

고지방 식이내 식이섬유질이 흰쥐의 레티놀 결합 단백질 (RBP, cRBP I, cRBP II) 유전자 발현에 미치는 영향*

조민화·신동순[§]

경남대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Fibers on Retinol Binding Protein (RBP, cRBP I, cRBP II) Gene Expression in Rats Fed High Fat Diet*

Jo, Min-Wha · Shin, Dong-Soon[§]

Department of Food and Nutritional Science, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

ABSTRACT

Recently it has been reported that vitamin A and retinol binding proteins (RBPs) in blood and urine were changed in the condition of diabetes mellitus or hyperlipidemia. Fruits and vegetables are recommended to consume for the people suffered from these chronic degenerative diseases. The main components of fruits and vegetables are dietary fibers, for example cellulose and pectin, of which function to affect the absorption and excretion of dietary fat and fat-soluble substances. This study was conducted to investigate the effect of dietary fibers on RBPs mRNA expression in liver, small intestine and serum of rat fed high fat diet during 4 weeks. Sprague-Dawley rats, weighing 121g on average, were divided into four groups; (Control; 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet and HFP: 25% fat & pectin supplement diet). The rats fed high fat diet groups (HF0, HFC, HFP) tended to consume the food less than the control group, but FER of HF0 groups was significantly higher than the control ($p < 0.05$). The weight of adrenal gland in high fat diet groups (HF0, HFC, HFP) was significantly less than the control. Total lipid in feces daily excreted and in liver did not show any significant differences among the groups. Total cholesterol in HFP group was significantly different from that of HFC group. Serum total cholesterol and triglyceride in HFP group tended to lower than other groups and HDL cholesterol higher. Consequently, AI (atherogenic index) was the lowest in HFP group. Vit A contents in feces daily excreted tended to lower in high fat diet groups (HF0, HFP) compared to the control group. That content in adrenal gland was the lowest in HF0 group, but not in liver. In HFP group were down-regulated cRBPI mRNA in liver and cRBPII mRNA in small intestine and up-regulated RBP and transthyretin expression in serum compared to the other groups. In conclusion, dietary fibers, especially pectin, in high fat diet might down-regulate the expression of cRBPI, cRBPII mRNA in liver and small intestine, but increase the secretion of RBP into serum and therefore enhance the bioavailability of Vit A through the body. (*Korean J Nutrition* 38(10): 817~826, 2005)

KEY WORDS : high fat diet, dietary fiber, RBP, cRBPs (cRBPI, cRBPII), gene expression, transthyretin.

서론

지난 30년간 한국인의 식사형태는 고지방, 저섬유질의 서구식으로 변화되었으며 이에 따라 비만을 비롯하여 뇌혈관

접수일 : 2004년 12월 23일

채택일 : 2005년 12월 16일

*This research was supported by grants from Kyungnam University.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : shinds@kyungnam.ac.kr

질환, 심장질환, 당뇨병, 암 등 각종 퇴행성 질환의 발병율이 증가하였는데, 특히 순환기계 질환이 사망 원인 중 제 1순위를 차지하고 있다.^{1,2)} 심혈관 질환과 당뇨병 예방에 좋은 과일, 채소, 두류, 전곡 등에는 셀룰로즈 같은 불용성 식이섬유질이 풍부하여 지단백질 및 콜레스테롤 대사의 변화, 지질 흡수 억제 및 배설에 미치는 기능이 있으며³⁻⁸⁾ 특히 해조류 등에 함유된 펙틴 및 점성 다당류는 지질 소화와 흡수과정을 지연시킬 뿐 아니라 대장에서 미생물에 의해 분해 흡수되어 체내 콜레스테롤 대사에 미치는 생리적 기능 등은 잘 알려져 있다.⁹⁾

그러나 이러한 식이섬유질의 섭취는 오히려 비타민 A 같은 지용성 비타민과 일부 무기질의 흡수를 저해하여 영양소의 결핍을 유도할 수도 있다. 일반적으로 비타민 A는 선진국에서 조차도 특정 인구집단의 영양문제를 야기시키는 주요 영양소이며, 저개발국가에서는 생후 6개월에서 6살까지의 어린이들이 비타민 A 결핍으로 인한 실명하거나 사망하는 경우가 빈번하다.¹⁰⁻¹²⁾ 우리나라의 경우 노인이나 청소년기 여성과 일부 읍면 지역에서 계절적으로 비타민 A 섭취가 적은 것으로 조사¹⁾ 되어 여전히 관심을 늦출 수 없는 영양소이다.

한편, 최근에 제 1형 당뇨병 환자^{3,14)}에서 혈액 레티놀 농도의 감소와 함께 레티놀 결합단백질 수준이 감소되었을 때 비타민 A를 투여하면 오히려 간독성을 초래하여 이는 간 비타민 A의 이동기전이 손상되어 나타나는 이차적인 결핍 증세로 지적되었으며, 특히 간 경화처럼 간 기능이 손상된 경우에 비타민 A를 투여하면 해독기능이 약화되어 오히려 비타민 A 독성이 야기되기도 한다.^{14,15)} 이러한 사실들은 정상적인 비타민 A 섭취조건 하에서도 대사적인 결핍증을 초래할 수 있음을 시사해준다.

레티놀은 소장세포에서 cellular retinol binding protein II (cRBP II)와 결합한다. 이 단백질은 지금까지 밝혀진 4 종류의 cellular retinol binding protein (cRBP I, cRBP II, cRBP III, cRBP IV) 중 하나로써^{16,17)} 15.6 kDa의 작은 세포질 내 단백질로, 소장 용모에서 주로 발현되어 레티놀의 흡수를 증가시킨다.¹⁸⁾ cRBP II는 레티놀이나 레티날과는 결합하지만 레티노익산과는 결합하지 않으며, 일단 결합된 레티놀과 레티날은 레티닐 에스테르로 전환된 후, 카일로미크론으로 혼입되어 체순환계로 들어간다.¹⁹⁾ 카일로미크론에 혼입된 레티닐 에스테르의 대부분은 간 실질세포 (parenchymal cell)로 흡수되어 레티놀로 다시 가수분해된 후 간 세포내에서 cRBP I과 결합한다. 간에서 cRBP I은 레티놀의 산화를 예방하여 세포질 내 유리 (free) 레티놀 농도를 조절하며, 레티놀의 에스테르화를 통하여 비타민 A의 저장대사를 관리한다.^{20,21)} 간은 비타민 A의 주된 저장고로, 간으로부터 다른 조직으로 이동되지 않거나 대사되지 않는 레티놀은 재에스테르화 되어 대부분 정상세포에 저장된다.²²⁾ 간에서 다른 조직으로 레티놀이 이동, 전달되는 과정은 간 실질세포에서 합성되는 retinol binding protein (RBP)에 의해 이루어진다. RBP는 혈액 내에서 레티놀, transthyretin (TTR)과 1 : 1 : 1의 비율로 결합한 뒤, RBP 수용체를 지닌 세포로 운반됨으로써 체내에서 비타민 A가 적절히 사용될 수 있도록 조절해 준다.²³⁾

장사슬 지방산이 풍부한 고지방 식이는 cRBP II 단백질

수준 뿐 아니라 cRBP II mRNA 수준을 증가시키는 반면, 무지방 식이는 cRBP II mRNA 수준과 단백질을 감소시킨다.²⁴⁾ 한편 식이 섬유질, 특히 수용성 식이섬유질의 다량 섭취는 소장에서 베타-카로틴의 레티놀로의 전환을 저해하여 비타민 A 흡수에 영향을 미치는 것으로 보고²⁵⁾ 된 바 있어 식이 지질수준과 식이섬유질의 섭취형태에 따라 체내 비타민 A 영양상태가 달라질 것으로 예측되었다. 따라서 본 연구는 고지방 식이를 섭취한 흰쥐에서 식이섬유질 종류에 따라 비타민 A의 흡수, 저장 및 이동에 관여하는 레티놀 결합 단백질의 유전자 발현정도를 간, 소장, 혈액 등에서 확인함으로써 식이섬유질의 투여가 비타민 A 대사에 미치는 영향을 파악하고자 시도되었다.

재료 및 방법

1. 실험동물 사육 및 식이조제

생후 4주령 Sprague-Dawley (Daehan Animal Co., Seoul, Korea) 수컷을 구입하여 1주간 적응시켰으며, 실험초기 평균체중은 121.43 ± 8.50 g 이었다. 실험동물은 난괴법으로 각 군당 5마리씩 모두 4군으로 나누었으며, 한 마리씩 stainless steel cage에서 4주간 사육하였다. 사육실은 평균 온도 $18 \pm 2.0^\circ\text{C}$, 상대습도 60%를 유지하도록 하였으며, 오전 6시부터 12시간은 조명주기로, 오후 6시부터 12시간은 암흑주기로 명암을 자동 조절하였다. 실험기간 동안 물과 식이는 제한없이 섭취하도록 하였으며, 식이섭취량은 주 3회, 체중은 주 1회, 동일한 시간에 측정하였다.

실험식은 대조군 (control), 고지방 무섬유질군 (HF0), 고지방 셀룰로즈 첨가군 (HFC), 고지방 펙틴 첨가군 (HFP)

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Component	Control ³⁾	HF0	HFC	HFP
Corn starch	532.5	502.5	452.5	452.5
Casein	200	200	200	200
Soy-bean oil	100	150	150	150
Sucrose	70	100	100	100
Mineral mix ¹⁾	35	35	35	35
Vitamin mix ²⁾	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
TBHQ	0.014	0.014	0.014	0.014
Cellulose	50	-	50	-
Pectin	-	-	-	50

1) Mineral mixture: AIN-93G

2) Vitamin mixture: AIN-93G

3) Control : 17% fat & cellulose supplement diet

HF0: 25% fat & fiber free diet

HFC: 25% fat & cellulose supplement diet

HFP: 25% fat & pectin supplement diet

으로 구분하였으며, 각 실험식이의 조성은 Table 1과 같다. 식이 성분은 AIN-93G의 방식에 준하여 구성하였다. 탄수화물 급원으로 옥수수전분 (Samyang, Seoul, Korea)을 사용하였으며, 단백질 급원으로 카제인 (Duksan, Gimhae, Korea)을, 지방 급원으로 대두유 (Dongbang, Seoul, Korea)를 사용하였다. 비타민과 무기질은 AIN-93G에 준하여 조제하여 사용하였다. 실험 식이에 사용한 섬유질 급원으로는 α -셀룰로즈 (Sigma, Saint Louis, USA)와 펙틴 (Duksan, Gimhae, Korea)을 사용하였다.

2. 시료의 수집 및 보관

실험동물은 실험 종료 전 하룻밤 절식시킨 후, 에틸에테르로 마취하여 경동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 수집한 뒤 분석 직전까지 -70°C에서 보관하였다. 간, 부신, 소장, 정소상체 지방조직, 신장주변 지방조직은 적출하여 그 무게를 측정 후, 분석 직전까지 -70°C에 보관하였다. 간은 소엽부위를, 소장은 공장 부위를 따로 분리하여 분석 직전까지 -70°C에 보관하였다. 분변은 실험 3주와 4주에 걸쳐 매일 수거하여 불순물을 제거한 후, 건조하여 그 무게를 측정하였다. 분말화된 분변은 밀폐용기에 넣어 분석직전까지 4°C에서 냉장 보관 하였다.

3. 시료의 지질 분석

혈청 내 중성지질 (TG), 총 콜레스테롤 (TC) 및 HDL-콜레스테롤 (HDL-c) 농도는 VITROS DT60 Chemistry System (Johnson & Johnson, New Jersey, USA)을 이용하여 효소비색법으로 분석하였다. LDL-콜레스테롤 (LDL-c) 농도와 동맥 경화지수 (atherogenic index, AI)는 아래에 제시한 계산식을 이용하여 구하였다.

$$LDL-c \text{ (mg/dl)} = TC - HDL-c - TG/5$$

$$AI = (TC - HDL-c) / HDL-c$$

간의 총 지질은 Folch 등²⁶⁾의 방법을 변형하여 분석하였으며, 총 콜레스테롤 농도는 Zak 법²⁷⁾에 의하여 측정하였다. 분변 중의 총 지질과 총 콜레스테롤 농도는 간과 동일한 방법으로 측정하였다.

4. 시료의 비타민 A 분석

간, 부신 및 분변 중 비타민 A 함량은 Carr-Price 반응에 의한 비색법²⁸⁾으로 측정하였다. 시료 1 g과 pyrogallol 0.1 g, hydroquinone 0.1 g, 50% 수산화칼륨 3 ml, 에탄올 30 ml을 가하여 속실펀트에서 85°C를 유지하며 80분 동안 비누화시켰다. 그런 다음 벤젠 100 ml을 가하여 상층액을 분리한 후, 1 N 수산화칼륨 100 ml을 가하여 물층을 제거하였다. 여기에 0.5 N 수산화칼륨 40 ml, 물 40 ml을 가하여 각 4회씩 반복하여 물층을 제거한 후, 상층액을 회수하였다. 비타민 A의 산화방지를 위해 지용성 산화방지제인 BHT (butylated hydroxytoluene)를 소량 첨가하여 증발시킨 후, 클로로포름에 용해시켰다. 클로로포름에 녹아 있는 비타민 A와 삼염화안티몬과의 발색반응을 이용하여 620 nm에서 흡광도를 측정하고 표준용액의 검량선으로부터 비타민 A의 함량을 산출하였다. 사용된 시약은 모두 Sigma (Saint Louis, USA)사에서 제조된 것이었다. 실험의 모든 과정은 비타민 A 산화방지를 위해 간접조명 상태에서 수행되었다.

5. 레티놀 결합 단백질의 유전자 발현 정도 측정

조직 1 g에 Tri reagent (MRC, London, England) 10 ml과 클로로포름 2 ml을 가하여 혼합한 후 방치하였다가 4°C, 12,000 rpm에서 원심분리 하였다. 상층액에 isopropanol 5 ml을 가하여 실온에서 방치한 후, 다시 원심분리하여 RNA를 얻었다. 분광광도계 (Shimazu, Kyoto, Japan)를 이용하여 260/280 nm에서 정량하여 RNA 순도 (1.7~1.8)를 확인하였다. 모든 기구와 시약은 RNase free로 하여 사용하였다. RBP, cRBP I 과 cRBP II mRNA의 발현 정도를 확인하기 위해 semi-quantitative RT-PCR을 수행하였다. 사용된 primer의 염기 서열과 annealing 온도는 Table 2에 제시된 바와 같으며, 4 μ g의 total RNA를 5X RT buffer, 10 mM dNTPs, 30 pmol oligo dT₂₀ (Bioneer, Dajeon, Korea), M-MLV reverse transcriptase (Bioneer, Dajeon, Korea)를 혼합하여 37°C에서 1시간, 70°C에서 15분간 반응시켜 cDNA를 합성하였다. RT-product의 semi-quantitation을 위해 β -actin을 증폭하여 동량의 cDNA를 구하였다. 각각의 cDNA를 15 mM MgCl₂

Table 2. The type of oligonucleotides and annealing temperatures for semi-quantitative RT-PCR analysis

Variables	Oligonucleotides		Annealing temperature
	Forward	Reverse	
cRBP I	CGG AAT TCA TCA CCC TCA ATC	CGG AAT TCC AAG TTG GGA AG	58°C
cRBP II	CTG GGA AAT GGA GAG TAA TG	CTC CAG GTA CAG CTT GTC TC	60°C
RBP	CAG ATA CAG AAG ATC CTG CC	AGG GTC TGC TTT GAC AGT AA	56°C
β -actin	GGG ACG ATA TGG AGA AGA TT	GTA CGA CCA GAG GCA TAC AG	58°C

를 포함하는 10X Taq polymerase buffer, 10 mM dNTPs, 1.0 U Taq polymerase (Neotherm, Lüinghausen, Germany)와 혼합하고, 20 pmol의 primer와 반응시켜 thermal cycler (Mycycler™, BIO-RAD, California, USA)로 증폭하였다. PCR의 반응조건은 Table 3과 같으며, 증폭된 각 시료는 1.5% agarose gel에 전기 영동하여 ethidium bromide로 염색하여 transilluminator상에서 확인하였다.

6. 혈액 내 RBP 및 transthyretin 발현 측정

혈청 중의 retinol binding protein (RBP)과 transthyretin (TTR)의 발현정도를 확인하기 위해 immuno blotting 을 실시하였다. Phast system (Amersham, Uppsala, Sweden)을 이용하여 15~25% gradient sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 단백질을 분리한 후, commassie brilliant blue로 염색 하였다. 그런 뒤 nitrocellulose membrane에 흡착시키고, membrane을 blocking reagent로 처리하였다. Mouse mo-

noclonal Anti-RBP (abcam, Cambridge, USA)와 rabbit polyclonal anti-TTR (Santa Cruz, California, USA)을 가하여 incubation 하고 TBS로 5분간 3회 반복하여 세척 한 후, horseradish peroxidase conjugates anti IgG (Upstate, NY, USA)를 가하여 다시 incubation 하고 세척하였다. 그런 다음 LumiGLO™ chemiluminescent substrate (Upstate, NY, USA)를 이용하여 발색시킨 후, 현상하여 RBP와 TTR을 확인하였다. Bovin serum albumin을 표준시약으로 하여 Biuret 법²⁹⁾으로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질을 정량하였다.

7. 자료 처리

본 연구의 분석결과는 실험군당 평균과 표준편차로 나타 내었고, 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance)을 한 후 p < 0.05 수준에서 LSD (least significant difference) test를 하여 유의성을 검증하였다. 모든 통계 처리에는 SPSS PC+ V.10.0 프로그램을 사용하였다.

Table 3. Condition of PCR reaction

Temperature (°C)	Time	Cycle
95	5 min	
94	30 sec	CRBP II-25 cycle
Annealing ¹⁾	40 sec	CRBP I-27 cycle
72	30 sec	RBP-25 cycle
72	10 min	β -actin-25 cycle
4	∞	

1) see table 2

결 과

1. 식이섭취량, 체중 증가량 및 식이효율

실험기간 중의 식이 섭취량, 체중 증가량은 Table 4에 제시된 바와 같이 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 고지방 식이군들 (HF0, HFC, HFP)의 식이 섭취량이 다소 감소하는 경향을 보였으며, 실험기간 중 체중 증

Table 4. Food intake, body weight and food efficiency ratio

Group	Food intake (g/4 weeks)	Initial body wt. (g)	Final body wt. (g)	Weight gain (g/4 weeks)	Food efficiency ratio
Control ⁴⁾	667.82 ± 51.83 ^{1)2)NS}	121.30 ± 9.20 ^{NS}	313.70 ± 23.64 ^{NS}	192.40 ± 18.50 ^{NS}	0.29 ± 0.02 ³⁾
HF0	607.07 ± 63.85	121.60 ± 9.28	312.90 ± 18.99	191.30 ± 10.62	0.32 ± 0.02 ^a
HFC	626.81 ± 17.62	121.40 ± 10.50	314.30 ± 14.12	192.90 ± 10.69	0.31 ± 0.02 ^{ab}
HFP	610.22 ± 31.29	121.50 ± 8.71	307.20 ± 22.39	185.70 ± 16.47	0.30 ± 0.02 ^{ab}

1) Mean ± SD

2) Not significant difference at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test

3) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test

4) Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet

Table 5. Weight of liver, adrenal gland and fat pads

Group	Liver	Adrenal gland	Epididymal fat pad	Perirenal fat pad
Control ⁴⁾	9.92 ± 0.92 ^{1)2)NS}	0.068 ± 0.028 ³⁾	3.83 ± 0.30 ^{NS}	0.54 ± 0.21 ^{NS}
HF0	10.65 ± 0.92	0.044 ± 0.011 ^b	4.41 ± 1.05	0.93 ± 0.42
HFC	10.41 ± 1.36	0.055 ± 0.008 ^{ab}	4.03 ± 0.75	0.69 ± 0.23
HFP	9.35 ± 1.38	0.051 ± 0.009 ^{ab}	4.11 ± 0.68	0.67 ± 0.29

1) Values are Mean ± SD

2) Not significant difference at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test

3) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test

4) Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet

가량의 차이가 없어 고지방 식이군들의 식이효율은 대조군에 비해 전반적으로 증가하는 경향을 보였다. 특히 고지방 무섬유질군 (HF0)의 식이효율은 대조군에 비해 유의적으로 높았다.

2. 장기 무게

식이섬유질의 첨가가 고지방 식이를 섭취하는 실험동물의 장기에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 그 무게를 측정함 결과는 Table 5에 제시된 바와 같았다. 간 및 지방조직의 무게는 식이에 따른 차이를 보이지 않았으나, 부신의 무게는 고지방 무섬유질군 (HF0)에서 대조군에 비해 유의하게 낮았으며, 식이섬유질이 첨가된 셀룰로즈 첨가군 (HFC)과 펙틴 첨가군 (HFP)에서는 무섬유질군에 비해 증가하는 경향을 보였다.

3. 지질성분 함량

식이섬유질이 고지방 식이를 섭취하는 실험동물의 체내 지방대사에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 분변 및 간의 총 지질과 총 콜레스테롤, 그리고 혈청의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지질 함량을 측정하였으며, LDL-콜레스테롤과 동맥경화지수 AI를 전술한 계산식에 의해 구하였다. 그 결과는 Table 6-8에 제시한 바와 같다.

1) 분 변

분변 1 g당 총 지질 농도는 고지방 식이군 중 셀룰로즈 첨가군 (HFC)의 경우 대조군과 유사하였으나, 펙틴 첨가군 (HFP)과 무섬유질군 (HF0)은 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 특히 펙틴 첨가군의 분변 총 지질 농도가 가장 높게 나타났다. 그러나 1일 분변 내 총 지질 함량은 섬유질

Table 6. Total lipid and total-cholesterol contents in feces

Group	Total-lipid		Total-cholesterol		Feces amount (g/day)
	mg/g dry Wt.	mg/total dry Wt./day	mg/g dry Wt.	mg/total dry Wt./day	
Control ^{d)}	40.89 ± 34.08 ^{1)3)c}	55.73 ± 55.26 ^{2)NS}	9.32 ± 8.53 ^{ab}	14.02 ± 14.31 ^{ab}	1.05 ± 0.22 ^a
HF0	95.74 ± 41.66 ^b	27.94 ± 11.98	14.85 ± 5.55 ^{ab}	22.26 ± 7.44 ^{ab}	0.25 ± 0.02 ^b
HFC	35.89 ± 4.63 ^c	44.80 ± 7.89	6.74 ± 0.77 ^b	10.06 ± 1.97 ^b	1.04 ± 0.09 ^a
HFP	152.20 ± 10.22 ^a	53.83 ± 11.66	19.06 ± 1.71 ^a	25.48 ± 4.67 ^a	0.29 ± 0.06 ^b

1) Mean ± SD
 2) Not significant difference at α = 0.05 level by least significant difference test
 3) Values with different alphabet within the column were significantly different at α = 0.05 level by least significant difference test
 4) Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet

Table 7. Total lipid and total-cholesterol contents in liver

Group	Total lipid		Total-cholesterol	
	mg/g Wt.	mg/total Wt.	mg/g Wt.	mg/total Wt.
Control ^{d)}	53.16 ± 5.68 ^{1)2)NS}	526.3 ± 66.28 ^{NS}	8.62 ± 1.48 ^{ab)}	85.81 ± 18.56 ^{ab}
HF0	57.03 ± 5.39	606.4 ± 70.54	6.67 ± 1.06 ^{ab}	70.80 ± 11.39 ^{ab}
HFC	51.76 ± 10.38	538.3 ± 117.74	8.68 ± 2.24 ^a	89.33 ± 20.99 ^a
HFP	55.66 ± 3.15	522.6 ± 94.19	6.09 ± 0.80 ^b	57.01 ± 10.72 ^b

1) Mean ± SD
 2) Not significant difference at α = 0.05 level by least significant difference test
 3) Values with different alphabet within the column were significantly different at α = 0.05 level by least significant difference test
 4) Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet

Table 8. Cholesterol and triglyceride contents in plasma and atherogenic index

Group	Total cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol	Triglyceride	Atherogenic index
	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	
Control ^{b)}	172.75 ± 21.95 ^{1)2)NS}	50.20 ± 10.64 ^{NS}	114.80 ± 15.62 ^{NS}	27.80 ± 5.59 ^{NS}	2.36 ± 0.47 ^{NS}
HF0	176.20 ± 9.63	47.20 ± 3.11	121.12 ± 9.88	39.40 ± 10.88	2.74 ± 0.26
HFC	166.20 ± 7.69	47.40 ± 10.55	112.40 ± 7.73	32.00 ± 16.17	2.61 ± 0.63
HFP	162.00 ± 4.55	52.00 ± 11.05	104.75 ± 7.83	23.80 ± 11.03	2.21 ± 0.61

1) Mean ± SD
 2) Not significant difference at α = 0.05 level by least significant difference test
 3) Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet

의 종류에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Table 6).

분변 1 g당 총 콜레스테롤 농도는 고지방 식이군 중 무섬유질과 펙틴 첨가군이 대조군보다 전반적으로 높았으며, 셀룰로즈 첨가군의 총 콜레스테롤 농도가 펙틴 첨가군에 비해 유의적으로 낮았다. 1일 분변 내 총 콜레스테롤 함량 또한 고지방 식이군 중 무섬유질군과 펙틴 첨가군에서는 대조군보다 증가하는 경향을 보인 반면, 셀룰로즈 첨가군의 경우 대조군보다 낮은 경향이고 펙틴 첨가군에 비해 유의적으로 감소하였다 (Table 6).

2) 간

간 1 g당 총 지질 농도는 실험 군 간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다 (Table 7).

간 1g당 총 콜레스테롤 농도는 고지방 식이군 중 무섬유질군과 펙틴 첨가군이 대조군에 비해 감소하였으며, 특히 펙틴 첨가군의 농도는 유의적으로 감소하였다. 그러나 셀룰로즈 첨가군의 경우 대조군과는 차이가 없고 펙틴 첨가군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 간 총 콜레스테롤 함량 또한 고지방 식이군 중 펙틴 첨가군이 대조군에 비해 감소하였으며, 셀룰로즈 첨가군의 경우 대조군과 차이가 없어 펙틴 첨가군에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (Table 7).

3) 혈청

혈청 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 중성지질 농도 분석 결과와 LDL-콜레스테롤과 동맥경화지수는 Table 8에서 보는 바와 같이 전반적으로 실험 군 간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나, 펙틴 첨가군의 총 콜레스테롤 농도는 감소하고, HDL-콜레스테롤 농도는 증가하는 경향이 있었다.

4. 분변, 간, 부신의 비타민 A 함량

식이섬유질의 종류와 지방섭취 수준이 체내 조직 중 비타민 A의 축적에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 분변, 부

신 및 간의 비타민 A (retinyl ester) 함량을 측정하였다. 그 결과는 Table 9에 제시된 바와 같다.

분변 1 g당 비타민 A 농도는 고지방 식이군 중 무섬유질 (HF0)군과 펙틴 첨가군 (HFP)이 대조군에 비해 증가하였으며, 셀룰로즈 첨가군 (HFC)의 경우 대조군보다 낮게 나타났다. 그러나 군 간의 유의적인 차이는 없었다. 1일 분변 내 비타민 A 함량은 고지방 식이군들이 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였으며, 그 중 무섬유질군과 펙틴 첨가군의 비타민 A의 함량이 유의적으로 낮았다.

간 1 g당 비타민 A 농도는 고지방 식이군들 (HF0, HFC, HFP)이 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다. 고지방 식이군 중 셀룰로즈 첨가군 (HFC)과 펙틴 첨가군 (HFP)의 비타민 A 농도는 무섬유질군 (HF0)에 비해 감소하는 경향을 나타내었으며, 이러한 경향은 셀룰로즈 첨가군이 더 큰 것으로 나타났다. 간 총 비타민 A 함량은 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 고지방 식이군들이 대조군에 비해 높은 경향을 보였다. 이와는 대조적으로 각 군당 시료를 모두 합한 부신 비타민 A 함량은 고지방 무섬유질군 (HF0)에서 가장 낮은 경향을 보였다.

5. 소장 및 간의 레티놀 결합 단백질의 유전자 발현 정도

식이섬유질의 종류와 지방섭취 수준을 달리하였을 때, 소장과 간의 레티놀 결합 단백질 (RBP mRNA, cRBP I mRNA, cRBP II mRNA)의 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Semi-quantitative RT-PCR을 수행한 결과는 Fig. 1-3에 제시된 바와 같다.

1) 소장 cRBP II mRNA

소장 내 레티놀 결합 단백질인 cRBP II mRNA의 발현 정도는 대조군과 고지방 무섬유질군 (HF0) 및 셀룰로즈 첨가군 (HFC) 간의 유의적인 차이는 없었다. 그러나, 고지방 식이군 중 무섬유질군의 cRBP II mRNA 발현과 펙틴 첨가군의 cRBP II mRNA 발현은 유의적인 차이를 보여 펙틴첨

Table 9. Vitamin A contents in feces, adrenal gland and liver

Group	Feces		Adrenal gland		Liver	
	mg/g dry Wt.	mg/total dry Wt./day	mg/g Wt.	mg/total Wt.	mg/g Wt.	mg/total Wt.
Control ⁵⁾	149.34 ± 88.89 ^{1)2)NS}	179.45 ± 100.09 ³⁾	158.37	7.29 ⁴⁾	126.77 ± 60.40 ^{NS}	1253.46 ± 601.06 ^{NS}
HF0	192.50 ± 94.69	58.36 ± 31.36 ^b	124.43	5.5	178.95 ± 97.77	1876.45 ± 1024.76
HFC	126.73 ± 76.79	157.39 ± 93.27 ^{ab}	137.44	7.49	159.67 ± 19.49	1649.44 ± 176.94
HFP	218.59 ± 153.51	73.10 ± 41.84 ^p	147.06	7.50	168.78 ± 48.32	1557.45 ± 411.99

1) Mean ± SD

2) Not significant difference at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test

3) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test

4) Pooled data

5) Control: 17% fat & cellulose supplement diet. HF0: 25% fat & fiber free diet. HFC: 25% fat & cellulose supplement diet. HFP: 25% fat & pectin supplement diet

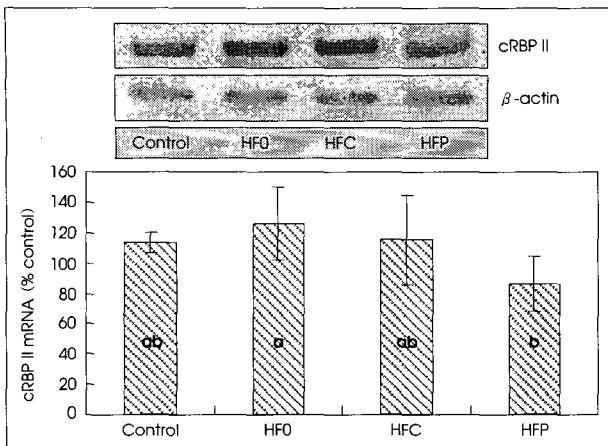


Fig. 1. cRBP II mRNA expression in small intestine by semi-quantitative RT-PCR (Values with different alphabet within the bars were significantly different at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test, Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet).

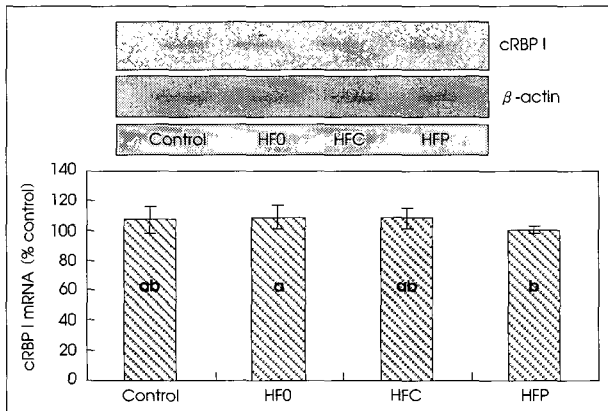


Fig. 2. cRBP I mRNA expression in liver by semi-quantitative RT-PCR (Values with different alphabet within the bars were significantly different at $\alpha = 0.05$ level by least significant difference test, Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet).

가군에서 감소하였다 (Fig. 1).

2) 간 cRBP I mRNA

간 cRBP I mRNA 발현 정도도 대조군과 고지방 무섬유질군 (HF0) 및 셀룰로즈 첨가군 (HFC) 간의 유의적인 차이는 없었다. 그러나 고지방 식이군 중 무섬유질군 (HF0)에 비해 펙틴 첨가군 (HFP)의 cRBP I mRNA 발현은 유의적으로 낮았다 (Fig. 2).

3) 간 RBP mRNA

간 RBP mRNA 발현 정도는 대조군, 무섬유식이군 (HF0), 셀룰로오스 첨가군 (HFC), 펙틴 첨가군 (HFP) 모두 유사하게 나타나, 간 RBP mRNA 발현이 식이섬유질의 종류와

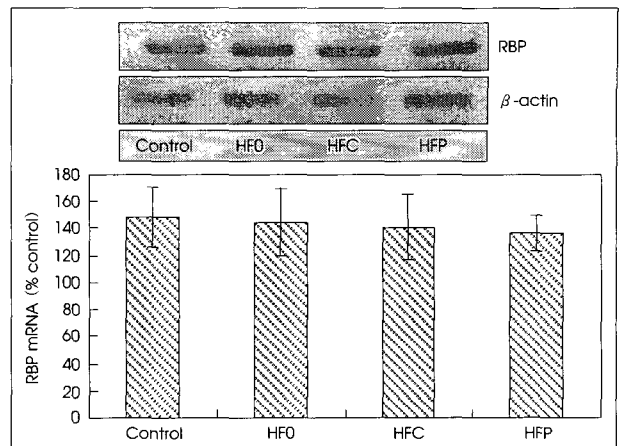


Fig. 3. RBP mRNA expression in liver by semi-quantitative RT-PCR (Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet).

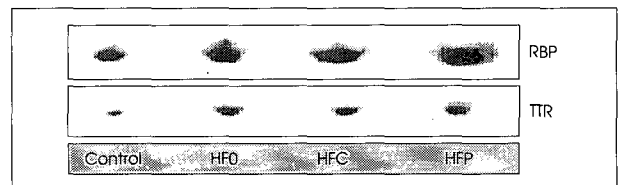


Fig. 4. RBP and TTR expression in serum by immunoblotting (Control: 17% fat & cellulose supplement diet, HF0: 25% fat & fiber free diet, HFC: 25% fat & cellulose supplement diet, HFP: 25% fat & pectin supplement diet).

지방섭취수준에 따라 영향을 받지 않고 일정하였다 (Fig. 3).

6. 혈액 내 RBP 및 transthyretin 발현

식이섬유질의 종류와 지방섭취 수준을 달리하였을 때, 혈액 내 RBP와 transthyretin (TTR)의 단백질 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Immuno-blotting을 수행한 결과는 Fig. 4에 제시하였다.

혈액 RBP 농도는 대조군에 비해 고지방 식이군들 (HF0, HFC, HFP)이 증가하는 경향을 보였다. 고지방 식이군 중 셀룰로즈 첨가군 (HFC)과 펙틴 첨가군 (HFP)의 RBP 발현은 무섬유질군 (HF0)보다 증가하는 경향을 나타내었으며, 특히 펙틴군의 발현 증가가 뚜렷하였다.

혈액 TTR 농도는 대조군에 비해 고지방 식이군들 (HF0, HFC, HFP)이 증가하는 경향을 보였으며, 대체적으로 혈액 RBP의 결과와 유사하였다.

고 찰

본 연구를 통해 고지방 식이를 섭취할 때 식이섬유질이 비타민 A 대사에 미치는 영향을 파악하고자 비타민 A의 흡

수, 저장 및 이동에 관여하는 레티놀 결합 단백질의 유전자 발현정도를 분석 하였다.

식이 섭취량이 경우 대조군에 비해 고지방식이군에서 감소하는 경향을 보여 다른 영양소의 섭취에도 영향이 우려 되었으나 통계적으로 유의적 차이를 보이지는 않았다. 그러나 실험 군 간의 식이효율을 비교해 보면, 고지방 무섬유질군의 식이 섭취량이 대조군에 비해 상당히 적었음에도 불구하고 식이효율은 유의적으로 높았으며, 이는 무섬유질군의 에너지 밀도가 높았기 때문으로 여겨진다 (대조군 4.1 kcal/g, 무섬유질군 4.6 kcal/g, 셀룰로즈 및 펙틴 첨가군 4.4 kcal/g). 식이 내 에너지 밀도가 같을 때, 펙틴 첨가군의 식이효율은 셀룰로즈 첨가군보다 낮아, 고지방 식이에서 펙틴이 체중감소에 더 효과적이었다.

체내에서 비타민 A가 주로 저장되는 간과 지방조직 무게의 경우 고지방 식이군에서 식이섬유질 첨가로 인한 실험 군 간의 유의적인 차이는 없었으나 전반적으로 감소시키는 경향을 나타내었다. 이는 고지방 식이가 내장형 지방의 축적을 증진시키고, 식이섬유질은 지방축적을 저해한다는 기존의 연구³⁰⁾와 유사한 결과이다. 그러나 부신은 정 반대로 나타나 고지방 식이로 부신의 무게가 유의적으로 감소하였으며 식이섬유질의 첨가로 증가하는 경향을 보여서 본 실험의 식이조건이 장기에 따라 서로 다른 영향을 주었음을 의미한다.

한편 분변과 간의 지질 함량에 펙틴 첨가의 영향이 뚜렷하게 나타나, 변을 통한 총 지질과 총 콜레스테롤의 배설은 증가시킨 한편, 간 총 지질 및 총 콜레스테롤 함량은 낮추었다. 이는 콜레스테롤 (0.5%)이 첨가된 고지방 식이 (20%)에 펙틴 또는 셀룰로즈를 4주간 주었을 때, 펙틴군이 셀룰로즈군보다 간의 지질 함량이 현저히 낮다고 보고한 장 등³¹⁾의 결과와 일치한다. 펙틴의 섭취가 장내 점도 변화로 점막의 기능과 구조적 변화를 유도하므로써 지질 흡수를 억제하여 변으로의 배설량을 증가시키고, 지질합성을 억제하여³²⁾ 간 내 지질축적을 감소시킨 것으로 사료된다.

혈청 지질의 변화도 유의적인 것은 아니나 펙틴 첨가군에서 가장 현저하여, 총 콜레스테롤 농도와 LDL-콜레스테롤, 중성지질 농도는 감소시키는 반면 HDL-콜레스테롤 농도는 증가시키는 일관성을 보여, 동맥경화 발생 위험이 낮게 나타났다. 펙틴은 변으로의 담즙배설 증가로 간 콜레스테롤을 고갈시켜 혈청 콜레스테롤농도가 저하되는 것으로 사료된다. 콜레스테롤 투여시 펙틴을 투여함으로써 혈중 콜레스테롤 농도가 저하되었다는 Fernandex 등³²⁾의 보고와, 고콜레스테롤혈증시 수용성 섬유 급여로 LDL-콜레스테롤 농도를 감소시켰다는 Kirby 등³³⁾의 보고는 이를 뒷받침해

준다. Vigne 등³⁴⁾은 식이섬유질 투여로 인한 혈중 중성지질 농도 저하는 모세 혈관 벽의 지단백분해효소 (lipoprotein lipase)를 활성화하여 중성지질의 주요 운반체인 키로미크론과 VLDL의 분해를 촉진한 때문이라고 하였다.

Kazuhito²⁴⁾는 장사슬 지방산이 풍부한 고지방 식이는 cRBP II 단백질 수준 뿐 아니라 cRBP II mRNA 수준을 증가시키는 반면, 무지방 식이는 cRBP II mRNA 수준과 단백질을 감소시킨다고 보고한 바 있다. 지방산이 cRBP II 유전자 발현의 조절자로 작용하여, cRBP II에 위치한 핵 수용체 반응요소와 PPAR α -RXR heterodimer 결합을 증가시키기 때문으로 논증되었으나 PPAR α -RXR heterodimer의 결합이 중간사슬 지방산과 9-cis-retinoic acid의 첨가에 의해서는 증가하지 않았다.²⁴⁾ 본 연구에서 대조군과 고지방 무섬유질군 사이에 cRBP II mRNA의 발현이 차이가 없었던 것은 17%와 25% 지방 투여 수준의 차이가 적었기 때문으로 사료된다. 셀룰로즈 첨가군과 펙틴 첨가군의 cRBP II mRNA 발현 감소 경향은 식이섬유질의 지방 흡수 억제 때문으로 사료된다. 식이 지방의 섭취는 소장세포의 효과적인 흡수를 위해 필요한 미셀내로 비타민 A의 용해와 장사슬 지방산과의 에스테르화, 카일로미크론 내로 레티닐 에스테르의 혼입, 림프내로의 카일로미크론 분비 등의 과정에 관여함으로써 vitamin A의 림프로의 흡수에 잠재적으로 영향을 미친다.³⁵⁾ 셀룰로즈는 장의 연동운동 촉진과 장관 통과시간을 단축시켜 지방흡수를 억제하는 효과가 있는 반면, 펙틴은 점성에 의한 지방의 소화·흡수 저해, 담즙산 재흡수 저해 혹은 배설량 증가에 의해 지방 흡수를 저해한다. 본 실험에서 셀룰로즈 첨가군의 변 중 비타민 A 함량이 높은 것은 장관통과시간의 단축에 의한 흡수 억제가 그 원인이었다고 사료된다.

Ghyselinck 등은 cRBP I이 결핍된 mice에서 정상세포 (stellate cell)의 레티닐 에스테르 저장이 손상되었다고 보고하였다.³⁶⁾ 이는 cRBP I이 정상세포에서 레티놀의 에스테르화에 영향을 미쳐 저장에 밀접하게 관여하는 것으로, 본 연구의 cRBP I mRNA 발현 감소도 간 비타민 A 함량 변화와 상당한 관련성이 있는 것으로 나타났다. 본 연구의 간 비타민 A 함량은 고지방 식이군에서 대조군보다 높았으며, 식이섬유질의 첨가 시 간 비타민 A 함량은 감소하였다. 한편, 펙틴 첨가군의 cRBP I mRNA의 발현이 낮은 것은 펙틴의 발효부산물인 저급지방산³⁵⁾에 의한 것이 아닌가 예측된다.

간의 비타민 A 함량은 고지방식이에서 높은 경향은 있으나 유의적인 차이는 아니었다. 반면 간, 지방조직과는 달리 조직 무게의 차이가 실험 군 간에 유의적이었던 부신의

경우 비타민 A 함량을 분석한 결과, 무섬유질 군에서 가장 낮게 나타났으며, 펙틴첨가군의 비타민 A 함량은 셀룰로즈 첨가군보다 증가하는 경향을 보였다. 고지방 식이를 섭취할 때, 식이섬유질 첨가가 부신의 비타민 A 함량이 증가하였는데 이러한 경향은 펙틴첨가군에서 셀룰로즈 첨가군보다 더 큰 것으로 나타났다. 동물의 경우 비타민 A는 부신에서 콜레스테롤이 프로게스테론으로 전환되는데 필수적인 것으로 보고³⁷⁾ 된 바 있으며 프로게스테론은 코티졸, 에스트로젠, 안드로겐 등 스테로이드 호르몬의 전구체로 알려져 있다. 간 외 조직으로의 레티놀 운반은 간 실질세포에서 합성되는 RBP 수준에, 그리고 RBP의 혈액으로의 분비는 세포내 레티놀의 수준에 상호의존적이다. 본 실험결과 간의 RBP mRNA의 발현은 식이에 의해 영향을 받지 않고 일정하게 발현하였으나, 혈청 내 RBP의 분비기전은 식이섬유질의 첨가에 영향을 받는 것으로 나타났다.

한편, Table 9에 제시된 간 조직과 분변 중의 비타민 A 함량을 비교해 보면, 펙틴군이 변으로의 배설량이 적음에도 불구하고 간 비타민 A 함량이 가장 낮게 나타났는데, 이는 펙틴군에서 RBP 분비가 증가하여 간 외 조직으로 이동하였기 때문으로 사료되며, 혹은 식이섬유질의 첨가에 의해 지단백질 분해효소 활성증가로 부신 등 주변 조직으로의 이동을 촉진한 것으로 예측된다.

한편 혈액중의 transthyretin (TTR)은 RBP 혹은 RBP-retinol 복합체와 결합하여 신사구체를 통한 이들 저분자 물질의 손실을 방지한다. 세포 외에서 RBP와 TTR의 복합체 형성은 두 단백질의 직접적인 상호작용과 관련 있다고 알려져 있다. 본 연구에서 혈청내 RBP와 TTR 발현 경향이 유사하여 간 RBP 분비가 식이섬유질 특히 펙틴에 의해 촉진되었음을 확신할 수 있었다.

요약 및 결론

고지방 식이 섭취 시 셀룰로즈와 펙틴을 섭취한 동물에서 비타민 A 흡수, 저장 및 이동에 관여하는 레티놀 결합 단백질의 유전자 발현정도를 간, 소장, 혈액 등에서 확인하여 식이섬유질 섭취가 비타민 A 대사에 미치는 영향을 파악하고자 시도된 본 연구의 결과를 요약하면 다음과 같다.

고지방 식이군들의 식이 섭취량은 감소하는 경향을 보였으나 체중 증가량의 차이는 없었으며, 고지방 무섬유질군의 식이효율은 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 간 및 지방 조직의 무게는 식이에 따른 차이를 보이지 않았다. 그러나 부신의 무게는 고지방식이군에서 대조군에 비해 낮았으며, 특히 펙틴 첨가군에서는 무섬유질군에 비해 증가하는 경향

을 보였다. 1일 분변량 기준의 분변 총 지질 함량은 섬유질의 종류에 따른 차이는 없었으나, 총 콜레스테롤 함량은 펙틴 첨가군에서 셀룰로즈 첨가군보다 유의적으로 높았다. 간의 총 지질 함량은 실험군 간의 유의적인 차이는 없었으나, 총 콜레스테롤 함량은 펙틴 첨가군에서 셀룰로즈 첨가군보다 유의적으로 낮아 식이섬유질 종류에 따른 차이를 보였다. 혈청 지질성분은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 펙틴 첨가군에서 LDL-콜레스테롤과 중성지질이 감소하는 경향을 보이고, HDL-콜레스테롤은 다소 증가하였다. 간 비타민 A 함량은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으며, 부신 비타민 A 함량은 고지방 무섬유질군에서 가장 낮게 나타났다. 1일 분변량 기준의 분변 비타민 A 배설량은 고지방식이군에서 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였으며, 특히 펙틴 첨가군의 비타민 A의 배설량이 유의적으로 낮게 나타났다.

소장 내 비타민 A 결합 단백질인 cRBP II mRNA는 고지방 무섬유질군의 발현이 가장 높았고, 펙틴 첨가군에서 가장 낮아 유의적인 발현 차이를 보였다. 간 cRBP I mRNA 발현도 cRBP II와 같은 경향을 보였다. 간 RBP mRNA의 발현은 모든 실험군 간에 차이가 없어 식이섬유질의 종류에 영향을 받지 않은 것으로 나타난 반면, 혈액 RBP 발현은 전반적으로 고지방식이군에서 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다. 식이섬유질의 첨가로 RBP의 발현이 더욱 증가하였으며, 특히 펙틴 첨가 시 증가가 더욱 현저하였고, 혈액 TTR 발현도 혈액 RBP의 결과와 유사하였다.

결론적으로 고지방 식이에서 섬유질의 섭취, 특히 펙틴의 섭취는 소장과 간의 cRBP I, cRBP II mRNA 발현은 저하시키나, 혈액으로 RBP 분비를 촉진하여 비타민 A의 이동을 증진시킴으로써 체내 유용성을 향상시키는 것으로 사료되었다.

Literature cited

- 1) National health and nutrition survey. Ministry of Health and Welfare, 2001
- 2) Statistics of cause death. Korea National Statistical Office, 2003
- 3) Hwang SH, Kim JI, Sung CJ. Assessment of dietary fiber intake in Korean college students. *J Korean Soc Food Nutr* 25 (2): 205-213, 1996
- 4) Lim ML. Food and nutrient intakes, body consciousness and self-esteem in obese adolescent. Thesis for master degree, Kyungnam University, 2003
- 5) Recommended dietary allowances for Korean. 7th revision. The Korean Nutrition Society, Seoul, 2001
- 6) Kim MJ, Lee SS. The effect of dietary fiber on the serum lipid level and bowel function in rats. *Korean J Nutr* 28 (1): 23-32.

- 1995
- 7) Oh HI, Ly SY. A study on nutritional characteristics of common Korean dietary fiber rich foods. *J Korean Soc Food Nutr* 27(2): 296-304, 1998
 - 8) Yang JL, Suh MJ, Song YS. Postprandial plasma lipid levels and digestive enzyme activities after high fat meal in rats adapted to dietary fiber. *J Korean Soc Food Nutr* 26(1): 116-122, 1997
 - 9) Bownman BA, Russel RM. Present knowledge in nutrition, eighth edition, International life Science, 2001
 - 10) World Health Organization. The global prevalence of vitamin A deficiency. Micronutrient series document, WHO/NUT/95.3, Geneva, 1995
 - 11) World Health Organization/UNICEF. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Micronutrient series document, WHO/NUT/96.10. Geneva, 1996
 - 12) Underwood BA. Vitamin A in animal and human nutrition, In: Sporn NB, Roberts AB, Goodman DS, eds. The Retinoids, Vol. 1, Academic Press, Orlando, 1999
 - 13) Furr HC, Clark RM. Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids. *J Nutr Biochem* 8(7): 364-377, 1997
 - 14) Basu TK, Basualdo C. Vitamin A homeostasis and diabetes mellitus. *Nutrition* 13(9): 804-806, 1997
 - 15) Lu J, Dixon WT, Tsin AT, Basu TK. The metabolic availability of Vitamin A is decreased at the onset of diabetes in BB rats. *J Nutr* 130: 1958-1962, 2000
 - 16) Vogel S, Mendelsohn CL, Mertz JR. Characterization of a new member of the fatty acid-binding protein family that binds all-trans-retinol. *J Biol Chem* 276(2): 1353-1360, 2001
 - 17) Xueping E, Zhang L, Lu J. Increased neonatal mortality in mice lacking cellular retinol-binding protein II. *J Biol Chem* 277(39): 36617-36623, 2002
 - 18) Crow JA, Ong DE. Cell-specific immunohistochemical localization of a cellular retinol-binding protein (type two) in the small intestine of rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 82(14): 4707-4711, 1985
 - 19) Ong DE. Retinoid metabolism during intestinal absorption. *J Nutr* 123(2): 351-355, 1993
 - 20) Ong DE. Cellular transport and metabolism of vitamin A: roles of the cellular retinoid-binding proteins. *Nutr Rev* 52(2): 24-31, 1994
 - 21) Napoli JL. Biosynthesis and metabolism of retinoic acid. *J Nutr* 123(2): 362-366, 1993
 - 22) Ross A. Overview of retinoid metabolism. *J Nutr* 123(2): 346-350, 1993
 - 23) Bellovino D, Apreda M, Gagnoli S, Massimi M, Gaetani S. Vitamin A transport : in vitro models for the study of RBP secretion. *Molecular Aspects of Medicine* 24(6): 411-420, 2003
 - 24) Kazuhito S, Kazuki M. Transcriptional regulation of cellular retinol-binding protein, Type II gene expression in small intestine by dietary fat. *Arch Biochem Biophysics* 362(1): 159-166, 1999
 - 25) Li E, Tso P. Vitamin A uptake from foods. *Current Opinion of Lipidology* 14(3): 241-247, 2003
 - 26) Folch J, Lees M, Sloanestanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Bio Chem* 226(1): 89-91, 1957
 - 27) Handbook of experiments in food science and nutrition. The Korean Society of Food Science and Nutrition. Hyoil, Seoul, 2000
 - 28) Chang HK, Chung DH. Food analysis. Hyungseu, Seoul, 1999
 - 29) Torten J, Whitaker JR. Evaluation of the biuret and dye-binding determination in meats. *J Food Sci* 28: 168, 1964
 - 30) Kusunoki M, Hara T, Tsutsumi K, Nakamura T, Miyata T, Sakakibara F. The lipoprotein lipase activator, NO-1886, suppresses fat accumulation and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Diabetologia* 43(7): 875-880, 2000
 - 31) Chang YK, Youn HJ. The effect of dietary fat levels and sources of dietary fiber on serum and liver lipids of rats. *Korean J Nutr* 17(4): 253-261, 1984
 - 32) Fernandez ML, Sun DM, Tosca MA, Monama DJ. Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism. A dose-response study in guinea pigs. *Am J Clin Nutr* 59(4): 869-878, 1994
 - 33) Kirby RW, Anderson JW, Sieling B, Ress, ED, Chen I.W, Miller RE, Kay RM. Oat bran intake selectively lowers serum low-density lipoprotein cholesterol concentration of hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* 34(5): 824-829, 1981
 - 34) Vigne JL, Lairon D, Bore P. Effect of pectin wheat bran and cellulose on serum lipids and lipoproteins. *Br J Nutr* 58(3): 405-413, 1987
 - 35) Kritchevsky D. Dietary fiber. *Ann Rev Nutr* 8: 301-328, 1988
 - 36) Ghyselinck NB, Bavik C, Sapin V. Cellular retinol-binding protein I is essential for vitamin A homeostasis. *EMBO J* 15(18): 4903-4914, 1999
 - 37) Linder MC, Nutrition and metabolism of vitamin, In: Linder MC, ed. Nutritional Biochemistry and Metabolism, pp.70-131, Elsevier New York, 1985