

맹종죽 추출물 코팅쌀 식이가 고콜레스테롤 섭취 토끼의 항산화 시스템에 미치는 영향

이민자 · 김은영 · 문갑순[†]

인제대학교 식품생명과학부, 바이오헬스소재연구센터, 식품과학연구소

Effect of *Maengjong-Juk* Extract Coated Rice Supplementation on Antioxidative System in Rabbit Fed High Cholesterol Diet

Min-Ja Lee, Eun-Young Kim and Gap-Soon Moon[†]

School of Food and Life Science, Biohealth Products Research Center, and
Food Science Institute, Inje University, Kimhae 621-749, Korea

Abstract

To evaluate the antioxidative effect of rice coated with *maengjong-juk* extract *in vivo* system, rice coated with *maengjong-juk* extract diets were fed to NZW rabbit for 16 weeks and lipid peroxidation, protein oxidation, activities of antioxidative enzymes and total glutathione content in tissues were measured. TBARS contents in liver and spleen were significantly decreased in *maengjong-juk* extract diet group compared to control group, while those in kidney and heart tissue were not significantly different. *Maengjong-juk* extract diet suppressed the protein oxidation significantly in liver, spleen, kidney and heart tissues. Hepatic total SOD, Cu·Zn-SOD and Mn-SOD activities of *maengjong-juk* extract diets were significantly higher than those of control diet. GSH-Px and catalase activities of *maengjong-juk* extract diet were higher than those of control, while GR activities show no significant difference between the two groups. Total hepatic glutathione content was significantly increased by *maengjong-juk* extract diet. According to this study, many antioxidative materials and phytochemicals in *maengjong-juk* extracts seems to protect tissues from oxidative stress by stimulating antioxidative systems in atherosclerotic rabbit fed high cholesterol diet.

Key words: *maengjong-juk*, antioxidative, TBARS, protein carbonyl, antioxidative enzyme, glutathione, bamboo

서 론

고도의 경제성장, 인구의 고령화 및 산업화 추세로 인해 우리의 식생활 패턴이 서구화되면서 비만, 당뇨병, 뇌혈관질환 등의 만성 질환이 급증하고 있는 추세이며 이에 따라 국민들의 건강에 대한 관심도 날로 증가하고 있다. 2002년 사망 통계에 따르면, 한국인의 사망 원인은 악성신생물, 뇌혈관질환, 심장질환, 당뇨병, 만성하기도질환, 간질환 등의 순으로 순환기계 질환에 의한 사망률이 전체의 31%를 차지하였다. 순환기계 질환은 오랜 시간에 걸쳐 서서히 진행되는 퇴행성 질환으로 죽상동맥경화와 관련되어 있으며 이들 질병은 유전적인 요인에 의해 발생되기도 하지만 환경적인 요인, 특히 식이가 병의 진행에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(1-5). 최근, 식품의 영양 또는 비영양 성분의 항암, 항노화, 항고혈압 등 다양한 기능성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 기능성 식품의 개발에 대한 관심이 고조되고 있다(6-11). 성인병의 경우 대부분이 식습관과 밀접한 관련을 가

지는 점을 고려할 때 일상적으로 섭취 가능한 식품성분들 가운데 혈압강하 효과를 나타내거나 또는 지질대사 개선작용을 하는 물질을 검색하는 것은 이들 질병의 예방차원에서 매우 의미가 있을 것으로 여겨진다. 대나무는 벼목 화본과에 속하는 식물로 전 세계적으로 400여 종류가 우리나라를 위시한 동남아시아에 주로 분포하고 있다. 우리나라에서 자생하고 있는 대나무는 왕대·맹종죽·조릿대·오죽·솜대 등의 대표적인 품종이 있으며 껍질, 가지, 잎, 순, 죽여 등이 약용으로서 활용도가 높아 예로부터 중풍, 발한, 고혈압 치료용으로 효과가 있는 작물로 사용되어 왔고(12-14) 향균, 항암 및 지질대사 개선 효과도 있는 것으로 알려져 있다(15-20). 대나무 추출물을 이용한 Lee와 Moon(21)의 연구에서 대나무 열수 추출물, 특히, 왕대 및 맹종죽 추출물은 *in vitro*에서 강력한 항산화효과 및 LDL 산화 억제효과를 나타내었는데 LDL 산화는 동맥경화를 유발하는 초기 요인으로 가장 중시되고 있다. 즉, 생체 내에서 생성되는 산화적 스트레스는 혈액 내의 LDL을 산화된 LDL로 변형시키게 되고 산화된 LDL이

[†]Corresponding author. E-mail: fdsnmoon@inje.ac.kr
Phone: 82-55-320-3234, Fax: 82-55-321-0691

adhesion molecule을 통해 intima 내로 유입되면 monocyte가 탐식하여 foam cell을 형성하면서 동맥경화 초기 병변인 fatty streak를 생성하게 되므로(22-25) 대나무의 높은 항산화효과 및 LDL 산화 억제효과는 동맥경화 및 심혈관질환의 예방 및 치료에 효과가 있을 것으로 기대된다.

쌀은 세계 총생산량의 약 92%가 아시아 여러 나라에서 생산되며 그 대부분을 아시아인들이 소비하고 있다. 우리나라에서는 국민소득의 향상과 식생활개선으로 쌀의 소비량이 줄고 있으나 쌀은 여전히 농업소득의 41%, 국민 1인 당 섭취량의 35%, 단백질 섭취량의 21%를 차지할 만큼 우리 농업경제와 국민 영양에 미치는 영향이 매우 크다(26). 생활수준이 향상되어 식생활 패턴이 고급화됨에 따라 밥맛 좋고 안전하며 기능성이 높은 쌀 상품을 찾는 요구가 크게 증가하고 있는 추세이며 이에 발맞추어 녹차쌀, 인삼쌀, 홍국할매, 흑미동충하초쌀, 현미영지쌀, 현미아가리쿠스쌀 및 솔잎할매과 같은 다양한 기능성 쌀들이 국내 시장에 선보이고 있다. 항산화효과 및 LDL 산화 억제효과가 높은 맹종죽 열수 추출물을 우리의 기초식품인 쌀에 코팅한 기능성 쌀을 개발함으로써 주식인 쌀을 섭취하면서 성인병을 예방 및 치료할 수 있다는 것은 국민건강을 증진시킬 수 있는 매우 경제적인 영양처방으로 기대된다. 또한, 2004년 쌀시장 완전 개방 환경에 대비하여 고부가가치의 기능성쌀의 개발은 우리 쌀의 국제경쟁력을 높일 수 있을 것이다. 따라서, 본 연구에서는 *in vitro*에서 나타난 맹종죽 열수 추출물의 강력한 항산화 및 LDL 산화 억제효과가 *in vivo*에서 조직의 산화 억제효과를 나타내는 지 확인하기 위하여 맹종죽 열수 추출물을 쌀에 코팅한 맹종죽 추출물 코팅쌀을 제조하고 동맥경화 유발 토끼에게 장기 급여하여 조직의 지질 및 단백질 산화정도, 간조직 내 항산화효소계 활성 및 글루타치온 함량에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

재료

맹종죽(*Phyllostachys pubescens*)은 3년생을 기준으로 (주) 지리산 뱀부하이테크에서 구입하였고 코팅용 쌀은 (주) PN Rice에서 제공받은 무세미를 사용하였다.

쌀 코팅을 위한 맹종죽 추출물의 제조: 분쇄한 맹종죽 5 kg에 20 L의 물을 가한 후 열수 추출기(이전과학사)를 이용하여 100°C, 6시간 추출하였다. 맹종죽 열수 추출물을 교반기를 이용하여 1 L가 되도록 농축하고 전분을 가하여 겔화하였다.

맹종죽 추출물 쌀의 코팅: 무세미 1 kg에 대나무 추출물 400 mL를 첨가하여 (주) PN Rice에서 개발한 코팅기(특허출원번호 10-2003-0009339)를 이용하여 제조하였다.

실험동물의 사육

맹종죽 추출물 코팅쌀의 동맥경화 예방 효과를 살펴보기 위하여 동맥경화를 유발하기 쉬운 체중 2.5 kg 정도의 New

Zealand white 토끼를 (주) 바이오제노믹스에서 구입하여 실험 시작하기 전 시판 고형사료(퓨리나 토끼사료)를 먹이면서 1주일 동안 환경에 적응시켰다. 다이어트 조성을 위해 맹종죽 코팅쌀의 일반성분을 수분함량은 상압 가열 건조법으로, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법으로, 조단백질은 micro Kjeldahl법으로, 조회분은 회화법으로 각각 측정된 결과 수분이 8.05%, 조단백질이 7.11%, 조지방이 0.63%, 조섬유가 0.40%, 조회분이 0.83%이었다. 또한 시판 고형사료의 일반성분은 조단백 18.0%, 조지방 5.3%, 조섬유 4.5%, 조회분 8.0% 및 당질 56.1%이었다. 대조군에게는 분쇄한 사료에 1% 콜레스테롤, 0.3%의 sodium cholate 및 무세미를 첨가한 식이를, 실험군(맹종죽 추출물 코팅쌀군)에게는 대조군에 무세미 대신 맹종죽 추출물 코팅쌀을 첨가한 식이를 제공하였다(Table 1). 대조군 및 실험군 식이 100 g당 에너지 수준을 시판 고형사료와 동일하게 유지하도록 하였으며 토끼들은 체중에 따른 난괴법으로 대조군, 맹종죽 추출물 코팅쌀군으로 나누어진 그룹당 7마리씩 독립된 토끼 케이지에 배정하여 16주간 사육한 후 희생시켰다. 사육 기간동안 식이와 물은 자유급식 하였으며 체중증가량은 매주 1회 측정하였다. 사육실의 온도는 20~25°C를 유지하였으며 12시간 간격으로 조명을 점등 및 소등하였다.

실험 동물의 희생 및 시료의 채취

토끼는 희생 전 24시간 절식시킨 후, sodium pentobarbital인 케타라(50 mg/kg)를 후이개정맥에 주사하여 마취시킨 후 회복하였다. EDTA를 30 mg씩 넣은 멸균주사기를 이용하여 심장에서 약 30 mL 정도의 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 10°C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 얻었다. 그리고 간, 비장, 신장 및 심장 등의 조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 수분을 완전히 제거하고 중량을 측정된 다음 액체질소에 담근 후 -70°C에서 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

간, 비장, 신장 및 심장 조직의 지질 및 단백질 산화정도의 측정

간, 비장, 신장 및 심장 조직에서의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(27)의 방법에 따라 측정하였다. 이때 standard로

Table 1. Composition of experimental diet¹⁾

Groups ²⁾	Diet
HC	Basal diet (60%) + Rice (40%) + Cholesterol (1%) + Sodium cholate (0.3%)
HC+MR	Basal diet (60%) + MR (37.38%) + Cholesterol (1%) + Sodium cholate (0.3%)
Total calorie	343.36 kcal/100 g diet

¹⁾To prepare the experimental diet, chow pellet for rabbit was powdered first.

²⁾HC: High-cholesterol group.

HC+MR: High-cholesterol diet + Rice coated with *maengjong-juk* extract diet group.

는 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)를 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 malondialdehyde(MDA)의 양으로 환산하였다. 간, 비장, 신장 및 심장 조직의 단백질 산화는 Oliver 등(28)의 방법에 준하여 DNPH(2,4-dinitrophenyl hydrazine)를 이용하여 카르보닐 그룹의 함량을 측정하였다. 카르보닐 농도는 Livine 등(29)의 방법에 따라 370 nm에서 각 시료의 흡광도를 측정 후 지방족 하이드라존 화합물의 평균분자흡광계수를 22,000으로 삼아 카르보닐 그룹의 몰수로 산정하였다.

간조직 내 항산화 효소계의 활성측정

간조직에 대해 20배의 차가운 50 mM 인산완충액(pH7.4)을 첨가하여 glass teflon homogenizer로 균질화하였다. 간균질액을 4°C, 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 원심분리기를 이용하여 13,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 세포질 획분(상층액)과 미토콘드리아 획분(pellet)을 얻었다. 세포질 획분에서 Cu·Zn-SOD, catalase, GSH-Px 및 GR을 측정하였으며 미토콘드리아 획분에서는 Mn-SOD를 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성은 Oyanagui(30)의 방법을 이용하여 측정하였는데 SOD 1 unit는 측정계에서 생성되는 superoxide에 의한 반응이 검체 중의 superoxide dismutase에 의해 50% 저해될 경우의 반응액 중의 검체량(ID₅₀)을 나타내었다. Glutathione peroxidase(GSH-Px)와 GSH-reductase(GR) 활성은 각각 Lawrence와 Burk(31)의 방법 및 Inger와 Bengt(32)의 방법에 의해 측정하였으며 GSH-Px 1 unit는 1분간 1 µM NADPH를 산화시키는 효소의 양으로 정의하였고 GR 1 unit는 1분간 1 nmole의 NADPH 환원을 촉매하는 효소의 양으로 정의하였다. Catalase 활성은

Aebi(33)의 방법에 의해 측정하였고 효소의 활성은 1분 동안 1 µM의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

간조직 내 총 글루타치온 함량의 측정

간조직 중의 총 글루타치온 함량은 Tietze(34)의 방법으로 측정하였다. 간 0.1 g을 1 mL의 인산 완충액으로 균질화한 것을 원심분리하여 상등액을 취한 다음 이를 시료로 사용하였다. 시료 0.5 mL을 취하여 4% sulfosalicylic acid를 0.5 mL 가한 다음 10분간 방치하였다. 이것을 2,500 rpm에서 10분 동안 원심분리시킨 다음 상등액을 0.3 mL 취하고 disulfide reagent를 2.7 mL 가하여 20분 간 방치한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단백질 함량의 측정

Bradford(35)의 방법에 의해 bovine serum albumin(BSA)을 표준단백질로 사용하여 단백질량을 측정하였다.

통계처리

실험의 분석결과는 means±SD로 표시하였으며, 두 군사이의 유의성 검정은 t-test로 분석하였고, p<0.001, p<0.01, p<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

맹종죽 코팅쌀 식이의 조직 산화 보호효과

맹종죽 코팅쌀 식이가 동맥경화 유발 토끼 조직의 지질 및 단백질 산화를 억제하는지 알아보기 위하여 간, 비장, 신장 및 심장 조직의 지질과산화물 TBARS 함량으로, 단백질 산화를 단백질 카르보닐 함량으로 측정하였다(Fig. 1). 토끼의 간조직은 동맥경화로 인한 지질과산화적 손상을 가장 많

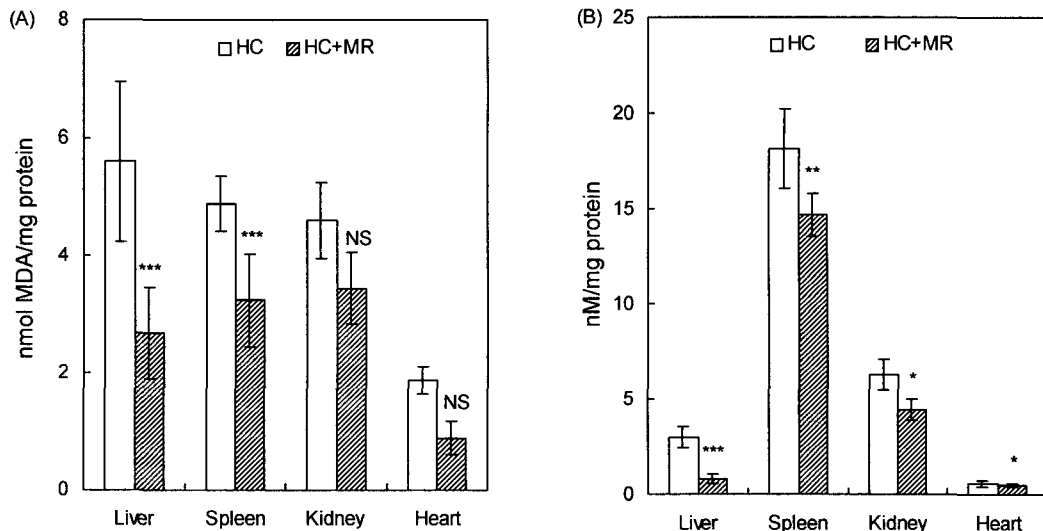


Fig. 1. Effects of rice coated with *maengjong-juk* extract on TBARS (A) and protein carbonyl (B) contents of liver, spleen, kidney and heart homogenate of rabbit fed high cholesterol diet. Values are mean±SD (n=7). *Significantly different at p<0.05, **Significantly different at p<0.01, ***Significantly different at p<0.001. NS is not significant.

이 받는 것으로 나타났고 비장 및 신장도 지질과산화가 촉진되었으나 심장 조직은 비교적 손상 정도가 약했다. 간조직에서의 TBARS 함량은 대조군과 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 각각 5.60 ± 1.37 , 2.68 ± 0.78 nm MDA/mg protein으로서 대조군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 52% 유의적으로 낮게 나타났고 비장 조직에서의 TBARS 함량도 대조군과 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 각각 4.88 ± 0.47 , 3.24 ± 0.79 nm MDA/mg protein으로서 대조군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 지질과산화가 33% 억제되었다. 한편, 신장과 심장 조직에서의 TBARS 함량은 대조군에 비해 대나무 코팅쌀군이 각각 25%, 52% 낮았으나 유의적인 차이는 없었다. 생체 내에서의 지질과산화는 세포의 구성성분인 단백질, RNA, DNA와 작용하여 항산화 효소가 존재하는 미토콘드리아 등의 기능이상과 생화학적 변화를 일으키며 이로 인해서 동맥경화를 비롯한 퇴행성 질환을 촉진시키는 것으로 알려져 있다(36-38). 이 중 malondialdehyde(MDA)는 지질과산화의 주요 부산물로 *in vivo*에서 발생하는 LDL의 지질과산화에 MDA-modified LDL에 대한 항체가 발견되면서 LDL 산화 유발인자로 보고되고 있다(39). Jeon 등(40)은 고콜레스테롤 섭취 토끼의 간에서 콜레스테롤을 섭취하지 않은 토끼에 비해 TBARS 함량이 높게 나타났음을 보고하였는데 이때 고콜레스테롤 식이에 항산화제인 naringin과 probucol을 0.5 g/kg diet 농도로 첨가하였을 때 probucol을 섭취한 토끼의 간조직 내 지질과산화가 현저히 억제되었다고 보고하였으며 Choe와 Kim(41)은 고콜레스테롤혈증 토끼의 간과 신장에서 지질과산화를 관찰하였고 밀이 토끼 조직 과산화를 억제하였음을 보고한 바 있다. 또한, Upston 등(42)에 의하면 동맥경화 유도 토끼에게 비타민 E를 10 IU/kg/day(deficient group), 50 IU/kg/day(normal group) 및 1000 IU/kg/day(supplemented group)로 식이에 첨가하여 8주간 공급한 결과 비타민 E 공급 그룹에서 혈관 내 지질 과산화물의 함량이 현저하게 낮은 것으로 밝혀졌으며 Donetti 등(43)은 고콜레스테롤혈증 토끼에서 8주간 probucol(200 mg/kg/day)의 항동맥경화 효과를 시험한 결과 혈장의 지질 조성에는 아무런 영향도 미치지 않았으나 동맥의 intima/media의 비율을 50%까지 감소시키고 혈장 TBARS 함량을 50% 이상 감소시킨 것으로 나타나 항산화제를 약리학적으로 전처리할 경우 초기 동맥경화 병변의 발생을 저해할 수 있을 것이라 보고하였다. 본 실험에서도 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 대조군에 비해 TBARS 함량이 현저히 낮았는데 이것은 콜레스테롤로 인해 증가된 토끼 각 조직의 지질과산화를 맹종죽 추출물 코팅쌀에 함유된 대나무의 항산화 원인물질들이 억제한 것으로 보여진다.

동맥경화 유발 토끼 조직의 단백질 산화를 측정된 결과, 간에서의 손상이 컸던 지질과산화와는 달리 비장에서 단백질 산화가 가장 심화되었으며 신장 및 간에서도 단백질 산화가 관찰되었으나 심장에서는 그 영향이 경미하였다. 간에서

의 단백질 카르보닐 함량은 대조군 및 맹종죽 추출물 코팅쌀 첨가군에서 각각 2.99 ± 0.54 , 0.81 ± 0.25 nM/mg protein으로서 대조군에 비해 맹종죽 코팅쌀 첨가군에서 단백질 산화가 73% 유의적으로 억제되었고, 비장, 신장 및 심장에서도 각각 대조군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀 첨가군에서 19%, 29%, 14%의 유의성 있는 단백질 카르보닐 함량 감소를 보였다. 대사과정 중 생성된 활성산소나 지질과산화물이 지니고 있는 유리 라디칼에 의한 생체내 손상을 측정하는 방법에 있어 단백질 카르보닐은 지질과산화보다 예민한 방법으로 지적되고 있는데 이는 지질의 산화 시 생성되는 유리기들이 생체 내의 단백질과 반응하여 이들을 파괴시킴으로서 단백질 카르보닐 화합물이 생성되고 이러한 단백질의 파괴는 지질 산화생성물인 hydroperoxide나 malondialdehyde보다 먼저 일어나며, 산화된 단백질이 비교적 안정하므로 측정이 용이하기 때문이다(44). Miyata 등(45)은 당뇨병 동맥경화 환자의 동맥조직 내 단백질 산화를 관찰한 결과 정상인에 비해 현저히 높은 단백질 카르보닐 함량을 보였고 아스코르브산 및 고도불포화 지방산에 의해 단백질 산화가 억제되었다고 보고하였으며 Witting 등(46)은 coenzyme Q-10을 고지방 식이에 첨가하여 apolipoprotein E-결핍 마우스에게 24주간 투여한 결과 동맥의 단백질 산화를 효과적으로 억제하여 항동맥경화 효과를 나타내었다고 보고하여 항산화제가 산화적 스트레스에 의한 단백질의 산화를 억제시킨다는 것을 시사하였다. 본 실험에서 단백질 카르보닐 함량이 대조군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀의 각 장기에서 유의적으로 낮았던 것은 맹종죽 추출물 코팅쌀에 함유되어 있는 대나무의 생리활성물질이 조직 단백질의 산화를 효과적으로 억제하였기 때문으로 사료된다.

맹종죽 추출물 코팅쌀 식이가 항산화 효소계에 미치는 영향

간에는 생체에서 생성되는 유리기를 소거하기 위하여 여러 항산화 효소계가 풍부하게 존재하고 있다. 항산화효과가 큰 식이를 장기간 섭취하였을 때 항산화 효소계에 미치는 영향에 대해서는 항산화제의 지속적인 투여는 항산화 효소계의 활성을 낮춘다는 보고와 항산화 효소계의 활성을 높인다는 서로 상반된 결과들이 보고되어 있다. *In vitro*에서 항산화효과가 높게 나타난 맹종죽을 이용하여 제조한 맹종죽 코팅쌀 식이를 장기간 투여시켰을 때 동맥경화 유발 토끼의 간 조직내 항산화 효소활성을 추적하는 것은 의미있는 일로 여겨지므로 total SOD, Cu·Zn-SOD, Mn-SOD, GSH-Px, GR 및 catalase에 미치는 영향을 측정하였다(Fig. 2).

Total SOD, Cu·Zn-SOD 및 Mn-SOD 활성은 대조군에서 각각 4.29 ± 0.20 , 3.74 ± 0.19 , 0.55 ± 0.03 NU/g tissue/mg protein이었으나 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서는 활성이 유의적으로 증가하여 5.05 ± 0.53 , 4.42 ± 0.53 , 0.63 ± 0.02 unit/mg protein을 나타내었다. SOD는 산소대사의 유해 작용에 대한

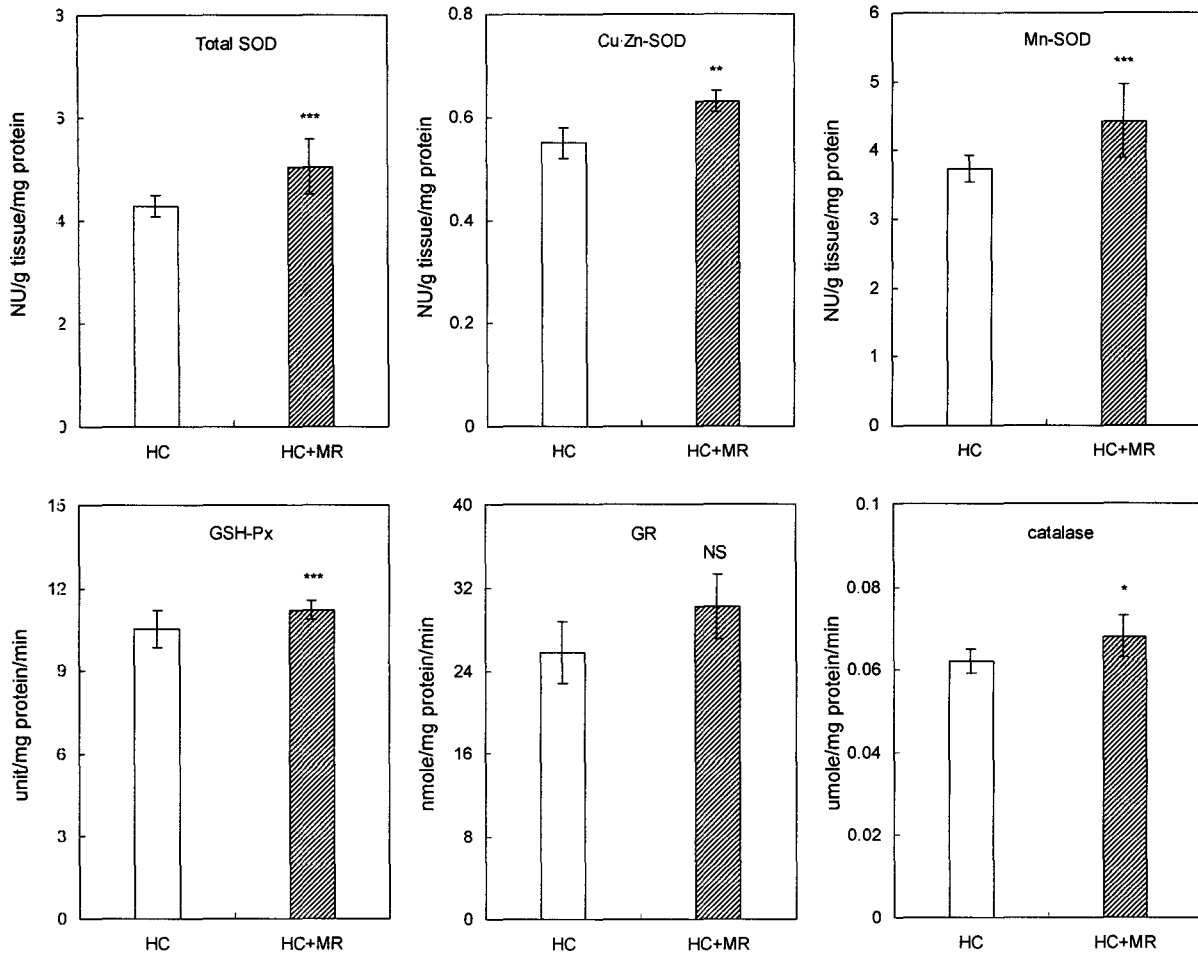


Fig. 2. Effects of rice coated with *maengjong-juk* extract on hepatic antioxidative enzymes (SOD, GSH-Px, GR and catalase) activities of rabbit fed high cholesterol diet.

Values are mean ± SD (n=7).

*Significantly different at p<0.05, **Significantly different at p<0.01, ***Significantly different at p<0.001.

NS is not-significant.

가장 중요한 방어효소의 하나로 생각되어지며 이 효소는 대사과정 중 생성되는 superoxide radical을 제거하기 때문에 산소를 이용하는 생물의 경우 SOD 및 그에 상응하는 방어기구 없이는 살아갈 수 없다. Jeon 등(47)의 보고에서는 고콜레스테롤 식이에 naringin과 lovastatin을 첨가하여 토끼에게 8주간 투여하였을 때 간조직 내 SOD 활성이 각각 33%, 20% 유의적으로 증가된 것으로 나타나 본 연구결과와 일치하였다.

또 다른 항산화 효소인 GSH-Px의 활성의 변화는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 대조군과 맹종죽 추출물 코팅쌀 첨가 식이군에서 각각 10.53 ± 0.67 , 11.22 ± 0.34 unit/mg protein으로서 대조군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 유의성 있게 증가하였다. 이러한 결과는 다양한 생리학적 작용을 하는 비의존성 항산화제로 다른 항산화제와의 시너지 효과 없이도 가장 강력하게 동맥경화를 억제하는 것으로 알려져 있는 probucol과 같은 항산화 물질 투여시 동맥경화 유발 토끼 동맥의 GSH-Px의 활성이 증가하였다는 Mantha 등(48)의 보고와 일치한다. 대조군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀 첨가

식이군의 GSH-Px의 활성이 유의적으로 크게 증가한 것으로부터 맹종죽 추출물 코팅쌀 식이가 산화적 스트레스에 대한 2차적 방어 기작에 관여하고 있음을 알 수 있다.

GR 활성은 대조군(25.75 ± 3.02 nmole/mg protein)에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀 첨가 식이군(30.19 ± 3.12 nmole/mg protein)에서 약 17% 증가하였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. Kim 등(49)은 LDL receptor-knockout 마우스에게 고콜레스테롤 식이에 naringin(0.02 g/100 g)을 첨가하여 6주간 섭취시킨 결과 간에서의 GR 활성이 대조군에 비해 현저하게 증가하였다고 보고한 바 있으며 Hsu 등(50)의 보고에서도 고콜레스테롤혈증 토끼에게 비타민 E를 첨가한 식이를 6주간 섭취시켰을 때 혈장내 GR 활성이 유의적으로 증가한 것으로 나타났다.

SOD와 함께 중요한 활성산소 소거효소로서 거의 모든 포유동물 세포내에 존재하는 것으로 알려져 있는 catalase의 활성의 변화는 Fig. 2에서와 같이 대조군과 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이군에서 각각 0.062 ± 0.003 , 0.068 ± 0.001 μ mole/mg

protein으로서 맹종죽 추출물 코팅쌀 첨가 식이군이 유효하게 높은 catalase 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 naringin과 같은 항산화 물질 투여시 동맥경화 유발 토끼의 간조직 내 catalase의 활성이 25% 유의적으로 증가하였다는 Jeon 등(40)의 보고와 고콜레스테롤혈증 쥐에게 망고와 허브로부터 분리한 플라보노이드를 경구투여하였을 때 간, 심장 및 신장 조직 내 catalase의 활성이 각각 74~79%, 57~63%, 43~53% 증가하였다는 Anila와 Vijayalakshmi(51)의 보고와 일치한다.

생체는 내인적 혹은 외인적으로 정상적인 대사과정 중에도 반응성이 큰 유리기를 생성하며 유리기에 의한 산화적 스트레스는 동맥경화의 발생 또는 노화와도 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다. 이들 활성산소종으로부터 스스로를 보호하기 위해 생체는 효소적 항산화제로 SOD, GSH-Px, GSH-reductase 및 catalase 등의 효소들과 비효소적 항산화제로 비타민 C, tocopherol, selenium, uric acid, sulfhydryl compounds, phenol, 환원성 glutathione, carotenoids, mannitol 등을 가지고 있다(52). 이러한 효소적·비효소적 항산화제들은 산화적 스트레스를 감소시킬 뿐만 아니라 eNOS의 발현을 증가시켜 endothelial derived relaxing factor(EDRF)인 NO의 합성을 촉진함으로써 내피 의존성 혈관확장에 관여하여 죽상동맥경화를 완화시키는 것으로 알려져 있다(53). Rodriguez-Porcel 등(54)은 고콜레스테롤혈증 돼지에게 100 IU/kg/day의 비타민 E와 1 g/kg/day의 비타민 C를 식이에 12주간 첨가한 결과 이들 항산화제를 투여하지 않은 그룹에 비해 eNOS의 발현이 증가되었으며 SOD, GSH-Px, catalase와 같은 항산화 효소계 활성 또한 증가되었다고 보고하였다. 따라서 맹종죽 추출물 코팅쌀 식이는 콜레스테롤 식이로 인한 항산화 효소계 활성의 저하를 완화시켜줌으로써 항동맥경화 효과를 나타낼 것으로 사료된다.

간의 총 글루타치온 함량

장기간 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이를 급여한 토끼 간 조직 중의 총 글루타치온 함량은 대나무 코팅쌀군에서 $87.92 \pm 11.64 \mu\text{M}/\text{mg protein}$ 으로서 대조군($69.14 \pm 17.82 \mu\text{M}/\text{mg protein}$)에 비해 27% 유의적으로 높은 함량을 나타내었다. 본 실험에서 나타난 결과는 고콜레스테롤혈증 토끼에게 비타민 E 첨가한 식이를 섭취케 하였을 때 혈장 내 글루타치온 함량이 230%나 증가하였다는 Hsu 등(50)의 보고와 고콜레스테롤혈증 쥐에게 장기간 비타민 E를 첨가한 식이를 섭취시켰을 때 간 조직 내 글루타치온 함량이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다는 Cahide와 Tannaz(55)의 결과와 일치하였다. 한편, Rosenblat 등(56)은 apolipoprotein E-결핍 마우스에 500 mg/kg/day의 글루타치온을 6주간 식수에 첨가하여 macrophage의 산화적 상태를 관찰한 결과 LDL 산화 및 macrophage에 의한 superoxide anion의 생성이 감소된 반면 유리기 소거 활성은 증가된 것으로 나타나 글루타치온이 복강 대식 세포의 LDL 산화에 대한 macrophage의 능력을

감소시킴으로써 동맥경화를 유의적으로 억제하였다고 보고하였다. 또한 이들은 40 mg/kg/day의 비타민 E를 동일한 마우스에 2개월 간 투여하여 항동맥경화 효과를 관찰하였는데 글루타치온에 비해 효과는 낮았으나 유의적인 저해 효과를 나타내었고 GSH와 비타민 E의 시너지 효과가 관찰되었으나 대조군으로 사용한 C57BL/6 마우스의 경우에 있어서 이들의 항동맥경화 효과는 관찰되지 않은 것으로 나타났다. 글루타치온은 hydroxyl radical과 일중항산소의 소거제로서, GSH-Px의 기질로서 작용하며 생체 내 많은 세포에 상당량 존재함으로써 생체 방어 역할을 하고 항산화 효소들을 재생시킬 수 있다. 조직이 과량의 hydrogen peroxide 또는 hydroxyl radical에 노출되면 GSH/GSSG의 비율이 정상적인 높은 수치를 유지하지 못하고 GSSG가 축적되며 이 GSSG는 많은 효소들의 -SH와 결합하여 효소들을 불활성화시킨다. Tamer 등(57)은 죽상동맥경화성 환자들에 있어서 혈장 내 MDA 함량이 증가함으로써 적혈구 내 글루타치온 및 혈장 내 총 항산화능이 감소된다고 보고하였는데 본 실험에서 간 조직 내 TBARS 함량이 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이군에서 대조군에 비해 현저히 낮게 나타난 것과 간 조직 내 글루타치온 함량이 대조군에 비해 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이군에서 유의적으로 높게 나타난 것도 이러한 보고와 일치하는 경향을 보였다. 따라서, 대나무 추출물에 함유된 생리활성 물질들이 고콜레스테롤로 인해 유도되는 산화적 스트레스를 감소시켜 글루타치온의 체내 고갈을 효과적으로 억제하고 항산화 시스템을 활성화시켜 항동맥경화를 나타낸 것으로 사료된다.

요 약

맹종죽 추출물 코팅쌀 식이가 동맥경화 유발 토끼의 항산화 및 항동맥경화 효과에 미치는 영향을 평가하기 위해 NZW 계 토끼에게 고콜레스테롤 식이에 대나무 코팅쌀을 첨가한 식이를 16주간 급여하면서 항산화 시스템에 미치는 영향을 조사하였다. 간, 비장, 신장 및 심장 조직에서의 지질과산화 정도를 TBARS 값으로 측정된 결과 간과 비장에서는 대조군에 비해 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이군에서 지질과산화가 효과적으로 억제되었고 신장과 심장에서는 대조군에 비해 대나무 코팅쌀 첨가 식이군에서 낮았으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 단백질 카르보닐 함량에 있어서도 대조군에 비해 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이군에서 현저히 낮은 값을 나타내어 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이는 조직 단백질 산화를 상당히 억제하였다. 간에서의 항산화 효소계 활성을 측정된 결과 total SOD, Cu·Zn-SOD 및 Mn-SOD 활성은 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이군에서의 활성이 대조군에 비해 현저하게 높았으며 GSH-Px, catalase 활성 또한 같은 경향을 나타내었다. GR 활성은 대조군에 비해 대나무 코팅쌀 첨가 식이군에서 높았으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 간 조직 내의 총 글루타치온 함량은 대조군에 비해 대나무 코팅쌀 첨가 식

이군에서 유의적으로 높은 값을 나타내어 대조군보다 27% 정도 증가하였다. 따라서, 맹종죽 코팅쌀 내에 함유된 항산화 물질들에 의해 동맥경화 유발 토끼의 항산화 시스템을 적극적으로 보호함을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 지역협력연구센터인 인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터(Biohealth Products Research Center)의 연구비 지원으로 수행되었고 이에 감사 드립니다.

문헌

- Merete O. 2002. Nutritional modification of cardiovascular disease risk. *International Congress Series* 1229: 109-114.
- Sacks FM, Katan M. 2002. Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Am J Med* 113: 13S-24S.
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 113: 71S-88S.
- Millen BE, Quatromoni PA, Nam BH, O'Horo CE, Polak JF, D'Agostino RB. 2002. Dietary patterns and the odds of carotid atherosclerosis in women: The Framingham Nutrition Studies. *Prev Med* 35: 540-547.
- Ho RC, Cordain L. 2000. The potential role of biotin insufficiency on essential fatty acid metabolism and cardiovascular disease risk. *Nutrition Research* 20: 1201-1212.
- Ferrari C, Torres E. 2003. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 57: 251-260.
- Hardy G. 2000. Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition* 16: 688-689.
- Rafi MM. 2004. Elucidating the role of nutraceuticals in overexpressing antiapoptotic proteins in prostate cancer. *Nutrition* 20: 78-82.
- Villeportreau B, Cockrell R, Feng J. 2000. Nutraceutical interventions may delay aging and the age-related diseases. *Experimental Gerontology* 35: 1405-1417.
- Dixon RA, Ferreira D. 2002. Genistein. *Phytochemistry* 60: 205-211.
- Marczek ED, Usui H, Fujita H, Yang Y, Yokoo M, Lipkowski AW, Yoshikawa M. 2003. New antihypertensive peptides isolated from rapeseed. *Peptides* 24: 791-798.
- Michiko F. 1990. Difference between bamboo shoots and vegetables in thermal disintegration of tissues and polysaccharides fractionated by successive extraction. *J Food Sci* 55: 739-745.
- Kweon M, Hwang HJ, Sung HC. 2001. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem* 49: 4646-4655.
- Hu C, Zhang Y, Kitts DD. 2000. Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo (*Phyllostachys nigra* var.) Henonis leaf extract *in vitro*. *J Agric Food Chem* 48: 3170-3176.
- Kim MJ, Byun MW, Jang MS. 1996. Physiological and antibacterial activity of bamboo (*Sasa coreana* Nakai) leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 135-142.
- Kim NK, Cho SH, Lee SD, Ryu JS, Shim KH. 2001. Functional properties and antimicrobial activity of bamboo (*Phyllostachys sp.*) extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 8: 475-480.
- Baek JW, Jung SH, Moon GS. 2002. Antimicrobial activities of ethanol extracts from Korean bamboo culms and leaves. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1073-1078.
- Kim MJ, Kim BK, Jang MS. 1996. Effect of bamboo (*Pseudosasa japonica* Makino) leaves on the quality and sensory characteristics of Dongchimi. *J Food Sci Nutr* 1: 159-167.
- Chung DK, Yu RN. 1995. Antimicrobial activity of bamboo leaves extract on microorganisms related to kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27: 1035-1038.
- Shin MK, Han SH. 2002. Effects of methanol extracts from bamboo (*Pseudosasa japonica* Makino) leaves extracts on lipid metabolism in rats fed high fat and high cholesterol diet. *Korean J Dietary Culture* 17: 30-36.
- Lee MJ, Moon GS. 2003. Antioxidative effects of Korean bamboo trees, *wang-dae*, *som-dae*, *maengjong-juk*, *jolit-dae* and *o-juk*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1226-1232.
- Stein O, Thiery J, Stein Y. 2002. Is there a genetic basis for resistance to atherosclerosis? *Atherosclerosis* 160: 1-10.
- Morganti M, Carpi A, Nicolini A, Gorini I, Glaviano B, Fini M, Giavaresi G, Mittermayer C, Giardino R. 2002. Atherosclerosis and cancer: common pathways on the vascular endothelium. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56: 317-324.
- Kadar A, Glasz T. 2001. Development of atherosclerosis and plaque biology. *Cardiovascular Surgery* 9: 109-121.
- Heinecke JW. 1998. Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis* 141: 1-15.
- Choi HC. 1990. Breeding strategy for enhancing the utility of rice. *The Research and Extension* 31: 23-28.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95: 351-358.
- Oliver CN, Ahn BW, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. 1987. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem* 262: 5488-5491.
- Livine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York. Vol 186, p 464-478.
- Oyanagui Y. 1948. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem* 4: 290-298.
- Lawrence RA, Burk F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958.
- Inger C, Bengt M. 1985. Glutathione reductase. In *Methods in Enzymology*. Academic press, New York. Vol 113, p 484-490.
- Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. In *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York. Vol 105, p 121-126.
- Tietze F. 1969. Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: application to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 27: 502-522.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the

- principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
36. Heinecke JW. 2002. Oxidized amino acids: culprits in human atherosclerosis and indicators of oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 32: 1090-1101.
 37. Wattanapitayakul SK, Bauer JA. 2001. Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications. *Pharmacology & Therapeutics* 89: 187-206.
 38. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. 1995. Atherosclerosis: Basic mechanisms: Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 91: 2488-2496.
 39. Tornvall P, Waeg G, Nilsson J, Hamsten A, Regnstrom J. 2003. Autoantibodies against modified low-density lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 167: 347-353.
 40. Jeon SM, Bok SH, Jang MK, Kim YH, Nam KT, Jeong TS, Park YB, Choi MS. 2002. Comparison of antioxidant effects of naringin and probocin in cholesterol-fed rabbits. *Clinica Chimica Acta* 317: 181-190.
 41. Choe M, Kim HS. 2002. Effects of Korean wheat on LDL oxidation and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 104-108.
 42. Upston JM, Witting PK, Brown AJ, Stocker R, Keaney JF. 2001. Effect of vitamin E on aortic lipid oxidation and intimal proliferation after arterial injury in cholesterol-fed rabbits. *Free Rad Biol Med* 31: 1245-1253.
 43. Donetti E, Soma MR, Barberi L, Paoletti R, Fumagalli R, Roma P, Catapano AL. 1998. Dual effects of the antioxidant agents probucol and carvedilol on proliferative and fatty lesions in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis* 141: 45-51.
 44. Davies KJ, Goldberg AL. 1987. Protein damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. *J Biol Chem* 262: 8227-8234.
 45. Miyata T, Inagi R, Asahi K, Yamada Y, Horie K, Sakai H, Uchida K, Kurokawa K. 1998. Generation of protein carbonyls by glycoxidation and lipoxidation reactions with autoxidation products of ascorbic acid and polyunsaturated fatty acids. *FEBS Letters* 437: 24-28.
 46. Witting PK, Pettersson K, Letters J, Stocker R. 2000. Anti-atherogenic effect of coenzyme Q10 in apolipoprotein E gene knockout mice. *Free Rad Biol Med* 29: 295-305.
 47. Jeon SM, Bok SH, Jang MK, Lee MK, Nam KT, Jeong TS, Park YB, Rhee SJ, Choi MS. 2001. Antioxidant activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sciences* 69: 2855-2866.
 48. Mantha SV, Kalra J, Prasad K. 1996. Effects of probucol on hypercholesterolemia-induced changes in antioxidant enzymes. *Life Sciences* 58: 503-509.
 49. Kim HJ, Oh GT, Park YB, Lee MK, Seo HJ, Choi MS. 2004. Naringin alters the cholesterol biosynthesis and antioxidant enzyme activities in LDL receptor-knockout mice under cholesterol fed condition. *Life Sciences* 74: 1621-1634.
 50. Hsu HC, Lee YT, Chen MF. 2001. Effects of fish oil and vitamin E on the antioxidant defense system in diet-induced hypercholesterolemic rabbits. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 66: 99-108.
 51. Anila L, Vijayalakshmi NR. 2003. Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Embllica officinalis* in hypercholesterolemic rats. *Food Chemistry* 83: 569-574.
 52. Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18: 872-879.
 53. Wink DA, Mitchell JB. 1998. Chemical biology of nitric oxide: Insight into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanism of nitric oxide. *Free Rad Biol Med* 25: 434-456.
 54. Rodriguez-Porcel M, Lerman LO, Holmes DR, Richardson D, Napoli C, Lerman A. 2002. Chronic antioxidant supplementation attenuates nuclear factor- κ B activation and preserves endothelial function in hypercholesterolemic pigs. *Cardiovascular Research* 53: 1010-1018.
 55. Cahide G, Tannaz M. 2003. Changes of oxidative stress in various tissues by long-term administration of vitamin E in hypercholesterolemic rats. *Clinica Chimica Acta* 328: 155-161.
 56. Rosenblat M, Coleman R, Aviram M. 2002. Increased macrophage glutathione content reduces cell-mediated oxidation of LDL and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 163: 17-28.
 57. Tamer L, Sucu N, Polat G, Ercan B, Barlas A, Yucebilgic G, Unlu A, Dikmengil M, Atik U. 2002. Decreased serum total antioxidant status and erythrocyte-reduced glutathione levels are associated with increased serum malondialdehyde in atherosclerotic patients. *Arch Med Res* 33: 257-260.

(2004년 2월 4일 접수; 2004년 7월 1일 채택)