

Vitamin C가 방사선과 Aflatoxin B₁을 투여한 흰쥐의 혈청과 간장의 지질성분 및 지방산 조성에 미치는 영향

강진순¹ · 김소영¹ · 김희숙¹ · 조흥래² · 채규영³ · 정덕화^{4*}

¹진주국제대학교 식품과학부, ²인제대학교 의과대학 부산 백병원 방사선 종양학과
³경상대학교 의과대학 방사선 종양학교실, ⁴경상대학교 응용생명과학부

The Effects of Vitamin C on Lipid Contents and Fatty Acid Compositions of Serum and Liver in Rats Treated with Radiation or Aflatoxin B₁

Jin Soon Kang¹, So Young Kim¹, Hee Suk Kim¹, Heung Lae Cho²,
Gyu Young Chai³ and Duck Hwa Chung^{4*}

¹School of Food Science, JinJu International University, Gyeongnam 660-759, Korea

²Dept. of Radiation Oncology, Pusan Paik Hospital, Inje University, Busan 614-735, Korea

³Dept. of Radiation Oncology, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-702, Korea

⁴Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea

Abstract

Lipid peroxidation is one of the main manifestations of oxidative damage and has been found to play an important role in the toxicity and carcinogenesis of many carcinogens. This study was carried out to determine the effects of vitamin C on lipid contents and fatty acid compositions of serum and liver in male rats treated with radiation or aflatoxin B₁ (AFB₁). Six week-old male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 7 groups; control group, radiation exposed group, AFB₁ treated group, X-ray and AFB₁ co-treated group. Three groups, except control group, were each further divided into vitamin C administered group and not-administered groups. For this study, vitamin C was injected with 10 mg/kg of body weight by intraperitoneal injection and 1 hr later, 0.4 mg/kg of AFB₁ was injected by the same method. These administrations were repeated every 3 days over a period of 15 days. Only one time, X-ray was irradiated on whole-liver with 1,500 cGy. Then vitamin C and AFB₁ were administered by the same level and same method described above. On the 16th day of treatments, the animals were sacrificed. From the analysis of the serum lipid patterns, significant decrease ($p < 0.01$) in triglyceride (TG) and total cholesterol levels were observed in X-ray and AFB₁ co-treated group administered with vitamin C (group 7). In liver lipids, the levels of free cholesterol and total cholesterol were also decreased in X-ray and AFB₁ co-treated group administered with vitamin C (group 7). The levels of serum free cholesterol and hepatic TG were not significantly different among all groups according to vitamin C administrations. The high density lipoprotein (HDL)-cholesterol level of serum was significantly ($p < 0.01$) increased while the low density lipoprotein (LDL)-cholesterol level was decreased in X-ray and AFB₁ co-treated group administered with vitamin C (group 7). In the phospholipid fatty-acid compositions of serum and liver tissue, group 3, 5 and 7 showed an increase in polyunsaturated fatty acid (PUFA) but a decrease in saturated fatty acid (SFA) when compared to the control group. The composition ratio of fatty acid varied according to vitamin C administration. These results suggested that vitamin C has partly suppressive effects on lipid contents and fatty acid composition of serum and liver in rats treated by radiation and AFB₁.

Key words: lipid peroxidation, vitamin C, fatty acid composition, aflatoxin B₁, radiation

서 론

Aflatoxin은 *Aspergillus*속 곰팡이 종류의 2차 대사산물로서 사람이나 가축에 생리적 장애를 일으키는 물질이며 특히 이미 발암물질로 알려진 dimethylnitrosamine보다도 약

3,750배의 높은 발암독성물질로 알려져 있다(1). Aflatoxin은 발암성 외에도 돌연변이성, 기형발생성 등이 있으며, 생활환경에서 그 생성 균주의 자연오염이 용이하고 열에 대하여 저항성이 커서 280~300°C에서 분해되므로 일반 식품과 같은 가공, 처리로는 제거가 불가능하여 더욱 위생상의 문제

*Corresponding author. E-mail: dhchung@gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5480, Fax: 82-51-720-2619

가 중요시되고 있다. 또한 aflatoxin은 땅콩뿐만 아니라 탄수화물이 풍부한 쌀, 보리, 밀 및 옥수수 등의 곡류가 주요한 기질이 되는 것으로 알려져 있어(2) 곡류를 주식으로 하고 있으며 대부분의 사료를 농산물로 의존하고 있는 우리나라의 경우 가장 위험 노출이 많아 식품의 안전성에 대한 연구의 필요성이 점차 대두되고 있으며 보건 위생상 국민 보건의 차원에서 다루어야 할 매우 중요한 과제이기도 하다. Aflatoxin의 대사는 주로 간에서 일어나는데 간의 탄수화물, 지방, 단백질대사 활동을 억제하기도 하며(3), 간의 microsome에서 NADPH 의존성 lipid의 지질과산화반응이 일어나는 산화적 과정을 거치면서 독성을 일으켜 간암세포가 점차 많아지면서 지방층이 동맥 주위에 쌓여 동맥경화가 일어남으로 시작된다. 최근에 와서 이 거품세포의 생성원인은 연구자들에 의해 밝혀졌는데, 지방층 중 산화 LDL이 이 모든 과정의 중요한 인자로 작용하며 이 과정에서 항산화제인 α -tocopherol, β -carotene, flavonoids를 첨가하면 LDL의 산화를 억제한다고 보고되었다(4).

이러한 간암을 치료하는 방사선 요법은 수술, 항암약물 요법과 더불어 환자의 생존율을 증가시키는데 크게 기여하고 있는 치료방법으로 현재 임상에서 널리 이용되고 있다. 그러나 세포에 방사선을 조사하였을 때 방사선과 세포내의 물 분자가 반응하여 이온 라디칼을 생성하고 생성된 이온 라디칼이 또 다른 물 분자와 반응하여 반응성이 높은 활성산소와 과산화라디칼을 생성하게 된다(5). 이렇게 생체 내에 과산화라디칼이 형성되면 혈액 내에 지질과산화물질이 생성하게 되어 간 및 신장 등의 조직 손상을 일으키며 혈액 내 산화형태의 LDL을 증가시켜 macrophage 및 동맥의 내피세포에 지방을 축적시켜서 다양한 지질과산화 생성물을 형성한다(6). 이러한 과도한 산화 반응물은 혈장 내 vitamin C, E, coenzyme Q 10, β -carotene 등의 항산화비타민을 소모시키고 지질의 과산화와 DNA 손상을 유도하여 노화 및 암을 비롯한 여러 질병의 발병 및 진행에 매우 큰 영향을 준다고 보고되고 있다(7). 특히 세포막에 있는 다가불포화지방산이 유리라디칼의 연쇄반응에 의해 쉽게 산화되고 이러한 지질의 과산화는 세포의 노화를 촉진하는 동시에 유해물질을 생성시키고 염증반응이나 fatty streak 등을 일으켜 순환기 질환의 원인이 될 수 있다(8).

항산화제인 vitamin C는 활성산소를 포함하는 자유라디칼의 수용성 억제제로서 지질과산화연쇄반응을 차단시켜 간 조직의 지방대사에 영향을 줄 수 있음이 보고되었으며(9), 실제로 vitamin C를 기니아 피그에게 음용수로 주었을 때 간 조직의 총 cholesterol이 감소하였다고 보고한 바 있다(10). 체내 vitamin C가 결핍되면 동맥벽의 mucopolysaccharides와 collagen 형성이 불완전해지고 동맥의 내피 조직이 손상될 뿐만 아니라, 혈중 total- 및 LDL-cholesterol과 TG 농도를 증가시키고 HDL-cholesterol은 감소시킴으로써 동맥경화발생을 촉진한다고 알려져 있다(11). 또한

Gillman 등(12)은 채소와 과일을 섭취하는 사람들의 혈청의 TG 농도와 LDL-cholesterol 농도가 낮은 반면 HDL-cholesterol 농도는 높아져 동맥경화지수가 낮아지고 심장병으로 인한 사망률이 크게 줄었다고 보고하였는데, 이때 채소와 과일의 효과는 비타민 C, 엽산, 섬유소, K 등의 복합적인 영향에 의한 것으로 생각되나 특히 비타민 C가 항산화제로 작용하여 LDL 산화를 억제함으로써 혈관내벽에 혈전을 일으키는 산화 LDL의 양을 감소시켜 관련 질병의 발생을 예방할 수 있다고 하였다.

따라서 곡류를 주식으로 하는 우리나라 사람들의 경우 aflatoxin B₁에 노출되기 쉽고 이들 중 일부는 위, 간, 담도암과 같은 상 복부 암으로 진단되어 간을 포함하는 부위에 대해 방사선 치료를 받을 수 있는 경우를 생각하여, 방사선을 조사한 군, aflatoxin B₁, 투여군 방사선과 aflatoxin B₁을 함께 처리한 세 군을 대상으로 vitamin C를 투여하거나 투여하지 않은 흰쥐에게서 혈청과 간장의 지질성분과 지방산조성에 영향을 미치는 vitamin C의 효과에 대하여 관찰하고자 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 사육방법

Sprague Dawley 계통의 생후 6주, 평균무게 150±20 g의 수컷 흰쥐를 대한실험동물 센터에서 구입하여 동물 사육장에서 1주일간 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 실내온도 20±5°C, 습도 55~60%를 유지하였으며, 명암주기는 자연 채광으로 하고 고형사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험사육기간 중 매일 오전 중에 체중을 측정하고 사료 섭취량은 매일 사료전량을 측정하여 사용하였다.

실험군의 구성 및 투여농도 및 용량

실험군은 7군(n=6)으로 나누어 Table 1과 같이 처리하였다. X-ray 조사는 실험기간 내 단 1회로 실험사육기간 첫 일에 조사하였고 X-ray 조사 후 vitamin C를 투여하였으며

Table 1. Treatments of experimental animals

Groups	Contents	Injection dose	No. of animals
G1	Control	a+b	6
G2	X-ray treatment	a+b	6
G3	X-ray treatment with Vit. C administration	a+c	6
G4	AFB ₁ treatment	b+d	6
G5	AFB ₁ treatment with Vit. C administration	c+d	6
G6	AFB ₁ and X-ray treatment	b+d	6
G7	AFB ₁ and X-ray treatment with Vit. C administration	c+d	6

a: 0.1 mL of DMSO, b: 0.1 mL of 0.1 M NaHCO₃, c: 10 mg/kg of vit. C (=0.1 mL), d: 0.4 mg/kg of aflatoxin B₁, (=0.1 mL).

vitamin C 투여 1시간 후 AFB₁을 투여하였다. Vitamin C와 AFB₁은 모두 복강투여(intraperitoneal injection)로 실험 사육 첫일부터 1회 시작하여 3일에 한번씩, 5회 반복 투였으며 실험동물 사육기간은 총 15일로 하였다. 대조군인 제1군의 경우에 용매인 DMSO 0.1 mL, 0.1 M NaHCO₃ 0.1 mL를 함께 투여하였다. 제2군의 경우는 X-ray 조사 후 대조군과 같은 용매제를 투여하였으며, 제3군은 2군에 대한 항산화비타민의 효과를 보기 위해 조사 후 vitamin C 0.1 mL와 용매 DMSO 0.1 mL를 투여하였다. 제4군의 경우는 아급성 용량인 0.1 mL AFB₁과 용매 0.1 M NaHCO₃ 0.1 mL를 투여하였으며, 제5군은 4군에 대한 항산화비타민의 효과를 보기 위해 0.1 mL의 vitamin C를 투여한 후 4군과 동량의 AFB₁을 투여하였다. 제6군은 X-ray 조사 후 0.1 mL의 AFB₁을 투여하였으며, 제7군은 6군에 대한 항산화비타민의 효과를 보기 위해 X-ray 조사 후 0.1 mL의 vitamin C와 동량의 AFB₁을 투여하였다. 실험동물에 투여된 AFB₁, vitamin C는 Sigma 제품을 사용하였다.

방사선조사

방사선조사는 경상대학교병원 치료방사선과에 설치된 Co-60 Teletherapy unit를 사용하였다. 흰쥐의 복부 조사 시 움직이지 못하도록 고정시킨 후 동 장치에서 방출되는 X선을 이용하여 6 Mv 방사선을 1.5 cm 깊이에 1,500 cGy (radiation/min) 선량률로 1회 조사하였다.

실험동물의 처리

실험사육 최종일에는 7시간 절식시킨 후 ethyl ether를 사용하여 마취시키고 해부하여 실험을 실시하였다. 혈액은 심장에서 채혈하였으며 간장조직은 50 mL 주사기를 사용하여 차가운 phosphate buffer(PBS, 0.1 M pH 7.4)를 문맥을 통해 주입하여 혈액을 제거한 다음 적출하여 차가운 PBS에 담가 잔여혈액을 다시 제거한 후 간 무게를 측정하였고 혈액과 간장조직은 -70°C에 보관하여 실험을 실행하였다.

혈청 속의 비타민 C 함량 측정

혈액을 심장 채혈법으로 채취한 후 혈액 약 1 mL를 취하여 즉시 보존제인 dithiothreitol(10 mmol/L)용액 50 μ L를 첨가하였다. 4°C, 3000 \times g 원심조건에서 15~20분 동안 혈청을 분리하여 -80°C로 냉동 보관하여 사용하였다. Ascorbic acid 측정은 ferric acid(Fe³⁺)가 산성용액에서 525 nm에서 특징적인 흡광도를 가지는 complex를 형성하기 위해 α , α' -dipyridyl과 coupled된 형태인 ferrous ion(Fe²⁺)으로 산화되는 원리를 이용한 α , α' -dipyridyl method(13)에 의해 측정하였다.

혈청 및 간장의 지질분석

혈청은 상법에 따라 4°C 냉암소에서 2시간 방치 후 700 \times g에서 10분간 원심 분리하여 -70°C에 보관하여 사용하였으며 분석은 효소법으로 총콜레스테롤, 유리 콜레스테

롤 및 중성지질함량을 측정하였다. 간장의 지질성분 분리를 위하여 조직 0.5 g을 chloroform/methanol 혼액(2:1, v/v)으로 마쇄 후 여과시켜 정확히 50 mL로 make up한 다음 사용하였다. 각 측정 kit 시약의 표준용액 농도를 기준으로 추출액(총콜레스테롤: 400 μ L, 유리 콜레스테롤: 500 μ L, 중성지질: 100 μ L)을 취하여 건조시킨 후 실험과정에 따라 총콜레스테롤, 유리 콜레스테롤 및 중성지질함량을 측정하였다. 혈청과 간의 총콜레스테롤 농도는 총콜레스테롤 측정용 kit 시약(Cholestezyme-V ASAN Co.)으로, 유리 콜레스테롤 농도는 유리 콜레스테롤 측정용 kit 시약(Free cholesterol C-Test ASAN Co.)으로, 중성지질 농도는 중성지질 측정용 시약(ASAN Co.)으로 각각 측정하였다.

혈청의 지단백 구성

혈청 지단백 입자의 크기와 밀도에 따른 HDL은 AM203-K kit(ASAN Co.)를 이용하여 측정하였으며, LDL은 총콜레스테롤, HDL-cholesterol, 중성지방을 측정하여 이를 이용한 Friedwald(14) 공식으로 산출하였다.

혈청과 간장의 지방산 분석

지방산 분석은 Folch 등(15)의 방법으로 실시하였으며 즉 혈청 0.5 mL, 간 조직 1.0 g을 취하여 chloroform/methanol 혼액(2:1, v/v) 약 25 mL를 가하여 지질을 추출한 후 건조시켜 적당량의 hexane에 녹여 Kiesel gel 60 g을 사용한 박층에 spot한 다음 전개액(petroleum ether : ethyl ether : acetic acid = 82:18:1, v/v)으로 전개, 풍건하여 요오드 증기로서 발색시켜 인지질, 중성지질 및 콜레스테롤 에스테르의 3가지 지질 성분으로 분리하였다. 총지질의 지방산 분석은 혈청과 간장을 chloroform/methanol 혼액으로 추출한 후 3 불화붕소 메타놀 시약으로 methyl ester화시켜 gas chromatography로 분석하였으며 그 분석조건은 Table 2와 같다.

통계처리

분석 결과의 통계처리는 실험군당 평균치와 표준편차로 표기(mean \pm SD)하고 이들에 대한 통계처리는 SAS(version 6.12 program)를 이용하여 one-way ANOVA분석을 실시한 후 유의성이 있는 경우 사후 분석으로 다중비교의 하나

Table 2. Gas chromatography conditions for analysis of fatty acids

Items	Conditions
Instrument	ShimadzuGC-10
Column	OMEGAWAX320 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m
Detector type	Flame Ionization Detector
Column temp.	160~250°C, 4°C/min
Injector temp.	260°C
Detector temp.	260°C
Carrier gas	He, 1.5 kg/cm ²
Split ratio	1:100

Table 3. Liver weight, food intake, body weight gain and food efficiency ratio (FER) of the rats fed the diet for 15 days

Groups ¹⁾	Liver weight (g)	Food intake (g)	Body weight gain (g)	FER ²⁾ (%)
G1	11.17±1.45 ^{3)NS4)}	285.51±19.10 ⁵⁾	49.97±12.55 ^a	0.18
G2	12.16±0.82	220.09±40.90 ^b	21.95±7.44 ^b	0.10
G3	11.36±1.07	208.26±31.53 ^b	19.47±6.17 ^b	0.09
G4	11.93±1.62	272.72±27.53 ^a	60.91±10.76 ^a	0.22
G5	11.26±0.92	260.48±10.35 ^a	55.20±8.09 ^a	0.21
G6	12.09±0.92	204.47±28.14 ^b	12.40±4.65 ^b	0.06
G7	11.83±0.76	216.76±23.92 ^b	27.54±8.03 ^b	0.12
P	0.62	0.0000	0.0000	

¹⁾Treatments of animals are shown in detail on Table 1.

²⁾FER=[body weight increased during experimental period (g)/total food intake during experimental period (g)]×100.

³⁾Mean±SD.

⁴⁾NS: not significant at p<0.01.

⁵⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.01.

Table 4. Vitamin C concentration of the serum in each group

Vit. C	Group ¹⁾							P
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	
	0.067±0.01 ^{2)a3)}	0.021±0.01 ^b	0.020±0.01 ^b	0.011±0.00 ^b	0.008±0.01 ^b	0.014±0.01 ^b	0.008±0.02 ^b	0.000

¹⁾Treatments of animals are shown in detail on Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at p<0.01.

인 Duncan의 다중 범위 검증(16)을 실시하여 통계적 차이를 검증하였다. 각 군의 유의성은 p<0.01 수준에서 평가하였다.

결 과

간조직의 무게, 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율

간조직의 무게, 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율을 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 간장의 무게는 대조군을 포함한 전군에서 군별 유의적인 차이는 없었으나(p<0.01), vitamin C를 투여하지 않은 2,4,6군에 비해 vitamin C를 투여한 3,5,7군에서 간의 무게가 다소 감소하였다. 체중증가량은 식이섭취량에 따라 비교적 증감하는 경향이였다. AFB₁투여군(4,5군)보다는 방사선 조사군(2,3군)의 식이섭취량과 체중 감소가 더 뚜렷하였으며(p<0.01), 특히 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 6군에서 식이섭취량과 체중이 가장 적은 것으로 보아 시험동물 처리 시 과도한 스트레스가 그 원인으로 작용했을 것으로 생각된다. 비록 유의적인 차이를 볼 수 없으나 6군에 비해 6군에 vitamin C를 투여한 7군에서 식이섭취량과 체중증가량이 다소 많았으므로 향후 사육기간 연장 시 그 효과를 볼 수 있을 것으로 사료된다.

혈청의 비타민 C의 함량

15일 동안 사육한 후 혈청의 vitamin C 농도를 측정 한 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 각 처리군이 유의적으로 낮았으며(p<0.01) 대조군을 제외한 전군에서의 유의적인 차이는 없었으나 vitamin C를 투여하지 않은 2,4,6군보다 vitamin C를 투여한 3,5,7군에서 더 vitamin C

농도가 낮은 경향이였다.

혈청의 지질성분에 미치는 영향

방사선 조사 혹은 AFB₁ 투여 그리고 이 두 가지를 함께 처리한 후 SD계 숫 흰쥐의 혈청 지질성분에 vitamin C가 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 중성지질은 대조군(1군)에 비해 전 군에서 비교적 증가하였으며 2군과 3군, 4군과 5군 간에서는 유의적인 차이가 없었으나 6군과 7군 간에는 현저히 감소하였다(p<0.01). 혈청 총콜레스테롤 농도는 다른 군에서는 vitamin C 첨가에 의한 유의적인 효과가 없었으나 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 6군에서는 130.37±9.14 mg/dL로서 가장 높은 반면 6군에 vitamin C를 혼합 투여한 7군에서는 90.23±6.15 mg/dL로서 현저히 감소하여(p<0.01) vitamin C 첨가에 의한 총콜레스테롤 억제

Table 5. Lipid components of the serum in each group

Groups ¹⁾	(mg/dL)		
	Free cholesterol	Triglyceride	Total cholesterol
G1	33.04±5.20 ^{2)NS3)}	72.66±9.68 ^{b4)}	90.27±24.52 ^b
G2	28.38±5.31	97.02±15.2 ^{ab}	101.04±19.26 ^b
G3	26.81±3.71	113.17±29.78 ^{ab}	105.77±21.30 ^b
G4	25.73±3.70	102.17±29.14 ^{ab}	89.98±13.25 ^b
G5	28.13±7.45	94.23±19.07 ^{ab}	98.87±25.93 ^b
G6	28.09±4.49	121.55±38.64 ^a	130.37±9.14 ^a
G7	22.38±3.58	84.15±9.14 ^{ab}	90.23±6.15 ^b
P	0.481	0.220	0.008

¹⁾Treatments of animals are shown in detail on Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾NS: not significant at p<0.01.

⁴⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.01.

과를 볼 수 있었다. 그러나 유리 콜레스테롤 농도는 전군에서 유의적인 차이가 없었다.

간장의 지질 구성 성분에 미치는 영향

방사선 조사 혹은 AFB₁투여 그리고 이 두 가지를 함께 처리한 후 SD계 숫 흰쥐의 간장 지질성분에 vitamin C가 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 유리 콜레스테롤 농도는 전체적으로 대조군에 비해 전군에서 유의적으로 증가하였다. 2군에 비해 3군이, 4군에 비해 5군이 증가하여 vitamin C 첨가에 의한 유리 콜레스테롤 억제 효과를 볼 수 없었으나, 7군은 6군에 비해 유의적으로 낮게 나타나 ($p < 0.01$) vitamin C 첨가에 의한 유리 콜레스테롤 억제 효과를 볼 수 있었으며 이와 같은 경향은 총 콜레스테롤 농도에 있어서도 비슷하였다. 중성지질 농도는 혈청과는 달리 간장에서는 전군 간에 유의적인 차이가 없었다. 위의 결과에서 보는 바와 같이 vitamin C는 혈청과 마찬가지로 간장에서도 방사선조사 혹은 AFB₁을 단독 투여했을 때보다 방사선과 AFB₁을 함께 처리했을 때 유리 콜레스테롤과 총 콜레스테롤 농도를 감소시키는 것으로 나타났다.

혈청의 지단백 구성

혈청 지단백의 구성성분에 관한 실험결과는 Table 7에서

Table 6. Lipid components of the liver in each group

Groups ¹⁾	Free cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)
G1	0.29 ± 0.08 ^{2(d3)}	0.16 ± 0.02 ^{NS4)}	0.33 ± 0.03 ^d
G2	0.36 ± 0.06 ^{bcd}	0.14 ± 0.02	0.35 ± 0.05 ^d
G3	0.43 ± 0.04 ^{ab}	0.17 ± 0.03	0.42 ± 0.03 ^{bc}
G4	0.40 ± 0.06 ^{bc}	0.17 ± 0.05	0.47 ± 0.06 ^b
G5	0.49 ± 0.05 ^a	0.20 ± 0.06	0.56 ± 0.04 ^a
G6	0.37 ± 0.04 ^{bcd}	0.14 ± 0.02	0.45 ± 0.04 ^b
G7	0.35 ± 0.04 ^{cd}	0.18 ± 0.09	0.39 ± 0.04 ^{cd}
P	0.000	0.516	0.000

¹⁾Treatments of animals are shown in detail on Table 1.

²⁾Mean ± SD.

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.01$.

⁴⁾NS: not significant at $p < 0.01$.

Table 7. Lipoproteins of the serum in each group (mg/dL)

Groups ¹⁾	LDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)
G1	26.68 ± 25.24 ^{2(bc3)}	49.10 ± 5.70 ^{abcd}
G2	24.07 ± 15.73 ^{bc}	57.58 ± 8.70 ^{ab}
G3	44.04 ± 14.85 ^{ab}	38.02 ± 9.50 ^d
G4	16.91 ± 8.63 ^c	52.66 ± 7.99 ^{abc}
G5	34.28 ± 26.61 ^{bc}	45.84 ± 15.32 ^{bcd}
G6	61.11 ± 19.46 ^a	44.95 ± 3.36 ^{cd}
G7	13.83 ± 7.63 ^c	59.57 ± 9.56 ^b
P	0.001	0.004

¹⁾Treatments of animals are shown in detail on Table 1.

²⁾Mean ± SD.

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.01$.

와 같이 LDL 농도는 방사선 처리군인 2군에 비해 2군에 vitamin C를 혼합 투여한 3군이, AFB₁ 처리군인 3군에 비해 3군에 vitamin C를 혼합 투여한 4군이 각각 더 높았다. 그러나 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 6군의 LDL 농도는 61.11 ± 19.46(mg/dL)인데 비해 6군에 vitamin C를 혼합 투여한 7군은 13.83 ± 7.63(mg/dL)으로 현저히 감소하였다($p < 0.01$). 한편 HDL 농도는 방사선 처리군인 2군에 비해 2군에 vitamin C를 혼합 투여한 3군이, AFB₁ 처리군인 3군에 비해 3군에 vitamin C를 혼합 투여한 4군이 각각 더 낮았으나 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 6군에 비해 6군에 vitamin C를 혼합 투여한 7군이 현저히 증가하여($p < 0.01$) LDL 농도와 상반된 경향을 나타내었다. 이것으로 보아 vitamin C는 방사선조사 혹은 AFB₁을 단독 투여했을 때보다 방사선과 AFB₁을 함께 처리했을 때, LDL 농도는 억제시키고 HDL 농도는 상승하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

혈청의 지방산 조성에 있어서의 변화

혈청의 지질성분을 콜레스테롤 에스테르, 중성지질, 인지질로 분획한 각 성분의 지방산과 총지질의 지방산 조성에 대한 구성비(peak area %)는 Table 8과 같다. 혈청의 인지질의 지방산의 경우 대조군(1군)의 경우 PUFA : monounsaturated fatty acid(MUFA) : SFA = 24.27:29.46:44.37로서 다른 군에 비해 MUFA는 가장 높았고 PUFA는 가장 낮았다. PUFA는 2군(방사선 조사군)과 4군(ABF₁투여군)에 비해 여기에 vitamin C를 혼합 투여한 3군과 5군이 각각 증가하였으며 따라서 P/S비율도 3군이 가장 높았다. n-6계 지방산은 2,4,6군(방사선조사+ABF₁투여)에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군에서 유의적으로 감소하였고 n-3계 지방산은 vitamin C를 혼합 투여한 군에서 감소하는 경향이었으나 유의적인 차이가 없었다. n-3P/n-6P 비율도 전군에서 유의적인 차이는 없었다.

혈청 중성지질의 지방산 분석 결과는 대조군이 PUFA : MUFA : SFA = 10.8:54.85:35.29이었다. 전군에서 SFA와 PUFA는 각각 34.72~38.35, 8.32~14.44 수준으로 유의적인 차이는 없었으나 MUFA는 대조군과 방사선을 처리한 2군이 비교적 높았다. P/S비율은 2군에 비해 vitamin C를 투여한 3군에서, 6군에 비해 vitamin C를 투여한 7군에서 유의적인 증가를 볼 수 있었고, n-3계 지방산은 2,4,6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군에서 유의적으로 증가하는 경향으로 보아 vitamin C가 각 처리군에서 n-3계 지방산을 증가시키는 역할을 하는 것으로 여겨진다. n-6계 지방산과 n-3P/n-6P 비율은 전군에서 유의적인 차이는 없었다.

콜레스테롤 에스테르의 지방산 분석 결과는 대조군은 PUFA : MUFA : SFA = 15.29:34.81:45.95이었다. 전군에서 SFA와 MUFA는 각각 41.0~47.28, 34.81~42.69 수준으로 유의적인 차이는 없었다. 그러나 PUFA는 전체적으로 2,4,6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군에서는 증가하는

Table 8. GC analysis on fatty acid composition of the serum lipids by TLC fraction

(%)

Fatty acids	G1 ¹⁾	G2	G3	G4	G5	G6	G7	P
Phospholipid								
SFA	44.37±3.76 ^{2)ab3)}	46.88±1.78 ^b	43.62±1.29 ^{ab}	45.39±1.99 ^{ab}	41.92±1.29 ^a	46.06±3.20 ^b	42.83±2.31 ^{ab}	0.010
MUFA	29.46±4.46 ^{NS4)}	24.01±1.80	26.67±7.50	27.91±2.86	28.01±3.30	27.58±2.40	29.41±4.70	0.238
n-3	7.37±2.63 ^{NS}	8.40±2.85	10.60±1.41	8.09±3.37	9.40±2.94	8.53±1.15	9.52±3.40	0.575
n-6	16.56±4.77 ^a	19.98±2.00 ^b	19.42±3.85 ^b	17.59±3.23 ^{ab}	17.15±4.1 ^{ab}	17.97±2.59 ^{ab}	17.40±2.95 ^{ab}	0.193
PUFA	24.27±6.36 ^a	27.09±3.34 ^{ab}	29.03±2.48 ^b	26.28±3.02 ^{ab}	28.89±0.77 ^b	27.35±1.79 ^{ab}	26.42±6.33 ^{ab}	0.180
P ^{5)/S⁶⁾}	0.55±0.16 ^a	0.58±0.10 ^{abc}	0.66±0.09 ^c	0.57±0.09 ^{abc}	0.64±0.04 ^{bc}	0.58±0.03 ^{abc}	0.61±0.14 ^{abc}	0.052
n-3P/n-6P	0.44±0.09 ^{NS}	0.43±0.16	0.52±0.18	0.45±0.25	0.54±0.1	0.48±0.13	0.55±0.09	0.690
Triglyceride								
SFA	35.29±2.91 ^{NS}	37.23±2.00	38.35±1.67	35.83±0.54	35.82±2.56	34.96±1.59	34.72±2.49	0.377
MUFA	53.85±2.45 ^b	53.05±1.44 ^b	46.56±3.10 ^a	50.91±3.08 ^{ab}	52.96±2.69 ^b	51.83±3.51 ^{ab}	49.77±3.23 ^{ab}	0.050
n-3	2.24±1.46 ^a	2.06±1.59 ^a	4.07±0.94 ^b	3.38±1.24 ^{ab}	3.58±0.82 ^{ab}	3.28±1.22 ^{ab}	3.88±1.49 ^b	0.183
n-6	8.55±0.57 ^{NS}	5.86±1.48	9.98±1.90	9.88±1.90	8.69±1.15	10.98±2.68	11.55±4.57	0.426
PUFA	10.80±1.82 ^{NS}	8.32±2.99	14.03±2.55	13.26±2.93	12.67±1.74	14.06±3.22	14.44±5.51	0.264
P/S	0.31±0.08 ^{ab}	0.22±0.09 ^a	0.36±0.08 ^{ab}	0.34±0.06 ^{ab}	0.35±0.07 ^{ab}	0.39±0.06 ^{ab}	0.42±0.18 ^b	0.345
n-3P/n-6P	0.26±0.19 ^{NS}	0.34±0.20	0.40±0.15	0.34±0.11	0.41±0.11	0.29±0.18	0.33±0.22	0.601
Cholesterol ester								
SFA	45.95±1.56 ^{NS}	41.00±2.60	41.64±4.64	42.99±1.75	44.43±5.98	45.58±2.90	47.28±4.99	0.298
MUFA	34.81±1.76 ^{NS}	42.69±7.03	39.10±3.72	42.01±4.24	38.79±7.21	40.09±3.72	38.71±6.32	0.625
n-3	4.13±5.1 ^{ab}	3.97±2.29 ^{ab}	5.51±2.07 ^c	3.89±0.61 ^{ab}	4.32±1.20 ^{abc}	3.07±1.05 ^a	4.14±1.70 ^{ab}	0.074
n-6	11.16±7.71 ^{NS}	11.12±2.15	12.98±1.84	11.29±2.14	11.40±1.11	10.32±1.65	10.53±2.13	0.014
PUFA	15.29±2.78 ^{ab}	16.09±4.35 ^{ab}	18.49±3.58 ^b	15.18±2.75 ^{ab}	15.42±1.61 ^{ab}	13.39±3.15 ^a	15.37±3.83 ^{ab}	0.054
P/S	0.33±0.10 ^{ab}	0.39±0.08 ^{abc}	0.44±0.14 ^c	0.35±0.05 ^{ab}	0.37±0.03 ^{abc}	0.27±0.06 ^a	0.30±0.04 ^{ab}	0.006
n-3P/n-6P	0.37±0.15 ^{ab}	0.35±0.11 ^{ab}	0.42±0.12 ^b	0.34±0.08 ^{ab}	0.38±0.15 ^{ab}	0.30±0.14 ^a	0.40±0.05 ^{ab}	0.141
Total lipid								
SFA	36.91±3.52 ^{NS}	37.08±1.85	38.92±1.78	36.50±1.41	37.69±5.62	37.22±2.15	40.33±2.99	0.740
MUFA	45.60±0.96 ^{NS}	42.81±2.86	42.60±0.76	46.68±3.85	43.18±4.01	47.11±7.17	42.23±6.14	0.657
n-3	4.90±0.64 ^{ab}	5.55±0.88 ^{ab}	5.94±1.48 ^b	4.82±1.26 ^{ab}	6.05±2.26 ^b	4.05±1.66 ^a	5.37±0.36 ^{ab}	0.092
n-6	12.28±2.62 ^{NS}	13.25±2.17	12.40±1.32	12.98±5.71	12.78±1.38	12.05±4.29	12.08±3.32	0.873
PUFA	17.26±3.17 ^{NS}	18.88±2.1	18.35±1.40	16.81±3.90	18.43±3.47	15.67±6.01	17.45±3.14	0.933
P/S	0.48±0.13 ^{NS}	0.42±0.15	0.38±0.11	0.46±0.11	0.50±0.15	0.41±0.15	0.42±0.04	0.934
n-3P/n-6P	0.40±0.13 ^{ab}	0.41±0.10 ^{ab}	0.47±0.19 ^b	0.38±0.18 ^{ab}	0.46±0.13 ^b	0.35±0.05 ^a	0.47±0.17 ^b	0.246

¹⁾Treatments of animals are shown in detail on Table 1.²⁾Mean±SD.³⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at p<0.01.⁴⁾NS: not significant at p<0.01.⁵⁾P: polyunsaturated fatty acid.⁶⁾S: saturated fatty acid.

경향이었으며 특히 방사선과 vitamin C를 같이 처리한 3군에서 PUFA와 P/S비율이 가장 높았다(p<0.01). n-3계 지방산은 2군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3군이, 6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 7군이 유의적으로 증가하였고 n-3P/n-6P 비율은 7군이 가장 높았다(p<0.01). 이로써 vitamin C가 방사선 조사군과 방사선조사와 AFB₁를 같이 투여한 군에서 PUFA, P/S 비율 및 n-3P/n-6P 비율을 증가하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보여진다.

혈청의 총 지질 지방산 분석 결과는 대조군이 전체적으로 PUFA : MUFA : SFA = 17.26:45.6:36.91 수준이었다. 전군에서 SFA, MUFA, PUFA는 각 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 전군에서 n-6계 지방산은 유의적인 차이를 볼 수 없었는데 비해 n-3계 지방산은 2,4,6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군에서 비교적 증가함에 따라 n-3P/n-6P 비율도 vitamin C를 혼합 투여한 군들에서 유의적으로 증가

하였다. 이로써 vitamin C가 각 처리군에서 n-3계 지방산을 증가하는 중요한 역할을 하는 것으로 보여지며, 이것은 간장의 중성지질, 콜레스테롤 에스테르의 지방산 조성과 비슷한 경향을 나타내었다.

간장의 지방산 조성에 있어서의 변화

간장의 지질성분을 콜레스테롤 에스테르, 중성지질, 인지질로 분획한 각 성분의 지방산과 총지질의 지방산 조성에 대한 구성비(peak area %)는 Table 9와 같다. 인지질 지방산의 경우 대조군(1군)이 PUFA : MUFA : SFA = 22.38:36.58:41.02이었으며 전 군에서 SFA가 가장 많은 비율을 차지하였다. PUFA는 2군(방사선조사군)에 비해 여기에 vitamin C를 혼합 투여한 3군이 유의적으로 증가하였고 P/S 비율은 2군에 비해 여기에 vitamin C를 혼합 투여한 3군이, 6군(방사선조사+AFB₁투여)에 비해 6군에 vitamin C를 혼합 투여한 7군이 증가하였다. 각 처리군에서 vitamin C를 혼합 투여한

Table 9. GC analysis on fatty acid composition of the liver lipids by TLC fraction

(%)

Fatty acids	G1 ¹⁾	G2	G3	G4	G5	G6	G7	P
Phospholipid								
SFA	43.02±2.55 ^{2)ab3)}	45.71±2.20 ^b	41.85±1.57 ^a	43.18±1.67 ^{ab}	43.81±3.92 ^{ab}	42.51±2.5 ^{ab1}	42.15±2.63 ^{ab}	0.018
MUFA	36.58±4.43 ^b	31.91±4.07 ^a	32.07±5.35 ^{ab}	34.31±7.29 ^b	32.01±6.09 ^{ab}	36.77±5.05 ^b	34.22±1.70 ^{ab}	0.162
n-3	6.54±1.22 ^{ab}	5.80±3.51 ^{ab}	7.54±4.27 ^b	6.03±2.06 ^{ab}	7.80±1.13 ^b	5.03±1.39 ^a	7.78±1.58 ^b	0.236
n-6	15.84±0.67 ^a	15.31±1.93 ^a	18.37±3.76 ^b	16.47±3.64 ^{ab}	16.70±2.52 ^{ab}	15.48±1.29 ^a	15.20±3.50 ^a	0.045
PUFA	22.38±1.89 ^{ab}	21.13±5.21 ^{ab}	25.86±7.99 ^b	22.51±5.62 ^{ab}	24.17±3.78 ^{ab}	20.52±2.69 ^a	23.79±2.97 ^{ab}	0.106
P ⁵⁾ /S ⁶⁾	0.52±0.01 ^{ab}	0.46±0.09 ^b	0.61±0.17 ^a	0.52±0.11 ^{ab}	0.55±0.11 ^{ab}	0.47±0.04 ^b	0.56±0.08 ^{ab}	0.004
n-3P/n-6P	0.41±0.05 ^{ab}	0.37±0.14 ^{ab}	0.41±0.12 ^{ab}	0.36±0.12 ^a	0.46±0.06 ^{ab}	0.32±0.04 ^a	0.51±0.24 ^b	0.280
Triglyceride								
SFA	49.65±3.47 ^{NS4)}	46.07±4.98	43.38±2.05	46.57±3.34	42.17±3.39	44.76±3.07	46.55±6.06	0.001
MUFA	34.48±1.87 ^{NS}	37.74±8.72	37.10±5.85	32.18±2.20	37.20±8.07	39.72±1.42	36.99±4.80	0.531
n-3	2.8±1.21 ^{NS}	3.50±5.59	5.04±2.21	4.04±3.00	4.98±3.05	3.62±0.90	3.72±0.15	0.394
n-6	11.18±2.15 ^a	14.13±2.36 ^b	14.18±2.79 ^b	14.4±4.30 ^b	14.72±4.13 ^b	12.08±2.12 ^{ab}	12.54±0.80 ^{ab}	0.009
PUFA	15.88±3.20 ^{ab}	17.63±7.32 ^{ab}	19.12±4.82 ^b	18.02±6.31 ^{ab}	18.32±1.99 ^{ab}	15.47±1.86 ^a	16.34±1.28 ^{ab}	0.012
P/S	0.31±0.06 ^{ab}	0.38±0.30 ^{ab}	0.44±0.09 ^b	0.42±0.19 ^b	0.44±0.08 ^b	0.25±0.05 ^a	0.35±0.06 ^{ab}	0.007
n-3P/n-6P	0.25±0.14 ^{NS}	0.24±0.32	0.35±0.15	0.27±0.14	0.33±0.33	0.25±0.22	0.29±0.03	0.996
Cholesterol ester								
SFA	44.25±5.15 ^{NS}	41.25±5.53	37.21±4.42	43.56±4.43	42.17±4.04	42.80±2.22	41.12±4.20	0.543
MUFA	43.11±2.55 ^{ab}	42.58±4.55 ^{ab}	45.27±2.83 ^{ab}	38.82±3.68 ^a	38.24±3.44 ^a	46.54±0.38 ^b	46.82±2.70 ^b	0.059
n-3	3.81±0.45 ^{ab}	3.96±1.46 ^{ab}	4.91±1.45 ^{abc}	4.02±1.46 ^{ab}	6.56±1.62 ^c	3.68±1.20 ^a	4.22±0.69 ^{ab}	0.238
n-6	10.24±3.64 ^{ab}	12.26±2.59 ^{bc}	12.36±3.41 ^{bc}	14.10±5.21 ^c	14.00±0.81 ^{bc}	8.76±0.80 ^a	8.70±2.39 ^a	0.023
PUFA	14.05±3.30 ^{ab}	15.23±4.05 ^{abc}	16.97±1.96 ^{bc}	17.81±4.99 ^{bc}	19.57±2.20 ^c	12.68±2.77 ^a	12.93±3.04 ^{ab}	0.044
P/S	0.32±0.14 ^{ab}	0.37±0.06 ^{ab}	0.46±0.11 ^b	0.41±0.09 ^{ab}	0.46±0.11 ^b	0.30±0.04 ^a	0.30±0.10 ^a	0.037
n-3P/n-6P	0.31±0.16 ^a	0.35±0.06 ^{ab}	0.40±0.02 ^{ab}	0.30±0.08 ^a	0.47±0.14 ^b	0.42±0.16 ^{ab}	0.48±0.16 ^b	0.153
Total lipid								
SFA	43.93±1.66 ^b	36.14±1.06 ^{ab}	34.60±1.75 ^a	36.94±4.15 ^{ab}	34.41±3.97 ^a	37.68±1.25 ^{ab}	36.04±2.94 ^{ab}	0.125
MUFA	34.70±4.62 ^a	47.91±2.40 ^b	47.34±0.65 ^b	42.27±3.64 ^{ab}	47.34±3.85 ^b	45.40±4.51 ^{ab}	39.79±2.37 ^{ab}	0.010
n-3	4.74±1.80 ^{ab}	4.48±1.75 ^a	5.13±0.69 ^{ab}	4.36±3.65 ^a	4.42±3.30 ^a	4.72±2.42 ^{ab}	7.01±1.12 ^b	0.027
n-6	14.26±3.92 ^{NS}	13.22±8.07	11.77±1.64	12.86±4.03	12.11±3.62	14.83±3.16	14.39±1.43	0.769
PUFA	20.01±4.82 ^{ab}	17.70±9.82 ^{ab}	16.80±2.29 ^a	17.22±7.33 ^{ab}	17.34±6.68 ^{ab}	18.88±4.66 ^{ab}	21.47±2.40 ^b	0.346
P/S	0.45±0.13 ^a	0.48±0.17 ^{ab}	0.49±0.08 ^{ab}	0.46±0.28 ^a	0.51±0.28 ^{ab}	0.50±0.15 ^{ab}	0.59±0.09 ^b	0.182
n-3P/n-6P	0.33±0.17 ^b	0.33±0.29 ^b	0.43±0.08 ^{ab}	0.34±0.26 ^{ab}	0.36±0.13 ^{ab}	0.31±0.05 ^b	0.45±0.06 ^a	0.139

¹⁾Treatments of animals are shown in detail on Table 1.²⁾Mean±SD.³⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at p<0.01.⁴⁾NS: not significant at p<0.01.⁵⁾P: polyunsaturated fatty acid.⁶⁾S: saturated fatty acid.

3,5,7군에서는 n-3계 지방산이 증가하였으나 n-6계 지방산은 감소하였으며 n-3P/n-6P 비율도 같은 경향을 나타냈다.

간장의 중성지질 지방산 분석 결과는 대조군을 포함한 전군에서 SFA와 MUFA가 각각 41.17~46.55, 30.18~39.72 수준으로 유의적인 차이는 없었다. PUFA는 2군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3군이, 6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 7군이 증가하였으며 P/S비율은 2,4,6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군이 증가하였다. n-3계 지방산과 n-6계 지방산은 각 처리군에서 vitamin C에 대한 유의적인 차이를 볼 수 없었다.

간장의 콜레스테롤 에스테르 지방산 분석 결과는 포화지방산이 전군에서 35.71~42.8 수준으로 유의적인 차이가 없었다. PUFA와 n-3계 지방산은 2,4,6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군에서 비교적 증가하였으며 특히 2군과 3군, 4군과 5군에서 P/S비율과 n-3P/n-6P 비율이 유의적인

차이(p<0.01)를 볼 수 있어 vitamin C가 각 처리군에서 PUFA, P/S 비율 및 n-3P/n-6P 비율을 증가하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보여지며 이는 혈청의 지방산과 비슷한 경향이였다.

간장의 총지질 지방산 분석 결과는 SFA가 1군(대조군)과 2군이 다른 군에 비해 비교적 높았으며 MUFA는 5군(AFB₁ 투여+vitamin C)이 가장 높았다. PUFA는 2군에 비해 3군이, 6군에 비해 7군이 증가하였으며 P/S 비율은 7군(방사선 조사+AFB₁투여+vitamin C)이 가장 높았다. 전군에서 n-6계 지방산은 유의적인 차이를 볼 수 없었는데 비해 n-3계 지방산은 2,4,6군에 비해 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군에서 비교적 증가함에 따라 n-3P/n-6P 비율이 vitamin C를 혼합 투여한 군들에서 유의적으로 증가하였다. 이것은 혈청의 총지질 지방산과 비슷한 경향이였으며 vitamin C가 각 처리군에서 PUFA, P/S 비율 및 n-3P/n-6P 비율을 증가하

는데 중요한 역할을 하는 것으로 보여진다.

고 찰

본 연구는 곡류를 주식으로 하고 있는 우리나라 사람들에게 aflatoxin B₁으로 인해 원발성 간암발병이 유발될 수 있다는 점과 의료치료 차원에서 많이 사용하고 있으나 가장 그 위험성이 노출되기 쉬운 방사선 조사에 근거하여, 실험동물의 체내에 방사선을 조사하거나 aflatoxin B₁을 투여한 후 간과 혈청의 지질구성 성분 및 지방산 조성에 미치는 vitamin C의 영향을 조사하고자 하였기 때문에 마취제에 의한 실험쥐의 간독성으로 생길 수 있는 영향을 배제하는 것이 필요하였다. 이에 실험쥐를 마취시키지 않은 상태에서 고정시키고 방사선 조사를 시행하였다. 방사선 조사는 1,500 cGy를 1회 조사하였으며 실험쥐 모두 이것을 잘 견뎌낸 것으로 보아 1,500 cGy 선량은 실험쥐의 간이 견딜 수 있는 선량으로 생각된다.

사육기간 중 간장의 무게가 전군에서 군별 유의적인 차이는 없었으나 대조군에 비해 각 처리군(2,4,6군)에서 다소 증가하였으며 각 처리군에 vitamin C를 투여한 3,5,7군에서 유의적인 차이가 없으나 다소 감소하였다. 이 결과는 CCl₄로 간독성을 유발시켜 1주일 동안 사육한 흰쥐의 간장의 무게는 정상 쥐가 4.0±0.4 liver/body weight(%)인데 비하여 실험군에서는 4.5±0.3 liver/body weight(%) 증가하였다고 보고한 Park(17)의 연구와 유사한 경향을 나타내었다. 이것은 간세포 암 초기에 간 무게의 증가는 조직의 국소적 변형에 따라 탄수화물 변화가 일어나 과량의 glycogen과 지질의 축적으로 인해 간 무게가 증가한다는 Bannasch 등(18)의 보고에 따라 방사선조사 혹은 AFB₁투여로 인해 간세포의 증식 및 비대화가 일어났기 때문이라고 여겨지며 vitamin C 투여시 간 무게가 다소 감소한 것은 vitamin C가 간세포 증식과 비대화를 억제시키는 것에 영향을 미칠 것이라고 생각된다.

혈청의 vitamin C 함량이 대조군에 비해 각 처리군에서 유의적으로 낮았는데 이는 방사선조사와 AFB₁투여 시 vitamin C 흡수를 감소시키거나 대사 전환을 증대시킨 것으로 생각된다. 한편 대조군을 제외한 전군에서의 유의적인 차이는 없었으나 vitamin C를 투여하지 않은 2,4,6군보다 vitamin C를 투여한 3,5,7군에서 더 vitamin C 농도가 낮은 것은 방사선조사와 AFB₁투여의 치명적인 산화 stress로 수용액 상에서 free radical이 형성되면서 이에 대응해 vitamin C가 가장 먼저 방어 작용에 사용되어(19) 일시적으로 소모량이 많아졌을 것으로 여겨진다. 그러나 본 실험과는 달리 정상 흰쥐에게 이틀에 한번씩 2주간 100 mg/100 g 체중 수준으로 과량으로 복강 내 투여한 Im과 Lee(20)의 연구와 흰쥐에게 300 mg/100 g 체중 수준으로 과량의 vitamin C를 4주간 경구 투여한 Lee 등(11)의 연구에서는 대조군에 비해 혈장의 vitamin C 수준이 유의적으로 현저히 높았다고 보고한 것으

로 보아 투여된 vitamin C 농도, 기간 및 동물 처리 방법 등에 따라 그 영향을 받는 것으로 생각된다. 혈청중의 중성 지질과 총콜레스테롤 농도는 vitamin C 첨가에 의한 억제효과를 볼 수 있었으나 유리 콜레스테롤 농도는 전체 군에서 유의적인 차이가 없었다. 이것은 유리 콜레스테롤은 주로 간에 존재하기 때문이며 혈청에서는 콜레스테롤 에스테르가 합성되어 콜레스테롤이 lipoprotein과 결합하여 콜레스테롤이 신체 내 다른 조직으로 이동하는 것을 막아주며(21) 이때 Vitamin C가 콜레스테롤 합성과 다른 조직으로의 이행 축적을 억제하는 기능이 있을 것으로 사료된다. 이 결과는 체내 ascorbic acid가 결핍되면 동맥벽의 mucopolysaccharides와 collagen형성이 불완전해지고 동맥 혈관내피조직이 손상될 뿐만 아니라 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지질 농도를 증가시키고 HDL-콜레스테롤을 감소시킴으로써 동맥경화발생도 촉진한다는 Uchida 등(22)의 보고와 고콜레스테롤, 고지방식을 급이한 토끼나 흰쥐에서 ascorbic acid를 보충 급이하면 혈중 지질의 상승을 억제한다는 Manson 등(23)의 보고와 유사한 경향을 보여주고 있다. Vitamin C는 혈청과 마찬가지로 간장에서도 방사선과 AFB₁을 함께 처리했을 때 유리 콜레스테롤과 총 콜레스테롤 농도를 감소시키는 것으로 나타났는데 이는 기니아 피그에게 최저 필요량 100배의 vitamin C를 음용수로 주었을 때 간 조직의 총 콜레스테롤이 감소하였다는 Nagyova와 Ginter(10)의 보고와 vitamin C를 결핍시킨 기니아 피그에게 고콜레스테롤 식이를 먹였더니 간에 콜레스테롤과 중성 지방이 많이 축적되었다는 Sharma 등(24)의 연구와 같이 vitamin C가 간조직의 지질대사에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 콜레스테롤은 세포막의 중요 성분으로 콜레스테롤의 세포내 생성은 임파구의 분열에 매우 중요한 역할을 하며 콜레스테롤치가 높아지면 항체에 대한 임파구 반응 시 필요한 콜레스테롤의 생성이 억제됨으로써 면역기능이 약화되기도 하지만 세포내의 콜레스테롤 증가는 T세포의 활성도를 강화시킨다. 따라서 임파구의 적절한 반응을 위해서는 세포내와 혈청내의 콜레스테롤의 균형이 이루어져야 되며(25) 콜레스테롤의 산화물질인 25-hydroperoxy cholesterol이나 25-OH cholesterol이 면역 억제력을 가져 항체생산을 억제하는데 이때 vitamin C는 myeloperoxidase halide system을 차단함으로써 세포막이 산화 손상되어지는 것을 직접적으로 보호한다는 보고(26)가 있다. 또한 Horton 등(27)은 정상적인 식사로 섭취한 콜레스테롤에 의해서 간에서 콜레스테롤 합성이 억제되는데 aflatoxin은 이러한 콜레스테롤 합성의 중요한 feedback 조절 기능을 상실하게 한다고 주장하였으며 이러한 대사 장애는 간암의 특징적인 대사 병변이라고 Siperstein(28)은 보고하였다. 또한 위의 결과에서 vitamin C 첨가로 인하여 혈청 중의 중성지질과 총콜레스테롤 농도의 감소에 뚜렷한 유의적인 효과를 볼 수 있었던 것은 방사선에 의한 지질과산화는 조사 후 약 3시간 경과한

때에 최고치에 도달하여 극히 짧은 시간 동안 존재하다 세포 손상을 일으키는데 vitamin C의 투여가 방사선조사 전과 방사선 조사 후 모두에서, 특히 방사선 조사 직후에 DNA 손상을 회복시키는 보호효과가 가장 높았다는 Konopacka와 Rzeszowska-Wolny(29)의 보고에 따라 본 실험에서 수행된 방사선 조사 직후의 vitamin C의 투여로 인한 결과라 생각된다. 그리고 이때 vitamin C가 항산화제로서 방사선과 aflatoxin으로부터 야기되는 자유라디칼에 의한 지질과산화 연쇄반응을 신속하게 차단시켜 지질산화로부터 보호하며 여러 가지 대사 장애로 인한 세포막의 손상을 막아주는 것에 중요한 구실을 하는 것으로 여겨진다.

혈청 내 지단백의 구성성분에서는 vitamin C가 방사선조사 혹은 AFB₁을 단독 투여했을 때보다 방사선과 AFB₁을 함께 처리했을 때 HDL 농도 상승과 LDL 농도 억제에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이것은 Oberley 등(30)에 의하면 신장질환증세를 보이는 햄스터의 신장에서 LDL 증가와 신장질 섬유화가 관찰되었는데, 이것은 외적자극요인에 의해 생체 내에 superoxide anion과 같은 활성산소종의 형성, 방출로 인해 혈액의 LDL 증가와 산화를 유발하여 동맥벽에 지방을 축적시켜 간, 신장 등의 조직 손상을 초래한 것으로 설명하고 있다. 따라서 본 실험결과에서 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 군에서 LDL 증가와 HDL 감소를 나타낸 것은 위의 외적요인으로 방사선조사와 AFB₁이 상호작용한 것으로 보이며, 여기에 vitamin C의 첨가로 인해 vitamin C가 항산화제로 작용하여 자유라디칼 공격이 확산되는 것을 방지함으로써 LDL 산화로부터 보호하여 세포막의 손상을 막아주고 HDL 농도 증가로 인해 지질의 동맥벽 침착을 억제하여 혈청의 지질감소효과를 나타내는 것으로 보인다.

그리고 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 6군의 LDL수준이 61.11 ± 19.46 mg/dL로 가장 높게 나타난 것은 Table 5에서 혈청의 지질성분 중 중성지방과 총 콜레스테롤 농도가 6군에서 가장 높게 나타난 것과 서로 연관이 있을 것으로 생각된다. 이것에 대하여 Chapman과 Bruckert(31)는 고농도의 중성지방이 동맥경화를 유발하는 다른 지단백과 연관성을 가져 LDL-콜레스테롤의 농도를 증가시킨다고 보고하였으며, 증가된 LDL은 순환기계 질환을 야기시키는 중요한 원인으로 금속이온, macrophage 등에 의하여 산화되면 cholesteryl ester가 증가하여 유해산소, 자유기 및 과산화물이 생성되어 동맥경화증을 유발하는 것으로 알려져 있다(32). 이때 항산화제인 vitamin C는 활성산소를 포함하는 자유라디칼의 수용성 억제제로서 지질과산화연쇄반응을 차단시키는 한편 지용성 항산화제인 α -tocopherol, β -carotene 등의 재생을 돕고 superoxide dismutase에 대한 보호기능 등 강력한 항산화 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(33).

전체적으로 Table 8, 9의 혈청 및 간장의 지방산 조성에서 방사선 조사군(2군), AFB₁ 투여군(4군), 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 군(6군)이 대조군에 비해서 SFA는 증가한 반면

PUFA는 감소하는 경향이었으며, 그중 혈청과 간장의 인지질에서 n-6계 지방산은 증가하였으나 n-3계 지방산은 오히려 감소한 것을 볼 수 있었다. 이것은 aflatoxin이 간세포 내에서 fatty acid synthetase와 fatty acid elongation activity를 억제하며 hepatic fatty acid synthetase의 장해를 초래한다는 보고(34)에 따라, aflatoxin과 방사선조사가 fatty acid elongation을 억제하여 PUFA 생성과 n-3계 지방산을 억제하는 것으로 여겨진다. PUFA는 임파구의 성장을 억제하며 migration inhibition factor와 같은 lymphokine의 생성을 억제시키나 MUFA는 억제력이 없으며 SFA의 억제력이 더 크며 억제력도 불포화도가 클수록 억제력이 더 크다고 알려져 있다(35). n-3계, n-6계 지방산에 대해서는 간 세포막에 유입된 지방산이 간세포의 암화과정에 영향을 미칠 때 acyltransferase계, desaturation/elongation계에서 서로 경쟁하며 cyclooxygenase의 작용을 저해함으로써 eicosanoid 합성을 감소시켜 n-3계열의 지방산이 암세포 성장을 억제하는 것으로(36), n-6계 지방산인 linoleic acid가 암의 발생을 촉진시키는 주요한 인자라고 보고되기도 하였다(37). 또한 n-6계열 지방산은 염증성 매개인자(pro-inflammatory mediators) 또는 알레르기 감각의 promotor로 작용하는(38) 반면 n-3계 지방산은 n-6계열 지방산인 linoleic acid가 arachidonic acid로 전환되는 것을 감소시키고 arachidonic acid와 경쟁적으로 작용하면서 eicosanoid 대사에 영향을 주어 염증에 대한 면역반응을 증진시키는 것으로 보고된 바 있다(39). 그러나 혈청의 인지질과 콜레스테롤 에스테르와 간장의 인지질, 콜레스테롤 에스테르, 총 지질의 지방산에서 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군이 vitamin C를 투여하지 않은 2,4,6군에 비해 PUFA함량이 증가한 반면, SFA함량은 감소하여 P/S 비율, n-3P/n-6P 비율은 높았으며 이러한 경향은 특히 7군에서 두드러진 결과를 볼 수 있었다. 이것은 방사선과 AFB₁ 투여로 인해 생기는 자유라디칼이 혈관을 비롯한 여러 조직의 세포에 산화적 스트레스에 의한 상해를 일으키며, 특히 세포막의 다가불포화지방산에 작용하여 지질과산화를 생성하여 세포의 기능을 손상시키는데 이때 vitamin C는 수용성 항산화제로서 지질과산화의 연쇄반응을 차단하여 superoxide나 hydroxyl radical과 빠르게 반응하여 직접 scavenging하여 세포막과 세포내 물질을 보호하는 것(9)으로 보고됨에 따라, 실제로 간 실질장애로 인하여 microsome에 함유되어 있는 불포화지방산이 과산화되어 혈중으로 방출되거나 간장유래의 혈중 lipoprotein이 간조직의 병변으로 지질대사에 이상이 생기거나 vitamin C가 세포막 불포화지방산의 과산화 과정에서 자동연쇄반응으로 생성되는 free radical 형성을 저하시켜, 간세포 조직을 보호하고 fatty acid elongation을 촉진하여 PUFA 생성과 n-3계 지방산을 촉진하는데 중요한 역할을 할 것으로 여겨진다. 이상의 결과를 통해 vitamin C가 방사선 조사와 AFB₁을 투여한 쥐의 지질성분에 대해 그 영향을 미치는 것으로 확인되었으며,

이러한 자료가 방사선 노출과 aflatoxicosis의 치료나 예방을 위해 활용될 것으로 기대한다.

요 약

Aflatoxin은 *Aspergillus*속 곰팡이로부터 생성되며 사람에게 있어서 간독성 및 간암을 유발하는 잠재력을 가진 곰팡이 독소이며, 지질과산화 반응은 aflatoxin B₁에 의한 세포산화적 손상 시 발생하는 주요 현상 중의 하나이다. 방사선은 수술, 항암약물요법과 더불어 임상 시 중요한 치료방법이나, 정상세포에 방사선을 조사하였을 때 반응성이 높은 활성산소와 과산화라디칼(OH·)을 생성하여 세포막의 불포화지방산을 지질과산화물로 변성시켜 세포 산화적 손상을 일으킨다. 따라서 본 연구의 목적은 aflatoxin B₁과 방사선조사 후 유도된 간과 혈청의 지질성분 및 지방산 조성에 미치는 vitamin C의 영향을 조사하기 위해 수행되었다. X-ray 조사는 실험기간 내 대 1회로 실험사육기간 첫 일에 조사하였고 X-ray 조사 후 vitamin C를 투여하였으며 vitamin C 투여 1시간 후 AFB₁을 투여하였다. Vitamin C와 AFB₁은 모두 복강투여로 실험 사육 첫일부터 1회 시작하여 3일에 한번씩, 5회 반복 투여하며 실험동물 사육기간은 총 15일로 하였다. 혈청 총콜레스테롤 농도는 1~5군에서 유의적인 차이를 볼 수 없었는데 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 6군에서는 130.37±9.14 mg/dL로서 전군에서 가장 높은 수치를 나타낸 반면 6군에 vitamin C를 혼합 투여한 7군에서는 90.23±6.15 mg/dL로서 가장 낮았으며 이는 중성지질과 유사한 경향이 었다. 또한 간장의 총콜레스테롤과 유리 콜레스테롤도 이와 유사한 경향이 었다. HDL 농도는 방사선과 AFB₁을 함께 처리한 것에 vitamin C를 혼합 투여한 7군이 59.57±9.56 mg/dL로서 p<0.01 수준에서 현저히 증가하였다. 혈청의 인지질과 콜레스테롤 에스테르의 지방산 조성에서 vitamin C를 혼합 투여한 3,5,7군에서 PUFA 함량이 증가한 반면, SFA 함량은 감소하여 P/S 비율, n-3P/n-6P 비율은 증가하는 경향이 었으며 이는 간장의 인지질, 콜레스테롤 에스테르, 총 지질의 지방산조성에서도 같은 경향을 볼 수 있었다.

문 헌

1. Wogan GN, Newberne PM. 1967. Dose-response characteristics of aflatoxin B₁ carcinogenesis in the rat. *Cancer Res* 27: 2370-2376.
2. Wilson BJ. 1978. Hazards of mycotoxins to public health. *J Food Port* 41: 375-384.
3. Siperstein MD. 1970. Regulation of cholesterol biosynthesis in normal and malignant tissues. *Curr Top Cell Regul* 2: 65-100.
4. Rahimtula AD, Bereziat JC, Bussacchini GV, Bartsch H. 1988. Lipid peroxidation as a possible cause of ochratoxin A toxicity. *Biochem Pharmacol* 37: 4469-4477.
5. Ward JF. 1994. DNA damage as the cause of ionizing radiation-induced gene activation. *Radiat Res* 138: 85-88.
6. Callans DJ, Wacker LS, Mitchell MC. 1987. Effect of ethanol feeding and withdrawal on plasma glutathione elimination in the rats. *J Hepatol* 7: 496-501.
7. Diplock AT. 1994. Antioxidants and disease prevention. *Mol Aspects Med* 15: 293-376.
8. Handelman GJ, Packer L, Cross CE. 1996. Destruction of tocopherol, carotenoids and retinol in human plasma by cigarette smoke. *Am J Clin Nutr* 63: 559-565.
9. Kim YJ. 1997. The protect the living organ from free radicals and the failure of protection: age-related disease. *Bull Food Technol* 10(2): 4-26.
10. Nagyova A, Ginter E. 1994. Interactions between hepatic ascorbic acid, cytochrome P-450 and lipids in female guinea pig with different ascorbic acid intake. *Physiol Res* 43: 307-312.
11. Lee JW, Kim SY, Kwak CS. 1997. Effects of excess vitamin C feeding on blood and liver lipid and its peroxidation levels and platelet thromboxane A₂ formation in rats. *Korean J Nutr* 30: 639-649.
12. Gillman MW, Cupples LA, Gagnon D, Posner BM, Ellison RC, Castelli WP, Wolf PA. 1995. Protective effect of fruits and vegetable on development of stroke in men. *JAMA* 273: 1113-1117.
13. Margolis SA, Zeigler RG, Helzlsouer HJ. 1991. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid measurement in human serum and plasma. *Am J Clin Nutr* 54: 1315.
14. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of LDL in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Chin Chem* 18: 499-502.
15. Folch J, Lees M, Sloane SG. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from boron-fluoride-methanol. *J Biol Chem* 226: 495-509.
16. Duncan DB. 1993. Multiple range test for correlated and heteroscedastic mean. *Biometrics* 13: 164-176.
17. Park SA. 1993. Studies of *Sedum kamtschaticum* Fisch. on lipid peroxidation and hepatotoxicity. *MS Thesis*. Sukmyung University.
18. Bannasch P, Mayer D, Hackre HJ. 1980. Hepatocellular glycogenolysis and hepatocarcinogenesis. *BBA* 605: 217-245.
19. Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD, Calafiore AM, Costanini F, Riario-sforza G, Imbustaro T, Neri M, Cuccurullo F. 1995. Vitamin E, C and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. *Atherosclerosis* 112: 91-99.
20. Im HS, Lee JW. 1992. L-ascorbic acid administration on red blood cell hemolysis and tissue lipid peroxide levels in rats. *Kor J Gerontol* 2: 153-158.
21. Lin CY, Abraham S, Smith S. 1976. Acyl specificity in triglyceride synthesis by lactating rat mammary gland. *J Lipid Res* 17: 647-656.
22. Uchida K, Nomura Y, Takase H, Tasaki T, Seo S, Hayashi Y, Takeuchi N. 1990. Effect of vitamin C depletion on serum cholesterol and lipoprotein levels in ODS (od/od) rats unable to synthesize ascorbic acid. *J Nutr* 120: 1140-1147.
23. Manson JE, Gawiano JM, Jones MA, Hennekens CH. 1993. Antioxidants and cardiovascular disease. *J Am Coll Nutr* 12: 426-432.
24. Sharma D, Pramod J, Sharma PK, Sapra M, Manorma K. 1990. Effect of Vitamin C deficiency and excess on the liver: a histopathological and biochemical study in guinea pigs fed normal or high cholesterol diet. *Indian J Pathol Microbiol* 33: 307-313.
25. Kim JG, Kim KW. 1989. Immunity and nutrition. *J Korean Med Assoc* 32: 496-501.
26. Simon JA. 1992. Vitamin C and cardiovascular disease: a

- review. *J Am Coll Nutr* 11: 107-125.
27. Horton BJ, Horton JD, Sabine JR. 1972. Metabolic controls in precancerous liver. *Eur J Cancer* 8: 437-443.
 28. Siperstein MD. 1970. Regulation of cholesterol biosynthesis in normal and malignant tissues. *Curr Top Cell Regul* 2: 65-100.
 29. Konopacka M, Rzeszowska-Wolny J. 2001. Antioxidant vitamin C, D and β -carotene reduce DNA damage before as well as after γ -ray irradiation of human lymphocytes in vitro. *Mutat Res/Genetic Toxicol Environm Mutag* 494: 1-7.
 30. Oberley TB, Sempt JM, Oberley LW. 1995. Immunohistochemical localization of antioxidant enzymes during hamster kidney development. *Histochem* 27: 575-586.
 31. Chapman MJ, Bruckert E. 1996. The atherogenic role of triglycerides and small, dense, low density lipoproteins. *Artherosclerosis* 124: 21-29.
 32. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. 1989. Beyond cholesterol. Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 320: 915-924.
 33. Lee JW, Lee TY, Mo SM, Lee JH, Lee DH, Park SN, Lee BK. 1987. Effects of L-ascorbic acid on the plasma thio-barbituric acid value, prostaglandin biosynthesis, photo-hemolysis, superoxide dismutase and catalase activities in guinea pigs. *Kor Biochem J* 20: 378-388.
 34. Donaldson WE, Tung HT, Hamilton PB. 1972. Depression of fatty acid synthesis in chick liver by aflatoxin. *Comp Biochem Physiol* 4: 843-847.
 35. Mertin J, Hughes D. 1975. Specific inhibitory action of poly unsaturated fatty acids on lymphocyte transformation induced by PHA and PPD. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 48: 203-210.
 36. Karmal RA, Marsh J, Fuchs C. 1981. Effect of omega-3-fatty acids on growth of a rat mammary tumor. *J Natl Cancer Inst* 73: 457-461.
 37. Chan PC, Ferguson KA, Dao TL. 1983. Effect of different dietary fats on mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 43: 1079-1083.
 38. Washburg U. 2004. What are the health effects of fat? *Eur J Nutr* 43: 6-11.
 39. Schfer T. 2003. Intake of unsaturated fatty acid and HDL cholesterol levels are associated with manifestations of atopy in adult. *Clin Exp Allergy* 33: 1360-1367.

(2006년 8월 28일 접수; 2007년 2월 2일 채택)