

Conjugated Linoleic Acid(CLA) 이성체가 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 영향

문현석 · 정정수

충북대학교 농과대학 축산학과

Effect of Isomers of Conjugated Linoleic Acid on Porcine Preadipocyte Differentiation

H. S. Moon and C. S. Chung

Department of Animal Science, Chungbuk National University

ABSTRACT

The current study was undertaken to determine the effect of various conjugated linoleic acid (CLA) isomers on differentiation of pig preadipocyte during culture. Preadipocyte(stroma-vascular cell) was isolated from the backfat of newborn pigs and cultured to differentiate into mature fat cell. Different doses of CLA isomers were treated to the culture media at different times. Cell differentiation was determined by measuring the glycerol-3-phosphate dehydrogenase activity of the cultured preadipocytes. Twenty and fifty μM of *trans*10-*cis*12 isomer of CLA inhibited differentiation of pig preadipocyte whereas *cis*9-*cis*11 isomer stimulated the differentiation. Both *cis*9-*trans*11 and *trans*9-*trans*11 isomers showed no effect. Effect of CLA isomer was more evident at the early stage of culture(day 0-8), than the late stage(day 8-14). These results suggest that each CLA isomer has different effect on pig preadipocyte differentiation.

(Key words : CLA, Pig, Preadipocyte, Differentiation)

I 서 론

Ha 등(1987)이 conjugated linoleic acid(CLA)가 항암작용을 나타낸다고 보고한 이래 CLA에 관한 연구논문이 무수히 발표되었다. 이는 CLA의 항암작용뿐만 아니라 항동맥경화, 항비만 및 면역증강 작용 등이 여러 실험에 의해 확인되어 인간의 건강증진에 이용될 가능성이 크기 때문이다(Ip 등, 1994; Lee 등, 1994; Cook 등, 1993; Waylan 등, 2002; Wahle 등, 2004). 한편 축산물 생산의 입장에서는 저지방 육류생산, 면역증강에 의한 가축의 생산성향상 그리고 CLA가 다량 함유된 축산물섭취에 의한 인간의

건강증진 등이 논의의 대상이다. CLA는 linoleic acid(LA)의 이성체로서 이중결합의 위치, 그리고 *cis* 및 *trans* form 따라 여러 이성체가 생긴다. 즉 LA는 이중결합이 9번과 12번에 탄소에 있고 논의의 대상이 되는 CLA는 이중결합이 주로 9번과 11번 그리고 10번과 12번 탄소에 있는데, *cis*와 *trans* 모두 가능하므로 여러 개의 이성체가 생길 수 있다. 이 중에서 유제품에 많이 함유되어 있는 것은 *cis*9-*trans*11인데 (Ip 등, 1994), 최근에 와서 화학적 합성에 의한 모든 조합의 이성체 생산이 가능하므로 어느 이성체가 위에 설명한 여러 CLA의 작용을 나타내는지 중요시 되고 있다.

Corresponding author : Dr. Chung Soo Chung, Department of Animal Science, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-769, Republic of Korea, Phone : 82-43-261-2549, E-mail : chungpig@hotmail.com

지방축적의 증가는 세포수의 증가(hyperplasia) 또는 세포크기의 증가(hypertrophy)에 의해서 이뤄지는데, 지방축적조절을 위해서는 세포수를 조절하는 것이 훨씬 효율적이다. 이와 관련하여 cell line 또는 primary fat cell을 이용해서 이들 세포분화에 관한 연구가 많았다. CLA가 지방세포의 분화에 미치는 연구도 상당히 수행되었는데, Satory와 Smith(1999)는 CLA가 cell line 지방세포 3T3-L1 cell의 세포분화를 촉진시켰다고 보고한 반면, Brodie 등(1999)은 CLA가 같은 cell의 분화를 억제했다고 보고했다. 이런 상반된 결과는 이들이 사용한 CLA가 여러 이성체의 'mixture'였기 때문에 실험에 사용한 CLA 이성체의 조성이 다른 것이 한 가지 원인으로 사료된다. 한편 Kang 등(2003)은 같은 3T3-L1 cell에서 *trans10-cis12* CLA 이성체가 세포의 분화를 억제했다고 보고했다.

CLA를 돼지에 투여했을 때 지방축적이 감소되었기에(Dugan 등, 1997; Ostrowska 등, 1999; Waylan 등, 2002), 이에 대한 작용기전의 구명 일환으로 CLA가 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 영향에 관한 연구가 몇 있었다. Ding 등(2002) 및 McNell과 Mersmann(2003)은 *trans10-cis12* CLA 이성체가 돼지 지방전구세포의 분화를 촉진했다고 보고했는데 이는 3T3-L1 cell의 결과와 상반된 것이다. 위와 같이 지방전구세포의 분화에 미치는 CLA의 작용이 명확하지 않고, 특히 초기의 많은 CLA 관련 연구들이 여러 이성체가 혼합된 CLA를 연구에 사용했기에 개개 이성체들의 특이 작용을 구명하기 어려웠다. 또한 개개 CLA 이성체를 사용한 연구에서도 여러 이성체의 작용을 구명하지 않았다. 그리고 앞으로 CLA가 돼지의 지방축적억제제로 사용될 경우 3T3-L1 등 cell line 보다는 돼지에서 분리한 지방전구세포의 분화에 미치는 CLA의 작용의 구명이 더 중요할 것이다.

따라서 본 연구의 목적은 돼지에서 분리 채취한 지방전구세포를 이용해서 여러 종류의 개개 CLA 이성체들이 세포의 분화에 미치는 영향을 구명하는 것이다. 본 연구의 결과는 앞으로 CLA가 돼지의 지방축적감소 등 생산성 향

상을 위해 사용될 경우 중요한 기초 자료를 제공해 줄 것이다.

II 재료 및 방법

1. CLA 출처

본 실험에 사용한 CLA는 Materya(State College, PA, USA)에서 구입한 *cis9-cis11(9c-11c)*, *cis9-trans11(9c-11t)*, *trans9-trans11(9t-11t)* 및 *trans10-cis12(10t-12c)* 이성체이었고, CLA 'mixture'는 44% 10t-12c 이성체를 함유한 것으로 Nu-Chek-Prep (Elysian, MN, USA)에서 구입했다. CLA mixture를 본 연구에 포함 시킨 이유는, 순수한 개개 CLA 이성체 생산은 비용이 많이 들기에 CLA가 가축의 생산성 향상을 위해 사용될 경우를 염두에 뒀기 때문이다.

2. 돼지 지방전구세포의 분리 및 배양

지방전구세포(stroma-vascular cell)는 갓난 돼지의 등지방 조직에서 분리해서 배양했는데, 요약하면 생후 2일 이내의 자돈의 등지방을 무균상태에서 잘라내어 collagenase로 소화시켜 위에 뜨는 성숙 지방세포는 버리고 바닥에 가라앉은 지방전구세포를 분리해서 6-well plate에 seeding 했고 seeding 15일 후에 세포의분화정도를 구명했다. 돼지의 지방전구세포의 분리, 배양은 Suryawan(1997)의 방법을 따르면서 본 연구실에서 변경해서 확립했는데 이에 대한 것은 결과 및 고찰에 기술했다. 구체적인 지방전구세포의 분리 및 배양 방법은 아래와 같다.

생후 1~2일령 된 체중 1.6~1.7 kg의 자돈을 desiccator에서 CO₂ gas를 주입하여 질식사 시킨 후 비눗물로 몸 전체를 씻었다. 그리고 요오드와 알콜로 다시 씻었다. clean bench에서 scapel을 이용해 돼지 머리 밑에서 견갑골까지 T자 모양으로 자른 후 forceps과 blade로 fat tissue를 채취했다. 미리 무게를 측정된 petridish에 지방조직을 옮겨서 지방조직 1g 당 3ml KRB buffer에 2,000 unit collagenase를 함유시켜 지방조직을 chopping했다. Chopping한 지방조직을 삼

각플라스크에 옮긴 후 40분 동안 shaking water bath에서 incubation했다. 40분 후 250 μ M nylon screen으로 filtering해서 collagenase에 의해 소화되지 않은 조직을 제거한 후 10분 동안 centrifuge 하고 KRB buffer로 disperse한 후 다시 10분 동안 centrifuge 했다. DMEM/F-12로 tube 바닥의 cell들을 disperse 한 후 75 μ M nylon screen으로 filter했다. hematocytometer로 cell을 counting 하고 난 뒤 10% FBS를 함유한 DMEM/F-12를 이용하여 6 well plate에 1×10^6 cell/well을 seeding했다. Seeding 1일 후에 적혈구 등을 제거하기 위해 washing 한 후 분화유도(day 0)를 위해 insulin(600 ng/ml), transferrin(1 ug/ml) 및 hydrocortisone(500 ug/ml)(세시약 모두 Sigma- Aldrich)을 함유한 DMEM/F-12를 세포배양이 끝날 때 까지 사용했으며 2일마다 배양액을 교환해 줬다. 대개 cell seeding 한 후 14일경이 지나면 지방전구세포가 성숙지방세포로 완전히 분화했다.

3. CLA 처리

CLA는 dimethyl sulfoxide(DMSO)로 녹였는데 50mM의 농도로 만들어 -70 °C에서 보관해 두다가 필요할 때 사용했다. 세포배양에 사용한 최종농도는 50 μ M이었는데 6-well plate의 well 당 배양액의 부피가 2ml이므로 well 당 2 μ l의 CLA stock solution을 첨가했고, 대조구는 CLA를 녹이는 DMSO를 CLA와 같은 부피를 처리해서 DMSO에 의한 영향을 배제했다. 배양액 교환은 2일마다 했고 이때 마다 새로운 CLA를 처리했다.

4. 세포분화 측정

돼지 지방전구세포의 분화정도는 지방세포의 glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH) 활성도를 측정함으로써 구명했다. GPDH는 dihydroxyacetone phosphate를 glycerol-3-phosphate로 전환시키는 효소인데, glycerol-3-phosphate는 중성지방(triglyceride) 합성에 필요한 물질이기에 지방전구세포가 성숙한 지방세포로 분화했는지

를 구명할 수 있는 효소로 여겨지고 있다. Wise와 Green(1979)의 방법을 따르면서 본 연구 수행에 맞게 용액의 양을 조절했는데 구체적인 측정방법은 다음과 같다. 세포배양이 끝난 후(대개 day 14) 6-well plate에 있는 배양액을 완전히 제거하고 PBS로 남아있는 배양액을 씻어낸 후 260 μ l homogenizing buffer(0.25 M Sucrose, 5 mM Tris base, 1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol, pH 7.4)를 이용하여 6-well plate의 세포들을 eppendorf tube에 수집했다. 그리고 가루얼음 위에 쫄은 다음 10초 동안 6 watts로 세포를 sonication 시킨 후 4 °C 12,000 rpm으로 10분 동안 원심분리 했다. supernatant 200 μ l를 취해서 새로운 eppendorf tube에 옮긴 후 assay buffer(100mM triethanolamine, 2.5 mM EDTA, 0.1 mM B-mercaptoethanol, 0.176 mM NADH) 800 μ l과 기질인 0.160 μ M dihydroxyacetone phosphate lithium solution 100 μ l 그리고 위의 supernatant 150 μ l를 cuvette에 넣고 shaking 한 뒤 340 nm에서 흡광도를 측정하여 GPDH 값을 산출하였다. 단백질 측정은 Bradford(1976)의 방법에 따랐는데 모든 세포의 분화정도는 GPDH값을 단백질양으로 나눈 값으로 조사했다.

5. 세포의 중성지방 함량 측정

6-well plate에서 지방전구세포의 배양액을 제거하고 난 뒤 PBS로 plate에 남아있는 배양액을 씻어냈다. 다시 PBS로 plate 바닥의 세포를 수집하고 sonication 한 후 Sigma kit(triglyceride reagents A와 B)을 이용해서 세포의 중성지방 함량을 측정했다.

6. 통계분석

본 연구의 모든 실험의 data는 student t-test를 이용하여 대조구에 대한 각 처리구를 비교분석하였는데, 처리구의 값을 대조구(100%)에 대한 %로 표시하였다(% control). 그 이유는 세포배양 특히 primary cell 배양성격상 배양시마다 세포의 분화정도가 다르기 때문에 대조구에 대한 상대적인 값으로 표현하는 것이 합리적이기 때

문이다. 모든 분석과정은 GLM procedure of the Statistics Analysis System(SAS Institute, Cary, NC, 1998)을 이용하였다.

III 결과 및 고찰

1. 돼지 지방전구세포의 배양조건 확립

돼지 지방 전구세포의 적정 배양 조건을 확립하기 위해 아래와 같이 여러 가지 기초 실험을 실시하였다. 그러나 세포사멸 등의 현상으로 인해 분화정도를 수치로 표현하지 못하고 육안으로 관찰한 것을 아래와 같이 기술했다. 분화 유도일(day 0)부터 세포배양이 끝날 때까지(day 14) 여러 농도의 FBS(0, 5 및 10%)와 hydrocortisone(0, 50 및 500 ng/ml)을 조합하여 실험을 수행한 결과는 다음과 같다.

0% FBS + 0, 50 및 500 ng/ml hydrocortisone medium에서는 전반적으로 세포들의 사멸현상이 나타났으며 10% FBS + 0, 50 및 500 ng/ml hydrocortisone medium에서는 분화 전반기에 세포들의 상태는 좋았으나 분화 후반기로 접어들면서 0% FBS와 마찬가지로 세포사멸현상이 나타났다. 5% FBS + 0 ng/ml hydrocortisone medium에서 세포의 상태는 좋았으나 분화가 일어나지 않았고, 5% FBS + 50 ng/ml cortisol medium에서는 세포의 상태는 좋았지만 분화가 약하게 일어났다. 5% FBS + 500 ng/ml hydro-

cortisone medium에서는 세포의 사멸현상도 사라졌고 분화가 왕성하게 일어났다. 위의 모든 비교 실험에서 insulin(600 ng/ml)과 transferrin (1ug/ml)의 농도는 동일하게 유지했다. 이러한 결과를 토대로 본 연구의 모든 실험은 5% FBS에 500 ng/ml hydrocortisone이 함유된 DMEM/F12를 사용하였다. Fig. 1은 cell seeding 1일 후에 적혈구 등 제거를 위해 washing 한 후(day 0) 배양 경과일수에 따른 돼지 지방전구세포의 분화정도를 보여주고 있다.

2. CLA 농도가 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 영향

농도에 따른 CLA의 작용을 구명하기 위해서 여러 CLA이성체를 세포배양 전기간(day 0 ~ 14)에 걸쳐 20 μ M(Fig. 2), 50 μ M(Fig. 3) 및 100 μ M(date not shown) 처리해서 분화정도를 조사했다. 20 μ M 농도에서 9c-11t와 9t-11t 이성체는 아무 작용이 없었으며 10t-12c는 세포분화를 크게 억제했고($p < 0.001$), CLA mix도 억제했다($P < 0.01$). CLA mix의 억제작용은 여기에 포함되어 있는 10t-12c의 작용으로 사료된다. 9c-11c는 분화를 오히려 촉진했다. Fig. 3에서 보는 대로 50 μ M 농도에서는 20 μ M 농도에 비해서 이성체들의 작용이 더 명확했다. 유의수준은 같으나 10t-12c와 CLA mix의 분화억제작용이 더 컸다. 9c-11c의 세포분화 촉진작용도

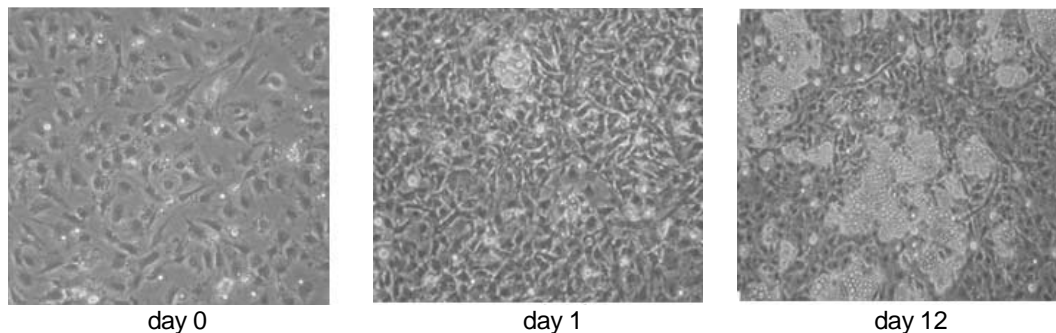


Fig. 1. Differentiation of pig preadipocytes. The preadipocytes were isolated from the backfat of newborn pig and cultured on DMEM/F-12. The cells were induced to differentiation with insulin, transferrin and hydrocortisone(day 0). On day 12 many mature fat cells appeared.

50 μ M 농도에서 더 크게 나타났다. 9c-11t와 9t-11t는 20 μ M에서 처럼 아무런 작용이 없었다. Kang 등(2003)도 10t-12c 이성체가 3T3-L1 cell의 분화를 억제했다고 보고해서 본 연구결과와 같은 결과를 보여줬으나 McNeel과 Mersmann (2003)은 10t-12c가 돼지 지방전구세포의 분화를 촉진했다고 발표해서 본 연구와는 다른 결과를 보여주었다. 본 연구에서는 성숙세포로의 분화가 완료된 시점에 분화를 측정했고 McNeel과 Mersmann(2003)은 배양 초기에 분화정도를 측정한 방법상의 차이점도 있고 10t-12c 이성체의 작용이 cell line과 primary cell 간에 다르게 작용할 수도 있으나 돼지 지방전구세포에서도 10t-12c 이성체가 분화를 억제하는 것으로 여겨진다. 이에 대한 근거는 본 연구에서 측정된 모든 경우 즉 10t-12c 이성체를 배양전기간 처리(Fig. 2와 3), 배양전기 처리(Fig. 4), 배양후기 처리(Fig. 5) 모두에서 10t-12c의 분화 억제작용이 뚜렷하게 나타났기 때문이다. 한편 본 연구에서 9c-11c가 지방전구세포의 분화를 촉진한 사실은 흥미롭다. 20 μ M과 50 μ M 두 농도 모두에서 억제작용을 나타낸 것은 9c-11c의 분화 촉진 작용이 고유한 것임을 나타내는데 Ding 등(2003)도 9c-11c 이성체가 돼지 지방전구세포

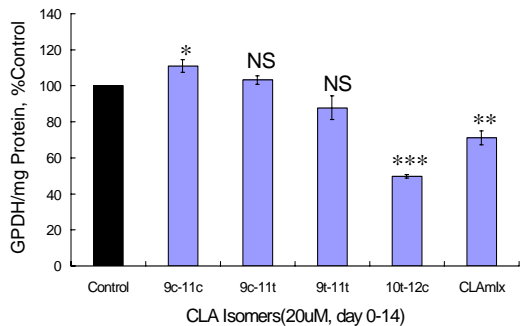


Fig. 2. Effects of CLA isomers on pig preadipocyte differentiation. Cells were treated with 20 μ M CLA isomers from day 0 to 14 after induction of differentiation. CLAmix contained 44 % 10t-12c isomer. Values are means \pm SE, n = 6; difference from dimethyl sulfoxide(DMSO) treated control cells: NS, not significant; * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.

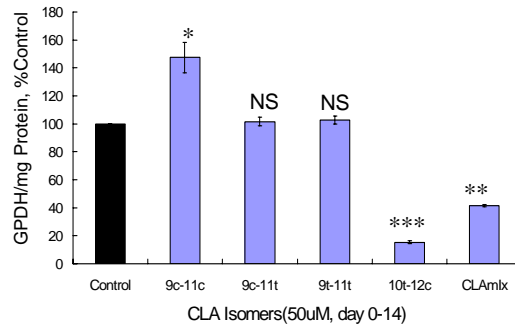


Fig. 3. Effects of CLA isomers on pig preadipocyte differentiation. Cells were treated with 50 μ M CLA isomers from day 0 to 14 after induction of differentiation. CLAmix contained 44% 10t-12c isomer. Values are means \pm SE, n=6; difference from dimethyl sulfoxide(DMSO) treated control cells: NS, not significant; * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.

의 분화를 촉진한다고 보고했다. 이와 같이 CLA 이성체에 따라 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 작용이 다르다는 사실은 CLA를 지방축적억제 또는 생산성 향상을 위해 돼지에게 급여할 때 급여하는 CLA의 조성에 따라 결과들이 달라질 수 있음을 나타낸다. 이와 관련하여 Thiel-Cooper 등(2001)은 여러 이성체가 혼합된 CLA를 돼지 사료에 0.12%에서 1%까지 함유시켜 급여했을 때 등지방 두께에 미치는 영향이 부위에 따라 일정하지 않았음을 보고했다

100 μ M의 CLA 이성체들이 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 결과는 수치로 나타낼 수가 없었는데 그 이유는 세포사멸을 가져왔기 때문이다. 20 μ M과 50 μ M 농도에서 세포분화를 억제했던 10t-12c는 물론이고 분화촉진현상을 나타냈던 9c-11c 이성체도 배양후기에 접어들면서 세포사멸현상을 나타냈고, 세포사멸현상이 가장 두드러졌던 것은 9t-11t 이성체이었는데 day 4를 넘기지 못하고 사멸했다.

3. CLA 처리시기가 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 영향

CLA 처리시기가 세포의 분화에 미치는 영향

을 구명하기 위해 배양전기(day 0~8)와 배양후기(day 8~14)에 50 μ M CLA 이성체를 처리한 결과가 Fig. 4와 Fig. 5에 나타나 있다. Fig. 4와 5에서 보는 대로 배양전기가 배양후기보다 CLA 이성체들의 작용이 더 뚜렷했다. 10t-12c 이성체의 분화억제작용이 더 두드러졌고, 9c-11c의 분화촉진 작용은 배양전기에만 나타났다. 배양 전기는 세포의 증식이 일어나는 시기 이기에

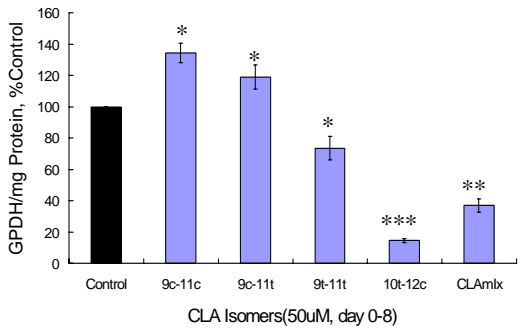


Fig. 4. Effects of CLA isomers on pig preadipocyte differentiation. Cells were treated with 50 μ M CLA isomers from day 0 to 8 after induction of differentiation. CLAmix contained 44 % 10t-12c isomer. Values are means \pm SE, n = 6; difference from dimethyl sulfoxide(DMSO) treated control cells: * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.

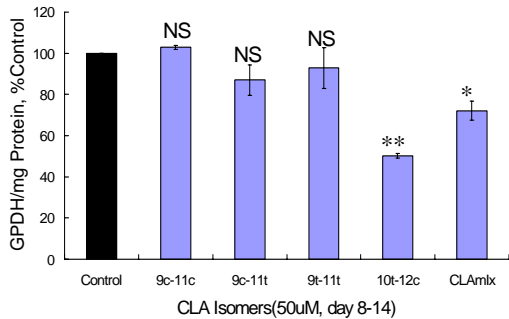


Fig. 5. Effects of CLA isomers on pig preadipocyte differentiation. Cells were treated with 50 μ M CLA isomers from day 8 to 14 after induction of differentiation. CLAmix contained 44 % 10t-12c isomer. Values are means \pm SE, n = 6; difference from dimethyl sulfoxide(DMSO) treated control cells: NS, not significant; * p < 0.05; ** p < 0.01.

이 두 이성체의 작용이 더 두드러지는 것으로 사료된다. 배양전기간에 처리했을 때는 나타나지 않았던(Fig. 3) 9c-11t와 9t-11t 이성체의 작용이 배양전기에 처리했을 때 나타난 이유는 (Fig. 4) 설명하기 어려웠다.

CLA 처리시기에 따른 작용을 더 상세히 구명하기 위해서 세포분화억제작용이 컸던 50 μ M 10t-12c 이성체를 14일 배양기간을 2일씩 7구간으로 나누어 1구간(2일) 동안만 처리했을 때의 결과가 Fig. 6에 나타나 있다. day 2~4 처리가 약간의 분화억제작용을 나타냈을 뿐 다른 처리시기에서는 억제작용을 나타내지 않았는데 CLA 처리기간이 짧았던 것이 그 이유로 사료된다. 즉, 전체 배양기간이 길었기 때문에(14일), 예로 배양초기에 2일 동안 10t-12c를 처리한 경우 그 뒤의 무처리 배양기간 동안에 분화억제작용이 무력화되었을 것으로 사료된다.

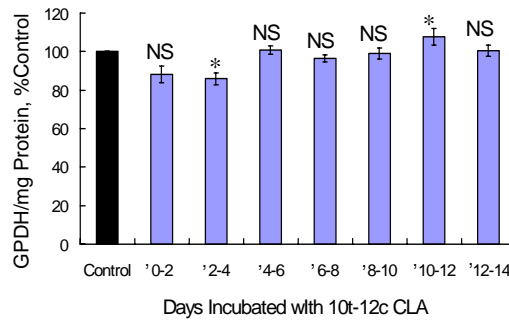


Fig. 6. Effects of CLA treatment time on pig preadipocyte differentiation. Cells were cultured in the presence of 50 μ M 10t-12c isomer only during the indicated period of the 14-day culture period. Values are means \pm SE, n = 6; difference from dimethyl sulfoxide (DMSO) treated control cells: NS, not significant; * p < 0.05.

4. CLA 처리가 돼지 지방전구세포의 중성지방 함량에 미치는 영향

본 연구에서 지방전구세포에서 성숙세포로의 분화정도를 GPDH의 활성도로 측정해서 구명했는데, 이 효소의 측정이 성숙세포로의 분화정도를 옳게 측정했는지를 구명하기 위해서 CLA 처리가 지방세포의 중성지방(triglyceride)

합성에 미치는 영향이 Fig. 7에 나타나 있다. 10t-12c 이성체는 중성지방합성을 현저히 억제했고, 9c-11c 이성체는 증가시켰다. 이 결과는 Fig. 3에 나타난 CLA가 지방세포분화에 미치는 작용을 잘 반영하고 있다.

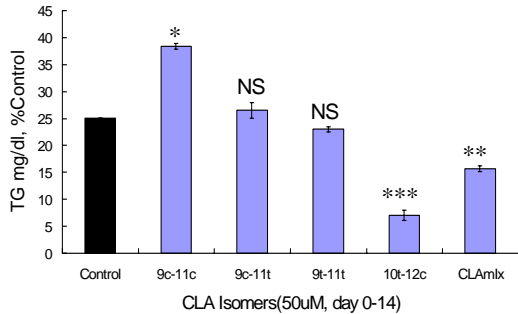


Fig. 7. Effects of CLA on triglyceride synthesis of pig preadipocyte. Cells were cultured in the presence of 50µM CLA isomers during the 14-day culture period after induction of differentiation. Triglyceride synthesis was measured on day 14. Values are means ± SE, n = 6; difference from DMSO(dimethyl sulfide) treated control cells: NS, not significant; * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001.

본 연구의 결과를 요약하면 10t-12c CLA 이성체는 신생자돈에서 분리, 채취한 지방전구세포의 분화를 크게 억제했고, 9c-11c 이성체는 촉진했으며 9c-11c와 9t-11t 이성체는 그 작용이 뚜렷하지 않았다. CLA의 위와 같은 작용은 세포배양후기보다는 배양전기에 더 뚜렷하게 나타났다. 위의 결과는 CLA를 가축의 지방축적 억제제로 사용할 경우 CLA 이성체 각각의 특이한 작용을 고려해야 함을 나타낸다.

IV 요약

본 연구는 여러 conjugated linoleic acid(CLA) 이성체가 돼지 지방전구세포의 분화에 미치는 영향을 구명하기 위해 수행하였다. 돼지 지방전구세포는 갓난 돼지의 등 지방에서 분리해서 성숙지방세포로 분화될 때 까지 배양했다. 여

러 CLA 이성체를 배양중의 세포에 처리했다. 세포분화는 세포배양이 끝난 후 세포의 glycerol-3-phosphate의 활성도를 측정함으로써 구명했다. 20µM과 50µM의 trans10-cis12 CLA 이성체는 돼지 지방전구세포의 분화를 억제했고, 한편 cis9-cis11 이성체는 세포분화를 촉진했다. cis9-trans11과 trans9-trans11 이성체는 세포분화에 아무런 영향을 미치지 않았다. CLA의 세포분화에 미치는 작용은 배양후기(day 8~14) 보다 배양전기(day 0~8)에 더 두드러지게 나타났다. 위의 결과는 여러 CLA 이성체는 돼지 지방전구세포 분화에 각각 다른 작용을 가짐을 나타낸다.

V 사 사

본 연구는 농림부의 농림기술개발연구사업의 지원(2000~2002)으로 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

VI 인용 문헌

1. Brodie, A. E., Manning, V. A., Ferguson, K. R., Jewell, D. E. and Hu, C. Y. 1999. Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post-confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in pre-confluent cell. J. Nutr. 129: 602-606.
2. Bradford, M. M. 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.
3. Cook, M. R., Miller, C. C., Park, Y. and Pariza, M. W. 1993. Immune modulation by altered nutrient metabolism-nutritional control of immune-induced growth depression. Poultry Sci. 72:1301-1305.
4. Ding, S-T., McNell, R. L. and Mersmann, H. J. 2002. Conjugated linoleic acid increases the differentiation of porcine adipocytes in vitro. Nutrition Research 20:1569-1580.
5. Ding, S. T., Wang, J. C. and Mersmann, H. J. 2003. Effect of unsaturated fatty acid on porcine adipocyte differentiation. Nutrition Research 23:1059- 1069.
6. Dugan, M. E. R., Aalhus, K. L., Schaefer, A. L. and Kramer, J. K. G. 1997. The effects of linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed con-

- version in pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 77:723-725.
7. Ha, Y. L., Grimm, N. K. and Pariza, M. W. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*. 8:1881-1887.
 8. Ip, C., Scimerca, J. A. and Thompson, H. J. 1994. Conjugated linoleic acid, a powerful anticarcinogen from animal fat sources. *Cancer* 74:1050-1054.
 9. Kang, K., Liu, W., Albright, K. J., Park, Y. and Pariza, M. W. 2003. *trans*-10, *cis*-12 CLA inhibits differentiation of 3T3-L1 adipocytes and decreases PPAR γ expression. *BBRC* 303:795-799.
 10. Lee, K. N., Kritchevsky, D. and Pariza, M. W. 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108:19-25.
 11. McNell, R. L. and Mersmann, H. J. 2003. Effects of isomers of conjugated linoleic acid on porcine adipocyte growth and differentiation. *J. Nutr. Biochem.* 14:266-274.
 12. Ostrowska, E., Mualitharan, M., Cross, R. F., Bauman, D. E. and Dunshea, F. R. 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.* 129:2037-2042.
 13. SAS. 1998. SAS User's Guide: Statistics, SAS Inst, Inc., Cary, N.C.
 14. Satory, D. and Smith, S. B. 1999. Conjugated linoleic acid inhibits proliferation but stimulates lipid filling of murine 3T3-L1 preadipocytes. *J.Nutr.* 129:92-97.
 15. Suryawan, A., Swanson, L. V. and Hu, C. Y. 1997. Insulin and hydrocortisone, but not triiodothyronine, are required for the differentiation of pig preadipocytes in primary culture. *J. Anim. Sci.* 75: 105-111.
 16. Thiel-Cooper, R. L., Parrish, F. C., Sparks, J. C., Wiegand, B. R. and Ewan, R. C. 2001. Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *J. Anim. Sci.* 79:1821-1828.
 17. Wahle, K. W. J., Heys, S. D. and Rotondo, D. 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research.* 43:553-587.
 18. Waylan, A. T., O'Quinn, P. R., Unruh, J. A., Nelssen, J. L., Goodband, R. D., Woodworth, J. C., Tokach, M. D. and Koo, S. I. 2002. Effects of modified tall oil and vitamin E on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 80:1575-1585.
 19. Wise, L. S. and Green, H. 1979. Participation of one isozyme of cytosolic glycerophosphate in adipose conversion of 3T3 cells *J. Biol. Chem.* 254: 273-275.
- (접수일자 : 2004. 11. 2. / 채택일자 : 2004. 12. 20.)