 그리고 비장은 0.2~0.3 g 수준이었다.

흉선, F낭 및 비장의 지방산 조성을 측정한 결과는 각각 Table 2, 3 및 4에서와 같다. 총 포화지방산 함량은 F낭과 비장에서 33~49% 인데 비해 흉선에서 22~25.7% 수준이었

Table 2. Effects of diets containing various ratios of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids on thymus fatty acid composition in chicks at 7 wk of age¹

Fatty acids	Dietary groups				
	CO 8%	CO 6%+ PO 2%	CO 4%+ PO 4%	CO 2% PO 6%	PO 8%
	----- % total fatty acids -----				
C14:0	0.4±0.1 ²	0.4±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1	0.6±0.5
C16:0	15.6±0.4	15.7±0.1	16.1±1.1	15.8±0.6	15.0±1.2
C16:1 ω -7	0.9±0.3	1.2±0.4	1.2±0.7	1.2±0.5	1.4±0.4
C18:0	8.3±1.3	6.5±3.1	8.4±2.9	9.0±2.4	7.8±1.9
C18:1 ω -9	27.7±1.7	29.7±1.2	21.9±9.1	26.6±1.0	30.0±1.6
C18:2 ω -6	37.0±3.9 ^a	31.8±1.7 ^b	25.1±1.9 ^c	20.2±0.3 ^d	13.7±0.7 ^e
C18:3 ω -6	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1
C18:3 ω -3	0.6±0.1 ^a	5.5±0.2 ^b	10.5±2.6 ^c	16.3±4.3 ^d	22.5±4.3 ^e
C20:0	0.3±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
C20:1 ω -9	0.5±0.1	0.5±0.1	0.4±0.1	0.4±0.2	0.4±0.1
C20:3 ω -6	0.3±0.1	0.2±0.1	0.3±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1
C20:4 ω -6	1.6±0.7 ^a	0.8±0.1 ^b	1.1±0.7 ^{ab}	0.6±0.3 ^b	0.3±0.2 ^b
C20:5 ω -3	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^{ab}	0.5±0.2 ^{abc}	0.6±0.4 ^{bc}	0.6±0.4 ^c
C22:5 ω -3	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^b	0.5±0.3 ^c	0.6±0.2 ^c	0.5±0.2 ^c
C22:6 ω -3	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1
Total SFA	25.0±1.8	22.8±3.5	25.4±3.9	25.8±2.9	23.8±3.6
Total MUFA	29.3±2.0	31.5±1.4	23.7±9.4	28.3±1.3	32.1±1.7
Total PUFA	40.2±3.1	39.1±1.5	38.5±3.1	39.0±3.5	38.1±3.9
Total ω 6	39.4±3.1 ^a	33.1±1.5 ^b	26.8±1.3 ^c	21.4±0.3 ^d	14.5±0.6 ^e
Total ω 3	0.8±0.1 ^a	6.0±0.3 ^b	11.6±2.0 ^c	17.6±3.8 ^d	23.7±3.7 ^e
ω 6/ ω 3 ratio	53.3	5.6	2.3	1.3	0.6

¹ CO, corn oil; PO, perilla oil; SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

² Mean±SD of three replicates consisting of three birds each.

^{a-e} Means within each row with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

Table 3. Effects of diets containing various ratios of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids on fatty acid composition in bursa of Fabricius of chicks at 7 wk of age¹

Fatty acids	Dietary groups				
	CO 8%	CO 6%+ PO 2%	CO 4%+ PO 4%	CO 2% PO 6%	PO 8%
	----- % total fatty acids -----				
C14:0	0.9±0.1 ²	1.0±0.1	1.0±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1
C16:0	19.2±3.3	21.0±1.6	21.0±1.0	19.8±0.5	20.2±0.3
C16:1 ω -7	4.3±2.0	3.5±0.5	3.1±0.6	3.3±1.2	2.8±0.7
C18:0	21.9±3.5	23.8±2.0	23.7±2.1	21.7±0.5	24.1±2.4
C18:1 ω -9	11.8±1.1	13.4±2.4	13.1±1.1	14.7±0.9	13.6±2.3
C18:2 ω -6	11.9±1.0 ^a	12.3±2.4 ^a	9.1±0.5 ^b	9.0±0.9 ^b	5.9±0.4 ^c
C18:3 ω -6	0.1±0.1 ^a	0.1±0.2 ^a	0.6±0.2 ^b	0.4±0.3 ^b	ND
C18:3 ω -3	0.5±0.1 ^a	0.8±0.3 ^{ab}	2.3±0.3 ^b	5.7±0.9 ^c	4.9±1.7 ^c
C20:0	0.3±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
C20:1 ω -9	0.5±0.1	0.5±0.1	0.4±0.0	0.4±0.1	0.4±0.1
C20:3 ω -6	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1
C20:4 ω -6	1.5±0.5	0.9±0.1	0.8±0.3	0.6±0.3	0.4±0.3
C20:5 ω -3	0.1±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1	0.6±0.2	0.7±0.4
C22:5 ω -3	0.1±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1	0.6±0.2	0.5±0.2
C22:6 ω -3	ND	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
Total SFA	43.2±6.6	47.4±2.9	47.7±2.6	45.7±0.6	49.3±3.0
Total MUFA	16.7±3.2	17.7±1.9	17.5±0.9	19.4±1.6	17.2±1.8
Total PUFA	19.4±1.7	17.7±1.6	15.1±0.5	17.5±1.2	14.0±4.1
Total ω 6	17.0±1.5 ^a	16.2±1.7 ^a	12.5±0.8 ^b	11.6±1.3 ^b	7.3±0.2 ^c
Total ω 3	2.2±0.3 ^a	1.6±0.7 ^a	2.6±0.4 ^{ab}	5.9±0.7 ^{bc}	6.6±4.0 ^c
ω 6/ ω 3 ratio	7.7	12.3	5.0	2.0	1.4

¹ CO, corn oil; PO, perilla oil; SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

² Mean±SD of three replicates consisting of three birds each.

^{a-c} Means within each row with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

고, 그 대신 단일불포화지방산(monounsaturated fatty acid, MUFA)과 PUFA의 함량은 흥선에서 가장 많았다.

흥선 조직의 지방산은 전반적으로 섭취한 사료내 지방산 조성의 영향을 크게 반영하였다. 옥수수유의 첨가수준이 높을수록 LA(linoleic acid, C18:2 ω -6) 함량이 많아지며 들깨유의 첨가 수준이 증가함에 따라 LA 함량 비율이 크게 감소하면서 반면에 LNA(α -linolenic acid, C18:3 ω -3) 함량이 0.61%에서 22.5% 까지 많이 증가하였다. 이들 지방산의 주요 대사

물인 AA와 EPA 함량도 상대적으로 비슷한 경향을 보였다. AA의 함량은 CO 8%구에 비교하여 PO 8%구에서 1/5수준(1.58 대 0.33%)으로 크게 감소하였다. 들깨유의 첨가 수준이 높아짐에 따라 장쇄 ω -3계 불포화지방산인 EPA와 DPA(docosapentaenoic acid, C22:5 ω -3)의 함량이 증가하는 경향을 보였다. 실험 처리구간에 총 포화지방산, MUFA 및 PUFA의 함량에서는 차이가 없었으나, ω -6계 지방산의 총량(39.4에서 14.5%)과 ω -3계 지방산의 총량(0.75에서 23.7%)은 옥수수

Table 4. Effects of diets containing various ratios of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids on spleen fatty acid composition in chicks at 7 wk of age¹

Fatty acids	Dietary groups				
	CO 8%	CO 6%+ PO 2%	CO 4%+ PO 4%	CO 2% PO 6%	PO 8%
	----- % total fatty acids -----				
C14:0	0.4±0.1 ²	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1
C16:0	25.5±3.1	22.7±1.3	20.1±3.6	23.5±2.0	22.0±0.9
C16:1 ω -7	0.2±0.2	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
C18:0	16.4±1.1	17.8±2.2	15.7±1.8	17.9±0.3	18.0±1.4
C18:1 ω -9	15.7±1.4	14.6±1.1	13.4±2.3	17.0±1.0	17.3±1.6
C18:2 ω -6	17.7±2.7	15.0±1.6	14.3±3.8	14.6±0.7	9.9±0.6
C18:3 ω -6	0.1±0.1	0.1±0.1	0.8±1.3	0.1±0.1	0.9±1.3
C18:3 ω -3	0.1±0.1 ^a	1.0±0.4 ^a	0.6±0.9 ^a	3.3±1.8 ^b	5.1±0.5 ^b
C20:0	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1
C20:1 ω -9	0.1±0.2	0.2±0.2	0.2±0.2	0.3±0.4	0.4±0.2
C20:3 ω -6	0.4±0.3	0.6±0.1	0.6±0.1	0.2±0.4	0.7±0.1
C20:4 ω -6	7.9±0.8 ^a	7.0±1.6 ^{ab}	6.7±1.9 ^{ab}	5.2±1.0 ^{bc}	2.9±0.4 ^c
C20:5 ω -3	ND	0.3±0.3 ^a	0.8±0.7 ^{ab}	1.7±0.4 ^b	3.0±0.2 ^c
C22:5 ω -3	ND	0.5±0.5 ^a	0.7±0.6 ^a	0.8±0.7 ^a	1.9±0.2 ^b
C22:6 ω -3	ND	0.3±0.3	0.3±0.3	0.2±0.3	0.3±0.4
Total SFA	42.4±3.6	40.9±3.2	36.2±5.4	41.7±1.9	40.1±2.3
Total MUFA	15.9±1.2	15.4±1.3	14.0±2.1	17.5±0.7	18.1±1.8
Total PUFA	26.6±4.0	25.4±4.4	25.4±3.5	26.1±3.2	24.6±2.0
Total ω 6	26.5±3.9 ^a	23.2±3.0 ^a	23.0±5.5 ^a	20.1±1.1 ^{ab}	17.7±1.8 ^b
Total ω 3	0.1±0.1 ^a	2.2±1.4 ^a	2.4±2.0 ^a	6.0±2.1 ^b	14.4±2.2 ^c
ω 6/ ω 3 ratio	186.2	16.1	65.9	3.6	14

¹ CO, corn oil; PO, perilla oil; SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

² Mean±SD of three replicates consisting of three birds each.

^{a-c} Means within each row with no common superscripts differ significantly(P<0.05).

유와 들깨유의 섭취에 따라 현저히 달랐다.

F낭 내의 지방산 조성(Table 3)도 홍선에서와 마찬가지로 섭취한 지방산 조성이 조직 지방산 함량에 영향을 미쳤다. 들깨유 첨가 수준이 증가함에 따라 LA 비율이 감소하였고, LNA함량은 증가하였다(p<0.05). 모든 ω -6 지방산의 비율은 들깨유 첨가 수준이 높아짐에 따라 감소하는 경향을 보였다. 그러나 다른 면역 기관의 지방산 조성과는 약간 다르게 F낭의 ω -3계 PUFA의 함량은 2.2%에서 6.6%로 세배 정

도의 증가에 그쳤다.

비장의 지방산 조성(Table 4)은 홍선에서와 마찬가지로 CO 8%구에 비해 들깨유 첨가 수준이 많아짐에 따라 LA 함량이 17.7%에서 9.9%로 점진적으로 감소하는 경향이 보였다. 반면에 LNA 함량 비율은 들깨유 첨가량에 따라 0.05에서 5.08%로 증가하면서 들깨유를 6% 이상 첨가한 실험구에서 유의한 차이가 나타났다(p<0.05). LA의 대사산물인 AA의 함량은 CO 8% 구에서 가장 많았고 반면에 들깨유 섭취

량이 많아지면서 점차 감소하였다. 한편 LNA로부터 합성되는 지방산은 DHA를 제외한 EPA와 DPA 함량이 들깨유첨가 수준의 증가에 따라 같이 높아지는 것이 관찰되었다.

Table 5에서는 이들 세 가지 면역기관 내 주요 지방산의 조성을 비교하였다. 전반적으로 면역조직에 따라 특정 지방

산의 함량이 크게 달라지며, 동일한 계통의 불포화지방산에서도 elongation과 desaturation 되는 정도가 다른 것으로 나타났다. 흉선조직의 경우 LA (13.7~37%) 및 LNA(0.6~22.5%)의 함량이 다른 조직보다 현저히 많았으며, 섭취한 불포화지방산의 조성이 잘 반영되고 있었다. 전반적으로 조직내 LA,

Table 5. Effects of diets containing various ratios of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids on composition of major fatty acids in immune organs of chicks at 7 wk of age¹

Fatty acids	Dietary groups				
	CO 8%	CO 6%+ PO 2%	CO 4%+ PO 4%	CO 2% PO 6%	PO 8%
----- % total fatty acids -----					
Linoleic acid (C18:2 ω -6)					
Thymus	37.0±3.9 ^a	31.8±1.7 ^b	25.1±1.9 ^c	20.2±0.3	13.7±0.7 ^e
Spleen	17.7±2.7	15.0±1.6	14.3±3.8	14.6±0.7	9.9±0.6
Bursa	11.9±1.0 ^a	12.3±2.4 ^a	9.1±0.5 ^b	9.0±0.9 ^b	5.9±0.4 ^c
ω -Linolenic acid (C18:3 ω -3)					
Thymus	0.6±0.1 ^a	5.5±0.2 ^b	10.5±2.6 ^c	16.3±4.3 ^d	22.5±4.3 ^e
Spleen	0.1±0.1 ^a	1.0±0.4 ^a	0.6±0.9 ^a	3.3±1.8 ^b	5.1±0.5 ^b
Bursa	0.5±0.1 ^a	0.8±0.3 ^{ab}	2.3±0.3 ^b	5.7±0.9 ^c	4.9±1.7 ^c
Arachidonic acid (C20:4 ω -6)					
Thymus	1.6±0.7 ^a	0.8±0.1 ^b	1.1±0.7 ^{ab}	0.6±0.3 ^b	0.3±0.2 ^b
Spleen	7.9±0.8 ^a	7.0±1.6 ^{ab}	6.7±1.9 ^{ab}	5.2±1.0 ^{bc}	2.9±0.4
Bursa	1.5±0.5	0.9±0.1	0.8±0.3	0.6±0.3	0.4±0.3
EPA (C20:5 ω -3)					
Thymus	0.1±0.1 ^a	0.2±0.1 ^{ab}	0.5±0.2 ^{abc}	0.6±0.4 ^{bc}	0.6±0.4 ^c
Spleen	–	0.3±0.3 ^a	0.8±0.7 ^{ab}	1.7±0.4 ^b	3.0±0.2 ^c
Bursa	0.1±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1	0.6±0.2	0.7±0.4
Arachidonic acid/Linoleic acid					
Thymus	0.04	0.02	0.04	0.03	0.02
Spleen	0.45	0.47	0.47	0.35	0.29
Bursa	0.12	0.07	0.09	0.07	0.06
EPA/ ω -Linolenic acid					
Thymus	0.10	0.03	0.04	0.03	0.03
Spleen	–	0.31	1.26	0.50	0.58
Bursa	0.12	0.21	0.16	0.11	0.15

¹ CO, corn oil; PO, perilla oil; EPA, eicosapentaenoic acid.

² Mean±SD of three replicates consisting of three birds each.

^{a-c} Means within each row with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

Table 6. Effects of diets containing various ratios of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids on anti-BSA antibody production in chicks at 4 and 6 wk of age¹

Age	Dietary groups				
	CO 8%	CO 6%+ PO 2%	CO 4%+ PO 4%	CO 2%+ PO 6%	PO 8%
4 wk, A ₄₀₅ nm	1.06±0.11	1.02±0.20	1.23±0.14	1.08±0.24	1.25±0.14
% of control	100	96	116	102	118
6 wk, A ₄₀₅ nm	0.89±0.15	0.94±0.18	1.02±0.15	1.07±0.12	1.17±0.25
% of control	100	106	115	120	132

¹ CO, corn oil; PO, perilla oil. A₄₀₅ nm = Anti-BSA antibody binding was expressed as absorbance units at 405 nm. Mean±SD of 7 birds.

AA와 LNA, EPA의 양적인 변화에 큰 차이가 있어 PO 섭취에 따라 조직내 ω -3 지방산 함량이 10~36배 정도 증가한데 비해 CO 섭취에 따른 ω -6 지방산은 3~5배 정도만 증가하여 ω -3 계열 지방산이 더 효과적으로 반영되고 있었다.

비장의 LA 농도는 흉선보다 낮고 F낭에 비해 약간 더 높았는데도 불구하고 같은 ω -6 지방산인 AA 함량은 비장(2.9~7.9%)이 다른 조직보다 5배 이상 더 많았다. 비장의 EPA(0.3~3.0%) 함량도 다른 조직에 비해 더 많았을 뿐만 아니라 AA/LA와 EPA/LNA 비율도 현저하게 더 높았다. 흉선과 F낭에서 두 지방산의 비율이 큰 차이는 없었지만 F낭에서 전반적으로 약간 더 높은 경향을 보였다.

Table 6에는 anti-BSA 항체 생성량을 나타내었다. 전반적으로 실험구 간에 유의한 차이가 보이지 않았으며, 항체가의 주별 변화는 BSA 처리 후 2주째(4주령)에 비해 4주째(6주령)에 대체로 약간 저하되는 경향이 나타났다. CO 8%군에 비하여 들깨유가 첨가된 모든 실험구에서 항체가 18~32% 정도 더 많이 생성되는 경향이 관찰되었다. 특히 4주째에는 CO 2%+PO 6%군 및 PO 8%군에서 다른 처리구에 비해 20% 이상 더 높은 수치를 보였으며, CO 8%군의 항체에 비해 PO 8% 군의 항체는 32%나 더 높았다.

고찰 및 결론

흉선과 F 낭은 T lymphocyte와 B lymphocyte를 갖고 있고, 비장은 Peyer's patch 등과 더불어 주요한 2차 면역조직이어서 이들은 세포성 면역과 체액성 면역 반응에서 중요한 역할을 한다(Glick, 1986). 이들 조직을 구성하는 지방산은 그로부터 합성되는 eicosanoid의 조성도와 농도 또는 nuclear

transcription factor 등에 직접 또는 간접적으로 작용하여 lymphocyte의 면역 반응에 영향을 준다 (Kelley, 2001).

면역조직의 지방산 구성이 섭취한 지방산에 의해 영향을 받는다는 것은 이미 여러 연구에서 보고(Fritsche et al., 1991a,b; 김희성 등, 1995; 김미경 등, 1993; An et al., 1997)된 바 있지만 이들의 관계를 좀더 체계적으로 조사하는 것은 중요한 의미가 있다. Stearic acid (C18:0)가 풍부한 사료를 섭취한 쥐의 비장에서 natural killer 세포수와 활성이 감소되었고, 반면에 palmitic acid (C16:0)를 섭취한 쥐의 비장에서 백혈구 증식이 증가되었다 (Jeffrey et al., 1997). 또한 mitogen을 투여한 쥐에서 DHA 섭취에 의해 T와 B 세포의 회복속도가 개선되었으나, ω -3지방산 섭취 증가에 의해 신장 및 흉선 면역세포의 증식 반응이 억제된 것도 있다 (Korver 와 Klasing, 1997; Wang et al., 2000).

본 연구에서는 Fritsche 등(1991b)이 여러 가지 지방산을 비교 급여한 방식과 달리 ω -3(들깨유)와 ω -6(옥수수유)의 두 가지 지방산의 대표적 급원을 선택하여 이들의 혼합비율을 점진적으로 달리하면서 면역 조직 내 지방산 축적에 미치는 영향을 검토하였다. 따라서 비교적 여타 지방산의 영향을 배제하면서 중심이 되는 두 가지 계열 지방산 조성의 변화 경향을 보다 확실하게 파악할 수 있었다.

본 연구에서 각 면역조직의 총 지방함량은 조사하지 않았으며 다만 각 조직에서 추출한 총지방산을 기준하여 개별 지방산의 무게비율을 조사하였다. 따라서 조직별 지방산의 실제 함량 자체는 여기서 제시한 것과 다를 수 있다. 이 부분은 추가 연구에서 더 세밀하게 다시 조사가 되어야 할 부분이지만 다른 연구자들의 경우도 대부분 조직 내 지방산 함량을 총지방산의 비율로 나타내고 있어 서로 비교하는 데는 무리가 없다고 판단된다.

본 연구에서 조사된 결과와 다른 연구자들의 보고가 일치하는 것도 있지만 그렇지 않는 것이 적지 않았다. Friedman과 Sklan(1995, 1997)은 육계와 칠면조에서 포화지방산 함량이 면역조직에 따라 달라진 반면에 AA 함량은 섭취한 지방산의 영향을 받지 않는다고 하였다. 본 연구에서도 총 포화지방산 함량은 홍선에서 23~26% 수준인 반면 비장(40% 내외)과 F낭 (43~49%)에서는 그보다 더 많았다. 그러나 AA 함량은 옥수수유만 급여하였을 때 모든 조직에서 가장 많았고 (1.5~7.9%), 들깨유를 많이 급여할수록 계속 감소하여 결국 들깨유만 급여한 PO 8% 군에서는 옥수수유 급여군에 비해 1/3 내지 1/5 수준으로 떨어졌다. 본 연구 결과와 같은 경향을 Calder와 Grimble(2002)도 inflammatory cell에서 관찰하였으며 이를 ω -3와 ω -6 지방산간에 Δ^6 desaturase에 대한 경쟁관계로 인한 antagonism 때문이라고 설명하고 있다.

본 연구에서 총 포화지방산, MUFA 및 PUFA의 구성 비율이 면역기관에 따라 달라진 것은 Fritsche 등(1991b)의 연구에서도 관찰되고 있다. 그러나 본 연구에서는 세 가지 면역조직 중 LNA로부터 EPA와 DHA가 생성되는 효율은 비장이 F낭이나 홍선보다 현저히 더 좋았고, 후자 2개 조직의 이들 지방산 함량은 거의 비슷한 수준으로 매우 낮았다. Fritsche 등(1991b)의 보고에서도 비장에 이들 지방산이 더 많기는 하였으나 세 조직 간에 큰 차이가 없었다. 이와 같이 본 연구와 그들의 연구 사이에 F낭의 EPA와 DHA 함량 비율에 차이가 나는 이유는 확실하지 않다.

두 연구에 사용한 병아리의 품종, 성별과 시료 채취 나이 등의 조건에 차이가 있는데 이것이 F 낭에서의 지방산 elongation이나 desaturation에 영향을 미칠 가능성도 있다고 판단된다. 비장의 지방산 분석을 위한 조직의 처리 방법에서 Fritsche 등(1991b)은 비장세포를 분리하여 적혈구와 사멸한 세포를 제거 후에 지방산을 분석하였으나 본 연구에서는 비장 전체 조직을 그대로 분석하였다.

일반적으로 조직내 ω -3와 ω -6 지방산 함량의 변화는 이 두 계열 지방산의 desaturation과 elongation에 관여하는 효소에 대한 경쟁관계에 의해 설명될 수 있다. Δ^6 desaturase는 ω -6보다 ω -3 지방산에 대한 친화도가 높아 LNA를 우선적으로 불포화시켜준다(Jeffcoat와 James, 1984). 본 연구에서 AA/LA 및 EPA/LNA 비율이 홍선, F 낭 및 비장으로 갈수록 더 높아지는 것은 결국 LA와 LNA가 각각 AA와 EPA로 전환되는데 관여하는 효소 활성도가 조직에 따라 다르기 때문이라고 볼 수 있을 것이다. Table 5에서 비장내 AA와 EPA 농도가 다른 조직에 비해 더 높았던 것도 LA나 LNA로부터 AA나 EPA 생성에 관여하는 Δ^5 또는 Δ^6 desaturase의 활성

이 다른 조직에 비해 더 높았기 때문일 수 있다.

한편 Δ^6 desaturase는 LA 또는 LNA 대사에서 일차적으로 중요한 역할을 하며, 간 조직에 잘 발달되어 있고 면역조직 내 활성은 제한적인 것으로 알려져 있다 (Brenner, 1981; Leyton et al., 1987). 따라서 조직내 지방산 조성은 이 desaturase 이외의 다른 효소들의 작용이나 또 지방산 산화 경로의 차이 등 여러 요인에 의해 달라졌을 가능성도 있을 것이다. 이와 같이 조직 내 효소 활성도의 차이는 eicosanoids의 주요 전구체인 AA와 EPA의 조직 내 농도에 영향을 미쳐 결국 여러 면역물질의 생산에 변화를 주게 된다.

본 연구에서 anti-BSA항체형성을 세 면역기관에서 조사하였으나 통계적으로 유의한 수준의 변화는 없었으며 다만 들깨유 섭취량이 증가할수록 항체가 약간씩 높아지는 경향이 관찰되었다. 이는 Fritsche 등(1991a)이 들깨유보다 LNA 함량이 약간 더 많은 아마인유를 7% 수준으로 급여한 실험이나 어유 급여에 의해 항체가 유의하게 증가된 것과 비교되는 경향이다.

이상에서 보듯이 ω -6와 ω -3 지방산의 면역효과를 일반화시켜 얘기하는 것은 쉽지 않은 것 같다. Kelly (2001)에 의하면 대개 LA나 AA같은 ω -6 지방산의 섭취는 염증과 allergy 반응을 악화시킬 수 있고, γ -LNA의 첨가는 이 반응을 감소시키며 conjugated LA (CLA)는 아무런 영향을 미치지 않았다. 반면에 예외가 있기는 하나 대개 ω -3 지방산은 면역반응과 염증을 억제한다는 보고가 많다.

섭취한 지방산이 면역조직의 지방산 조성에 미치는 영향에 대해 아직도 연구자들 간에 의견이 일치하지 않고 있으며 조직 내 지방산 조성이 면역반응에 미치는 영향에 대해서도 아직 많은 논란이 있다 (Kelley, 2001). 그 이유 중의 하나는 섭취한 지방산의 절대량 및 구성지방산간의 비율에 의해 조직 내 지방산 구성이 달라질 수 있기 때문이다. LA 섭취량이 적을 때 항체가 더 빨리, 많이 형성되었다는 보고 (Friedman과 Sklan, 1995)가 있는 반면, Kelly와 Daudu (1993)는 ω -6 지방산섭취가 동물모델에서 오히려 면역반응을 억제하였다는 결과를 보고하였다. 고지방 식이의 섭취나 어유를 16% 수준으로 급여시 면역반응이 억제되며 적당한 수준의 ω -3 지방산 섭취는 그런 부작용을 나타내지 않는다는 보고 (Hinds와 Sanders, 1993; Kelley와 Daudu, 1993)가 있는 반면 ω -3 지방산 섭취는 T-세포성 면역기능을 억제한다는 보고도 있다(Wu와 Meydani, 1998).

이상에서와 같이 섭취한 지방산이 면역 반응에 영향을 미치는 것이 분명함에도 불구하고 그들 간의 관계가 아직 정립되지 못한 것은 이 분야 연구가 앞으로 더욱 활발하게 수

행될 필요가 있다는 것을 말해준다. 질병으로 인한 가금 생산의 피해가 계속 심해져 가고 있는 상황에서 사료영양적 관리에 의한 면역능력의 향상을 시도하는 것은 절대적으로 필요하다. 이런 관점에서 사료지방산의 기능을 이용하여 면역력의 향상을 시도하는 연구가 더 활발하게 진행되기를 기대한다.

적 요

본 연구에서는 ω -6 및 ω -3계 지방산을 함유한 유지의 첨가 비율을 달리한 실험사료를 어린 병아리에서 급여했을 때 면역 기관의 지방산조성에 미치는 영향을 조사하였다. 5개의 처리구에 각 처리당 3반복을 두고 총 75수의 1일령 수평아리를 공시하였다. 옥수수유(CO)와 들깨유(PO)를 중량비로 각각 8% + 0%, 6% + 2%, 4% + 4%, 2% + 6%, 0% + 8% 수준으로 첨가한 반정제 실험 사료를 7주간 급여하였다.

실험 종료시 증체량 및 사료섭취량은 처리 간에 큰 차이가 보이지 않았으며 체중 100g당 간장 중량 및 면역 기관 중량에서도 유의한 차이가 인정되지 않았다. 면역조직 내 지방산 조성은 EPA와 AA (arachidonic acid)를 포함하여 섭취한 사료 지방산의 조성을 잘 반영하는 경향을 보였는데, 면역기관 간에 그 정도에 차이가 있었다. 들깨유의 첨가수준이 증가함에 따라 linoleic acid (LA)의 비율이 점진적으로 감소하였고 반면 α -linolenic acid (LNA) 비율은 현저하게 증가하는 경향이였다. 흉선에는 LA 와 LNA의 함량이 다른 조직보다 현저히 더 많아서 섭취하는 지방산의 조성이 가장 잘 반영되었다. 비장 조직에는 EPA 및 AA 농도와 EPA/LNA, AA/LA의 비율이 다른 조직에 비해 현저히 더 높았는데 이는 비장이 LA나 LNA로부터 AA나 EPA로 전환하는 능력이 높음을 의미한다.

실험사료 급여후 2, 4주후에 조사된 anti-BSA 항체가 유의한 차이는 인정되지 않았으나 CO 8%구에 비해 PO를 첨가한 모든 구에서 더 많이 생성되는 경향이 관찰되었고 특히 PO를 6% 및 8% 첨가한 실험구에서 20~30%나 더 높아졌다.

결론적으로 섭취하는 지방산 조성에 따라 면역기관내 모든 지방산 조성이 변하였으며, 면역기관에 따라 그 반응정도가 달라지는 것이 관찰되었다. 이는 eicosanoids 합성에도 영향을 미칠 수 있기 때문에 가금에서 질병에 대한 면역력 향상이라는 관점에서 앞으로 더 세밀한 연구가 필요하다.

(색인어: 섭취지방산, 면역기관 지방산, 들깨기름. ω -3/ ω

-6 지방산 비율, 병아리)

인용문헌

- 김미경 지규만 이양자 1993 어미 쥐의 ω 3계 및 ω -6계 지방산 식이가 제2세대 쥐의 뇌조직 지방산 성분에 미치는 영향. 한국영양학회지 26: 661-671.
- 김희성 최인숙 지규만 1995 발생중인 닭의 배자에서 뇌조직 내 인지질의 지방산 조성변화. 한국가금학회지 22:31-42.
- Ahn BK, Banno C, Xia ZS, Tanaka K, Ohtani S 1997 Effects of dietary fat sources on lipid metabolism in growing chicks(*Gallus domesticus*). Comp Biochem Physiol 116B: 119-125.
- Brenner RR 1981 Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. Prog Lipid Res 20:41-47.
- Calder PC, Grimble RF 2002 Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. Eur J Clin Nutr 56 (suppl 3): S14-S19.
- Craig-Schmidt MC, Faircloth SM, Weete JD 1987 Modulation of avian lung eicosanoids by dietary omega-3 fatty acids. J Nutr 117:1197-1206.
- Duncun DB 1955 Multiple range and multiple F test. Biometr 11:1-42.
- Erickson KL, Hubbard NE 1993 Dietary fat and immunity. In: Nutrition and Immunology (Klurfeld DM, ed.), pp. 51-78. Plenum Press, NY and London.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH 1957 A simple method for the isolation and Purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226:497-509.
- Friedman A, Sklan D 1995 Effect of dietary fatty acids on antibody production and fatty acid composition of lymphoid organs in broiler chicks. Poultry Sci 74:1463-1469.
- Friedman A, Sklan D 1997 Effects of dietary fatty acids on humoral immune response of turkeys. Brit Poultry Sci 38:342-348.
- Fritsche KL, Cassity NA 1992 Dietary n-3 fatty acids reduce antibody-dependent cell cytotoxicity and alter eicosanoid release by chicken immune cells. Poultry Sci 71:1646-1657.
- Fritsche KL, Cassity NA, Huang S 1991a Effect of dietary fat source on antibody production and lymphocyte proliferation in chickens. Poultry Sci 70:611-617.

- Fritsche KL, Cassity NA, Huang S 1991b Effect of dietary fats on fatty acid compositions of serum and immune tissues in chickens. *Poultry Sci* 70:1213-1222.
- Glick B 1986 Immunophysiology. In: *Avian Physiology* (Sturkie PD, ed.) p. 87. Springer-Verlag, New York.
- Hinds A, Sanders TAB 1993 The effect of increasing levels of dietary fish oil rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on lymphocyte phospholipid fatty acid composition and cell-mediated immunity in the mouse. *Brit J Nutr* 69:423-429.
- Jeffcoat R, James AT 1984 The regulation of desaturation and elongation of fatty acids in mammals. In *Fatty Acid Metabolism and Its Regulation* (Numa S, ed.), p. 98, Elsevier, New York.
- Jeffery NM, Sanderson P, Sherrington EJ, Newsholme EA, Calder PC 1996 The ratio of n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat diet alters serum lipid levels and lymphocyte functions. *Lipids* 31:737-745.
- Kelly DS 2001 Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. *Nutrition* 17:669-673.
- Kelly DS, Daudu PA 1993 Fat intake and immune response. *Prog in Food & Nutr Sci* 17:41-63.
- Kinsella JE, Lokesh B, Broughton S, Whelan J 1990 Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: Potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells. An overview. *Nutrition* 6:24-60.
- Klasing KC 1998 Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. *Poultry Sci* 77:1119-1125.
- Korver DR, Klasing KC 1997 Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune responses. *J Nutr* 127:2039-2046.
- Leitner G, Heller ED, Friedman A 1989 Sex-related differences in immune response and survival rate of broiler chickens. *Vet Immunol Immunopathol* 21:249-260.
- Lepage G, Roy CC 1986 Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27:114-120.
- Leyton J, Drury PJ, Crawford MA 1987 Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids *in vivo* in the rat. *Br J Nutr* 57:383-393.
- National Research Council 1994 *Nutrient Requirements for Poultry* (9th rev. ed.) National Academic Press Washington DC.
- SAS Institute 1990 *SAS User's Guide* (version 6 ed.) SAS Institute Inc., Cary NC.
- Sijben JWC, Scrama JW, Nieuwland MGB, Hovenier R, Beynen AC, Verstegen MWA, Parmentier HK 2002 Interaction of dietary polyunsaturated fatty acids and vitamin E with regard to vitamin E status, fat composition and antibody responsiveness in layer hens. *Brit Poultry Sci* 43:297-305.
- Simopoulos AP 1989 Summary of the NATO advanced research workshop on dietary w3 and w6 fatty acids: Biological effects and nutritional essentiality. *J Nutr* 119:521-528.
- Wang YW, Field CJ, Sim JS 2000 Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks. *Poultry Sci* 79:1741-174.
- Wu D, Meydani SN 1998 n-3 Polyunsaturated fatty acids and immunofunction. *Proc Nutr Society* 57:503-509.