

# 사료 중 미역은 복강내 LPS 주입 육계 병아리에서 영양소 대사, 항산화계 및 면역 반응을 조정한다

박인경 · 임진택 · 최도열 · 고태송

건국대학교 동물생명과학대학 동물생명과학부

## Dietary Brown Seaweed Modulates Nutrient Metabolism, Anti-oxidant System and Immune Response in Broiler Chicks Injected LPS *i.p.*

In Kyung Park, Do Yul Choi, Jin Taek Im and Tae Song Koh

Department of Animal Life Sciences, College of Animal Life Sciences, Konkuk University

### ABSTRACT

Influences of dietary brown seaweed (BSW) on the nutrient metabolism, anti-oxidant enzyme activity and cell-mediated immune response were studied in broiler chicks activated acute phase response. 72 Hatched male broiler chicks (Ross) were divided into 12 pens, 6 heads per pen, and fed the BSW 0.0% (Basal) or 2.0% diet, respectively, and injected with the *Salmonella typhimurium* lipopoly saccharide (LPS) for activation of the acute phase response three times at 8, 10 and 12 d of age. During 4 wks of experimental feeding, growth performance of broiler chicks was not affected by dietary BSW and the acute phase response. Compared with control birds, the acute phase response did not affect the daily weight gain in birds fed BSW 2.0% diet, decreased nitrogen balance (NB) or metabolizable energy (ME) utilization per metabolic body size ( $kg^{0.75}$ ), and enhanced activities of peroxidase or extracellular SOD (EcSOD), tumor necrosis factor-alpha and ovotransferrin in plasma and MnSOD and CuZnSOD in erythrocyte cytosol. Compared to BSW 0.0% diet, 2.0% diet enhanced protein retention (NB) per  $kg^{0.75}$  regardless the acute phase response, did not affect uric acid nitrogen excretion (UAN) per  $kg^{0.75}$  in birds during the acute phase response, decreased ( $p<0.05$ ) the UAN excretion per  $kg^{0.75}$  in control birds. And BSW 2.0% diet also decreased ( $p<0.05$ ) plasma peroxide level and erythrocyte peroxidase or MnSOD activity but increased plasma peroxidase and EcSOD activity and interleukin-1 activity secreted from LPS-stimulated PBMC in 4 week broiler chicks.

**(Key words :** Brown seaweed, Lipopolysaccharide (LPS), Protein and energy metabolism, Anti-oxidant system, Inflammatory cytokines)

### I. 서 론

동물에서 면역세포인 macrophage 등 식세포는 노출된 세균이나 그람 음성균의 세포벽 주 성분인 Lipopolysaccharide (LPS) 같은 면역원을

인지하고 선천 면역 반응 (급성기 반응)을 활성화 한다(Klasing, 1998). 활성화한 마크로 파지는 Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6), 및 Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 같은 친염증성 사이토카인을 분비(Gauldie 등, 1991)한다. 이들

Corresponding author : T. S. Koh, Department of Animal Life Sciences, Konkuk University, Gwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea.

Tel : 82-02-450-3698, Fax : 82-02-455-1044, E-mail : tskoh@konkuk.ac.kr

사이토카인은 사료 섭취량을 감소 시키고 간장과 비장 무게 및 간장에서 급성기 단백질 합성 (Gaby와 Kushner, 1999) 그리고 근육 단백질 분해량을 증가 시키는 신호로 작용하여, 동물 성장과 생산성을 낮춘다 (Koh 등, 1996; Klasing과 Korver, 1997; Humphrey와 Klasing, 2004).

갈조류의 일종인 미역 (*Undaria pinnatifida*)의 섬유성 성분 중에서 수용성 섬유중의 한 성분인 알긴산(alginic acid)은 구류로닉산(L-Guluronic acid)에 대한 매뉴로닉산(D-Manuronic acid)의 비율(M/G)이 높다(Lee 등, 1998). 매뉴로닉산은 IL-1, IL-6, 및 TNF- $\alpha$  등 친염증성 사이토카인 생산을 자극하는 활성 다당 구조이나, M/G 비율 중 구류로닉산이 높으면 면역억제 작용이 있다(Otterlei 등, 1991).

육계 병아리에서 복강내 LPS 주입에 의한 선천 면역 반응 중에, 사료 중 미역 수준이 높아짐에 따라 일당 증체 그리고  $\text{kg}^{0.75}$  당 단백질 축적량(NB), 체 단백질 분해량(노산태 질소: UAN 배설량) 및 에너지(ME) 이용성이 점차 감소 하였다(고 등, 2005). 미역 2.0% 사료가 1.0% 사료에 비하여 혈장 과산화물 농도를 높이고, 과산화물 분해효소의 활성을 낮추었으나, 정상 병아리에서는 혈장 과산화물 농도가 사료 중 미역 함량에 따라 증가하였다(이 등, 2005). 한편 미역 2.0% 사료는 정상 병아리에서 사료 g 및  $\text{kg}^{0.75}$  당 단백질 축적량(NB)를 높였으며 이것은 체단백질 분해(UAN 배설량) 감소에 기인하였다(고 등, 2005). 미역 1.0% 또는 2.0% 사료는 육계 병아리의 선천 면역 반응에 의한 사료섭취량 감소를 완화하고, 높아진 적혈구 세포액의 SOD 활성을 낮추었다(이 등, 2005).

이와 같이 미역 2.0% 사료는 급성기 반응 중인 육계병아리에서 단백질 대사, 사료섭취량 그리고 항산화계 영향을 미치고, 정상 병아리에서는 단백질 축적량을 높였으며 이것은 체 단백질 분해량의 감소에 기인 하였다(고 등, 2005). 따라서 선천 면역 반응이 활성화한 육계 병아리에서 생산성, 항산화계 및 세포성 면역의 상호작용에 미치는 미역 2.0% 사료의 영향을 조사 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물, 실험사료, 실험설계 및 사육

갓 부화된 육계 수평아리(Ross 종)에 1 일령 부터 Table 1의 기초사료와 기초사료의 소맥피 대신 2.0%의 미역을 대치한 2 종류의 실험사료를 급여하여 온도가 조절되는 사육실에서 4주간 사육하였다. 미역(*Undaria pinnatifida*)은 우리나라 남해안에서 양식한 것을 건조 분말화한 것이다. 미역은 수분 12.2, 조단백 13.6, 조지방 0.9, 조섬유 4.0, 및 조회분 38.9% 그리고 총에너지(GE: gross energy)를 2,570 kcal/kg DM 함유하였다. 육계 병아리 72수를 사료당 6개의 우리에 배분하고 우리당 6수씩 수용한 12개 우리에서 사육하였다. 실험 개시일(1일령)로부터 1주일 간격으로 우리 별로 병아리 체중을 측정하고, 매일 24시간 간격으로 정해진 시간에 사료 일정량을 급여하고 잔량을 기록하였다. 병아리 8, 10 및 12일령에 각 실험 사료 급여구의 절반인 3개 우리 병아리의 복강내에 *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide (LPS) 용액 3.0 ml (300  $\mu\text{g}$ /수)씩 주입 하였다. 대조는 Saline 0.9%를 주입한 것이다. 따라서 실험요인은 사료 2가지에 면역원 2가지의 주입으로 4가지(2 $\times$ 2)이며 요인당 3반복이다. LPS 용액은 0.9% 염용액 (9g NaCl/1,000 ml) 1,000 ml에 LPS [Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)] 100 mg을 용해하고, 0.22  $\mu\text{m}$  필터로 여과 멸균한 것이다.

### 2. 에너지와 단백질 대사

분뇨 혼합물은 병아리 8, 10, 및 12일령에 LPS 주입 때마다 정확히 24시간 간격으로 각각 우리 별로 채취하였다. 분뇨혼합물은 채취 즉시 사료나 이물질을 제거하고 증류수 일정량과 함께 균질화(IKA, ultra turrax T25) 한 후, 일정량을 각각 취하여 총질소, 요산태 질소(UAN) 및 연소열가 측정에 사용하였다. 총 질소량(Koh 등, 1994)은 켈텍 시스템(Foss Tecator, 2020 Digestor)으로, 연소열가는 사료

Table 1. Composition (g/kg) of experimental diets (NRC, 1994)

Ingredients	Diet	
	Basal (BSW 0.0%)	BSW 2.0 %
Ground yellow corn (8.8 % Protein)	596	596
Soybean meal (48.5 % Protein)	305	305
DL-Methionine	2.5	2.5
Corn oil	5.0	5.0
Wheat bran	50.0	30.0
Choline HCl (50 %)	1.5	1.5
(Iodized) Salt	5.0	5.0
CaCO <sub>3</sub>	10.0	10.0
CaHPO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	20.0	20.0
Vitamin mix <sup>1)</sup>	2.5	2.5
Mineral mix <sup>2)</sup>	2.5	2.5
BSW	0.0	20.0
Total	1,000g	1,000g
Chemical composition <sup>3)</sup>	..... %.....	
Moisture	12.0	12.2
Crude protein	18.6	18.1
Crude fat	2.5	2.7
Crude fiber	3.6	3.4
Crude ash	8.2	9.6
Nitrogen-free extracts	55.1	54.0
Gross Energy, kcal/kg DM	4,183	4,153

BSW : Diet containing 2.0% of Brown seaweed

<sup>1)</sup> Vitamin mix contain in kg diet Vitamin K 0.55 mg, Antioxidant 125 mg, Vitamin E 10 IU, Vitamin D<sub>3</sub> 400 IU, Vitamin A 1,500 IU, Biotin 0.15 mg, Folicin 0.55 mg, Pyridoxine HCl 3 mg, Niacin 25 mg, calcium panthothenate 10 mg, Riboflavin 3.6 mg, Thiamin HCl 1.8 mg.

<sup>2)</sup> Mineral mix contain in kg diet MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O 170 mg, ZnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O 110 mg, Ferric citrate 500 mg, CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O 16 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.2 mg.

<sup>3)</sup> Analyzed value.

및 시료 그리고 건조 분뇨혼합물을 폭발열량계 (PARR Instrument, U.S.A.)로 측정하였다. 분뇨혼합물 중의 노산은 Glycine buffer (pH 9.8) 추출액의 흡광도 (Marquardt, 1983)를 285 nm에서 측정하여 정량하였다. 질소밸런스 (NB)는 총 질소섭취량에서 총 질소배설량을 뺀 값이고, 대사에너지 (ME)는 사료 중 총에너지 섭취량 (EI)에서 총 배설 분뇨혼합물의 연소열가를 뺀 값이다. 질소보정 대사에너지 (MEn)는 NB g 당 8.22 kcal를 보정한 값 (Hill과 Anderson, 1958)이다. NB, UAN 및 ME는 사료 g 당, 또는 증체 g 당과 대사체중 (kg<sup>0.75</sup>) 당 값으로 표시 하였다.

### 3. 혈액 처리 및 분석

세 번째 LPS 주입 24시간 뒤인 13일령에 우리 당 1수의 병아리는 체중을 측정하고, 심장 천자로 혈액을 취한 뒤에 경추골 분리로 희생한 병아리의 복부 절개로 간장과 비장을 적출하고 무게를 측정하였다. 채취한 혈액은 원심 분리하여 상등액 혈장을 얻고, 침전된 적혈구 층은 백혈구 상층을 제거하고 탈이온수에 현탁하여 반복적인 냉동과 해동으로 세포막을 파괴하고 원심분리하여 세포액을 얻었다.

#### (1) SOD 활성

CuZnSOD buffer (pH 8.2)는 순수 1 ℓ에 3.022 g trizma base (Sigma., USA), 3.449 g carcodylic acid (Sigma., USA), 그리고 0.393 g DTPA (Sigma., USA)를 혼합하여 조제하였고, MnSOD buffer는 CuZnSOD buffer 1 ℓ에 0.0651 g KCN을 첨가한 것이다. 순수로 적혈구 세포액 (세포액) 10배 희석 시료와 에탄올 클로로포름 (ethanol : chloroform = 5 : 3 (v/v))을 3 : 2로 혼합하고, 10,000 × g에서 1분 원심한 후 얻은 상등액이 CuZnSOD 활성 측정용 시료이다. MnSOD 활성 측정 시료는 10배 희석 세포액이고 EcSOD 활성은 혈장에서 측정 하였다. 시료는 해당 buffer로 96 well plate에서 희석하고, pyrogallol의 자동산화 억제 정도를 광학밀도 420 nm (Kinetics Interval: 45초, Kinetic Reads: 5)에서 O.D. 변화를 측정하였다. Pyrogallol

(Sigma., USA) 용액은 10 mM HCl 100 ml에 0.063 g을 용해한 것이다. 세포액의 단백질농도는 BSA를 표준물질로 정량하였다(Bradford, 1976). 시료 ml 당 SOD Unit 값을 단백질 무게로 나눈 단백질 mg에 대한 SOD 활성을 나타내었다(Marklund와 Marklund, 1974; 박 등 2004; 이 등, 2005).

#### (2) 혈장 항산화계와 TNF- $\alpha$ 활성

혈장이나 적혈구 세포액에서, 과산화물 농도는 Horseradish peroxidase (HRP)와 3,5,3',5'-Tetramethylbenzidine(TMB)의 혼합용액에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가하여, 그리고 과산화물 분해효소 활성은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 TMB의 혼합용액에 HRP를 첨가하여 발현하는 색상을 표준으로 450 nm (reference 620 nm)에서 측정하였다(Tatzber 등, 2003; 이 등, 2005). 혈중 TNF- $\alpha$  활성은 rh TNF- $\alpha$  첨가 시 배양 L929 세포주의 괴사정도를 혈장 첨가 시와 비교하여 측정하였다(임 등, 2007; Flick과 Gilford, 1984). 혈중 ovotransferrin 수준은 혈장 단백질의 비 환원 조건 SDS-PAGE 전기 영동상에 나타난 65 kDa의 단백질을 anti-chicken ovotransferrin 항체로(western blotting) 확인하였다(임 등, 2007).

#### 4. PBMC 및 Thymocyte 배양과 IL-1 활성

기본 배양액은 증류수 1,000 ml에 RPMI-1640 (without phenol red, Gibco 13200-076, 4°C stock) 과 중탄산소다 2.0 g을 용해하고, pH 7.4로 조정하고 0.22  $\mu$ m steritop filter로 여과 멸균하여 4°C에 보관하였다. 세포 배양액 100 ml은 기본 배양액 94.02 ml, Penicillin/Streptomycin (Gibco BRL, 15140-122, 10,000 unit/ml, streptomycin 10,000  $\mu$ g/ml) 용액 1000  $\mu$ l와 Gentamicin (Sigma G-1397) 80  $\mu$ l의 혼합액에 FBS 5 ml (5%, v/v)를 혼합한 것이다. 세포배양액 40  $\mu$ l에 Concanavalin A (Con A) 작업용액은 Con A 1.0  $\mu$ g 그리고 LPS 작업용액은 LPS 2.5  $\mu$ g 각각 함유한 것이다.

##### (1) 혈액 채취와 PBMC 분리 배양

육계병아리 4 주령에서 채취한 혈액은 동량의 비중액(1.077 g/ml, Sigma H-8889)과 함께 원심하여 가운데 buffy coat층에서 PBMC를 얻었다. 분리된 PBMC는 세포배양액에 현탁 원심하고 세척후 세포 농도( $2 \times 10^6$ /ml)를 조정하였다. 세포현탁액 50  $\mu$ l( $10^5$ )을 96 웰 플레이트(442404, Nunc Co.)의 각 웰에 분배하고 41°C와 CO<sub>2</sub> 5%에서 4시간 배양 뒤에 40  $\mu$ l의 Con A 또는 LPS 작업용액을 첨가하여 16시간 배양 하였다. 다음에 Alamar Blue 10  $\mu$ l와 함께 4시간 더 배양하여 570 nm와 600 nm에서 광학밀도 차를 측정하여(임 등, 2007) PBMC 증식도를 평가 하였다. LPS 자극 PBMC 배양 상등액은 1.5 ml 마이크로 튜브에서 13,000 g 1분간 원심하여 얻은 상등액을 IL-1 분석시까지 80°C에 저장하였다.

##### (2) Thymocyte 배양과 IL-1 활성

병아리 5주령의 목 부위 피하에서 적출한 흉선은 멸균 0.9% 염용액으로 세척하고 페트리접시에 옮겨 놓고 그 위에 직경 200  $\mu$ m의 나일론 망을 얹었다. 기본 배양액 3 ml를 넣고 주사기 피스톤 앞부분으로 흉선들을 으깨고 흘러나온 흉선세포 함유 현탁액을 10 ml 피펫으로 흡입 후 나일론 망 위에 세게 분사하여 결합조직과 흉선 세포를 분리하였다. 세포현탁액은 200 $\times$ g에서 10분간 원심 뒤에 상등액을 제거하고 FBS 5% 기본 배양액 10 ml에 현탁하는 동작을 2회 반복하여 흉선세포를 세척하였다. 다음에 세포 배양액 3 ml 현탁액에서 세포수를 확인하고 ml 당 세포  $2 \times 10^7$ 개로 조정 하였다. 96웰 플레이트에 웰당 흉선세포( $10^6$ ) 현탁액 50  $\mu$ l를 분배하고 LPS 자극 PBMC 배양액 100  $\mu$ l씩 넣고 Con A 작업용액 50  $\mu$ l를 첨가하여 41°C와 CO<sub>2</sub> 5%에서 24시간 배양하였다. 그 다음 Alamar blue 10  $\mu$ l와 함께 24시간 더 배양한 뒤에 570 nm와 600 nm의 O.D.차를 측정하였다. 자극지수는 Con A와 함께 배양한 대조구 흉선세포의 증식도를 100%로 한 비율로 계산하였다.

#### 5. 통계처리

실험 데이터는 먼역원과 미역 2원 배치 분산

분석을 SAS (SAS Institute, Cary, NC) 프로그램의 GLM법으로 주 효과 및 상호관계를 조사하였다. 주 효과가 유의하면 ( $p < 0.05$ ), SAS의 최소 유의차 값 또는 Student's t 검정으로 평균 값 사이의 유의성을 검정하였다.

### III. 결 과

#### 1. 생산성

미역 2.0% 사료를 급여한 육계 병아리 2주령

에 LPS를 복강내에 주입하여 활성화 시킨 선천 면역반응과 3주령과 4주령까지 사육한 선천 면역반응 활성화 경험이 주별 생산성 추이에 미치는 영향을 Table 2에 나타내었다. LPS 주입은 2주령의 증체와 사료 섭취량을 대조 병아리에 비해서 미역 2.0% 사료에서는 영향을 미치지 않으나, 미역 0.0%(기초) 사료에서는 유의하게( $p < 0.05$ ) 감소 시켰다. 한편 선천면역 활성화 경험은 3주령의 증체와 사료 섭취량을 대조와 비교하여 사료 중 미역 함량에 관계없이 영향을 미치지 않았다. 육계 병아리 3주령

Table 2. Effect of dietary brown seaweed on the growth performance during 4 wks of experimental feeding in broiler chicks experienced of innate immunity activation at 2wk-old

Diet Immunization	Basal		BSW 2.0%		SEM	P value		
	Con	LPS	Con	LPS		Diet	Imm	Diet× Imm
1-2 wk of age								
Daily Gain g/bird/day	21.9± 2.3 <sup>a*</sup>	19.8± 0.3	19.8± 1.1 <sup>b</sup>	19.3± 0.8	0.35	0.005	0.04	0.30
Feed Intake g/bird/day	34.9± 0.7 <sup>a*</sup>	32.5± 0.6	33.2± 1.2 <sup>b</sup>	33.4± 0.7	0.27	0.02	0.01	0.14
Feed Efficiency %	62.8± 5.8	61.0±10.1	59.7± 3.2	57.6± 2.3	0.83	0.07	0.35	0.60
2-3 wk of age								
Daily Gain g/bird/day	39.7± 3.1	37.8± 2.4	37.6± 3.6	38.0± 1.6	0.53	0.26	0.18	0.62
Feed Intake g/bird/day	61.6± 0.2	62.5± 2.3	61.4± 1.4	62.0± 0.3	0.27	0.75	0.32	0.88
Feed Efficiency %	64.5± 5.3*	60.6± 3.3	61.2± 4.9	61.4± 2.7	0.84	0.09	0.06	0.40
3-4 wk of age								
Daily Gain g/bird/day	43.3± 4.3	43.9± 2.7 <sup>b</sup>	45.0± 3.5	49.3± 2.1 <sup>a*</sup>	0.65	0.08	0.58	0.36
Feed Intake g/bird/day	93.0± 4.8	90.2± 2.4	90.1± 1.1	91.8± 1.2	0.68	0.85	0.83	0.54
Feed Efficiency %	46.5± 4.0	48.8± 4.0 <sup>b</sup>	50.0± 4.4	53.7± 2.4 <sup>a*</sup>	0.74	0.06	0.49	0.50
1-4 wk of age								
Daily Gain g/bird/day	31.9± 0.7	31.0± 0.8	31.1± 0.4	31.0± 0.4	0.24	0.15	0.64	0.58
Feed Intake g/bird/day	52.1± 1.5	50.8± 1.4	50.7± 0.9	51.3± 0.3	0.29	0.61	0.83	0.50
Feed Efficiency %	61.2± 2.3	61.0± 2.5	61.3± 1.8	60.5± 0.8	0.44	0.26	0.83	0.69
Body weight g/bird	1062.4±22.3	1035.2±25.6	1038.1±12.2	1035.4±13.7	7.5	0.15	0.65	0.59

Values are mean ± SD of 3 replicates(pen)

BSW : Diet containing 2.0% of Brown seaweed. Imm: Birds have experience of the activating innate immunity by injecting LPS i.p.. Con: Normal birds injected with the 0.9% saline.

<sup>a-b</sup> : Means in a row and \*:Means between Con and Imm in a column differ significantly at  $p < 0.05$ .

의 사료효율은 미역 2.0% 사료에서는 면역반응 활성화 경험의 영향이 없었으나, 미역 0.0% 사료에서는 유의하게 ( $p<0.05$ ) 낮았다. 그리고 4주령에는, 면역반응 활성화 경험은 대조와 비교하여 증체와 사료효율을 미역 2.0% 사료를 급여하면 높이나( $p<0.05$ ) 기초사료에서는 영향이 없었다.

면역반응 활성화 또는 그 경험이 있는 육계 병아리에서 미역 2.0% 사료는, 기초사료와 비교하여, 일당 증체량과 사료효율을 2주령과 3주령에는 영향을 미치지 않았으나, 4주령에는 유의하게 ( $p<0.05$ ) 높였다. 대조병아리에서는 미역 2.0% 사료는 미역 0.0% 사료에 비해서 2주령에는 증체량과 사료섭취량을 유의하게( $p<0.05$ ) 감소시키나, 3주령과 4주령에는 증체 및 사료효율에 유의한 영향을 미치지 않았다. 미역 2.0% 사료는 0.0% 사료에 비해서 선천 면역반응 활성화 또는 그 경험이나 병아리 주령과 관계없이 사료 섭취량에 영향을 미치지 않았다. 실험사육 전 기간(1일령-4주령)의 체중, 일당 증체 및 사료효율은 면역반응 활성화나 그 경험 또는 사료 중 미역 함량에 의한 유의한 영향을 받지 않았다.

## 2. 선천 면역반응의 활성화 중 반응

육계 병아리 2주령에 선천 면역 반응 활성화 또는 미역 2.0% 사료가 간장과 비장 무게, 단백질과 에너지 이용성, 항산화계의 변화에 미치는 영향을 Table 3에 나타내었다. 면역 반응 활성화는 대조 병아리에 비해 간장 ( $p=0.01$ )과 비장 ( $p=0.04$ ) 무게를 사료 중 미역 함량과 관계없이 증가 시켰다. 미역 2.0% 사료는 면역반응 활성화와 관계없이 간장 ( $p=0.78$ )과 비장 ( $p=0.67$ ) 무게에 유의한 영향을 미치지 않았다.

### (1) 단백질 대사와 에너지 대사

급성기 반응 활성화 또는 미역 2.0% 사료는 사료 g당 질소 밸런스(NB)나 총 질소 섭취량(NI) 당 뇨산태 질소배설(UAN/NI)에 유의한 영향을 미치지 않았다. 면역 반응 활성화는 대조 병아리와 비교하여 대사체중 ( $\text{kg}^{0.75}$ ) 당 NB를

사료 중 미역 함량과 관계없이 감소 ( $p<0.0001$ ) 시키나,  $\text{kg}^{0.75}$  당 UAN에는 영향을 미치지 않았고, 사료 g 당 대사 에너지(ME) 값을 높이는 경향 ( $p=0.06$ )이 있고 대사체중당 ( $\text{kcal}/\text{kg}^{0.75}$ ) MEn 이용량을 유의하게( $p<0.0001$ ) 낮추었다. 면역 반응 활성화는 체중 100g 당 MEn 이용량을 미역 2.0% 사료를 급여하면 낮추나( $p=0.01$ ), 미역 0.0% 사료에서는 낮추는 경향이 있었다. 미역 2.0% 사료는 미역0.0% 사료에 비하여 면역 반응이 활성화한 육계병아리에서  $\text{kg}^{0.75}$  당 NB를 증가( $p<0.05$ ) 시키나,  $\text{kg}^{0.75}$  당 UAN에는 유의한 영향을 미치지 않았고, 대조 병아리에서는  $\text{kg}^{0.75}$ 당 NB를 유의하게 증가시키나 UAN 배설량을 감소시키는 경향이 있었다. 미역 2.0% 사료 g 당 ME 함량은 면역반응 활성화와 관계없이 미역 0.0% 사료에 비해 낮아지는 경향이 있었다. 미역 2.0%사료는 0.0% 사료에 비하여 면역 반응이 활성화한 육계 병아리에서 체중 100g 당 또는  $\text{kg}^{0.75}$ 당 ME 이용량에 영향을 미치지 않았으나, 대조병아리에서는 체중 100g 또는  $\text{kg}^{0.75}$  ME 이용량을 높이는 경향이 있었다.

### (2) 과산화물 농도와 과산화물 분해효소 활성

LPS 주입은, 대조병아리에 비해서, 미역 2.0% 사료를 급여한 병아리에서 혈장 과산화물의 농도를 감소시키는 경향이 있었으나, 과산화물 분해효소 활성을 유의하게 ( $p<0.05$ ) 증가시키며, 한편 미역 0.0% 사료를 급여하면, 혈장 과산화물 농도에는 영향이 없었으나, 과산화물 분해효소의 활성을 높이는 경향이 있었다. 그러나 미역 2.0% 사료는 미역 0.0%에 비해서, 면역반응이 활성화한 육계 병아리에서, 혈장의 과산화물 농도를 낮추는 경향이 있었으나 과산화물 분해효소의 활성을 유의하게 ( $p<0.05$ ) 높이고, 대조 병아리에서는 혈장 과산화물 농도와 과산화물 분해효소활성에 유의한 영향을 미치지 않았다. 적혈구 세포액에서 과산화물 분해효소 활성은, 사료 중 미역함량과 관계없이 면역 반응 활성화에 의한 유의한 영향을 받지 않았으나, 미역 2.0% 사료 급여에 의하여 미역 0.0%에 비해서 면역반응 활성화와 관계없이 유

Table 3. Effect of dietary brown seaweed on organ weight, metabolism of protein and energy and antioxidant system of blood in 2 wk-old broiler chicks injected with LPS

Diet	Basal		BSW 2.0%		SEM	p Value		
	Con	LPS	Con	LPS		Diet	Imm	Diet×Imm
Liver, g/100g B.W.	3.03±0.23	3.54±0.37*	3.01±0.28	3.47±0.28*	0.07	0.78	0.01	0.60
Spleen, g/100g B.W.	0.08±0.02	0.10±0.01*	0.07±0.03	0.08±0.01	0.01	0.67	0.04	0.73
Protein metabolism								
NB, mg/g diet	20.2±0.7	20.4±1.2	21.1±1.0	21.3±0.6	0.24	0.04	0.24	0.88
NB, g/kg <sup>0.75</sup>	2.11±0.03 <sup>b*</sup>	1.98±0.04 <sup>b</sup>	2.23±0.03 <sup>a*</sup>	2.09±0.04 <sup>a</sup>	0.02	<0.0001	<0.0001	0.32
UAN/NI, %	24.9±5.3	23.4±6.8	21.1±7.2	23.2±7.9	1.04	0.49	0.75	0.92
UAN, g/kg <sup>0.75</sup>	0.98±0.26	0.86±0.34	0.84±0.22	0.85±0.18	0.04	0.45	0.23	0.88
Energy metabolism								
ME, kcal/g diet	3.11±0.04	3.14±0.02	3.09±0.04*	3.11±0.05	0.02	0.10	0.06	0.54
ME <sub>n</sub> , kcal/100g B.W	57.0±0.99	55.3±1.67	58.8±1.07*	55.2±1.39	0.52	0.01	<0.0001	<0.0001
ME <sub>n</sub> , kcal/kg <sup>0.75</sup>	380.4±5.0*	363.9±5.3	388.3±5.3*	364.7±6.9	3.00	0.03	<0.0001	0.48
Oxidant and Antioxidant enzyme Plasma								
Peroxide, M	0.90±0.13	0.90±0.31	0.72±0.04	0.60±0.5	0.06	0.31	0.86	0.68
Peroxidase, mU/ml	1.55±0.69	1.31±0.16 <sup>b</sup>	1.29±0.57	11.4±0.7 <sup>a*</sup>	0.10	0.14	0.33	0.68
Ec SOD, U/ml	181.5±51.8	224.4±117.0 <sup>b</sup>	102.5±6.2	357.8±207.1 <sup>a*</sup>	23.1	0.53	0.30	0.02
Erythrocyte								
Peroxidase, mU/ml	0.91±0.26 <sup>a</sup>	0.84±0.06 <sup>a</sup>	0.71±0.13 <sup>b</sup>	0.60±0.2 <sup>b</sup>	0.04	0.001	0.72	0.30
MnSOD, U/mg protein	119.0±28.6 <sup>a*</sup>	31.3±3.5	36.4±10.9 <sup>b</sup>	39.5±5.7	6.2	0.002	0.004	0.0003
CuZnSOD, U/mg protein	2.01±2.01	1.97±0.59	1.70±0.99	2.45±0.72*	0.2	0.09	0.26	0.75

Values are mean±SD of 3 replicates(pen)

BSW: Diet containing 2.0% of Brown seaweed. Imm: Birds have experience of the activating innate immunity by injecting LPS i.p. Con: Normal birds injected with the 0.9% saline. NB:Nitrogen balance. UAN: Uric acid nitrogen. NI: Nitrogen intake. ME: Metabolizable energy. ME<sub>n</sub>: Nitrogen corrected ME.

<sup>a-b</sup>: Means in a row and <sup>\*</sup>:Means between Con and Imm in a column differ significantly at p<0.05.

의하게(p<0.05) 낮았다.

### (3) SOD 활성

면역 반응 활성화는 미역 2.0% 사료에서 대조 병아리에 비해서 유의하게 EcSOD 활성을 높이거나 적혈구 MnSOD와 CuZnSOD 활성은 높이는 경향이 있었다. 미역 0.0% 사료에서는 LPS 주입은 EcSOD 활성을 높이는 경향이 있

었고 적혈구 세포액에서 MnSOD 활성은 유의하게 낮추나 CuZnSOD에는 영향을 미치지 않았다. 미역 2.0% 사료는, 미역 0.0% 사료에 비해서, 면역반응이 활성화한 육계병아리에서 혈장에서 EcSOD 활성을 높이고 적혈구 세포액에서는 MnSOD 활성은 낮추나 CuZnSOD 활성은 높이는 경향이 있었다. 대조 병아리에서는 미역 2.0% 사료는 혈장의 EcSOD 활성을 감소

Table 4. Interaction of dietary brown seaweed on TNF- $\alpha$  levels and ovotransferrin in plasma of 2 week-old chicks immunized with the LPS and PBMC proliferation in 4 week-old birds and IL-1 levels from LPS-stimulated PBMC

Diet Immunization	Basal		BSW 2.0 %	
	Con	LPS	Con	LPS
2nd wk of age				
TNF- $\alpha$ , $\mu\text{g}/\text{m}^{\text{l}}$ plasma	11.4 $\pm$ 1.2	29.8 $\pm$ 5.1*	4.9 $\pm$ 3.4	21.3 $\pm$ 2.5*
Ovotransferrin, $\mu\text{g}/\text{m}^{\text{l}}$ plasma	0.94 $\pm$ 0.12	1.20 $\pm$ 0.15*	1.00 $\pm$ 0.09	1.21 $\pm$ 0.22
4th wk of age				
PBMC Stimulating index, %	100.0 $\pm$ 6.7	— <sup>1)</sup>	94.1 $\pm$ 7.7	— <sup>1)</sup>
IL-1 Stimulating index, %	171.3 $\pm$ 10.4 <sup>a</sup>	—	142.4 $\pm$ 7.2 <sup>b</sup>	—

Value are mean  $\pm$  SD of three replicates(pen). <sup>1)</sup> Not determined.

BSW: Diet containing 2.0 % of Brown seaweed Imm: Birds have experience of the activating innate immunity by injecting LPS i.p. Con: Normal birds injected with the 0.9% saline.

<sup>a-b</sup>: Means in a row and \*:Means between Con and Imm in a column differ significantly at  $p < 0.05$ .

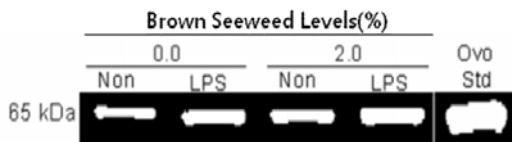


Fig. 1. Western blotting for identification of ovotransferrin by using anti-transferrin chicken antibody.

시키는 경향이 있었으나, 적혈구 세포핵의 MnSOD는 유의하게 감소시키나 CuZnSOD에는 영향을 미치지 않았다.

### 3. 혈중 TNF- $\alpha$ 및 ovotransferrin 수준, PBMC 증식도 및 IL-1 분비

면역 반응이 활성화한 육계 병아리 13일령의 혈액 중 TNF- $\alpha$  활성과 ovotransferrin 농도 및 4 주령 육계 병아리의 PBMC 증식도와 PBMC 배양 상등액 중의 IL-1 활성을 Table 4에 나타내었다. 면역반응 활성화는 사료 중 미역 함량과 관계없이 대조와 비교하여 혈액 중 TNF- $\alpha$  활성과 ovotransferrin 수준을 증가시켰다. 미역 2.0% 사료는 기초사료와 비교하여, 면역반응이 활성화한 육계병아리에서 혈액 중 TNF- $\alpha$ 와 Transferrin 농도에 유의한 영향을 미치지 않았

으나, 대조 병아리에서는 TNF- $\alpha$  활성은 높이나, Transferrin 농도를 낮추는 경향이 있었다. 4 주령 육계 병아리에서 미역 사료는 기초사료에 비해서 PBMC 증식도에 유의한 영향을 미치지 않았다. LPS 자극 PBMC의 배양 상등액에 분비되는 IL-1 활성은 미역 사료를 급여한 육계 병아리에서 기초사료에 비해 유의하게 낮았다 ( $p < 0.05$ ).

## IV. 고 찰

### 1. 생산성

동물에서 영양소와 면역반응의 상호작용은 성장과 생산성에 영향을 미친다 (Humphrey와 Klasing 2004). 급성기 반응 중에는 간장과 비장 무게, 간장에서 급성기 단백질 합성 (Gaby와 Kushner, 1999) 및 근육 단백질 분해를 증가시키고 사료 섭취량을 감소시키는 신호로 작용하여, 성장과 생산성을 낮춘다 (Koh 등, 1996; Klasing과 Korver, 1997; Koh 등, 2004, 2005; Park 등, 2004; Im 등, 2003., 2007). 본 연구에서 미역 0.0% 사료에서는, LPS 주입으로 유발된 선천 면역 반응은 정상 병아리에 비해서 성장율과 사료 섭취량을 저하 시켰다. 그러나 미



역 2.0% 사료를 급여한 육계병아리에서는 LPS 주입이 생산성에 영향을 미치지 않았다. 이것은 미역 2.0% 사료가 급성기 반응에 의한 사료 섭취량이나 성장을 감소를 완화 하는 결과라고 생각 되었다. 본 성적은 미역 제품 1.0% 및 2.0% 사료를 급여한 육계병아리에서 급성기 반응 활성화에 의한 사료섭취량이 감소가 관찰되지 않은 결과(고 등, 2005)와 일치 한다고 생각 되었다. 그리고 LPS 주입으로 높아진 간장과 비장 무게는 미역 2.0% 사료를 급여한 것에서 선천 면역반응으로 간장과 비장무게가 증가하는 고 등(2005)의 결과와 일치하였다. Koutsos 등(2006)은 LPS 자극 선천면역 중인 육계 병아리에서 비장 무게 증가는 비장 내 면역세포 증식의 증가가 원인이라고 하였다. 간장 무게는 자극받은 면역세포가 분비한 친 염증성 싸이토카인의 신호전달에 따른 간장내 급성기 단백질 합성에 기인 한다는 연구 결과는 많다(Gaby와 Kushner, 1999; Kushner와 Rzewnicki, 1999; Suffredini, 1999). 선천 면역 반응의 활성화는 근육단백질을 분해(Klasing과 Austice, 1984; Roura 등, 1992) 시켜 아미노산을 세포외액으로 방출(Tian과 Baracos 1989a; Tian과 Baracos 1989b)한다. 방출된 아미노산은 임파세포의 증식 또는 항체 생산 등의 작동 분자 생성에 필요하다(Klasing, 1998)고 하였다. 이와 같이 LPS 주입에 의한 체중 감소는 근육내 단백질의 분해에 의하며 이때 방출된 아미노산은 간장내 급성기 단백질이나 비장 등 면역기관내 면역 세포 증식에 이용된다.

요산테 질소(UAN) 배설은 가금에서 단백질 분해량을 나타낸다(Koh 1994). 전신적인 단백질 분해량은 급성기 반응중 단백질 분해로 생성된 아미노산의 최종 대사 산물인 뇨산 배설량으로 평가 할 수 있다. 본 연구에서는 뇨산테 질소를 조사하여 급성기 반응중의 단백질 분해량을 평가하고 단백질 축적량은 질소 밸런스(NB)로 평가 하였다. 체중이 다른 동물에서 영양소 대사량의 비교는 대사체중( $kg^{0.75}$ )이 갖 대가 된다(Kleiber, 1947). 따라서 단백질 축적량(NB)과 분해량(UAN) 값을 대사체중 당으로 비교 검토 하였다. 본 연구에서 면역 반응 활

성화는 대사체중 당 단백질 축적량(NB)를 정상 동물에 비해서 유의하게 감소시켰다. 그러나 선천 면역 반응은 대사체중 당 단백질 분해량(UAN)에는 유의한 영향을 미치지 않았다. 고 등(2005)은 선천 면역반응 중인 육계병아리에서, 미역 2.0% 사료는 대사체중당 단백질 축적량을 감소시키고 단백질 분해량을 높이나 미역 함량이 높아지면 점차 감소하는 것을 관찰 하였다. 고 등(2005)은 사료 중 미역 함량을 달리한 실험이었으나 본 연구에서는 미역 2.0% 인 한 종류의 사료를 사용하였다. 본 연구에서 미역 2.0% 사료가 체단백질 분해를 완화 시키는 것은 고 등(2005)의 성적과 동일 하였다. 한편 정상 병아리에서 미역 2.0% 사료는 사료 g 및  $kg^{0.75}$  당 단백질 축적량(NB)를 높이고 체단백질 분해(UAN 배설량)를 감소 시켰다. 본 성적은 급성기 반응으로 증가하는 단백질 분해를 미역 2.0% 사료가 완화하는 작용이 있다는 것을 나타내었다. 미역의 수용성 섬유중의 알긴산(alginic acid) 함유된 매뉴로닉산(D-Manuronic acid)이나 구류로닉산(L-Guluronic acid)에 의한 면역 반응 조절 작용(Otterlei 등 1991)이 사료를 통한 급여시에도 나타난다는 것을 보이고 있다.

## 2. 에너지 대사

본 연구에서 선천 면역반응의 활성화는 사료 g 당 ME 함량을 높이는 경향이 있었다. 본 연구실에서 육계병아리의 선천 면역 활성화 중에는 실험 사료의 ME 함량이 유의하게 높아지는 것이 관찰되었다(고 등, 2005; 임 등, 2003). 선천 면역 반응 활성화로 상승한 체온은 면역 반응에 필요한 에너지를 얻는 과정이라고 하였다(Benson 등, 1993). 그러나 선천 면역 반응의 활성화는 일반적으로 가금의 사료섭취량을 감소시킨다(Humphrey와 Klasing, 2004). 고 등(2005)은 면역 반응이 활성화한 육계 병아리에서는 사료로부터 필요한 에너지를 섭취하지 못하므로 사료 중의 에너지원의 흡수가 소화관에서 증가 하여 사료 g 당 ME 함량이 높은 값이 된다고 고찰 하였다. 본 연구에서도 급성기 반응

은 g 당 NB와 UAN 배설물에 영향을 미치지 않았으므로 단백질의 소화율도 급성기 반응의 영향을 받지 않았다는 것을 나타낸다. 이러한 본 연구의 성적들도 사료 중 에너지원의 흡수 증가가 MEn 값을 높이는 원인이라는 증거가 된다.

한편 본 연구에서 체중 100g당 또는 대사체중 ( $\text{kg}^{0.75}$ )당 에너지 이용성은 사료 중 미역 함량과 관계없이 선천 면역 반응에 의해서 유의하게 낮아서 LPS 주입이 체내 에너지 이용성을 억제하고 있다는 것을 나타내었다. 고 등 (2005)의 실험에서도 선천 면역 반응이 활성화했을 때 대사 체중 당 ME 이용성이 사료 중 미역 수준이 높아짐에 따라 감소하는 것이 관찰되었다. Leshchinsky와 Klasing (2001)은 LPS의 복강 내 주입으로 급성기 반응 중일 때 직장 온도가 육계병아리는 상승하지 않으나, 산란계에서는 상승하는 것을 관찰 하였다. 본 연구실의 이전 실험(최 등, 1995)에서 본 연구실에서 제작한 개방형 호흡실험 장치(고와 이, 1993)에 의한 산소 소비량을 측정하였다. LPS 주입 급성기 반응중인 육계 병아리에서 첫번째 LPS 주입(11일령) 및 두번째 LPS 주입(13일령)시에는 주입 첫날의 산소 소비량이 두번째 날(12일령과 14일령)에 비하여 낮았다. 그러나 세번째 LPS 주입시에는 주입 첫날(15일령)부터 산소 소비량이 증가 하였다. 산소 소비량은 발열량을 의미한다. 본 연구의 LPS 주입한 육계병아리에서 대사체중당 ME 이용량 감소는 직장 온도의 감소 및 산소 소비량 감소와 일치하고 있다. 이러한 결과들을 종합하면, LPS 주입은 육계병아리의 에너지 이용량을 감소 시키다가 일정 시간이 지난후에 발열량이 증가 한다는 것(Leshchinsky와 Klasing, 2001)을 증명하고 있다. 또한 동물에서 선천 면역 활성화는 기초 대사량을 증가 시키고(Dascombe 등, 1989; Flores 등, 1989), 체 단백질을 분해하여 아미노산을 에너지원으로 사용한다(Klasing 등, 1987). 본 연구는 선천 면역 활성화시의 사료 섭취량 감소에 따른 ME 이용성 감소에 상당하는 에너지는 체단백질의 분해 중에 생산된 에너지로 보충된다는 것을 나타낸다고 생각 된다.

### 3. SOD 활성 및 과산화물과 과산화물 분해 효소

생명체의 생명 유지에 필요한 에너지는 필수적으로 유기물이 산소와 산화하여 얻으며 이때 산소의 2~5%는 반응성 산소(ROS)를 생성한다(Halliwell과 Gutteridge, 2000)는 것이 알려져 있다. 감염원의 식작용을 위한 macrophage와 heterophil 등 식세포의 Respiratory burst 과정에 NADPH oxidase에 의해서 슈퍼옥사이드 음이온( $\text{O}_2^-$ )이 생성된다. 이어서 수산 반응기( $\text{OH}^*$ ), 단일 산소원소( $^1\text{O}_2$ ), 산화질소(NO)와 과산화아질산이온( $\text{ONOO}^-$ ) 등 반응성 산소(ROS)가 발생한다. 세포내외에서 Superoxide dismutase(SOD)는  $\text{O}_2^-$ 를 산소( $\text{O}_2$ )와 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ )로 이성화 하는 반응을 촉매(McCord와 Fridovich, 1966)하고,  $\text{H}_2\text{O}_2$  등 과산화물(peroxide)은 과산화물 분해효소나 촉매 효소(Catalase)에 의하여 무독한 물( $\text{H}_2\text{O}$ )을 생성한다. 그 결과 SOD와 과산화물 분해 효소는 반응성자유기(ROS)로부터 정상적인 세포를 보호한다. 과산화물 분해 효소는 체내에 넓게 분포하고 있는 효소의 총칭으로 적혈구에는 Glutathione peroxidase(GPx)가 주로 분포하고(Halliwell과 Gutteridge, 2000), Neutrophil이나 Macrophage 등 면역 세포에는 Myeloperoxidase(MPO)가 함유된다. Lam(1997)은 조류의 Heterophil은 사람의 Neutrophil과 비슷한 MPO 활성을 갖는다고 하였다.

박 등(2004)과 이 등(2005)도 LPS 주입은 정상 병아리에 비하여 적혈구 SOD 활성을 높이는 것을 관찰하였다. 본 연구에서 LPS 주입은 미역 2.0% 사료를 급여한 육계 병아리에서 EcSOD와 적혈구 세포액의 MnSOD와 CuZnSOD 활성을 높였다. 이것은 LPS 주입으로 활성화한 macrophage, monocyte 또는 heterophil 및 dendritic cell의 NADPH-oxidase에 의해서 생산이 증가된 ROS를 무독화 하기 위한 것으로 생각된다. 이 등(2005)은 LPS 주입으로 증가한 SOD 활성이 미역 2.0% 사료 급여로 감소하는 것을 관찰 하였다. 선천 면역 반응에 있어 SOD 활성 저하는 ROS 생산 감소의 결과일 수도 있다. 이 등(2005)은 선천 면역 반응의 활

성화한 육계병아리에서 미역제품 1.0%와 2.0% 사료는 높아진 적혈구 세포액의 SOD 활성을 낮추고, 미역 2.0% 사료는 1.0% 사료에 비하여 혈장 과산화물 농도를 높이고, 과산화물 분해효소의 활성을 낮춘다는 것을 관찰하였다. 미역 2.0% 사료에서 이 등(2005)은 LPS 주입은 대조 병아리와 비교하여 혈장 과산화물 농도는 높았지만 적혈구 과산화물분해효소 활성을 낮추었다. 본 연구에서도 미역 2.0% 사료가 미역 0.0%에 비하여 적혈구 과산화물 분해효소 활성을 낮추어 이 등(2005)의 성적과 일치하였다. 따라서 미역 2.0% 사료는 LPS 주입 시 대조 병아리에 비하여 적혈구 과산화물 분해효소 활성을 낮추었다. 적혈구 과산화물분해효소 활성이 낮아지는 것이 적혈구의 과산화물 농도가 낮은 것 또는 혈액 내 과산화물농도가 반영된 것인지는 알 수 없었다.

본 연구에서 급성기 반응의 활성화는 혈액 중 ovotransferrin의 농도를 증가시켰다. Halloquist와 Klasing (1994)는 급성기반응 중인 육계병아리에서 간장의 transferrin 생산이 극적으로 증가하는 것을 발견하였다. 본 연구에서 혈액중 ovotransferrin 농도 증가는 간장에서 ovotransferrin의 생합성 증가로 분비량이 증가하는 결과인 것 같다 (Halloquist와 Klasing, 1994). Halliwell과 Gutteridge (2000)는 혈장 transferrin은 천이금속인 철과 결합하여 혈액중의 철을 제거하므로써  $Fe^{2+}$ 에 의한 free radical의 생성을 막아서 항산화 방어 역할을 한다고 하였다. 사람의 혈액에 존재하는 transferrin의 20~30% 만이 철과 포화된 상태로 존재하여, 혈액내에 유리되는 철은 즉시 transferrin과 킬레이트 반응한다. 따라서 단백질과 결합하지 않은  $Fe^{2+}$ 는 혈액내에 존재하지 않는다. 본 연구에서 급성기 반응 중에 미역 2.0% 사료는 0.0% 사료에 비해서 ovotransferrin 농도를 낮추었다. 이것은 급성기 반응으로 생성되는 free radical을 미역 2.0% 사료 급여가 완화 한다는 것을 시사하고 있다.

Klasing (1988)은 가금에서 LPS 주입은 친염증성 싸이토카인(TNF- $\alpha$ , IL-1 및 IL-6)의 분비를 증가 시키고 사료섭취량 감소, 당신생, 포도당 산화, 간에서 지방산의 합성 및 급성기 단

백질합성을 증가 시키는 신호를 보낸다고 하였다. 임 등(2007)은 육계 병아리에서 LPS 주입이 TNF- $\alpha$  활성을 증가시켰으며, 본 연구에서도 LPS 주입은 TNF- $\alpha$ 의 활성을 증가 시켰다. 본 연구에서 미역 2.0% 사료는 미역 0.0% 사료보다 TNF- $\alpha$  활성을 낮추며, 또한 정상병아리의 LPS 자극 PBMC가 분비한 IL-1 활성은 미역 2.0% 사료가 미역 0.0% 사료보다 낮았다. 따라서 미역 2.0% 사료는 육계병아리에 친염증성 싸이토카인이 TNF- $\alpha$ 와 IL-1의 분비를 감소시키는 기능이 있다는 것을 나타내었다. 이것은 사료중 미역이 면역 반응 및 영양소 대사의 변화를 유도 할 수 있다는 것을 나타낸다.

결론적으로, 실험사육 전기간을 통한 생산성은 사료 중 미역 함량이나 급성기 반응 또는 그 경험의 영향이 없었다. 급성기 반응은 미역 2.0% 사료에서 일당 증체량에 영향을 미치지 않으나, 혈장 과산화물 분해효소, 세포외액 SOD (EcSOD) ( $p<0.05$ ), 적혈구 MnSOD와 CuZnSOD 활성을 높이고, 사료 중 미역 함량과 관계없이, 대사체중 ( $kg^{0.75}$ ) 당 NB와 ME 이용량을 낮추고 TNF- $\alpha$ 와 ovotransferrin 활성을 높였다. 미역 0.0% 사료에 비하여, 미역 2.0% 사료는, 급성기 반응과 관계없이  $kg^{0.75}$ 당 NB를 증가시켰고, 급성기 반응 중에는  $kg^{0.75}$ 당 UAN 배설에 영향을 미치지 않으나, 혈장 과산화물 농도와 적혈구 세포액의 과산화물 분해효소와 MnSOD ( $p<0.05$ ) 활성을 낮추고 혈장 과산화물 분해효소와 EcSOD 활성은 높이며 ( $p<0.05$ ), 4주령 병아리에서 LPS 자극 PBMC에서 분비한 IL-1 활성을 증가시켰다. 본 연구는 사료 중 미역이 선천 면역반응 활성화시의 항산화 기능에 영향을 미친다는 것을 나타낸다고 생각된다.

## V. 요 약

급성기 반응 중인 육계 병아리에서 미역 2.0% 사료가 영양소 대사, 항산화 효소활성 및 세포성 면역에 미치는 영향이 조사 되었다. 갓 부화한 숫 육계 병아리 (Ross)는 4주간의 실험 사육기간에 미역 0.0%(기초) 및 2.0% 사료를 급여하고, 8, 10, 및 12일령에 *Salmonella*

*typhimurium* lipopolysaccharide (LPS)를 복강내 주입하여 급성기 반응을 활성화 하였다. 실험 사육 전기간을 통한 생산성은 사료 중 미역 함량이나 급성기 반응 또는 그 경험의 영향이 없었다. 대조 (정상) 병아리에 비하여, 급성기 반응은 미역 2.0% 사료에서 일당 증체량에 영향이 없었으나, 혈장 과산화물 분해효소, 세포외액 SOD (EcSOD) ( $p<0.05$ ), 적혈구 MnSOD와 CuZnSOD 활성을 높이고, 그리고 사료 중 미역 함량과 관계없이 대사체중 ( $kg^{0.75}$ ) 당 NB와 ME 이용량을 낮추고 TNF- $\alpha$ 와 ovotransferrin 활성을 높였다. 미역 0.0% 사료에 비하여, 미역 2.0% 사료는, 급성기 반응과 관계없이  $kg^{0.75}$  당 NB를 증가시켰고, 급성기 반응 중에는  $kg^{0.75}$ 당 UAN 배설에 영향이 없었으나, 혈장 과산화물 농도와 적혈구 세포외액의 과산화물 분해효소와 MnSOD ( $p<0.05$ ) 활성을 낮추고 혈장 과산화물 분해효소와 EcSOD 활성은 높이고 ( $p<0.05$ ), 4주령 병아리에서 LPS 자극 PBMC에서 분비한 IL-1 활성을 증가시켰다.

(주 단어 : 미역, LPS, 단백질과 에너지대사, 항산화계, 친염증성 사이토카인, PBMC, 육계 병아리)

## VI. 사 사

본 연구는 농림부 농림 기술개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로, 연구비 지원에 감사 표합니다.

## VII. 인 용 문 헌

- Benson, B. N., Calvert, C. C., Roura, E. and Klasing, K. C. 1993. Dietary energy source and density modulate the expression of immunologic stress in chicks. *J. Nutr.* 123(10):1714-1723.
- Bradford, MM. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254. 1976.
- Dascombe, M. J., Rothwell, N. J., Sagay, B. O. and Stock, M. J. 1989. Pyrogenic and thermogenic effects of interleukin-1 $\beta$  in the rat. *Am. J. Physiol.* 256:E7-11.
- Florer, E. A., Bistran, B. R., Pomposeli, J. J., Dinarello, C. A., Blackburn, G. L. and Istfan, N. W. 1989. Infusion of tumor necrosis factor/cachectin promotes muscle catabolism in the rat. *J. Clin. Invest.* 83:1614-1622.
- Flick, D. A. and Gifford, G. E. 1984. Comparison of *In vitro* cell cytotoxic assays for tumor necrosis factor. *J. Immunol. Meth.* 68:167-175.
- Gaby, C. and Kushner, I. 1999. Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 340:448-454.
- Gauldie, J. and Baumann, H. 1991. Cytokines and acute phase protein synthesis. In: *Cytokines and inflammation* CRC Press, Boca Raton, USA pp:275-305.
- Halliwell, B. and Gutteridge, M. C. 2000. Exercise: an oxidative stress. In *'Free Radicals in Biology and Medicine Third Ed.* Oxford University Press, New York.
- Hallquist, N. A. and Klasing, K. C. 1994. Serotransferrin, ovotransferrin, and metallothionein levels during an immune response in chicks. *Comp. Biochem. Physiol. B-Biochem. Mol. Biol.* 108:375-384.
- Hill, F. W. and Anderson, D. L. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. *J. Nutr.* 64: 587-604.
- Humphrey, B. D. and Klasing, K. C. 2004. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system, *World's poultry science journal*, Vol. 60.
- Im, J. T., Kim, J. H., Park, I. K. and Koh, T. S., 2003. Effect of salmonella typhimurium lipopolysaccharide injection on the performance, nitrogen balance and ME utilization of dietary krill meal in broiler chicks. *J. Anim. Sci. & Technol.* 45(6):957-966.(in Korean)
- Im, J. T., Park, I. K. and Koh, T. S. 2007. Effect of dietary krill meal levels on performance and

- immune response of broiler chicks injected with salmonella typhimurium lipopolysaccharide. *J. Anim. Sci. & Technol.* 49(2):225-238. (in Korean)
14. Klasing, K. C. and Austic, R. E. 1984. Changes in protein degradation in chickens due to immunologic stress. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 176:292-296.
  15. Klasing, K. C. 1987. Influence of cell sources, stimulating agents, and incubation conditions on release of interleukin-1 from chicken macrophages. *Develop. And Comp. Immunol.*, 11:385-394.
  16. Klasing, K. C. 1988. Nutritional aspects of leukocytic cytokines. *Journal of Nutrition* 118: 1436-1446.
  17. Klasing, K. C. and Kover, D. R. 1997. dietary fish oil alters specific and inflammatory immune responses in chicks *J. Nutr.* 127(10):2039-2046.
  18. Klasing, K. C. 1998 Avian macrophage: Regulators of local and systemic immune response. *Poult. Sci.* 77:983-989.
  19. Kleiber, M. 1947. Body size and metabolic rate. *Physiol. Rev.*, 27:511-541.
  20. Koh, T. S., Joo, Y. D., Woo, K. M., Choi, C. L. and Park, B. S. 1994. Concurrent bioassay of energy and protein utilization of protein sources in layer. *K. J. Poultry. Sci.* 21(2):133-138. (in Korean)
  21. Koh, T. S., Peng, R. K. and Klasing, K. C. 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poult. Sci.* 75:867-872.
  22. Koh, T. S., Im, J. T., Park, I. K. and Kim, J. H., 2004. Effect of dietary krill meal on the performance of broiler chicks during the acute phase response. *J. Anim. Sci. & Technol.* 46(2): 173-182.(in Korean)
  23. Koh, T. S., Im, J. T., Park, I. K., Lee, H. J., Choi, D. Y., Choi J. Y., Lee, H. G. and Choi, Y. J. 2005. Effect of dietary brown seaweed levels on the protein and energy metabolism in broiler chicks activated acute phase response. *J. Anim. Sci. & Technol.* 47(3):379-390.(in Korean)
  24. Koutsos, E. A., Garcia Lopez, J. C. and Klasing, K. C. 2006. Carotenoids from in ovo or dietary sources blunt systemic indices of the inflammatory response in growing chicks. *J. Nutr.* 136:1027-1031.
  25. Kushner, I. and Rzewnicki, D. 1999. Acute phase response. *Inflammation: Basic principles and Clinical Correlates.* Lippincot-Williams & Wilkins, Philadelphia, USA pp.:317-330.
  26. Lam, K. M. 1997. Myeloperoxidase activity in chicken heterophils and adherent cells. *Vererinary Immunology and Immunopathology* 3-4:327-335.
  27. Lee, D. S., Kim, H. R., Cho, D. M., Nam, T. J. and Pyeun, J. H. 1998. Uronate compositions of alginates from the edible brown algaer. *Han`guk Susan Hakhoechi*, 31(1):1-7. (in Korean)
  28. Lee, H. J., Park, I. K., Im, J. T., Choi, D. Y., Choi, J. Y., Choi, J. B., Lee, H. G., Choi, Y. J. and Koh, T. S. 2005. Effect of dietary brown seaweed levels on the antioxidant system in broiler chicks activated innate immune response. *J. Anim. Sci. & Technol.* 47(1):29-38. (in Korean)
  29. Leshchinsky, T. V. and Klasing, K. C. 2001. Divergence of the inflammatory response in two types of chickens. *Developmental & Comparative Immunology* 25:629-638.
  30. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the auto-oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J. Biochem*, 47:469-474.
  31. Marquardt, R. R. 1983. A simple spectrophotometric method for the direct determination of uric acid in avian excreta, *Poult. Sci.* 62:2106-2108.
  32. McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzyme function for erythrocyperin (hemocuperin). *J. Biol. Chem.* 244:6049-6055.
  33. Otterlei, M., Ostggard, K., Skjaek-Break, G., Smidsrod, O., Soon-Shiong, P. and Espevik, T. 1991. Induction of cytokine production from human monocytes stimulated with alginate. *J. Immunother.* 10:286-291.

34. Park, I. K., Kim, J. H., Im, J. T. and Koh, T. S. 2004. Effect of the acute phase response on the performance and superoxide dismutase activity in broiler chicks fed on dietary krill meal. *J. Anim. Sci. & Technol.* 46(2):183-192. (in Korean)
  35. Roura, E., Homedes, J. and Klasing, K. C. 1992. Prevention of immunologic stress contributes to the growth-permitting ability of dietary antibiotics in chicks. *J. Nutr.* 122:2383-2390.
  36. SAS. Institute Inc. 1988. SAS user's Guide, statistics version 5 ed. SAS Institute Inc., NC, USA.
  37. Suffredini, A. F., Fantuzzi, G., Badolato, R., Oppenheim, J. J. and O'Grady, N. P. 1999. New insights into the biology of the acute phase response. *J. Clin. Immunol.* 19:203-214.
  38. Tatzber, F., Griebenow, S., Wonisxh, W. and Winker, R. 2003. Dual method for the determination of peroxidase activity and total peroxides-iodide leads to a significant increase of peroxidase activity in human sera. *Analytical Biochemistry* 316:147-153.
  39. Tian, S. and Baracos, V. E. 1989a. Effect of *Escherichia coli* infection on growth and protein metabolism in broiler chicks (*Gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry & Physiology part A* 94:323-331.
  40. Tian, S. and Baracos, V. E. 1989b. Prostaglandin-dependent muscle wasting during infection in the broiler chick (*Gallus domesticus*) and the laboratory rat (*Rattus norvegicus*). *Biochem Journal* 263:485-490.
  41. 고태송, 이상락. 1993. 동물용 발열량 자동 측정 장치의 시험 제작에 관한 연구. 한국 과학 재단 연구 보고서. page 1-53 KOSEF 901-1505-074-1.
  42. 최철림, 이기창, 장문주, 정윤주, 박병석, 황성재, 김상윤, 고태송. 1995. 육계 병아리에서 사료 중 대두유는 면역 스트레스를 완화한다. '95 축산분야 종합 학술 대회 p. 283.
- (접수일자 : 2007. 8. 27. / 채택일자 : 2008. 2. 22.)