

잣 성분의 혈중 콜레스테롤 저하효과

박영서 · 정명수^{1,2,*}

경원대학교 생명공학부, ¹연세대학교 패키징학과, ²연세대학교 생리활성소재연구소

Cholesterol-Lowering Effect of Pine Nut in Plasma of Rats

Young-Seo Park and Myong-Soo Chung^{1,2,*}

Division of Biotechnology, Kyungwon University

¹Department of Packaging, Yonsei University

²Institute of Functional Biomaterials and Biotechnology, Yonsei University

Cholesterol-lowering effect of pine nut on mice was investigated by examining changes in body weight, feed intake, and triglyceride, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and very low density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) contents in mice plasma. Changes in body weight and feed intake between pre-designed experimental animal groups fed various contents of cholesterol and pine nut and control group fed basal diet were not significantly different. Food efficiency ratio of experimental groups fed higher than 10% pine nut was significantly higher than that of control group. Apparent differences in atherogenic index representing cholesterol-lowering effect in plasma were not found among all groups fed 0-20% pine nut. Inhibition activities of water and hexane extracts of pine nut on HMG-CoA reductase and cholesterol esterase were examined *in vitro*. Hexane extract showed 66% inhibition effect on HMG-CoA reductase, whereas none was observed with water extract.

Key words: pine nut, cholesterol, atherogenic index, HMG-CoA reductase, cholesterol esterase

서 론

최근 우리나라의 사망 원인 통계를 보면 1960년대까지는 전염병, 호흡기계 감염성 질병과 소화기계 질환이 사망의 주 원인이었으나 1970년대부터는 순환기계질환, 악성 신생물, 소화기계 질환의 순으로 순환기계 질환이 사망의 주원인으로 나타나고 있다. 이러한 순환기계 질환의 발생에 영향을 미치는 인자는 매우 다양하나 그 주된 원인 중의 하나는 식이지방으로, 비만과 함께 콜레스테롤 및 중성지질 등과 같은 혈청 중의 지질의 증가가 발생 위험인자로 알려져 있으며(1,2), 고콜레스테롤 혈증은 흡연 및 고혈압과 함께 동맥경화를 일으키는 세가지 주요한 위험인자로 알려지고 있다(3,4). 포화지방산과 콜레스테롤의 과량섭취는 비만과 고지혈증, 동맥경화 및 심근경색 등의 순환기계 질환을 유발하며 지질 과산화물은 생체 내에서 퇴행성 과정을 야기하고, 암, 노화, 생체막의 변화 및 파괴 등 생체 기능에 부의 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(5-7). 따라서 이러한 지질들의 생체 내외에서의 제어는 동물성 식품이 증가된 현대인의 식생활을 고려해 볼 때 대단히 중요하다. 콜레스테롤은 세포를 구성하는 필수성분으로 세포의 성장,

분화 및 발육에 중요한 역할을 담당하고 있으나 과다섭취로 인하여 혈관에 축적될 때 동맥경화, 협심증 등의 심각한 심혈관 질환을 초래하여 치명적 결과를 놓기도 한다(8). 성인의 경우 매일 약 1,000 mg 정도의 콜레스테롤을 신체의 거의 모든 세포에서 생산하며 약 300 mg 정도를 음식물로부터 섭취한다. 현대인은 보통 신체 요구량보다 과다한 콜레스테롤을 섭취하고 있으며(9) 남은 콜레스테롤은 혈액 속을 떠돌다가 단핵구, 거식세포 등과 함께 혈관 내막에 흡착, 거품세포로 전환되어 동맥경화를 일으킬 수도 있다고 하였다(10). LRH-CPPT 연구(11) 및 헬싱키 심장연구(12)에서는 콜레스테롤의 섭취를 1% 줄일 경우 심혈관 질환을 2% 줄일 수 있다고 보고한 바 있다.

콜레스테롤 흡수과정에 대한 지금까지의 연구결과에 의하면 섭취된 콜레스테롤 성분 중 콜레스테릴 에스테르는 췌장으로부터 소장으로 분비되는 담즙산의 존성 효소로 알려져 있는 췌장 cholesterol esterase에 의해 유리 콜레스테롤과 지방산으로 가수분해되며, 또한 이 효소는 유리 콜레스테롤의 장내 흡수를 용이하게 하는 것으로 알려져 있다(13). 또한 많은 연구결과들은 췌장 cholesterol esterase가 콜레스테릴 에스테르를 가수분해 할 뿐만 아니라 가수분해 후 소장의 흡수용모로 흡수된 유리 콜레스테롤과 지방산이 다시 에스테르화하는 역반응에도 관여함을 보여주었다(14,15). 췌장 cholesterol esterase 이외에도 콜레스테릴 에스테르의 가수분해 및 유리 콜레스테롤의 에스테르화 과정에 acyl-CoA:cholesterol acyltransferase라는 효소도 관여하는 것으로 알려져 있다.

*Corresponding author: Myong-Soo Chung, Department of Packaging, Yonsei University, Wonju, South Korea
Tel: 82-33-760-2370
Fax: 82-33-760-2370
E-mail: mschung@dragon.yonsei.ac.kr

Gallo 등(16)은 췌장의 소화액으로부터 cholesterol esterase를 제거하고 acyl-CoA: cholesterol acyltransferase만을 정상으로 유지시키면 혈류로의 콜레스테롤 흡수가 거의 80% 저해된다고 하였으며 이는 acyl-CoA:cholesterol acyltransferase만으로는 외인 성 콜레스테롤의 흡수를 유지하지 못하며 췌장 cholesterol esterase가 가장 필수적인 역할을 하기 때문이라고 주장하였다. 따라서, 췌장 cholesterol esterase의 작용을 억제시키는 것이 콜레스테롤의 흡수 저해에 가장 효과적인 방법이 될 수 있음을 알 수 있다. 혈중 콜레스테롤 함량을 감소시키기 위한 또 다른 효과적인 방법은 세포 내에서 콜레스테롤 생합성에 관여하는 합성효소들인 HMG-CoA(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) reductase나 HMG-CoA synthase 또는 squalene epoxidase 등의 활성을 저해시키는 것을 들 수 있으며, 그 이외에도 체내 콜레스테롤의 배설 촉진 혹은 콜레스테롤의 흡수 저해 등과 관련된 많은 연구들이 진행되고 있다(17-19). 한국인의 평균 지방 질 섭취는 1980년대 이후 육류, 계란, 우유 및 유제품 등 동물성 섭취의 증가로 1971년에 15.3%가 1993년에는 19.4%로 증가하는 추세로 이에 대한 대처방안이 절실히 요구되고 있는 상황이다.

잣(*Pinus koraiensis*)은 독특한 풍미를 지녔을 뿐만 아니라 지방 64.2%, 단백질 18.6%, 수분 5.5%, 당질 4.3%, 회분 1.5%, 기타 섬유질, 칼슘, 인, 철분, 비타민(A₁, B₁, B₂)이 들어 있는데, 100g에서 약 670칼로리의 열량이 나오는 고칼로리 식품으로 기운이 없을 때나 입맛을 떫었을 때 좋은 것으로 널리 알려져 있다. 잣에는 비타민 B가 풍부하며 호도나 땅콩에 비해 철분이 많이 함유되어 있어 비탄의 치료와 예방에도 좋다. 잣이 지니고 있는 성분 중 가장 중요한 것은 자양강장제의 역할을 하는 우수한 지방 성분인데 지방질 함유량은 62.0%로서 대단히 높은 편이며 불포화도는 6.0으로서 식물성 지방질 중에서 가장 높다(참고: 참깨 2.9, 대두 3.9, 유채 4.8). 잣에 함유된 지방은 올레인산과 리놀산, 리놀레인산 등 불포화 지방산으로 주로 이루어져 있는데 이들 불포화 지방산은 피부를 아름답게 하고 혈압을 내리게 할 뿐만 아니라 스타미나를 강화시키는 것으로 알려져 있다(20). 특히 동물성 지방과는 달리 오히려 혈액 속의 콜레스테롤의 양을 줄이므로 동맥경화증은 물론 각종 성인병을 예방하는 효과도 거둘 수 있다. 특히 레시틴을 많이 함유하고 있는 것도 잣의 큰 장점이라고 할 수 있으며 레시틴은 양질의 불포화지방산으로서 뇌와 혈관에 좋은 성분이며 현대병이라고 할 수 있는 고혈압, 당뇨병 등의 원인이 되는 동맥경화를 예방하고 치료하는 역할을 한다. 따라서 잣으로 죽을 만들어 먹으면 폐와 내장의 기능을 튼튼하게 해주기 때문에 기관지염 등 각종 노인성 질환을 예방하는데 좋으며 노화현상이 일어나는 중년기 이후에 좋은 약용식품이라고 할 수 있다. 또한 잣에는 암을 억제하는 protease 억제물질이 많이 함유하고 있다고 알려져 있으며 polyphenol류도 풍부하게 함유하고 있는데 이것 역시 암을 억제하는 것으로 확인된 물질이다.

본 연구에서는 식이성 고콜레스테롤 혈증을 유발한 흰쥐에게 일정 농도의 잣을 섭취시킨 후 혈중 콜레스테롤 함량 및 중성지질 함량 변화를 측정함으로써 잣이 고지혈증 또는 동맥경화증의 억제에 기여하는 전반적인 효과를 검토하고자 하며, *in vitro*에서 잣의 콜레스테롤 생합성 관련효소, 즉 cholesterol esterase, HMG-CoA reductase 활성 저해 효과를 *in vitro* 실험을 통해 알아 보고자 하였다.

재료 및 방법

시약

HMG-CoA, dithiothreitol, β-NADPH, cholesterol, cholestyamin, peroxidase, cholesterol oxidase, phenol, 4-aminoantipyrine, cholesterol esterase, cholesteryl palmitate는 Sigma 사로부터 구입하였고 나머지 시약은 일급 이상의 것을 사용하였다.

시료

잣은 시판되는 국내산 잣을 구입한 후 Pulper형 분쇄기(mince)를 이용하여 조분쇄하여 분말화하였다. 여기에 4배수의 사료 premix를 1차 혼합한 다음 충격식 분쇄기(pin crusher)에 조금씩 투입하면서 혼합하여 미분쇄하고 이 혼합물을 1배수의 사료 premix와 혼합하였다. 이를 다시 1배수의 사료 premix와 혼합한 다음 콜레스테롤 분말과 혼합하여 실험식이를 제조하였다.

실험동물

흰쥐를 이용한 동물실험은 2차에 걸쳐 실시하였다. 1차 실험은 평균 체중이 50.7 ± 1.8 g인 3주령 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley) 60마리를 (주)샘타코로부터 구입하여 일주일간 기본사료로 예비 사육하여 환경에 적응시킨 후 체중에 따른 난괴법으로 각 군당 10마리씩 6군으로 나누어 5주간 사육하였으며 물과 실험식이는 자유롭게 공급하였다. 2차 실험은 평균체중이 71.4 ± 2.5 g인 4주령 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley) 21마리를 (주)샘타코로부터 구입하여 일주일간 기본사료로 예비 사육하여 환경에 적응시킨 후 체중에 따른 난괴법으로 각 군당 3마리씩 7군으로 나누어 3주간 사육하였다. 사료 섭취량과 잣 섭취량은 매일 오후 2시에 측정하여 전날 공급량에서 남아 있는 양을 빼서 일일 섭취량으로 계산하였다. 사육 및 실험기간 중의 환경조건은 실내온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도는 $55 \pm 5\%$ 를 유지하면서 light-dark cycle은 12시간으로 하였다.

실험식이

일반사료(Table 1)를 기본식이로 하여 분말화한 후 각 식이에 따라 고콜레스테롤 식이를 만들기 위하여 각 식이에 1%의 콜레스테롤을 첨가하여 조제하였으며 잣의 첨가량은 1차 실험의 경우 정상군(기본식이), 대조군(기본식이 + 1% 콜레스테롤), 5% 잣투여군(기본식이 + 1% 콜레스테롤 + 5% 잣분말), 10% 잣투여군(기본식이 + 1% 콜레스테롤 + 10% 잣분말), 15% 잣투여군(기본식이 + 1% 콜레스테롤 + 15% 잣분말), 20% 잣투여군(기본식이 + 1% 콜레스테롤 + 20% 잣분말)으로 첨가하였으며, 2차 실험의 경우 정상군(기본식이), 대조군(기본식이 + 2% 콜레스테

Table 1. Chemical composition of basic feed

Composition	Content (%)
Moisture	12.5
Crude protein	23.5
Crude fat	5.9
Crude ash	5.9
Crude fiber	3.9
Nitrogen free extracts	48.3
Total	100.0

Table 2. Recipe of feed for first animal experiment

	Content (%)					
	Normal	Control	5% pine nut	10% pine nut	15% pine nut	20% pine nut
Basal diet	100	99	94	89	84	79
Cholesterol	0	1	1	1	1	1
Pine nut	0	0	5	10	15	20

Table 3. Recipe of feed for second animal experiment

	Content (%)						
	Normal	Control	1% pine nut	2% pine nut	3% pine nut	4% pine nut	5% pine nut
Basal diet	100	98	97	96	95	94	93
Cholesterol	0	2	2	2	2	2	2
Pine nut	0	0	1	2	3	4	5

률), 1% 잣투여군(기본식이 + 2% 콜레스테롤 + 1% 잣분말), 2% 잣투여군(기본식이 + 2% 콜레스테롤 + 2% 잣분말), 3% 잣투여군(기본식이 + 2% 콜레스테롤 + 3% 잣분말), 4% 잣투여군(기본식이 + 2% 콜레스테롤 + 4% 잣분말), 5% 잣투여군(기본식이 + 2% 콜레스테롤 + 5% 잣분말)으로 첨가하였다. 1차 실험과 2차 실험에 사용한 실험식이의 조성은 Table 2와 3에 나타내었다.

체중측정 및 식이 효율

체중은 식이 섭취로 인한 일시적인 체중변화를 막기 위해 측정하기 1시간 전에 식이를 제거한 후 7일 간격으로 같은 시간에 측정하였고 식이 효율(Food Efficiency Ratio, FER)은 일주일간의 체중 증가량을 같은 기간동안의 식이 섭취량으로 나누어 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{FER}(\text{Food Efficiency Ratio}) = \text{Body weight gain}/\text{Food intake}$$

재혈

실험종료 후 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 가볍게 마취시킨 다음 심장천좌에 의해 10 mL 주사기로 혈액을 채혈한 다음 혈청 분리를 위하여 채혈한 혈액을 실온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 혈청을 시료로 사용하였다.

각종 혈청 지질 분석

Triglyceride, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol(HDL-C) 함량은 1차 실험의 경우 삼광의료재단에, 2차 실험의 경우에는 서울적십자병원에 의뢰하여 측정하였다. Low density lipoprotein cholesterol(LDL-C)의 함량과 very low density lipoprotein cholesterol(VLDL-C)의 함량은 Friedwald 등의 방법(21)에 따라 다음의 식에 의해 산출하였다.

$$\text{LDL-C} = [\text{total cholesterol} - (\text{HDL-C} + \text{neutral lipid})]/5$$

$$\text{VLDL-C} = [\text{total cholesterol} - (\text{HDL-C} + \text{LDL-C})]$$

한편 동맥경화지수는 다음식에 의해 산출하였다.

$$\text{Atherogenic Index} =$$

$$(\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol})/\text{HDL cholesterol}$$

잣 추출액의 조제

잣을 homogenizer로 분쇄한 후 n-hexane을 시료중량의 5배를 가하여 48시간 동안 shaking 한 다음 Whatman No. 5 여과지

로 여과하고 여액을 30°C에서 감압농축하여 혼산 추출물 시료로 사용하였다. 한편 분쇄한 잣에 시료중량과 동량의 H₂O를 가하여 48시간 동안 shaking 한 다음 Whatman No. 5 여과지로 여과한 여액을 H₂O 추출물 시료로 사용하였다.

HMG-CoA reductase의 조제

200 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐에게 cholestyramine을 기본식이에 0.4%가 되도록 첨가한 사료를 주어 10일간 사육한 후 개복하여 간을 적출하였다. 적출한 간은 무게를 측정한 후 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0), 0.2 M sucrose, 2 mM dithiothreitol로 세척하여 homogenizer로 균질화한 다음 15,000 g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액에서 지방총을 제거한 다음 100,000 g에서 70분간 초원심분리하여 microsome을 분리하여 취하고 다시 위의 완충용액으로 microsome을 세척하여 100,000 g에서 60분간 원심분리하였다. 이를 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0), 0.1 M sucrose, 2 mM dithiothreitol, 50 mM KCl, 30 mM EDTA를 이용하여 균질화한 후 상온에서 30분간 방치한 다음 100,000 g, 20°C에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 조효소액으로 사용하였다.

HMG-CoA reductase 억제활성 측정

HMG-CoA reductase 활성은 Kleinsek 등의 방법(22)에 따라 다음과 같이 측정하였다. 1 mL cuvette에 잣 추출액 (control은 시료 대신 DMSO를 첨가함) 20 μL, DMSO 20 μL, 0.5 μM phosphate buffer 100 μL, 20 mM DTT 100 μL, 3 mM NADPH 100 μL, HMG-CoA reductase 조효소액 100 μL를 가하여 반응액의 온도를 37°C로 일정하게 한 후 3 mM HMG-CoA를 100 μL 가하여 효소반응을 시작하면서 340 nm에서 5분간의 흡광도 변화를 기록하였다. 한편 HMG-CoA 대신 증류수를 가한 blank로 반응시킨 흡광도의 변화도 동시에 기록하여 다음식에 의해 억제활성을 계산하였다.

$$\text{억제활성}(\%) =$$

$$\left\{ 1 - \frac{\text{control의 흡광도 변화} - \text{control blank의 흡광도 변화}}{\text{시료의 흡광도 변화} - \text{시료 blank의 흡광도 변화}} \right\} \times 100$$

Cholesterol esterase 저해활성 측정

Cholesterol esterase 저해활성을 측정하기 위해 200 unit peroxidase, 2.0 unit cholesterol oxidase, 30 μM phenol, 2 μM 4-aminoantipyrine, 150 μM potassium phosphate buffer(pH 7.0),

Table 4. Changes in amount of feed intake for first animal experiment

(unit: g)

Group/week	1	2	3	4	5
Normal	446.95 ± 0.92 ^{a*}	498.65 ± 8.00 ^{ab}	591.00 ± 122.33 ^a	636.25 ± 9.40 ^{ab}	622.10 ± 6.36 ^a
Control	444.40 ± 70.29 ^a	538.20 ± 37.19 ^a	570.95 ± 15.77 ^a	650.25 ± 22.00 ^a	638.95 ± 8.13 ^a
5% pine nut	441.75 ± 11.38 ^a	498.80 ± 3.68 ^{ab}	530.40 ± 6.93 ^a	559.80 ± 63.22 ^{bc}	619.15 ± 1.91 ^a
10% pine nut	423.95 ± 7.28 ^a	461.60 ± 0.57 ^b	491.05 ± 15.63 ^a	566.65 ± 9.40 ^{bc}	565.70 ± 1.70 ^b
15% pine nut	445.05 ± 22.70 ^a	484.65 ± 31.75 ^b	516.35 ± 16.76 ^a	583.55 ± 19.73 ^{abc}	583.30 ± 13.86 ^b
20% pine nut	375.85 ± 29.06 ^a	453.50 ± 8.77 ^b	493.45 ± 2.19 ^a	557.60 ± 19.10 ^c	571.70 ± 20.51 ^b

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

Table 5. Changes in amount of feed intake for second animal experiment

(unit: g)

Group / week	1	2	3
Normal	57.43 ± 9.19 ^{ab*}	60.64 ± 3.05 ^b	63.57 ± 3.41 ^b
Control	60.93 ± 4.57 ^a	69.71 ± 4.08 ^a	69.71 ± 2.01 ^a
1% pine nut	55.29 ± 3.49 ^{ab}	63.07 ± 2.68 ^b	67.14 ± 5.48 ^{ab}
2% pine nut	56.21 ± 3.84 ^{ab}	60.71 ± 3.87 ^b	64.14 ± 2.27
3% pine nut	51.36 ± 3.86 ^b	62.43 ± 3.94 ^b	67.07 ± 2.28 ^{ab}
4% pine nut	54.50 ± 9.10 ^{ab}	62.64 ± 6.02 ^b	63.00 ± 2.36 ^b
5% pine nut	58.43 ± 10.76 ^{ab}	65.71 ± 7.77 ^b	65.00 ± 5.38 ^b

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

2.3 unit cholesterol esterase로 된 반응용액을 37°C에서 3분간 예비 반응한 후 10% Triton X-100에 분산시킨 0.12 μM의 cholestryl palmitate와 500 μL의 잣 추출액(control로 시료 대신 Triton X-100을 참가함)을 가한 다음 15분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 끓는 물에서 3분간 가열하여 반응을 정지시킨 후 원심분리하여 500 nm에서의 상동액의 흡광도를 측정하여 생성된 quinoneimine의 붉은 색소의 양을 측정하였다. 한편 cholestryl palmitate 대신 증류수를 가한 blank로 반응시킨 흡광도의 변화도 동시에 기록하여 다음식에 의해 억제활성을 계산하였다.

억제활성(%) =

$$\left\{ 1 - \frac{\text{control의 흡광도} - \text{control blank의 흡광도}}{\text{시료의 흡광도} - \text{시료 blank의 흡광도}} \right\} \times 100$$

통계 처리

모든 실험의 결과는 SAS series package의 ANOVA를 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 나타내었으며 각 실험군별로 계산하여 각 실험군 간의 유의적인 차이 분석을 Duncan's multiple range test로 실시하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량

잣의 혈중 콜레스테롤 저하효과를 동물실험을 통하여 확인하기 위하여 기본식이(정상군), 기본식이에 콜레스테롤을 참가한 식이(대조군), 그리고 기본식이에 콜레스테롤과 여러 농도의 잣을 함유한 실험식이(실험군)를 각 군별로 섭취하게 한 다음 각 군의 주별 식이섭취량을 조사한 결과 5주간 잣을 5, 10, 15, 20%의 농도로 투여한 1차 실험의 경우 Table 4에서 보는 바와 같이 1주차에는 각 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았지만 2주차에는 잣을 섭취하지 않은 대조군이 538.20 g으로 다른 군에 비해 식이섭취량이 높았으며 3주차에는 군간 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 4주차와 5주차에는 잣을 섭취하지 않은

대조군이 다른 군보다 높은 식이섭취량을 나타냈으며 전 기간에 걸쳐 잣의 농도에 따른 식이섭취량의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 3주간 잣을 1, 2, 3, 4, 5% 투여한 2차 실험의 경우에는 Table 5에 나타난 바와 같이 전 기간에 걸쳐 잣을 섭취하지 않은 대조군이 잣을 섭취한 군에 비해 식이섭취량이 유의적으로 높음을 알 수 있었다.

체중 증가량 및 식이효율

체중 증가량은 5주간 잣을 투여한 1차 실험의 경우 Table 6에서 보는 바와 같이 전 기간에 걸쳐 15% 잣을 투여한 군에서 유의적으로 체중의 증가가 나타났으며 다른 군에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 3주간 잣을 투여한 2차 실험의 경우 Table 7에서 보는 바와 같이 모든 군이 유사한 체중 증가량을 나타내어 잣의 농도에 따른 체중의 변화는 없는 것을 알 수 있었다.

식이효율은 5주간 잣을 투여한 1차 실험의 경우 Table 8에서와 같이 정상군과 대조군이 0.51, 5% 잣 투여군이 0.53으로 유사한 수준을 나타내었으나 10% 잣 투여군은 0.57, 15%와 20% 투여군은 0.60으로 정상군, 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 3주간 잣을 투여한 2차 실험의 경우에는 Table 9에서 보는 바와 같이 각 군의 식이효율이 0.28에서 0.32로 각 군간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이상의 결과로부터 저농도로 잣을 섭취한 경우에는 식이효율이 대조군과 차이를 나타내지 않았지만 10% 이상의 고농도의 잣을 섭취한 경우에는 식이효율이 높아지는 경향이 있음을 알 수 있었다.

혈장 내 지질 함량

실험동물에 고콜레스테롤 혈증을 유도하기 위하여 실험식이 중에 콜레스테롤을 1% 참가한 후 잣을 농도별로 참가하여 잣의 농도에 따른 혈중 콜레스테롤 저하효과를 관찰하였다. 5주 동안 5, 10, 15, 20%의 잣을 투여한 1차 실험의 결과를 Table 10에 나타내었다. 혈장 내 총 콜레스테롤 함량은 기본식이를 섭취한 정상군의 경우 52.80 mg/dL이었고 1%의 콜레스테롤이

Table 6. Changes in body weight of mice for first animal experiment

Group/week	1	2	3	4	5	(g/week)
Normal	149.90±7.17 ^{b*}	197.00±9.72	243.60±12.83 ^b	276.40±18.22 ^b	305.80±20.56 ^b	
Control	150.90±3.96 ^b	200.10±5.43	249.10±6.44 ^b	283.00±7.26 ^b	311.70±6.82 ^b	
5% pine nut	151.80±5.85 ^b	201.20 ^b ±7.81	249.70±10.74 ^b	285.70±13.54 ^b	315.10±13.41 ^b	
10% pine nut	151.60±12.60 ^b	194.50 ^b ±7.50	241.60±8.57 ^b	276.40±10.72 ^b	307.90±10.86 ^b	
15% pine nut	165.20±8.51 ^a	214.40 ^a ±14.38	264.70±19.90 ^a	303.70±21.20 ^a	335.60±20.20 ^a	
20% pine nut	148.40±8.32 ^b	199.40 ^b ±7.78	250.30±10.01 ^b	291.30±10.49 ^b	325.4 ^b ±13.30 ^b	

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

Table 7. Changes in body weight of mice for second animal experiment

Group / week	1	2	3	(g/week)
Normal	90.33±0.29 ^{a**}	156.83±2.84 ^a	206.33±13.26 ^a	
Control	94.33±2.02 ^a	158.00±4.27 ^a	212.17±4.07 ^a	
1% pine nut	90.33±2.02 ^a	155.00±12.01 ^a	211.17±19.09 ^a	
2% pine nut	91.67±2.52 ^a	151.50±7.86 ^a	201.17±12.85 ^a	
3% pine nut	91.17±3.33 ^a	158.17±13.25 ^a	216.67±22.94 ^a	
4% pine nut	91.83±2.52 ^a	153.00±4.77 ^a	206.33±5.80 ^a	
5% pine nut	94.67±2.75 ^a	161.83±7.01 ^a	217.17±6.25 ^a	

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

Table 8. Food efficiency ratio during 5 weeks for first animal experiment

Food efficiency ratio ¹⁾					
Normal	Control	5% pine nut	10% pine nut	15% pine nut	20% pine nut
0.51 ^{a*}	0.51 ^a	0.53 ^a	0.57 ^b	0.60 ^b	0.60 ^b

¹⁾Food Efficiency Ratio (FER) = Body weight gain/Food intake.

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

Table 9. Food efficiency ratio during 3 weeks for second animal experiment

Food efficiency ratio ¹⁾						
Normal	Control	1% pine nut	2% pine nut	3% pine nut	4% pine nut	5% pine nut
0.28 ^{a*}	0.31 ^a	0.29 ^a	0.29 ^a	0.30 ^a	0.29 ^a	0.32 ^a

¹⁾Food Efficiency Ratio (FER) = Body weight gain/Food intake.

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

첨가된 식이를 섭취한 대조군은 53.60 mg/dL로 콜레스테롤 섭취에 의해 혈중 콜레스테롤 함량이 유의적으로 증가하지는 않았다. 잣을 5, 10, 15, 20% 첨가한 실험식이를 투여했을 경우 잣의 농도가 증가함에 따라 혈중 콜레스테롤 함량이 증가하는 경향이 나타나 1차 실험에 사용한 잣의 농도에서는 혈중 콜레스테롤 감소효과가 나타나지 않음을 알 수 있었는데 이는 잣에 포함된 다량의 지질 때문인 것으로 판단된다. 혈중 HDL 콜레스테롤 함량은 잣을 섭취함에 따라 감소하였고 중성지질은 정상군과 비교하여 유의적으로 증가함을 나타내었다. 혈중 LDL 콜레스테롤과 VLDL 콜레스테롤 함량 역시 정상군과 비교하였을 때 잣 투여군에서 유의적인 증가 경향을 나타내었다. 동맥경화지수는 콜레스테롤을 첨가한 대조군이 오히려 정상군에 비해 감소하였으며 잣의 첨가량이 증가할수록 동맥경화지수도 증가하였다. 잣 섭취에 의한 혈중 콜레스테롤 저하효과를 확인하기 위하여 실험식이에 첨가된 잣의 함량이 본 연구에서 매우 높다고 판단되어 잣의 함량을 1~5% 범위로 낮춰 2차 실험을 실시하였다. 2차 실험은 기본식이를 투여한 정상군, 1%의 콜레스테롤이 첨가된 대조군과 1%의 콜레스테롤과 1, 2, 3, 4,

5%의 잣이 각각 첨가된 군으로 나누어 각 군당 3마리의 rat을 사용하여 3주간 실시하였다. 그 결과 Table 11에 나타난 바와 같이 총 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 대조군이 약간 증가하였지만 유의성을 나타내지 않았으며 잣을 투여한 군에서도 유의적인 감소현상을 나타내지 않았다. HDL 콜레스테롤 함량은 대조군과 비교하였을 때 오히려 약간 감소하는 경향을 나타내었으며 중성지질, LDL 콜레스테롤, VLDL 콜레스테롤, 동맥경화지수는 모든 군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이상의 결과로부터 본 연구에 사용한 농도범위에서는 잣 섭취에 의해 혈중 콜레스테롤 함량이 감소하는 효과가 나타나지 않았으며 이는 잣에 함유된 다량의 지방이 섭취됨으로써 잣이 지니는 콜레스테롤 저하효과가 감쇄하였기 때문으로 사료된다.

잣 추출물의 HMG-CoA reductase와 cholesterol esterase의 저해활성

잣 성분이 HMG-CoA reductase와 cholesterol esterase의 저해활성을 지니는지 확인하기 위하여 hexane과 물을 사용하여 잣 성분을 추출한 후 각 추출물에 대한 HMG-CoA reductase와

Table 10. Lipid content in plasma after 5 weeks for first animal experiment

Group/test	Plasma total cholesterol (mg/dL)	Plasma HDL cholesterol (mg/dL)	Plasma triglyceride (mg/dL)	Plasma LDL cholesterol (mg/dL)	Plasma VLDL cholesterol (mg/dL)	Atherogenic Index
Normal	52.80 ± 7.55 ^{c*}	31.98 ± 3.97 ^a	24.40 ± 6.33 ^b	15.74 ± 5.24 ^d	5.08 ± 1.23 ^b	0.66 ± 0.15 ^c
Control	53.60 ± 7.14 ^c	32.84 ± 4.98 ^a	38.20 ± 15.03 ^a	13.12 ± 3.50 ^d	7.64 ± 3.01 ^a	0.63 ± 0.08 ^c
5% pine nut	57.70 ± 5.93 ^{bc}	27.59 ± 3.37 ^b	40.90 ± 12.40 ^a	21.93 ± 5.72 ^c	8.18 ± 2.48 ^a	1.10 ± 0.26 ^b
10% pine nut	63.70 ± 6.17 ^b	27.56 ± 4.31 ^b	31.60 ± 10.00 ^{ab}	29.82 ± 4.45 ^b	6.23 ± 2.00 ^{ab}	1.33 ± 0.22 ^b
15% pine nut	63.00 ± 12.93 ^b	22.68 ± 3.71 ^c	34.30 ± 17.52 ^{ab}	33.46 ± 12.56 ^{ab}	6.94 ± 3.59 ^{ab}	1.81 ± 0.59 ^a
20% pine nut	73.80 ± 6.84 ^a	27.69 ± 4.67 ^b	33.50 ± 8.92 ^{ab}	39.41 ± 5.77 ^a	6.70 ± 1.78 ^{ab}	1.72 ± 0.41 ^a

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

Table 11. Lipid content in plasma after 3 weeks for second animal experiment

Group/test	Plasma total cholesterol (mg/dL)	Plasma HDL cholesterol (mg/dL)	Plasma triglyceride (mg/dL)	Plasma LDL cholesterol (mg/dL)	Plasma VLDL cholesterol (mg/dL)	Atherogenic Index
Normal	77.33 ± 3.79 ^{**}	38.00 ± 2.65 ^{ab}	173.00 ± 42.23 ^a	4.73 ± 5.08 ^a	34.60 ± 8.45 ^a	1.03 ± 0.15 ^a
Control	89.67 ± 6.81 ^a	46.33 ± 4.16 ^a	175.67 ± 20.65 ^a	8.20 ± 6.35 ^a	35.13 ± 4.13 ^a	0.93 ± 0.15 ^a
1% pine nut	88.33 ± 10.21 ^a	45.00 ± 1.73 ^{ab}	173.33 ± 87.09 ^a	8.67 ± 7.51 ^a	34.67 ± 17.42 ^a	0.97 ± 0.29 ^a
2% pine nut	84.66 ± 6.81 ^a	42.67 ± 3.79 ^{ab}	165.33 ± 45.71 ^a	8.93 ± 2.60 ^a	33.07 ± 9.14 ^a	1.03 ± 0.23 ^a
3% pine nut	82.66 ± 7.51 ^a	40.00 ± 9.54 ^{ab}	190.00 ± 21.66 ^a	4.67 ± 4.16 ^a	38.00 ± 4.33 ^a	1.13 ± 0.42 ^a
4% pine nut	78.67 ± 4.69 ^a	36.33 ± 1.53 ^b	144.67 ± 18.77 ^a	13.40 ± 3.22 ^a	28.93 ± 3.75 ^a	1.17 ± 0.21 ^a
5% pine nut	85.33 ± 8.50 ^a	40.33 ± 2.31 ^{ab}	178.00 ± 87.23 ^a	9.40 ± 10.96 ^a	35.60 ± 17.45 ^a	1.13 ± 0.16 ^a

*Values having the same letter are not significantly different at 5% level based on the ANOVA test.

Table 12. Inhibition rate of pine nut extracts on HMG-CoA reductase and cholesterol esterase

Sample	Inhibition rate (%)	
	HMG-CoA reductase	cholesterol esterase
Hexane extract	66.0	0.0
Water extract	0.0	0.0

cholesterol esterase의 저해활성을 측정하였다. 그 결과 Table 12에 나타난 바와 같이 잣의 hexane 추출물은 66%의 HMG-CoA reductase 저해활성을 지니고 있었으며 물 추출물은 저해활성을 나타내지 않았다. 한편 잣의 hexane 추출물과 물추출물은 cholesterol esterase의 저해활성을 지니고 있지 않았다. 혈중 콜레스테롤의 농도는 생체 내에서의 생합성과 분해의 두 과정에 의해 조절되는데 그 중 생합성 과정이 더 크게 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 콜레스테롤 생합성 과정 중 HMG-CoA로부터 mevalonate로 전환시키는 효소인 HMG-CoA reductase는 콜레스테롤 합성속도의 율속효소이며 간장 중 HMG-CoA reductase 활성의 저하는 간장 LDL-receptor의 활성을 증가시켜 혈중 콜레스테롤 농도를 감소시킨다고 보고되어 있다. 한편 cholesterol esterase는 식이성 콜레스테릴 에스테르를 가수분해하여 유리 콜레스테롤과 지방산으로 가수분해하며 유리 콜레스테롤의 장내 흡수를 용이하게 하여 혈중 콜레스테롤의 농도를 증가시킨다고 알려져 있다. 본 연구에서 잣 추출물은 cholesterol esterase 저해활성을 지니고 있지 않았지만 잣의 hexane 추출물이 HMG-CoA reductase 저해활성을 나타내었기 때문에 잣의 일부 성분은 유리 콜레스테롤의 장내 흡수를 저해하지는 못하지만 콜레스테롤의 생합성을 저해함으로써 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시킬 수 있다고 사료된다. 본 연구에서 잣 분말을 이용하여 동물실험을 실시하였을 경우 혈중 콜레스테롤의 저하현상이 관

찰되지 않았는데 이는 잣에 함유되어 있는 지질이 과량 섭취됨으로써 잣 성분의 cholesterol esterase 저해활성을 상쇄시켰을 것으로 판단된다. 따라서 혈중 콜레스테롤의 함량을 저하시키기 위해서는 지방 함량이 높은 가공하지 않은 잣을 섭취하기보다는 잣의 성분 중에서 HMG-CoA reductase 저해활성을 지니는 유용성분만을 추출하여 섭취하는 것이 바람직하다고 보면 이를 위해서는 잣의 hexane 추출물 중에서 유용성분을 분리 정제하여 분석하고 동물실험을 실시하여 잣 유용성분의 임상 연구가 필요하다고 판단된다.

요 악

잣의 혈중 콜레스테롤 저하효과를 동물실험을 통하여 확인하기 위하여 기본식이(정상군), 기본식이에 콜레스테롤을 첨가한 식이(대조군), 그리고 기본식이에 콜레스테롤과 여러 농도의 잣을 함유한 실험식이(실험군)를 각 군별로 섭취하게 한 결과 잣의 농도에 따른 식이섭취량과 체중변화량의 유의적인 차이는 크게 나타나지 않았다. 식이효율은 저농도로 잣을 섭취한 경우에는 대조군과 차이를 나타내지 않았지만 10% 이상의 고농도의 잣을 섭취한 경우에는 식이효율이 높았다. 본 연구에 사용한 농도범위(1-20%)에서는 잣 섭취에 의해 혈중 콜레스테롤 함량과 동맥경화지수가 감소하는 효과가 나타나지 않았으며 이는 잣에 함유된 다량의 지방이 섭취됨으로써 잣이 지니는 콜레스테롤 저하효과가 감쇄하였기 때문으로 사료된다. 또한 잣 성분이 HMG-CoA reductase와 cholesterol esterase의 저해활성을 지니는지 확인하기 위하여 hexane과 물을 사용하여 잣 성분을 추출한 후 각 추출물에 대한 HMG-CoA reductase와 cholesterol esterase의 저해활성을 측정한 결과 잣의 hexane 추출물은 66%의 HMG-CoA reductase 저해활성을 지니고 있었으며 물 추출물은 저해활성을 나타내지 않았다. 한편 잣의 hexane

추출물과 물 추출물은 cholesterol esterase에 대한 저해활성을 지니고 있지 않았다. 결론적으로 혈중 콜레스테롤의 함량 저하 효과는 가공하지 않은 잣의 섭취에 의해서는 기대하기 어려우므로, 향후 잣의 hexane 추출물 중의 유용성분이 혈중 콜레스테롤 함량 저하효과를 지니는지에 대한 동물실험을 수행할 가치가 있다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 (주)오뚜기 산학공동연구 프로그램의 연구지원비에 의하여 수행하였으며 연구지원에 감사 드립니다.

문 헌

1. Glueck CJ, Connor WE. Diet-coronary heart disease relationships reconnoitered. Am. Clin. Nutr. 31: 727-737 (1978)
2. Rahimtoola, SH. Cholesterol and coronary heart disease.: A perspective. J. Am. Med. Assoc. 253: 2094-2095 (1985)
3. Castelli WP, Wilson PW, Levy D, Anderson K. Serum lipid and risk of coronary artery disease. Atheroscler. Rev. 21: 7-15 (1990)
4. Shils ME, Young V. Modern Nutrition in Health and Disease. 7th ed, Lea & Febiger PA, USA (1988)
5. Vergroeson AT. Physiological effects of dietary linoleic acid. Nutr. Rev. 35: 1-5 (1997)
6. Bidlack WR, Tappel AL. Damage to microbial membrane by lipid peroxidation. Lipids 8: 177-185 (1973)
7. Saito M. International between lipid peroxide formation and nutritional status. J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci. 41: 343-351 (1988)
8. Keys A. Coronary heart disease in seven countries. Circulation 41 (suppl. 1): 1-19 (1970)
9. Grover SA, Coupal L, Hu XP. Identifying adults at increased risk of coronary disease. J. Am. Med. Assoc. 274: 801-806 (1995)
10. Connelly PW, MacLean DR, Horlick L, O'connor B, Petrasovits A, Littel JA. Plasma lipids and lipoproteins and the prevalence of risk for coronary heart disease in Canadian adults. CMAJ. 146: 1977-1987 (1992)
11. Anonymous. Report of the national cholesterol education program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Arch. Intern. Med. 148: 36-39 (1988)
12. Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P, Huttunen JK, Kaitaniemi P, Koskinen P, Manninen V. Helsinki Heart Study: Primary-prevention trial with gerifibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. New Engl. J. Med. 317: 1237-1245 (1987)
13. Shamir R, Johnson WJ, Zolfaghari R, Lee HS, Fisher EA. Role of bile salt-dependent cholesterol by intestinal cells. Biochemistry 34: 6351-6358 (1995)
14. Huang Y, Hui DY. Metabolic fate of pancreas-derived cholesterol esterase in intestine: an in vitro study using Caco-2 cells. J. Lipid Res. 31: 2029-2037 (1990)
15. Gallo LL, Newbill T, Hyun J, Vahouny GV, Treadwell CR. Role of pancreatic cholesterol esterase in the uptake and esterification of cholesterol by isolated intestinal cells. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 156: 277-281 (1977)
16. Gallo LL, Wadsworth JA, Vahouny GV. Normal cholesterol absorption in rats deficient in intestinal acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase activity. J. Lipid Res. 28: 381-387 (1987)
17. Krause BR, Anderson M, Bisgaier EL, Bocan T, Bousley R, Deheat P, Essenburg A, Hamelehe K, Horman R, Kieft K, McNally W, Stanfield R, Newton RS. In vivo evidence that the lipid-regulating activity of the ACAT inhibitor CI-976 in rats is due to inhibition of both intestinal and liver ACAT. J. Lipid Res. 34: 279-294 (1993)
18. Ogawa K, Terada T, Muranaka Y, Hamakawa T, Ohta S, Okamoto M, Fujii S. Studies on hypolipidemic agents. IV. Syntheses and biological activities of trans- and cis-2-(4-alkylcyclohexyl)-2-oxoethyl arenesulfonates. Chem. Pharm. Bull. 35: 3276-3283 (1987)
19. Harris WS, Dujovne CA, Windsor SL, Gerrond LL, Newton FA, Gelfand RA. Inhibiting cholesterol absorption with CP-88,818: Studies in norman and hyperlipidemic subjects. J. Cardiovasc. Pharmacol. 30: 55-60 (1997)
20. Chun SJ, Park YH. Triglyceride composition of pine nut oil. Korean J. Food Sci. Technol. 16: 179-181 (1984)
21. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem. 18: 499-502 (1972)
22. Kleinsek DA, Dugan RE, Baker TA, Porter JW. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase from rat liver. Methods Enzymol. 71: 462-479 (1981)

(2005년 5월 6일 접수; 2005년 7월 26일 채택)