

인공 사육 동물 모델 시스템을 이용한 n-3 지방산 결핍이 쥐의 뇌, 망막, 간의 지방산 조성에 미치는 영향

임 선 영

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Effect of n-3 Fatty Acid Deficiency on Fatty Acid Composition in Brain, Retina and Liver Using a Novel Artificial Rearing System

Sun-Young Lim

Division of Marine Environment & BioScience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

Abstract

Docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA) is highly enriched in membrane of brain and retina, and plays an important role in maintaining an optimal function of the central nervous system. We investigated the effect of n-3 fatty acid deficiency on rat brain, retina and liver fatty acyl composition at two different ages (3 wks and 15 wks) under DHA deficient condition. Rat pups born to dams fed a diet with 3.1% of total fatty acids as α -linolenic acid (LNA) were fed using an artificial rearing system either an n-3 deficient (n-3 Def) or n-3 adequate (n-3 Adq) diet. Both diets contained 17.1% linoleic acid (LA) but the n-3 Adq diet also contained 3.1% LNA. Rats consuming the n-3 Def diet showed a lower brain (50% in 13 wks and 70% in 15 wks, $p < 0.05$) and retinal (57% in 13 wks and 63% in 15 wks, $p < 0.05$) DHA than those on the n-3 Adq diet, which was largely compensated for by an increase in docosapentaenoic acid (22:5n-6, DPAn-6). In the liver of the n-3 Def group, the percentage of DHA decreased by 97% at 3 wks of age with an apparent increase in DPAn-6 relative to the n-3 Adq group ($p < 0.05$), while there was a 65% lower liver DHA in n-3 Def group at 15 wks of age than the n-3 Adq group ($p < 0.05$). Liver arachidonic acid (20:4n-6, AA) was increased at 3 wks of age but decreased at 15 wks of age in the n-3 Def group compared with n-3 Adq group ($p < 0.05$). In conclusion, the replacement of DHA by DPAn-6 in brain and retina fatty acid composition may be related to the suboptimal function in spatial learning, memory and visual acuity. This artificial rearing method presents a first generation model for n-3 deficiency that is similar to the case of human nutrition that commonly employed two generation model.

Key words: artificial feeding, artificial rat milk, n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency, docosahexaenoic acid

서 론

필수 지방산은 크게 n-3 계열 지방산과 n-6 계열 지방산으로 나눌 수가 있으며 이들은 생체 내에서 불포화와 탄소사슬의 연장반응을 거쳐 중요한 생리기능을 가진 긴 사슬의 고도로 불포화된 지방산들로 생합성된다. 또한 필수 지방산은 생체 내에서 생합성이 불가능하므로 우리가 식품으로부터 반드시 섭취해야 하는 영양소들 중의 하나이다(1). 최근 식생활의 서구화로 인하여 우리나라가 삼면으로 바다로 둘러싸여 있음에도 불구하고 생선보다는 패스트푸드와 동물성 식품에 많이 함유되어 있는 n-6 지방산의 섭취가 늘어가는 추세이다. 따라서 n-3/n-6 지방산의 균형적인 비율이 무엇보다 중요하며 정상적인 뇌 기능 유지에도 필수적이다(2,3). n-3 지방산인 docosahexaenoic acid(22:6n-3, DHA)는 전구물질인 α -linolenic acid(LNA)로부터 생합성되어지

며 다른 장기 조직들과 비교해 볼 때 뇌를 비롯한 신경조직에 많이 분포되어 있는 것이 특징이다(4). 출생 석 달 전부터 수유 2주일 동안 가장 많은 DHA가 모유를 통해서 신생아에 전달되어 신생아 뇌 발달 과정에 중요한 역할을 하기 때문에 임신 중에 DHA를 함유하고 있는 생선을 많이 섭취하는 것이 권장되어지고 있다(5). 이 시기동안 n-3 지방산의 결핍은 electroretinogram을 이용한 망막의 활성 실험(6-8), 시력 테스트(9-11) 그리고 공간과 후각에 기초로 한 기억 학습 능력(11-15) 등에서 n-3 지방산이 적절히 공급된 경우보다 유의적으로 기억력 및 시력이 저하됨이 보고되었다.

n-3 지방산 결핍이 신생 쥐의 뇌 기능에 미치는 영향을 규명하기 위해서는 뇌의 DHA가 결핍된 동물을 생성시키는 것이 필수적이다. 이에 관한 연구로 가장 널리 이용되고 있는 방법이 2~3세대 동물 실험 연구로 즉, 2~3세대동안 n-3 지방산이 결핍된 식이를 투여하여 최종적으로 뇌 DHA가

결핍된 동물을 생성시키는 것이다(11-16). 이는 수유기 동안 모유로 통하여 DHA가 신생 쥐에게 전달되어지므로 완전한 오메가 3 지방산이 결핍된 동물의 생성이 어려우므로 2~3 세대에 걸쳐 오메가 3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 동물로부터 뇌 내 지방산 중 DHA 함량이 83% 저하된 동물을 생성시킬 수가 있기 때문이다(12). 그러나 본 연구에서는 기존의 3세대 실험 연구에서의 단점인 막대한 동물의 수와 엄청난 시간의 손실의 보안 및 완전한 영양소의 제한을 위해 인공 쥐 사육 시스템을 도입, 실행하여 1세대에서 오메가 3 필수 지방산이 결핍된 동물을 얻고자 한다(21,22).

또한 본 연구에서는 기존의 알려진 인공 사육 방법(17,18)과 차별화하여 새로운 형태의 인공 사육 동물 모델 시스템을 이용하고자 한다. 기존의 인공 사육 방법의 단점으로 출생 후 4~5일 경과 후 식도-위 연결 튜브 수술을 수행함으로 신생 쥐들에게 상당한 스트레스를 주고 사육동안에도 개개의 cage에서 사육되어짐으로 자연스러운 동물들 간의 신체적 접촉이 부족하며, 튜브와 자동 펌프로 시간별로 강제 수유되어지는 비자발적인 방식이다. 이에 본 연구에서는 인공 사육 동물 시스템을 이용하여 분유의 자유섭취 및 한 cage에 6마리씩 같이 사육함으로써 동물들 간의 신체적 접촉과 인공 젖병과 젓꼭지를 사용하므로 되도록 자연스러운 수유 방식을 시도하였다. 아울러 기존의 방식과 가장 중요한 차이점은 출생 후 일주일 내 가장 많은 양의 DHA가 모유에 함유되어 있으므로 본 연구에서 사용된 인공 사육 동물 모델 시스템은 이 기간을 단축시키고 출생 후 12시간 내 암마 쥐들로부터 분리하여 인공 사육 시스템에서 인공 쥐 분유를 조제하여 신생 쥐들을 3주 동안 사육하는 실험을 행하였다. 인공 쥐 분유 또한 개선하여 기존의 시판 우유의 경우 쥐의 모유와 비교해 볼 때 지방 함량이 다소 낮으므로 우유의 변형이 아니라 신생 쥐에 필요한 각 영양소들을 직접 혼합, 균질화하여 조제하였음

로 영양소들의 통제가 가능하여 n-3 지방산의 함량을 조절할 수가 있었다. 따라서 본 연구에서 시도된 인공 사육 동물 모델 시스템과 인공 쥐용 분유는 필수 지방산이 아니더라도 여러 가지 다른 특정 영양소의 역할을 규명하는 연구에 다양하게 응용될 수가 있는 실험도구이다.

본 연구에서는 인공 사육 모델 시스템과 인공 쥐용 분유를 이용하여 출생 직후 12시간 내에 암마 쥐들로부터 신생 쥐를 분리하여 n-3 지방산 결핍분유와 n-3 지방산 적절분유로 3주 동안 사육한 후(이유기) 각각 장기들을 취하고 또한 성숙 쥐(15 wks)의 뇌, 망막, 간을 취하여 뇌 성장 발달 과정 동안 n-3 지방산 결핍이 이들 장기들의 지방산 조성 변화에 미치는 영향을 알아보려고 한다.

재료 및 방법

실험동물의 종류 및 사육

본 실험에서는 생후 3주된 암컷 Long-Evans 쥐를 Charles River 실험실(Portage, MI)에서 구입하여 3% LNA 첨가된 AIN-93G 표준식이(19)를 급여하여 적정 환경(온도 23±1 °C, 상대습도, 명암 12시간 주기)에서 8주간 사육하였다. 11주가 되었을 때 12주된 수컷과 교배시킨 후 임신 쥐들을 구별하여 교배 17일부터 개개 cage에서 사육하였다. 신생 쥐들을 생후 12시간 내에 체중을 고려하여 5마리 암마 쥐들로부터 각 1마리씩 신생 쥐를 분리하여 가능한 유전적 환경요인을 줄이고자 하였다. 이들 신생 쥐들은 3군으로 분류하여 즉, 대조군으로 암마 쥐가 직접 수유하는 군(dam-reared group)과 인공 사육시스템을 이용한 인공 사육 동물군을 다시 n-3 지방산이 적절히 함유된 군(n-3 adequate group)과 n-3 지방산이 결핍된 군(n-3 deficient group)으로 나누었다 (Fig. 1). 대조군은 실험기간동안 3% LNA 첨가된 AIN-93G

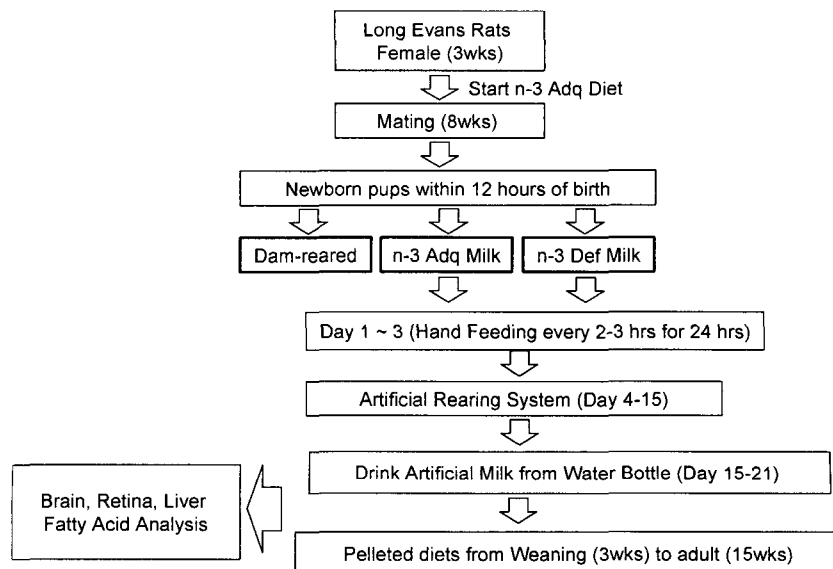


Fig. 1. Flow diagram illustrates study design.

표준 식이를 급여하였고 인공 사육 동물군은 각각 n-3 지방산이 적절히 함유된 분유와 n-3 지방산이 결핍된 분유로 이 유기(생후 3주)까지 급여하고 인공분유의 지방산 조성 과 유사한 고품사료로 실험기간동안 급여하였다. 실험식이와 음용수는 실험기간동안 자유섭취방법으로 급여하였다.

실험식이

본 실험에 사용된 고품사료는 AIN-93에 따른 식이로 지방의 급원을 변형하였다. 대조군(Maternal diet)의 경우 포화지방산의 급원으로 수소화된 coconut oil을 사용, linoleic acid(LA) 급원으로 safflower oil을 사용, LNA급원으로 flaxseed oil을 사용하였다. 대조군식이의 LNA와 LA의 함유량은 각각 전체 지방산의 3%와 15%임을 Table 1에 나타내었다. 인공사육동물군의 경우는 인공분유의 지방산 조성 과 유사하게 유지하기 위하여 medium-chain triglyceride와 수소화된 coconut oil을 사용하였고 불포화지방산으로 정제된 ester형의 지방산들(oleic acid, LA, LNA, Nu-Chek Prep, Elysian, MN)을 사용하였다. n-3 지방산 결핍군(n-3 Def)은 17.8% LA와 0.06% LNA를 함유, n-3 지방산 적절군(n-3 Adq)은 17.6% LA와 3.2% LNA를 함유하였다(Table 1).

신생 쥐용 인공분유 조제

시판용 우유의 경우 지질 및 단백질 종류의 차이로 신생 쥐 사육에 적합하지 않기 때문에 신생 쥐용 인공조제유가

Table 1. Nutrient and fatty acyl compositions of diets

Ingredient	Amount (g/100 g)		
	Maternal	n-3 deficient	n-3 adequate
Casein, vitamin free	20		
Carbohydrate			
Cornstarch	15		
Sucrose	10		
Dextrose	19.9		
Maltose-dextrin	15		
Cellulose	5		
Salt mix	3.5		
Vitamin mix	1		
L-Cystine	0.3		
Choline bitartrate	0.25		
tert-Butylhydroquinone	0.002		
Fat			
Hydrogenated coconut oil	7.75	2.7	2.7
Safflower oil	1.77		
Flaxseed oil	0.48		
Medium-chain triglyceride		1.3	1.3
18:1n-9 ethyl ester		4.5	4.2
18:2n-6 ethyl ester		1.5	1.5
18:3n-3 ethyl ester			0.3
Fatty acid composition			
18:2n-6	15.3	17.8	17.6
18:3n-3	3.1	0.06	3.2
n-6/n-3	4.9	296.7	5.5

필요하다. Kanno 등(20)의 방법을 변형하여 단백질로는 지질성분이 최소인 casein과 whey protein을, 당질은 lactose를, 지질은 medium-chain triglyceride와 수소화된 coconut oil을 사용하였고 불포화지방산으로 정제된 ester형의 지방산들(oleic acid, LA, LNA, Nu-Chek Prep, Elysian, MN)을 사용하였다(Table 2). n-3 지방산 적절군은 3% LNA를, n-3 지방산 결핍군은 0.02% LNA를 함유하고 있어 두 식이군의 중요한 차이점은 LNA 함유량으로 정하였고 LA 함유량은 각각 16.6%와 16.3%로 거의 동일하였다(Table 3). 신생 쥐 성장에 필요한 모든 영양소들을 순서에 맞추어 배합하여 분유 조제 동안 응고되는 것을 피하고자 하였다. 혼합 후 고압 균질기(FES International, Irwindale, CA)를 이용하여 두 번 균질화하였고 65°C에서 30분간 2회 살균한 후 냉장 보관하며 산패방지를 위하여 필요시 매번 조제하였다.

Table 2. Nutrient composition of artificial rat milk

Ingredient	Amount (mg/100 mL milk)	
Casein (ALACID, acid casein) ^a	6,275	
Whey protein isolate (ALACEN895) ^a	4,000	
Carbohydrate (alpha-lactose) ^b	1,893	
Serine ^b	28.8	
Cystine ^b	22.5	
Tryptophan ^b	27.0	
Minerals		
NaOH ^b	2,100	
KOH ^b	170	
GlyCaPO ₄ ^b	800	
MgCl ₂ 6H ₂ O ^d	183	
CaCl ₂ 2H ₂ O ^d	210	
Ca ₃ H ₂ O-Citrate ^b	250	
Na ₂ HPO ₄ ^d	114	
KH ₂ PO ₄ ^d	51.0	
FeSO ₄ ^b	3.0	
ZnSO ₄ ^b	6.0	
CuSO ₄ ^b	1.6	
MnSO ₄ ^b	0.07	
NaF ^b	0.16	
Kl ^b	0.18	
Carnitine ^b	4.0	
Picolinate ^b	2.0	
Ethanolamine ^b	3.4	
Taurine ^b	15.0	
Vitamin mix (dextrose) ^c	500	
Tricholine citrate ^b	370	
Cholesterol ^b	40	
	n-3 Def	n-3 Adq
Fat sources	g/100 mL milk	
MCT oil ^e	1.56	1.56
Coconut oil (hydrogenated) ^f	3.24	3.24
18:1n-9 ethyl ester ^g	5.04	4.68
18:2n-6 ethyl ester ^g	2.16	2.16
18:3n-3 ethyl ester ^g	-	0.36

Component sources were as follows: ^aNZMP (North America) Inc, Santa Rosa, CA; ^bSigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO; ^cRx993666 Harlan, Madison, WI; ^dMalinkrodt, Hazelwood, MO; ^eMead Johnson Nutritionals, Evansville, IN; ^fDyets, Bethlehem, PA; ^g99% grade, Nu-Chek Prep, Inc., Elysian, MN.

Table 3. Fatty acid compositions of artificial rat milk

Fatty acids ¹⁾	Dietary group	
	n-3 Def	n-3 Adq
	g/100 g	
ΣSaturated	33.8	32.6
ΣMonounsaturated	48.4	47.6
18:2n-6	16.3	16.6
18:3n-3	0.02	3.1
n-6/n-3	815	5.5

¹⁾Only trace quantities of long chain polyunsaturated indicating 20:4n-6, 20:5n-3, 22:5n-3 and 22:6n-3 were detected, i.e. less than 0.01%. Other minor peaks were not included.

인공사육시스템을 이용한 신생 쥐 사육

인공사육시스템은 Hoshiba(21)의 방법을 변형하였고 인공분유 유속 조절 unit(milk-pumping system), 실리콘으로 만든 젖병(nursing bottle)과 젖꼭지, 온도를 유지시켜주는 항온기 등으로 구성되어 있다(22). 한 개의 인공사육시스템은 6개의 젖병과 젖꼭지를 가지고 있고 인공분유는 매번 30분마다 2분간 인공젖병의 튜브를 통하여 인공분유가 채워지고 빠져나오도록 자동 조절하였다. 젖병은 내부에 3개의 튜브, 즉 분유 주입구(fill tube), 분유 배출구(outlet tube), 공기 튜브(vent tube)로 구성되어 있고 cage 내의 온도에는 33.5°C에서 점차 감소시켜 생후 6일째에는 30°C로 사육 종료까지 계속 유지하고 젖병과 젖꼭지는 재료로 실리콘을 사용하여 연령별로 직접 제작하였다. 생후 12시간 내 신생 쥐를 암마 쥐로부터 분리하여 훈련기간으로 3일간은 인공 쥐 분유와 인공사육시스템을 이용하여 매 3시간 하루에 총 13시간 수유시켰다. 이후 훈련된 신생 쥐들은 자유섭취방법으로 젖꼭지를 스스로 더듬어 찾아서 분유를 섭취할 수가 있었다. 인공사육시스템을 이용한 사육법은 생후 15일까지 계속 행하고 그 이후에는 신생 쥐들의 경우 감겨진 눈이 열리는 시기이므로 50 mL conical tube를 이용하여 신생 쥐가 시각적으로 보면서 스스로 마시는 형태로 분유를 취하게 하였다.

Gas chromatography를 이용한 생체조직의 지방산 측정

실험쥐를 희생시킨 후 뇌, 망막, 간을 취해서 무게를 재고 -80°C에 보관하고 실험에 사용하였다. 지방산 분석은 Folch 등(23)을 변형하여 실시하였으며 즉, 생체조직을 BHT를 함유한 CCl₄:methanol(2:1)로 교반하여 균질화 하였다. 균질물을 일정양 취한 후 클로로포름 2 mL와 0.2 M NaH₂PO₄ 1.4 mL를 넣고 교반하여 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 지질층을 얻었다. 최종적으로 질소가스를 이용하여 서서히 지질층의 유기용매를 완전히 날린 다음 지질을 얻었다. Morrison과 Smith의 방법(24)에 따라 추출된 지질에 methylation용 시약인 boron trifluoride methanol 1 mL와 hexane 0.4 mL를 가한 후 1시간동안 100°C에서 가열하였다. 실온까지 충분히 냉각시킨 다음 hexane 2 mL와 증류수 2 mL를 가한 후 다시 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 상등액을 얻었다. 상등액을 질소가스 하에서 조금 날린 후, 상등액 1~2 µL를 취하여

지방산 분석용 HP-5890B gas chromatography(Agilent, Palo Alto, CA)에 주입하여 지방산을 분석하였다. 지방산 분석에 사용한 표준용액은 미국 Nu-Chek사의 462 standard를 이용하였다. 이용된 칼럼은 silica capillary column(DB-FFAP, 30 m×0.25 mm inner diameter×0.25 µm film thickness, J and W Scientific, Folsome, CA)이었으며 기기의 분석 조건은 detector(FID) 250°C, oven(initial 130°C, 분당 증가율 175°C까지 4°C/min, 250°C까지 1°C/min, 210°C까지 30°C/min, final 245°C), injector 250°C 그리고 carrier gas는 수소를 사용하였다(25). 지방산 분석은 표준용액의 retention 시간과 비교하여 정성하였으며 전체 peak area의 퍼센트로 산출하였다.

통계처리

실험결과는 mean±SEM(standard error of mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 Statistica program(Statsoft, Tulsa, OK)을 이용하여 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Tukey's HSD(Honestly Significant Difference) test를 실시하여 95% 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

체중 비교

인공사육동안 생후 15일까지는 암마 쥐가 직접 수유한 대조군(dam-reared)에 비해 인공적으로 사육한 인공사육동물군의 체중이 유의적으로 낮았으나 n-3 지방산 결핍군과 n-3 지방산 적절군 간에는 유의적 차이가 없었다(n-3 Def, p<0.01; n-3 Adq, p<0.01 vs. Dam's; n-3 Def, p=0.282 vs. n-3 Adq, Fig. 2). 눈을 뜨기 시작한 15일부터는 분유병을 인공젖꼭지와 젖병 타입에서 물병 타입으로 전환하였기 때문에 인공적으로 사육한 동물군은 스스로 물병을 찾아서 더 많은 양의 분유를 취할 수가 있어서 급격한 체중 증가가 일어났으

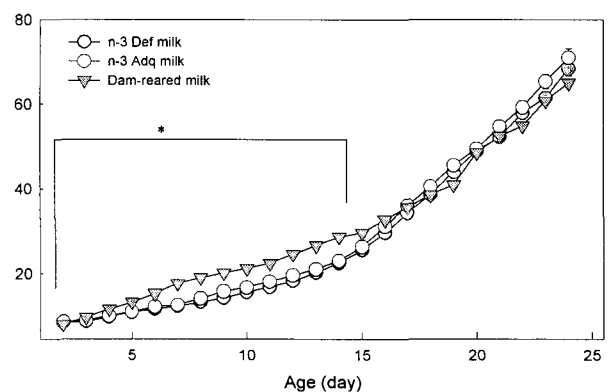


Fig. 2. Body weights over the first 24 days of artificial in comparison to dam-reared rat pups. The body weight is presented as the mean±SEM, n=8~10. *p<0.01 compared dam-reared with the artificially reared groups.

며 그 이후 대조군과 비교했을 때 유의적 차이는 관찰할 수가 없었다. 이유기의 대조군, n-3 지방산 적절군과 n-3 지방산 결핍군의 평균 체중은 각각 58.6 ± 1.27 g, 62.9 ± 3.08 g, 65.4 ± 3.58 g이었다. 15주의 성숙 쥐의 경우, 대조군, n-3 지방산 적절군과 n-3 지방산 결핍군의 평균 체중은 각각 475.2 ± 58.0 g, 480.8 ± 17.1 g, 511.0 ± 19.8 g이었다.

뇌의 지방산 조성 변화

Table 4는 이유기의 쥐의 뇌 지방산 조성을 나타내고 있다. n-3 지방산 결핍군과 비교했을 때 n-3 지방산 적절군과 대조군의(dam-reared) 경우 총 monounsaturated 지방산과 총 n-3 지방산의 함량이 높았으며 총 n-6 지방산의 함량은 낮았음($p < 0.05$)을 관찰할 수가 있었고, 총 saturated 지방산의 경우는 변화가 없었다. 예상했듯이 뇌 DHA의 경우 n-3

지방산 결핍군은 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 그 함량이 50% 감소하였고 반면 n-6 계열인 DPA n-6의 함량은 상당히 증가하였음을 살펴볼 수가 있었다. n-6 계열 지방산들 중에서 20:4n-6, 22:2n-6와 22:4n-6도 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 증가하였다. Saturated 지방산 중에서는 14:0와 16:0의 함량이 n-3 지방산 결핍군에서 높았으며, mono-unsaturated 지방산 중에서는 16:1n-7과 24:1n-9의 함량이 높았다($p < 0.05$). Table 5는 성숙 쥐의 뇌 지방산 조성을 나타낸 것으로 앞서의 이유기의 지방산 조성 과 유사하게 총 n-3 지방산의 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 현저히 낮았으며 특히 뇌의 DHA는 n-3 지방산 적절군에 비해 70% 감소되었음을 살펴볼 수가 있었다($p < 0.05$). 반면 총 n-6 지방산과 DPA n-6 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 매우 높았으나($p < 0.05$), 20:4n-6의 함량에는 변화가 없었다. 총 monounsat-

Table 4. Effect of n-3 deficiency on weaned rat brain fatty acid compositions

Fatty acids	Dietary group ¹⁾		
	n-3 deficient	n-3 adequate	Dam-reared
	g/100 g		
12:0	$0.05 \pm 0.01^{2)}$	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.001
14:0	$0.76 \pm 0.12^{a3)}$	0.36 ± 0.05^b	0.43 ± 0.02^b
16:0	22.7 ± 0.93^a	20.0 ± 0.60^b	19.6 ± 0.09^b
18:0	17.8 ± 0.69^b	16.8 ± 0.53^b	19.6 ± 0.08^a
20:0	0.27 ± 0.06	0.45 ± 0.08	0.48 ± 0.01
22:0	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.05	0.07 ± 0.01
24:0	0.34 ± 0.10^c	0.63 ± 0.05^b	0.91 ± 0.03^a
Total Sat.	42.0 ± 0.32	38.4 ± 0.88	41.2 ± 0.10
16:1n-7	0.96 ± 0.15^a	0.34 ± 0.03^b	0.47 ± 0.003^b
18:1n-9	12.0 ± 0.23	12.7 ± 0.20	12.2 ± 0.08
18:1n-7	2.27 ± 0.06	2.28 ± 0.04	2.65 ± 0.02
20:1n-9	0.11 ± 0.01^c	0.16 ± 0.01^b	0.21 ± 0.005^a
22:1n-9	0.03 ± 0.004^{ab}	0.06 ± 0.02^a	0.01 ± 0.004^b
24:1n-9	0.49 ± 0.06^b	0.86 ± 0.12^a	0.96 ± 0.03^a
Total Mono.	14.9 ± 0.34^b	16.4 ± 0.23^a	16.5 ± 0.12^a
18:2n-6	1.03 ± 0.26	1.09 ± 0.10	0.91 ± 0.01
18:3n-6	0.02 ± 0.005^b	0.04 ± 0.004^a	0.02 ± 0.001^b
20:2n-6	0.25 ± 0.02^a	0.22 ± 0.02^a	0.15 ± 0.01^b
20:3n-6	0.49 ± 0.02	0.54 ± 0.02	0.53 ± 0.02
20:4n-6	12.7 ± 0.18^a	11.0 ± 0.28^b	11.1 ± 0.08^b
22:2n-6	0.13 ± 0.03^a	0.05 ± 0.003^b	0.07 ± 0.001^b
22:4n-6	3.79 ± 0.16^a	3.27 ± 0.08^b	3.10 ± 0.04^b
22:5n-6	5.76 ± 0.76^a	1.63 ± 0.36^b	1.03 ± 0.02^b
Total n-6	24.2 ± 0.63^a	17.8 ± 0.64^b	16.9 ± 0.11^b
22:5n-3	0.08 ± 0.01^c	0.18 ± 0.01^b	0.30 ± 0.01^a
22:6n-3	6.56 ± 0.99^b	12.2 ± 0.69^a	11.7 ± 0.13^a
Total n-3	6.65 ± 1.00^b	12.3 ± 0.69^a	12.0 ± 0.13^a
22:5n-6/22:6n-3	1.06 ± 0.29^a	0.14 ± 0.04^b	0.09 ± 0.002^b
22:5n-6+22:6n-3	12.3 ± 0.36^b	13.8 ± 0.45^a	12.8 ± 0.13^{ab}
n-6/n-3	4.08 ± 0.74^a	1.47 ± 0.13^b	1.41 ± 0.02^b

¹⁾Dietary groups indicate as follow: n-3 deficient group contained 0.06% LNA; n-3 adequate group contained 3.2% LNA; Dam-reared group means that rats were raised by their mother's milk.

²⁾Each variable represents the mean \pm SEM, n=4~5.

³⁾Different symbols in a same row indicate significantly different among the groups by Tukey's HSD test, at $p < 0.05$.

Table 5. Effect of n-3 deficiency on adult rat brain fatty acid compositions

Fatty acids	Dietary group ¹⁾		
	n-3 deficient	n-3 adequate	Dam-reared
	g/100 g		
14:0	$0.23 \pm 0.06^{2)}$	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.02
16:0	19.3 ± 0.67	18.2 ± 0.39	18.3 ± 0.46
18:0	17.5 ± 0.26	17.4 ± 0.19	17.2 ± 0.19
20:0	0.58 ± 0.04	0.59 ± 0.02	0.54 ± 0.03
22:0	0.52 ± 0.03	0.57 ± 0.04	0.51 ± 0.03
24:0	1.08 ± 0.07	1.19 ± 0.11	1.08 ± 0.06
Total Sat.	39.2 ± 0.87	38.1 ± 0.48	37.8 ± 0.59
16:1n-7	0.38 ± 0.01	0.39 ± 0.02	0.36 ± 0.01
18:1n-9	16.21 ± 0.40	17.23 ± 0.21	17.33 ± 0.31
18:1n-7	4.01 ± 0.08	3.80 ± 0.03	3.31 ± 0.58
20:1n-9	$0.71 \pm 0.40^{b3)}$	2.08 ± 0.09^a	2.08 ± 0.12^a
22:1n-9	0.15 ± 0.04	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.02
24:1n-9	2.45 ± 0.15	2.45 ± 0.12	2.55 ± 0.10
Total Mono.	23.9 ± 0.17^b	26.2 ± 0.20^a	25.8 ± 0.59^a
18:2n-6	0.38 ± 0.02^b	0.49 ± 0.02^a	0.52 ± 0.02^a
18:3n-6	0.04 ± 0.001	0.05 ± 0.004	0.05 ± 0.002
20:2n-6	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01
20:3n-6	0.29 ± 0.01^b	0.37 ± 0.01^a	0.36 ± 0.01^a
20:4n-6	9.91 ± 0.31	9.09 ± 0.23	9.11 ± 0.17
22:2n-6	0.11 ± 0.03^a	0.06 ± 0.02^b	0.05 ± 0.003^b
22:4n-6	3.88 ± 0.13^a	3.10 ± 0.07^b	3.07 ± 0.04^b
22:5n-6	8.90 ± 0.25^a	0.54 ± 0.04^b	0.37 ± 0.02^b
Total n-6	23.6 ± 0.48^a	13.8 ± 0.31^b	12.7 ± 0.19^b
22:5n-3	0.05 ± 0.01^b	0.14 ± 0.01^a	0.15 ± 0.01^a
22:6n-3	3.95 ± 0.27^b	12.97 ± 0.19^a	13.12 ± 0.25^a
Total n-3	3.98 ± 0.27^b	13.12 ± 0.18^a	13.27 ± 0.25^a
22:5n-6/22:6n-3	2.30 ± 0.19^a	0.04 ± 0.001^b	0.03 ± 0.002^b
22:5n-6+22:6n-3	12.9 ± 0.29	13.5 ± 0.21	13.5 ± 0.24
n-6/n-3	5.93 ± 0.74^a	1.05 ± 0.13^b	0.96 ± 0.02^b

¹⁾Dietary groups indicate as follow: n-3 deficient group contained 0.06% LNA; n-3 adequate group contained 3.2% LNA; Dam-reared group means that rats were raised by their mother's milk.

²⁾Each variable represents the mean \pm SEM, n=4~5.

³⁾Different symbols in a same row indicate significantly different among the groups by Tukey's HSD test, at $p < 0.05$.

urated 지방산의 경우 n-3 지방산 결핍군에서 낮았으나($p < 0.05$), 총 saturated 지방산에는 유의적 변화가 없었다. Lim 등(22)의 연구에 따르면 이러한 지방산의 변화, 즉 뇌의 지방산 조성에서 DHA 저하와 DPA-n-6 증가는 공간 기억력과 관련된 뇌 기능 저하와도 매우 밀접한 관련이 있다고 보고되었다. 실험쥐들이 8주가 되었을 때 여러 가지 동물 행동 실험을 한 결과, 운동력과 불안감에는 두 군 간의 차이가 없었으나 공간 학습 및 후각을 기초로 한 기억학습 능력 실험을 실시한 결과로는 n-3 지방산 결핍군의 경우 목적지까지 도착하는 시간이 n-3 지방산 적절군에 비해 길어 기억 학습 능력이 현저히 저하됨을 관찰하였다. Salem 등(26)의 연구에서 DHA 결핍 쥐는 DHA 섭취 쥐에 비하여 뇌의 중량도 감소하고 아울러 hippocampus CA1 영역, 시상하부, piriform 혹은 parietal cortex의 신경세포 크기가 30% 이상 감소되는데 이유기인 생후 21일째가 성장한 68일째 뇌신경 세포보다 감소현상이 더 크게 나타났다고 보고되었다. 또한 Na(+) K(+) ATPase 활성도 DHA 결핍 쥐의 뇌에서 60% 이상 감소하였고(27) DHA 보충에 의하여 완화되었음이 보고되었다(28). 이유기와 성숙기에서 n-3 지방산 결핍군의 DPA-n-6/DHA비와 n-6/n-3비가 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 컸으나, DPA-n-6와 DHA의 합에는 변화가 없었으므로 총 긴 사슬의 불포화지방산의 함량에는 n-3 지방산 결핍이 영향을 미치지 않는 것으로 예상되어진다. 따라서 뇌 성숙 발달 과정동안 n-3 지방산 결핍은 뇌의 DHA의 결핍을 초래하고 이러한 비정상적인 조건에서 DPA-n-6의 증가의 의미는 신경조직에서 DHA 결핍에 따른 뇌 기능 손상을 회복시키는 즉, DHA의 기능을 대신 하는 역할인지는 아직까지 의문이므로 더 깊은 연구가 예상되어진다.

망막의 지방산 조성 변화

뇌와 유사하게 망막의 경우에도 상당량의 고도로 불포화된 지방산들로 구성되어져 있어 빛에 의한 망막 내 G-protein 자극에 따른 신호전달에 이들 불포화지방산들의 조성 변화가 매우 중요한 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다(29). 이유기의 망막의 총 saturated 지방산과 총 monounsaturated 지방산에는 식이군 사이에 변화가 없었다(Table 6). 22:4n-6, DPA-n-6와 총 n-6 지방산의 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 증가하였으나 22:5n-3, DHA와 총 n-3 지방산의 함량은 상당히 감소하였음을 살펴볼 수가 있었다($p < 0.05$). 그러나 대조군과 n-3 지방산 적절군의 지방산 조성 간에는 유의적 차이가 없었다. 쥐의 경우 출생 후 2주는 인간의 태아 성장의 제 3기에 속하는 것으로 출생 직후에는 뇌를 비롯한 신경 조직이 아직 덜 발달한 상태이므로 지속적인 필수 영양소들의 공급이 요구되어진다(5). 따라서 신경 조직 성장 과정 중에 이러한 n-3 계열 필수 지방산의 결핍은 뇌와 망막 발달에 지대한 영향을 끼치는 것으로 보고되었다(30-32). 특히 망막의 경우, 눈을 뜨기 시작하는 생후 15일부터 망막 DHA의 함량이 현저히 증가하는

Table 6. Effect of n-3 deficiency on weaned rat retina fatty acid compositions

Fatty acids	Dietary group ¹⁾		
	n-3 deficient	n-3 adequate	Dam-reared
	g/100 g		
12:0	0.40±0.16 ²⁾	0.48±0.41	0.55±0.32
14:0	0.81±0.16	1.03±0.18	1.48±0.30
16:0	13.9±1.96	15.0±0.71	18.2±1.06
18:0	15.0±2.15	15.7±1.90	17.5±1.53
20:0	0.19±0.04	0.21±0.02	0.31±0.03
22:0	0.12±0.06	0.14±0.02	0.15±0.01
24:0	0.22±0.05	0.18±0.03	0.27±0.01
Total Sat.	30.6±3.85	32.8±1.53	38.8±2.21
16:1n-7	0.57±0.06	0.79±0.18	0.74±0.16
18:1n-9	7.68±1.09	7.39±2.25	6.75±0.71
18:1n-7	1.34±0.11	1.45±0.10	1.59±0.10
20:1n-9	0.22±0.04	0.20±0.01	0.15±0.01
22:1n-9	0.10±0.02 ³⁾	0.09±0.02 ^{b)}	0.21±0.03 ^{a)}
24:1n-9	0.35±0.11	0.70±0.25	0.21±0.02
Total Mono.	10.2±1.23	10.6±2.53	9.66±0.96
18:2n-6	1.43±0.41	2.19±0.73	1.64±0.28
18:3n-6	0.06±0.01 ^{b)}	0.08±0.01 ^{b)}	0.14±0.01 ^{a)}
20:2n-6	0.22±0.06	0.18±0.04	0.20±0.01
20:3n-6	0.21±0.04	0.26±0.03	0.24±0.01
20:4n-6	8.34±1.04	8.19±0.17	7.40±0.36
22:2n-6	0.04±0.02	0.06±0.004	0.07±0.002
22:4n-6	2.68±0.60 ^{a)}	1.52±0.06 ^{b)}	1.16±0.06 ^{b)}
22:5n-6	8.39±2.61 ^{a)}	1.39±0.34 ^{b)}	1.48±0.26 ^{b)}
Total n-6	20.8±3.96 ^{a)}	13.9±0.84 ^{b)}	12.3±0.25 ^{b)}
22:5n-3	0.13±0.05 ^{b)}	0.38±0.04 ^{a)}	0.44±0.04 ^{a)}
22:6n-3	6.36±0.95 ^{b)}	14.72±2.98 ^{a)}	13.88±0.98 ^{a)}
Total n-3	6.46±0.97 ^{b)}	15.1±3.01 ^{a)}	14.3±1.03 ^{a)}
22:5n-6/22:6n-3	1.28±0.29 ^{a)}	0.13±0.05 ^{b)}	0.11±0.02 ^{b)}
22:5n-6+22:6n-3	14.8±3.36	16.11±2.80	15.36±0.78
n-6/n-3	3.30±0.58 ^{a)}	1.19±0.38 ^{b)}	0.88±0.05 ^{b)}

¹⁾Dietary groups indicate as follows: n-3 deficient group contained 0.06% LNA; n-3 adequate group contained 3.2% LNA; Dam-reared group means that rats were raised by their mother's milk.

²⁾Each variable represents the mean±SEM, n=4~5.

³⁾Different symbols in a same row indicate significantly different among the groups by Tukey's HSD test, at $p < 0.05$.

것이 보고(33)되었고 이 시기에 DHA의 전구물질인 LNA의 결핍은 성숙 후 시력 관련 망막 신호전달에 부정적인 영향을 끼칠 것으로 사료되어진다. Table 7은 성숙 쥐의 망막의 지방산 조성을 나타낸 것으로 유사하게 20:4n-6, 22:4n-6, 22:5n-6와 총 n-6 지방산의 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 증가하였으나 22:5n-3, DHA와 총 n-3 지방산의 함량은 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 한편 총 monounsaturated와 18:1n-7의 경우, 대조군과 n-3 지방산 적절군에서 n-3 지방산 결핍군에 비해 다소 감소하는 것을 살펴볼 수가 있었다($p < 0.05$). 뇌의 지방산 조성과 유사하게 망막에서도 n-3 지방산 결핍군은 이유기와 성숙기에서 DPA-n-6/DHA비와 n-6/n-3비 또한 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 컸으나($p < 0.05$), DPA-n-6와 DHA의

Table 7. Effect of n-3 deficiency on adult rat retina fatty acid compositions

Fatty acids	Dietary group ¹⁾		
	n-3 deficient	n-3 adequate	Dam-reared
	g/100 g		
14:0	0.47±0.04 ²⁾	0.41±0.04	0.35±0.02
16:0	14.9±0.62	16.1±0.62	15.3±0.26
18:0	20.7±0.23	20.9±0.16	21.7±0.12
20:0	0.26±0.04	0.27±0.02	0.25±0.02
22:0	0.15±0.03	0.12±0.02	0.12±0.01
24:0	0.20±0.04	0.17±0.02	0.29±0.07
Total Sat.	36.6±0.75	37.9±0.70	38.0±0.31
16:1n-7	1.43±0.19	1.13±0.27	1.22±0.21
18:1n-9	7.52±0.16	7.53±0.20	6.99±0.09
18:1n-7	2.40±0.06 ^{a3)}	2.02±0.05 ^{b)}	1.95±0.04 ^{b)}
20:1n-9	0.20±0.01	0.21±0.01	0.19±0.004
24:1n-9	0.36±0.04	0.32±0.13	0.61±0.15
Total Mono.	11.9±0.28 ^{a)}	11.3±0.14 ^{b)}	11.0±0.09 ^{b)}
18:2n-6	0.37±0.04	0.37±0.03	0.45±0.02
18:3n-6	-	0.05±0.01	0.03±0.01
20:2n-6	0.12±0.03	0.09±0.01	0.10±0.01
20:3n-6	0.16±0.01	0.16±0.02	0.16±0.01
20:4n-6	9.15±0.13 ^{a)}	8.30±0.17 ^{b)}	8.31±0.14 ^{b)}
22:2n-6	0.09±0.01	0.08±0.01	0.10±0.01
22:4n-6	2.56±0.05 ^{a)}	1.50±0.03 ^{b)}	1.53±0.02 ^{b)}
22:5n-6	20.6±0.83 ^{a)}	0.88±0.03 ^{b)}	0.74±0.12 ^{b)}
Total n-6	33.1±0.85 ^{a)}	11.4±0.22 ^{b)}	11.1±0.29 ^{b)}
22:5n-3	0.08±0.01 ^{b)}	0.39±0.03 ^{a)}	0.42±0.03 ^{a)}
22:6n-3	12.63±0.94 ^{b)}	33.98±0.52 ^{a)}	34.17±0.54 ^{a)}
Total n-3	12.7±0.95 ^{b)}	34.4±0.57 ^{a)}	34.4±0.48 ^{a)}
22:5n-6/22:6n-3	1.70±0.19 ^{a)}	0.03±0.001 ^{b)}	0.02±0.004 ^{b)}
22:5n-6+22:6n-3	33.3±0.45	34.9±0.54	34.9±0.53
n-6/n-3	2.61±0.74 ^{a)}	0.33±0.13 ^{b)}	0.32±0.02 ^{b)}

¹⁾Dietary groups indicate as follows; n-3 deficient group contained 0.06% LNA; n-3 adequate group contained 3.2% LNA; Dam-reared group means that rats were raised by their mother's milk.

²⁾Each variable represents the mean±SEM, n=4~5.

³⁾Different symbols in a same row indicate significantly different among the groups by Tukey's HSD test, at p<0.05.

합에는 변화가 없었다. Niu 등(29)은 2세대동안 n-3 지방산 결핍 식이를 투여한 후 n-3 지방산 결핍이 G-protein에 의한 신호전달에 미치는 효과를 조사하였다. 그 결과 장기간 n-3 지방산 결핍은 망막 내 rhodopsin 활성화 감소, rhodopsin-transduction coupling 활성화 감소, cGMP phosphodiesterase 활성화 감소 등을 보여 망막 내의 신호전달 체계에 부정적인 영향을 끼치는 것임을 보고하였다. 따라서 시력 관련 electroretinogram test(6-8)에서 n-3 결핍에 따른 시력 저하 현상은 본 연구 결과인 n-3 지방산 결핍군의 망막 DHA 감소와 이에 수반하는 DPAn-6 증가와 매우 밀접한 연관이 있는 것으로 사료되어진다.

간의 지방산 조성 변화

섭취된 필수지방산은 주로 간에서 긴 사슬의 지방산으로 합성되어지므로 간의 지방산 분석은 지방산 대사를 연구하

는데 매우 중요하다. 이유기의 간의 총 saturated 지방산에는 변화가 없었으나 총 monounsaturated 지방산의 경우 대조군에 비해 인공적으로 사육한 n-3 지방산 적절군과 n-3 지방산 결핍군에서 유의적(p<0.05)으로 높았음을 관찰할 수 있었다(Table 8). 특히 monounsaturated 지방산들 중에서 18:1n-9이 대조군에 비해서 높았다(p<0.05). 다른 장기에 서와 비슷한 경향으로 간의 경우도 18:2n-6, 20:2n-6, 20:4n-6, DPAn-6와 총 n-6 지방산의 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 현저히 높았고(p<0.05), 반면 18:3n-3, 20:5n-3, 22:5n-3, DHA와 총 n-3 지방산의 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 낮았다(p<0.05). 이들 중에서 간 DHA는 65% 감소하였고 간의 DPAn-6는 59% 증가하였다. Table 9는 성숙 쥐의 간의 지방산 조성을 나타

Table 8. Effect of n-3 deficiency on weaned rat liver fatty acid compositions

Fatty acids	Dietary group ¹⁾		
	n-3 deficient	n-3 adequate	Dam-reared
	g/100 g		
12:0	0.98±0.09 ²⁾³⁾	0.65±0.14 ^{b)}	1.92±0.34 ^{a)}
14:0	2.19±0.32 ^{b)}	2.62±0.47 ^{b)}	5.81±0.75 ^{a)}
16:0	19.5±0.24	21.0±2.45	23.6±0.92
18:0	13.2±0.55	11.1±2.18	10.8±0.50
20:0	0.05±0.01	0.04±0.01	0.05±0.002
22:0	0.05±0.001 ^{a)}	0.04±0.005 ^{a)}	0.01±0.002 ^{b)}
24:0	0.18±0.04 ^{ab)}	0.11±0.04 ^{b)}	0.28±0.03 ^{a)}
Total Sat.	36.1±0.54	35.6±3.22	42.5±1.59
16:1n-7	1.06±0.08	2.01±0.64	2.09±0.18
18:1n-9	31.9±1.27 ^{a)}	29.2±3.24 ^{a)}	17.9±1.10 ^{b)}
18:1n-7	0.87±0.15 ^{b)}	1.22±0.13 ^{b)}	3.11±0.27 ^{a)}
20:1n-9	0.48±0.17	0.32±0.08	0.25±0.03
24:1n-9	0.28±0.10	0.10±0.02	0.17±0.02
Total Mono.	33.7±1.27 ^{a)}	32.9±3.71 ^{a)}	23.6±1.38 ^{b)}
18:2n-6	13.1±0.51 ^{a)}	9.96±0.85 ^{b)}	11.9±0.69 ^{ab)}
18:3n-6	0.16±0.02	0.20±0.04	0.18±0.02
20:2n-6	0.73±0.03 ^{a)}	0.32±0.11 ^{b)}	0.36±0.04 ^{b)}
20:3n-6	0.55±0.08	0.54±0.14	0.65±0.05
20:4n-6	8.96±1.42 ^{a)}	4.43±0.82 ^{b)}	6.65±0.49 ^{b)}
22:2n-6	0.06±0.01	0.03±0.02	0.04±0.003
22:4n-6	0.81±0.13	0.55±0.15	0.62±0.08
22:5n-6	3.96±1.01 ^{a)}	0.63±0.25 ^{b)}	0.65±0.03 ^{b)}
Total n-6	28.3±2.18 ^{a)}	16.7±1.81 ^{b)}	18.9±2.41 ^{b)}
18:3n-3	0.02±0.001 ^{b)}	0.68±0.20 ^{a)}	0.92±0.10 ^{a)}
20:5n-3	0.02±0.01 ^{b)}	0.19±0.04 ^{a)}	0.10±0.01 ^{a)}
22:5n-3	0.07±0.02 ^{c)}	0.54±0.15 ^{b)}	1.52±0.07 ^{a)}
22:6n-3	1.21±0.36 ^{b)}	3.46±0.30 ^{a)}	4.02±0.25 ^{a)}
Total n-3	1.34±0.38 ^{b)}	4.83±0.51 ^{a)}	6.56±0.44 ^{a)}
22:5n-6/22:6n-3	4.88±1.62 ^{a)}	0.18±0.07 ^{b)}	0.16±0.02 ^{b)}
22:5n-6+22:6n-3	5.17±1.10	4.09±0.43	4.67±0.24
n-6/n-3	35.2±14.27 ^{a)}	3.47±0.25 ^{b)}	2.89±0.38 ^{b)}

¹⁾Dietary groups indicate as follows; n-3 deficient group contained 0.06% LNA; n-3 adequate group contained 3.2% LNA; Dam-reared group means that rats were raised by their mother's milk.

²⁾Each variable represents the mean±SEM, n=4~5.

³⁾Different symbols in a same row indicate significantly different among the groups by Tukey's HSD test, at p<0.05.

Table 9. Effect of n-3 deficiency on adult rat liver fatty acid compositions

Fatty acids	Dietary group ¹⁾		
	n-3 deficient	n-3 adequate	Dam-reared
	g/100 g		
12:0	0.19±0.04 ²⁾	0.21±0.04	0.36±0.08
14:0	1.77±0.15	1.32±0.20	1.48±0.16
16:0	31.2±1.58 ³⁾	27.6±1.01 ^{ab}	24.1±1.41 ^b
18:0	7.00±0.29 ^c	9.69±0.51 ^b	14.25±1.08 ^a
20:0	0.02±0.002	0.06±0.02	0.05±0.01
22:0	0.04±0.005 ^b	0.06±0.01 ^a	0.10±0.01 ^a
24:0	0.09±0.01 ^b	0.15±0.02 ^b	0.26±0.03 ^a
Total Sat.	40.1±1.82	38.9±1.25	40.3±0.78
16:1n-7	8.91±0.22 ^a	5.36±0.49 ^b	4.38±0.47 ^b
18:1n-9	30.8±1.79 ^a	24.7±1.63 ^b	15.1±2.35 ^b
18:1n-7	4.23±0.76	4.87±0.44	4.52±0.49
20:1n-9	0.12±0.02	0.14±0.03	0.11±0.01
24:1n-9	0.12±0.01	0.16±0.02	0.26±0.08
Total Mono.	44.2±1.25 ^a	35.2±1.69 ^b	24.3±2.97 ^c
18:2n-6	2.04±0.14 ^b	5.05±0.65 ^a	6.54±0.60 ^a
18:3n-6	0.09±0.01	0.15±0.02	0.15±0.05
20:2n-6	0.55±0.04 ^a	0.13±0.03 ^b	0.15±0.02 ^b
20:3n-6	0.41±0.03 ^b	0.77±0.03 ^a	1.05±0.15 ^a
20:4n-6	3.83±0.34 ^c	8.06±0.57 ^b	12.34±0.94 ^a
22:4n-6	0.13±0.02	0.15±0.01	0.57±0.38
22:5n-6	1.24±0.14 ^a	0.51±0.09 ^b	0.35±0.12 ^b
Total n-6	8.31±0.63 ^c	14.8±1.21 ^b	21.1±1.58 ^a
18:5n-3	0.01±0.001 ^b	0.13±0.04 ^{ab}	0.15±0.05 ^a
20:5n-3	0.01±0.002 ^b	0.26±0.05 ^{ab}	0.54±0.20 ^a
22:5n-3	0.01±0.003 ^b	0.27±0.04 ^a	0.31±0.10 ^a
22:6n-3	0.17±0.03 ^b	5.07±0.17 ^a	6.16±0.31 ^a
Total n-3	0.20±0.03 ^c	5.72±0.27 ^b	7.17±0.53 ^a
22:5n-6/22:6n-3	8.05±1.11 ^a	0.10±0.02 ^b	0.05±0.02 ^b
22:5n-6+22:6n-3	1.42±0.16 ^b	5.58±0.19 ^a	6.51±0.40 ^a
n-6/n-3	46.3±6.21 ^a	2.58±0.10 ^b	2.95±0.12 ^b

¹⁾Dietary groups indicate as follows; n-3 deficient group contained 0.06% LNA; n-3 adequate group contained 3.2% LNA; Dam-reared group means that rats were raised by their mother's milk.

²⁾Each variable represents the mean±SEM, n=4~5.

³⁾Different symbols in a same row indicate significantly different among the groups by Tukey's HSD test, p<0.05.

낸 것으로 유사하게 총 saturated 지방산에는 변화가 없었으나 총 monounsaturated 지방산의 경우 대조군과 n-3 지방산 적절군에 비해 n-3 지방산 결핍군에서 높은 함량을 나타내었다(p<0.05). 앞서의 이유기의 지방산 조성과의 다른 점은 성숙기의 n-3 지방산 결핍군의 18:2n-6와 20:4n-6의 함량이 n-3 지방산 적절군보다 유의적으로 감소되었다. 이유기에서부터 성숙기까지의 뇌, 망막과 간의 n-3 지방산 결핍군의 DPAn-6의 함량의 증가율에 대해서 살펴보면 뇌와 망막의 경우, 각각 72%(이유기)에서 94%(성숙기), 83%(이유기)에서 95%(성숙기)로 n-3 지방산 적절군보다 n-3 지방산 결핍군에서 DPAn-6의 함량이 높았고 그 증가율은 성숙기에서 높았음을 관찰할 수가 있었다. 반면, 간의 지방산 조성의 경우, 이유기에서 DPAn-6의 증가율은 84%였으나 성숙기에

서는 59%로 n-3 지방산 결핍군에서 DPAn-6의 함량이 높았고 이유기와 비교할 때 성숙기에서 그 증가율이 낮았음을 살펴볼 수가 있었다. 이러한 현상은 n-3 지방산 결핍군의 경우 뇌 성숙 발달부터 결핍된 n-3 지방산을 보충하여 비정상적인 상태에서 뇌세포에 많이 함유되어져 있고 또한 필수적인 고도로 불포화된 지방산들을 보급하기 위하여 DHA와 구조적으로 매우 유사한 불포화된 지방산인 DPAn-6가 간에서 뇌와 망막으로 전달되는 것으로 사료되어지나 여기에 대해서 계속 연구 진행 중이다.

요 약

본 연구에서는 인공 사육 동물 모델 시스템과 인공 쥐용 분유를 이용하여 출생 직후 12시간 이내에 엄마 쥐들로부터 신생 쥐를 분리하여 n-3 지방산 결핍분유와 n-3 지방산 적절분유로 3주 동안 사육한 후(이유기) 각각 장기들을 취하고 또한 성숙 쥐(15 wks)의 뇌, 망막, 간을 취하여 뇌 성장 발달 과정 동안 n-3 지방산 결핍이 이들 장기들의 지방산 조성 변화에 미치는 영향을 알아보려고 한다. 이유기와 성숙기 쥐의 뇌 지방산 조성은 n-3 지방산 적절군과 대조군과 비교했을 때, n-3 지방산 결핍군의 경우 n-6 지방산의 함량은 높았으나 (p<0.05), 총 monounsaturated 지방산과 총 n-3 지방산의 함량은 낮았고(p<0.05), 총 saturated 지방산의 경우는 변화가 없었다. 기대했듯이 뇌 DHA의 경우 n-3 지방산 결핍군은 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 이유기 때 50%, 성숙기에는 70%까지 감소하였고 반면 n-6 계열인 DPAn-6의 함량은 상당히 증가하였음을 살펴볼 수가 있었다. 이유기의 망막의 총 saturated 지방산과 총 monounsaturated 지방산에는 식이군 사이에 변화가 없었고 22:4n-6, DPAn-6와 총 n-6 지방산의 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 증가하였으나(p<0.05), 22:5n-3, DHA와 총 n-3 지방산의 함량은 상당히 감소하였음을 관찰할 수가 있었다(p<0.05). 성숙 쥐 망막의 지방산 조성의 경우 20:4n-6, 22:4n-6, 22:5n-6와 총 n-6 지방산의 함량은 n-3 지방산 결핍군에서 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 증가하였으나(p<0.05), 22:5n-3, DHA와 총 n-3 지방산의 함량은 상당히 감소하였다(p<0.05). 특히 n-3 결핍군의 망막 DHA는 이유기 때 57% 감소에서 성숙기에 63%까지 감소하였다 (p<0.05). 간의 경우, 이유기의 n-3 지방산 결핍군의 DHA는 65% 감소한 반면 간의 DPAn-6는 59% 증가하였다. 흥미로운 것은 이유기의 간 지방산 조성과는 대조적으로 성숙기의 n-3 지방산 결핍군의 18:2n-6, 20:3n-6, 20:4n-6와 22:4n-6 지방산 함량이 현저히 감소된 것과는 달리 DPAn-6의 함량이 n-3 지방산 적절군보다 143%까지 증가되었음을 관찰할 수가 있었다(p<0.05). 이상의 장기들의 n-3 지방산 결핍군은 이유기와 성숙기에서 DPAn-6/DHA비와 n-6/n-3비 또한 n-3 지방산 적절군과 대조군에 비해 컸으나(p<0.05) DPAn-6

와 DHA의 함에는 변화가 없었다. 따라서 뇌 성숙 발달 과정 동안 n-3 지방산 결핍은 뇌의 DHA의 결핍을 초래하고 이러한 비정상적인 조건에서 DPAn-6의 증가를 유발하였으며 이러한 지방산 조성의 변화와 공간과 후각에 기초를 하는 기억 학습 능력 저하의 관련성에 대해서는 앞으로 연구가 진행되어야 할 것으로 사료되어진다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 마린바이오21사업의 해양바이오오피로세스연구단 연구비 지원(과제관리번호 P-2004-02)에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

문 헌

- Innis SM. 1991. Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res* 30: 39-103.
- Okuyama H, Kobayashi T, Watanabe S. 1996. Dietary fatty acids-The n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases: Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. *Prog Lipid Res* 35: 409-457.
- Salem N. 1989. Omega-3 fatty acids: Molecular and biochemical aspects. In *New protective roles of selected nutrients in human nutrition*. Spiller G, Scala J, eds. Alan R. Liss, New York. p 109-228.
- Tinoco J. 1982. Dietary requirements and functions of alpha-linolenic acid in animals. *Prog Lipid Res* 21: 1-45.
- Yavin E, Green P. 1998. Mechanisms of docosahexaenoic acid accretion in the fetal brain. *J Neurosci Res* 15: 129-136.
- Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G, Durand G. 1989. The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr* 119: 1880-1892.
- Weisinger HS, Vingrys AJ, Bang VB, Sinclair AJ. 1999. Effects of dietary n-3 fatty acid deficiency and repletion in the guinea pig retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40: 327-338.
- Weisinger HS, Vingrys AJ, Sinclair AJ. 1996. Effect of dietary n-3 deficiency on the electroretinogram in the guinea pig. *Ann Nutr Meta* 40: 91-98.
- Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. 1998. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatr Res* 44: 201-209.
- Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L, Luck S. 1986. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal ω 3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 4021-4025.
- Champoux M, Hibbeln JR, Shannon C, Majchrzak S, Suomi SJ, Salem N, Higley JD. 2002. Fatty acid formula supplementation and neuromotor development in rhesus monkey neonates. *Pediatr Res* 51: 273-281.
- Moriguchi T, Greiner RS, Salem N. 2000. Behavioral deficits associated with dietary induction of decrease brain docosahexaenoic acid concentration. *J Neurochem* 75: 2563-2573.
- Greiner RS, Moriguchi T, Slotnick BM, Hurrion A, Salem N. 2001. Olfactory discrimination deficits in n-3 fatty acid-deficient rats. *Physiol Behav* 72: 379-385.
- Catalan JN, Moriguchi T, Slotnick BM, Murthy M, Greiner RS, Salem N. 2002. Cognitive deficits in docosahexaenoic acid deficient rats. *Behav Neurosci* 116: 1022-1031.
- Moriguchi T, Salem N. 2003. The recovery of brain docosahexaenoate subsequent to dietary n-3 fatty acid insufficiency leads to recovery of spatial task performance. *J Neurochem* 87: 297-309.
- Tinoco J, Babcock R, Hincenbergs I, Medwadowski B, Miljanich P. 1978. Linolenic acid deficiency: Changes in fatty acid patterns in female and male rats raised on a linolenic acids-deficient diet for two generations. *Lipids* 13: 6-17.
- Ward G, Woods J, Reyzer M, Salem N. 1996. Artificial rearing of infant rats on milk formula deficient in the n-3 essential fatty acids: A rapid method for the production of experimental n-3 deficiency. *Lipids* 31: 71-77.
- Ward GR, Huang YS, Xing HC, Bobik E, Wauben I, Auestad N, Montalto M, Wainwright PE. 1999. Effect of gamma-linolenic acid and docosahexaenoic acid in formulae on brain fatty acid composition in artificially reared rats. *Lipids* 34: 1057-1063.
- Reeves PG, Neilsen FH, Fahey GC. 1993. Committee report on the AIN-93 purified rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
- Kanno T, Koyanagi N, Katoku Y, Yonekubo A, Yajima T, Kuwata T, Kitagawa H, Harada E. 1997. Simplified preparation of refined milk formula comparable to rat's milk: influence of the formula on development of the gut and brain in artificially reared rat pups. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 24: 244-252.
- Hoshiba J. 1996. Automatic feeder for newborn rat use within 12 hours of birth. *Contemporary Topics in Lab Anim Sci* 35: 83-86.
- Lim SY, Moriguchi T, Lefkowitz B, Loewke J, Majchrzak S, Hoshiba J, Salem N. 2003. Artificial feeding of an n-3 essential fatty acid-deficient diet leads to a loss of brain function in the first generation. In *Essential fatty acids and eicosanoids*. Huang YS, Lin SJ, Huang PC, eds. AOCS Press, Champaign, IL. p 122-131.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from boron fluoride-methanol. *J Biol Chem* 226: 495-509.
- Morrison WR, Smith LM. 1959. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron-fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5: 600-608.
- Salem N, Reyzer M, Karanian J. 1996. Losses of arachidonic acid in rat liver after alcohol inhalation. *Lipids* 31: S153-156.
- Salem N, Litman B, Kim H-Y, Gawrisch K. 2001. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* 36: 945-959.
- Gerbi A, Zerouga M, Maixent JM, Debray M, Durand G, Bourre JM. 1999. Diet deficient in alpha-linolenic acid alters fatty acid composition and enzymatic properties of Na(+), K(+)-ATPase isoenzymes of brain membranes in the adult rat. *J Nutr Biochem* 10: 230-236.
- Gerbi A, Zerouga M, Debray M, Durand G, Chanez C, Bourre JM. 1994. Effect of fish oil diet on fatty acid composition of phospholipids of brain membranes and on kinetic properties of Na(+), K(+)-ATPase isoenzymes of weaned and adult rats. *J Neurochem* 62: 1560-1569.
- Niu SL, Mitchell DC, Lim SY, Wen ZM, Kim HY, Salem N, Litman BJ. 2004. Reduced G protein-coupled signaling efficiency in retinal rod outer segments in response to n-3

- fatty acid deficiency. *J Biol Biochem* 279: 31098-31104.
30. Weisinger HS, Armitage JA, Jeffrey BG, Mitchell DC, Moriguchi T, Sinclair AJ, Weisinger RS, Salem N. 2002. Retinal sensitivity loss in third-generation n-3 PUFA-deficient rats. *Lipids* 37: 759-765.
31. Pawlosky RJ, Denkins Y, Ward G, Salem N. 1997. Retinal and brain accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in developing felines: the effects of corn oil-based maternal diets. *Am J Clin Nutr* 65: 465-472.
32. Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. 1988. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Ann Rev Nutr* 8: 517-541.
33. Moriguchi T, Lim SY, Greiner R, Lefkowitz B, Loewke J, Hoshiba J, Salem N. 2004. Effect of an n-3-deficient diet on brain, retina, liver fatty acyl composition in artificially reared rats. *J Lipid Res* 45: 1437-1445.

(2005년 1월 3일 접수; 2005년 3월 28일 채택)