

체지방 감소 다클론 후보 항체가 비거세돈의 체중, 분 소화율 및 혈액 대사물질에 미치는 영향

최창원¹ 백경훈^{2*} 조성백³ 오영균³ 홍성구³ 최창본²

¹대구대학교, ²영남대학교, ³농촌진흥청 국립축산과학원

Effects of Polyclonal Antibody Candidate to Adipocytes for Reducing Body Fat on Body Weight, Fecal Digestibility and Blood Metabolites in Pigs

Chang Weon Choi¹, Kyung Hoon Baek^{2*}, Sung Back Cho³, Young Kyoon Oh³, Seong Koo Hong³ and Chang Bon Choi²

¹Daegu University, ²Yeungnam University, ³National Institute of Animal Science, RDA

ABSTRACT

Twelve pigs were used to investigate the effects of polyclonal antibody candidate against abdominal (AAb) and subcutaneous adipocyte membrane proteins (SAb) on body weight, fecal digestibility and blood metabolites. When AAb and SAb developed by Choi et al. (2010) were injected to pigs, the numerical increase in BW (body weight) occurred at 4 weeks post-treatment, but BW for an entire period was also increased, indicating that the BW increase may not be affected by the antibodies injection. Antibodies treatment did not affect ($P>0.05$) fecal digestibility of dry matter, crude protein, crude fat and crude fiber. Fecal digestibility of crude ash for control (no treatment) at 2 weeks decreased, and that for non-immunized serum treatment group at 4 weeks post-treatment increased, respectively ($P<0.05$). However, fecal digestibility of crude ash for AAb and SAb groups did not significantly change. At 4 weeks after the antibodies treatment, blood urea N concentration for AAb and SAb groups was significantly increased ($P<0.05$). However, these increases may not be caused by the antibodies treatment because similar pattern in blood urea N concentration occurred before the antibodies treatment. Antibodies treatment did not affect concentration of plasma glucose and triglycerides ($P<0.05$). Compared with control, concentration of plasma total cholesterol for AAb and SAb groups at 4 weeks post-treatment was significantly ($P<0.05$) decreased. This may suggest that body fat reduction possibly occurs. In conclusion, the AAb and the SAb developed by Choi et al. (2010) may have safety in nutritional physiological metabolism in pigs. Further study on *in vivo* fat reduction of the antibodies against abdominal and subcutaneous adipocytes of pigs should be required for fat-reduced pork production.

(Key words : Pig, Polyclonal antibody, Fecal digestibility, Blood metabolites, Fat)

서 론

육류소비 시 필수적으로 동반되는 지방 섭취를 줄이기 위한 연구는 육류섭취로 인한 대사성 질환의 발병도가 비교적 높은 서구권에 서 시작되었고(Flint 등, 1986; Kestin 등, 1993; Moloney, 1995), 우리나라의 경우 가축의 불가식 지방 감소 연구는 물론 향후 인간비만증의 치료기법으로써의 확대 등이 기대되면서 돼지(Choi와 Lee, 1996; Choi 등, 1998-2010), 한우(Choi 등, 1997; 2008), 흰쥐(Baek과 Choi, 2002) 등 다양한 동물에서 시도되었다. 특히, 돼지의 경우 육류 자체의 고지방뿐만 아니라, 다른 축종에 비해 인간과의 생리적 유사성으로 인해 항체의 생산 및 항체가 가지는 지방세포 독성효과 등 관심의 대상이 된 것도 사실이다

(Kestin 등, 1993; Moloney 등, 1994). 한편, Choi 등(2010)은 돼지의 주요 장기(심장, 신장, 간장, 비장, 폐 등)에 영향을 주지 않으면서도 지방 부위별로 선택적으로 감소 가능한 다클론 후보항체 결과를 발표하였다. 하지만, 현재까지의 돼지를 이용한 체지방 감소 항체 연구들은 항체 접종 시 돼지의 소화생리 등 영양생리학적 안전성에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 특히 개발된 돼지 체지방 감소 후보항체의 산업화를 위해서는 실험처리로 발생할 수 있는 체내 영양생리학적 안전성을 확보하는 것은 반드시 선행되어야 할 문제이다.

따라서, 본 연구는 체지방 감소 돼지고기 생산을 위해 개발한 복강 및 피하지방 감소 후보 항체(Choi 등, 2010)를 이용하여 생체 주사 처리 시 돼지의 체중, 영양소의 분 소화율 및 혈액대사물질에

* Corresponding author : Kyung Hoon Baek, Yeungnam University, Gyeongsan, 712-749, Korea. Tel: +82-53-810-3023, Fax: +82-53-810-4769, E-mail: nuno@ynu.ac.kr

미치는 영향을 조사하고자 실시되었다.

재료 및 방법

1. 돼지 부위별 체지방 감소 후보 항체 생산

본 연구에서는 Choi 등(2010)에 의해 발표된 돼지 부위별(복강 및 피하) 체지방 감소 항체를 후보 항체로 사용하였다. 간략하게 체지방 감소 항체 생산 방법을 설명하면 다음과 같다.

(1) 돼지 지방세포 원형질막 단백질 분리

Kestin 등(1993)의 방법을 이용하여 돼지 복강 및 피하 지방세포 원형질막 단백질을 분리하였다. 지방조직에서 혈관 및 결합조직 등을 최대한 제거하면서 가위로 잘게 세절한 후, digestion media (DMEM (Hyclone SH30243.01), 0.1% collagenase (Sigma, C6885), 30% bovine serum albumin (BSA, Sigma A2153))와 지방의 비율을 2:1로 하여 shaking water bath에서 collagenase digestion (42°C 90 min)을 실시하였다. Digestion 후 37°C 서 5분간 정치하여 미성숙한 지방세포들로 구성된 하층을 제거한 후 성숙한 지방세포들을 선택적으로 추출한 후 collagenase를 제거한 digestion media (washing media)로 2~3회 세척하여 순수한 지방세포만을 추출하였다. Membrane extraction medium (MEM 0.25M sucrose, 0.01M Na₂HPO₄, 2 mM EGTA, 200 ml distilled water, pH 7.4)을 이용하여 지방세포를 파괴하고 중성지방 층 제거 후, 하층액을 4°C 110,000×g에서 1시간 동안 초고속 원심분리 하였다. 생성된 pellet을 32% sucrose media와 함께 현탁하고, 다시 원심분리 후 원심분리관에 생성된 단백질 밴드만을 따로 취하였다. Pellet의 양에 따라 적당량의 MEM을 첨가한 뒤 DC Protein assay kit (Bio-rad 500-0116, USA)를 이용해 단백질 농도를 측정된 뒤, 항원으로 사용하였다. AAb와 SAb의 원형질막 단백질 패턴 차이는 최 등(2008)에서 보고한 바와 같이 Quantity-one (Bio-Rad, USA) program을 통해 matched test를 실시하여 분석하였으며, 그 결과는 Choi 등(2009a)에서 제시한 바와 같다.

(2) 돼지 부위별 지방 특이 항체의 생산 및 역가 측정

돼지 부위별 지방 특이 후보 항체의 생산을 위한 면역주사는 Baek 등(2005)의 방법에 따라 면양을 이용하여 실시하였다. 수컷 면양 (Corriedale, 체중 60 kg)의 피하 3 부위에 분리된 지방세포 원형질막 단백질을 면역주사 하였으며, 최초 면역주사 이후 결합력이 증진된 높은 titer의 항체 생산을 위해 3주 간격으로 2차례 더 boosting 면역주사를 실시하였다. 1차 면역접종 전 면양의 경정맥을 통해 혈액을 채취한 뒤 상온에서 1시간 정치시켜 혈액을 응고시키고, 2,800 rpm에서 30분간 원심분리 하여 비면역혈청을 분리하였다. 또한, 마지막 면역접종이 끝난 후 12일째에 채혈한 후 비면역혈청 분리 시와 동일한 방법으로 항혈청 (후보 항체)을 분리하였다. 위의 방법으로 생산한 돼지 부위별 지방에 대한 항혈청들은

Kestin 등(1993)과 Choi 등(1997) 방법에 따라 405 nm에서 흡광도를 측정하여 항체의 역가를 확인하였다. 본 연구에 사용된 항체는 희석배율 1:1,000배를 기준으로 비면역혈청은 항원-1:1체 결합 반응이 거의 측정되지 않았으나, 복강 및 피하지방 항체 모두 1:16,000배 희석배율까지 항원-항체 반응이 감지되어 본 연구에서 사용된 부위별 지방 특이 다클론 후보 항체가 지방세포 원형질막 단백질에 대해 매우 강한 역가를 가진 것으로 판단된다 (Choi 등, 2010).

2. 돼지 부위별 체지방 항체 처리

Choi 등(2010)에서 개발한 복강 및 피하지방 후보 항체를 비거세돈 12두에 주사하여 주사 처리 전 및 주사 후 4주간 체중, 사료 섭취량, 분 소화율 및 혈액대사물질에 미치는 영향을 실시하였다 (Fig. 1).

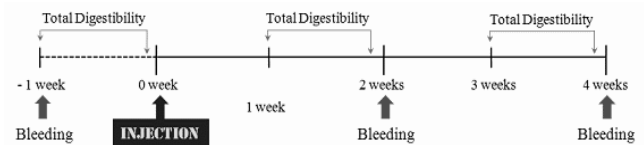


Fig. 1. Experiment outline for investigating the effects of immunization of antisera developed against abdominal or subcutaneous fats from pigs on fecal digestibility and blood metabolites.

(1) 시험동물의 공시 및 사양관리

공시축으로는 비거세돈 12두 (생후 약 5 개월령)를 처리구 당 3두씩 4 처리구로 하였으며, 대조구 (88.5 ± 13.6 kg, control), 비면역혈청 처리구 (89.4 ± 9.6 kg, NAb), 복강항체 처리구 (88.7 ± 6.9 kg, AAb) 및 피하항체 처리구 (89.1 ± 7.2 kg, SAb)로 구분배치하였다. 음수는 자동급수기를 이용해 자유로이 섭취할 수 있도록 하였고, 기초사료는 NRC (1998) 요구량에 따라 배합한 옥수수-1두박 위주 사료로 생체중의 2.5%를 일일 2회 (09시 및 16시) 급여하였으며, 시험사료 배합비는 table 1에 제시한 바와 같다. 영양소의 분 소화율을 측정하기 위하여 시험기간 동안 분을 전량 수거하였다. 시험동물의 사료섭취량은 항체 주사 전 (0 week), 주사 후 2주 및 4주 (시험 종료)의 사료섭취량 측정기간 (7일)동안 매일 동일한 시간 (15시 30분)에 측정하였고, 체중은 후보 항체 주사 전 (0주), 후보 항체 주사 후 1, 2, 3 및 4주에 개체 별로 측정하였다.

(2) 체지방 항체 처리

AAb 및 SAb에는 복강 및 피하지방 후보 항체를 0.45 µm filter로 정제한 뒤 각각 사용하였으며, 주사는 정제된 후보 항체 40 ml를 시험개시일 (0 day)에 등선을 따라 4 부위에 각각 10 ml씩 피하주사 하였다. Control은 주사처리를 하지 않았고, NAb는 항원주사를 하지 않은 면양의 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 뒤 항체처리구와 동일한 방법으로 주사 처리하였다.

Table 1. Formula and chemical composition of the basal diets (%)

Corn, yellow	68.63
Lupin	8.06
Wheat bran	10.81
Soybean meal (44.5%)	3.94
Limestone	0.86
DCP	0.23
Salt	0.30
Soy oil	2.50
Molasses	4.00
Mineral mixture ¹⁾	0.25
Vitamin mixture ²⁾	0.25
L-lysine-HCl	0.17
Total	100.00
Chemical composition ³⁾	
DE (kcal/kg)	3,400
CP (%)	11.50
Lysine (%)	0.60
Calcium (%)	0.45
Phosphorus (%)	0.40

¹⁾ Provided the following amounts per kilogram of diet : selenium 0.15 mg; manganese 0.03 g; zinc 0.1 g; iron 0.1 g; iodine 0.5 mg; magnesium 0.1 g.

²⁾ Provided the following amounts per kilogram of diet : vitamin A 5,500 IU; vitamin D₃ 550 IU; vitamin E 27 IU; menadione sodium bisulfate 2.5 mg; pantothenic acid 27 mg; niacin 33 mg; riboflavin 5.5 mg; vitamin B₁₂ 0.04 mg; thiamin 5 mg; pyridoxine 3 mg; biotin 0.24 mg; folic acid 1.5 mg; choline chloride 700 mg.

³⁾ Calculated value.

3. 분 소화율 및 혈액대사물질 분석

(1) 분 소화율

개발된 후보 항체의 돼지 체내 영양생리 대사 안전성 연구는 건물, 조단백, 조지방, 조섬유 및 조회분의 분 소화율을 통해 확인하였다. 분 소화율의 계산은 시험기간 동안 섭취한 사료의 양과 일반 성분 함량을 토대로 특정 영양성분의 섭취량을 계산한 후, 분으로 배설된 양과 분의 일반성분을 분석함으로써 섭취량과 배설량의 차를 이용하여 계산하였다. 전술한 일반성분의 분석은 AOAC (1995)에 의거하여 분석하였다.

(2) 혈액 대사물질 분석

부위별 체지방 감소 후보 항체 주사 처리 전, 주사 후 2주 및 4주에 경정맥을 통해 각각 채혈을 실시하였다. 혈액응고제 heparin이 처리된 10 ml vacutainer (BD Vacutainer Systems Preanalytical Solutions, BD Vacutainer, USA)로 채혈한 후, 원심분리 (3,000 rpm, 15분)를 통해 혈장을 분리하여 분석 전까지 -20℃에서 냉동보관 하였다. 본 연구에서는 혈액 대사물질 중 사료영양소의 이용 효율을 가늠할 수 있는 중요한 지표인 blood urea nitrogen (BUN), glucose, triglyceride (TG) 및 total cholesterol

(TC) 농도를 생화학 자동분석기(CIBA-Corning, Express Plus, USA)를 이용하여 분석하였다.

4. 통계

본 연구에서 도출된 사료섭취량, 분 소화율 및 혈액 대사물질 결과에 대한 실험구간 및 후보 항체처리 전 후 간 통계분석은 SAS 통계 package (2002)에 포함된 일반선형모형 (GLM procedure)를 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 유의성 검증은 Duncan (1955)의 다중검정법으로 95% 신뢰수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 돼지 부위별 체지방 감소 항체 생산

본 연구의 주 목적인 돼지 부위별 체지방 감소 항체의 생체 주사 시 사료섭취량, 분 소화율 및 혈액 대사물질에 미치는 영향을 탐색하기 위해 생산된 후보 항체는 기 발표 (Choi 등, 2010)된 바와 같이 높은 항체의 역가를 나타내었음은 물론 *in vitro* 시험을 통해 타자기 안전성 역시 확인하였다. 또한, *in vitro* 세포배양을 통해 지방세포에 대해 매우 강한 결합력 (파괴효과)을 가진 항체임을 확인하였다 (see Choi 등, 2010). 따라서, 본 고에서는 항체 개발관련 결과 및 고찰은 생략하기로 한다.

2. 체중 및 사료섭취량

본 연구에서 돼지에 직접적으로 주사 처리된 AAb 및 SAb에 대한 공식축의 체중 변화는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에 나타난 바와 같이 체중은 항체주사 전 (0 week), 항체 주사 후 1 주 간격으로 측정하였다. 시험 종료 시점 (4주)을 기준으로 볼 때, 평균 체중으로 보면 후보 항체의 처리로 인한 돼지의 성장에 특별한 차이는 없는 것으로 확인되었다 ($P>0.05$). 다만, 전 기간에 걸쳐 수치적 증가를

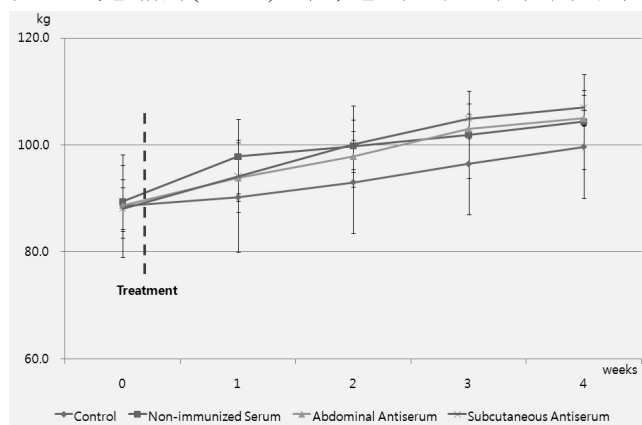


Fig. 2. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats on the change of body weight of pigs.

나타나는 것은 돼지의 일반적인 성장에 기인하는 것으로 판단된다. 비록 통계적 유의성은 없었으나, 후보 항체 주사 후 항체처리구의 1주째 체중 증가는 비교적 완만한데, 이것은 항체 주사로 인한 일시적인 현상으로 한우를 이용한 최근 연구(Choi 등, 2009b) 및 흰쥐 연구(Baek과 Choi, 2002)의 결과와 유사하였다. 특이한 점은 비록 통계적인 유의 차는 없었으나 control의 체중이 시험종료 시점까지 가장 낮은 것으로 나타났는데, NAb의 체중으로 미루어보아 AAb 및 SAb 처리구에서 나타난 체중의 증가효과는 항체에 의한 성장효과라고 보기엔 무리가 있으며, 시험축 개체간의 차이에서 비롯된 것으로 추측된다. Baek 등(2007)은 돼지를 이용한 다클론 항체 개발 및 특성에 관한 연구에서 돼지 지방세포 원형질막 단백질에 대한 항혈청은 돼지의 체중에 특이한 영향을 미치지 않는다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사한 결과를 보고하였다. 다른 축종인 한우의 경우도 부위별 지방감소 후보항체가 성장에 특별한 영향을 미치지 않는다고 보고하였다(Choi 등, 2009b).

Fig. 3은 돼지 불가식 체지방 감소 후보 항체의 *in vivo* 안전성 연구 결과 중 사료섭취량의 변화를 측정하였다. 사료섭취량은 시험 전(0 week), 주사 후 2주(2 weeks) 및 시험 후 4주(4 weeks) 시점에 각 7일씩 측정하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 시험돈들의 사료섭취량은 주사의 처리 및 후보 항체의 처리로 인한 특별한 차이를 나타내지 않는 것으로 확인되었다. 다만, 각 처리구들의 사료섭취량은 시험 전과 비교해서 시험 4주, 즉 시험 종료 시점에서 수치적 증가(control 및 NAb) 또는 유의적 증가(AAb 및 SAb, $P<0.05$)가 나타났는데, 이는 시험돈의 체중 증가에 의한 사료의 제한급여량(시험돈 체중의 2.5% 급여)이 증가한 결과로 판단된다. 역으로 생각하면, 2주 차의 사료섭취량 변화가 없는 것이 오히려 후보 항체로 인한 사료섭취량의 감소로 추측할 수 있으나, control 및 NAb의 사료섭취량도 크게 변화가 없는 것으로 보아 체중 측정, 혈액채취 등의 적응으로 인한 일시적인 현상으로 사료된다. 한편, 대다수의 항체관련 *in vivo* 연구결과(Futter 등, 1992; Kestin 등, 1993; Flint, 1998; Monoley 등, 2002)에서 항체 주사 직후 항체처리구의 사료섭취량이 감소되는 결과들을 보고하였는데, Futter 등(1992)은 흰쥐 지방세포 감소 항체를 처리한 경우 사료섭취량 및 체중 감소를 보고하였고, Flint(1998)는 대조구 대비 40%의 사료섭취량 감소가 있었다고 보고하였다. 국내의 경우 한우(Choi 등, 2009b) 및 흰쥐(Baek과 Choi, 2002)에 있어서 항체 처리 시 일시적인 사료섭취량 감소를 보고하였다. 본 시험에서는 2주 간격으로 사료섭취량 측정기간을 따로 두고 사료섭취량을 측정하였기 때문에 특이적으로 사료섭취량이 감소하는 효과를 확인하지 못했다. 하지만 전술한 후보 항체 주사 후 사료섭취량이 감소하는 국내 외 *in vivo* 시험 결과들 또한 사료섭취량 감소가 매우 일시적인 것으로 시간 경과에 따라 사료섭취량이 회복되어 시험 종료 시에는 대조구들의 사료섭취량과 비교 시 차이가 나타나지 않아, 이는 본 연구의 결과와 일치한다. 따라서 현재까지의 결과들로 미루어보아, 본 연구에서 개발된 돼지 AAb 및 SAb들은 시험돈의 체중 및 사료섭취량에 특이한 영향을 미치지 않는 안전한 항체로

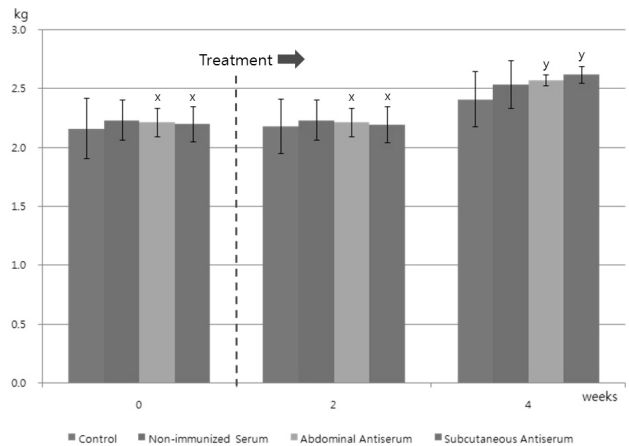


Fig. 3. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats on feed intake of pigs. Mean±S.E. (n=3). Values with different letters x or y are different between 3 times (0, 2, and 4 weeks) by the same group ($P<0.05$).

판단된다.

3. 영양생리 안전성

현재까지 돼지를 대상으로 체지방 감소를 위한 지방세포 다클론 항체 주사 처리 시 분 소화율 등 영양생리대사에 미치는 영향에 대한 연구는 본 연구가 최초이다. 따라서, 기존 연구 결과와 현재 결과와의 비교 및 고찰은 불가능하였으며, 다만 일반적인 사료 급여 시 나타나는 영양생리적 반응 수준 등에 대한 기존의 연구와 최근 한우를 대상으로 실시한 항체의 영양생리적 안전성 연구(Choi 등, 2009b) 등을 중심으로 비교하여 현재 개발된 후보 항체에 대한 생체 영양생리 안전성 유무를 고찰하였다.

(1) 분 소화율

Fig. 4는 항체의 처리가 돼지의 분 소화율에 특이한 영향을 미치는가를 확인해보기 위해 실시한 분 소화율 측정결과이다. 건물, 조단백질, 조지방 및 조섬유의 분 소화율은 후보 항체 주사 전, 후 및 시험구 간의 통계적 유의성이 나타나지 않았다($P>0.05$). 조회분 소화율의 경우 주사 후 2주째 control에서 감소를 및 4주째 NAb에서 증가를 보였는데($P<0.05$), 항체 처리구가 아니라는 점에서 이것은 실험 또는 분석상의 오차에서 기인한 것으로 판단된다. 시험구 간의 비교에서 주사 후 4주째 AAb 및 SAb에서 수치적($P>0.05$) 또는 통계적 감소($P<0.05$)를 보였는데, 주사 처리 전인 0주 및 2주에서도 매우 유사한 패턴을 보이는 바, 항체처리에 의한 영향보다는 개체 간의 차이에서 기인한 결과로 사료된다. 일반적으로 단위동물의 소화율은 섭취사료의 종류 및 외부 첨가제 등에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있는데(Sauer 등, 1991; Scheuermann, 1993; Hong and Lindberg, 2007), 본 연구에서

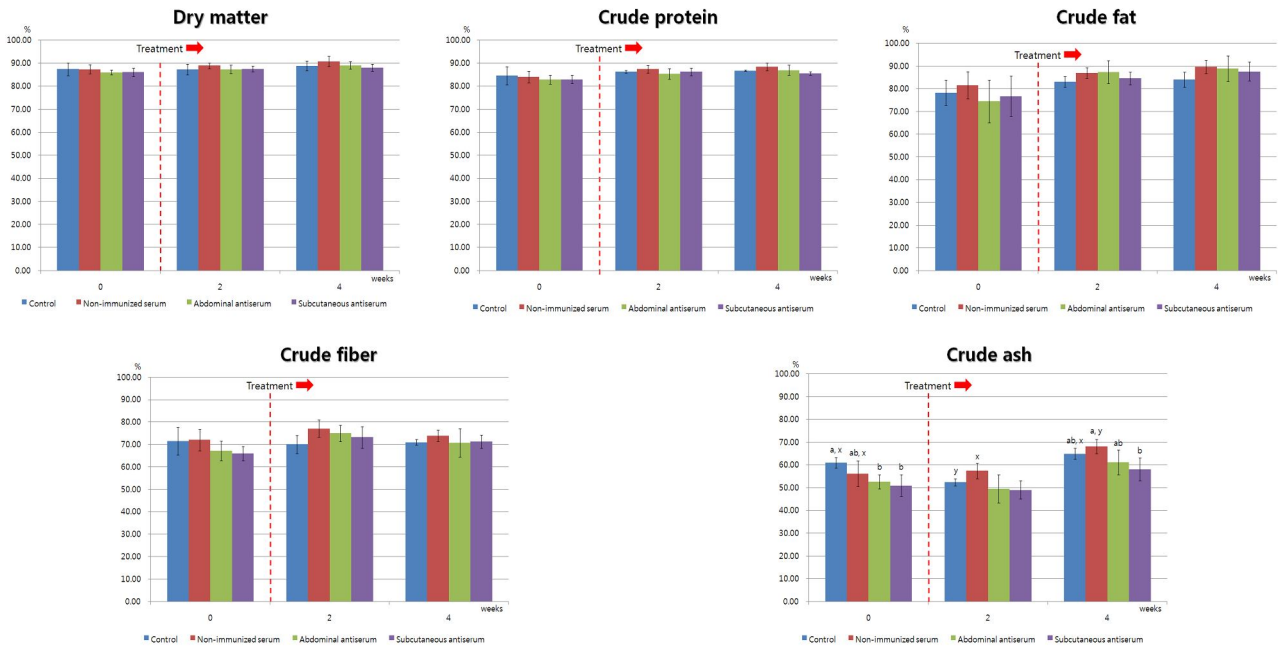


Fig. 4. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats on fecal digestibility of dry matter, crude protein, crude fat, crude fiber and crude ash in pigs. Mean±S.E.(n=3). Values with different letters a or b are different between 4 groups within the same time and x or y are different between 3 times (0, 2, and 4 weeks) by the same group (P<0.05).

항체의 처리가 돼지의 분 소화율에 영향을 미치지 않았다는 사실은 후보 항체가 돼지의 영양생리대사에 특이한 영향을 미치지 않는다고 판단된다.

(2) 혈액 대사물질

혈액 대사물질 변화는 가축의 영양소 이용과 대사를 직접적으로 측정하여 비교함으로써 시험처리(사료, 첨가제, 항체주사 등)로 인한 영향을 알 수 있어 체중, 사료섭취량, 영양소의 분 소화율 등과 함께 영양생리 연구에 있어서 매우 중요한 지표이다(Kwon 등, 2005; Raghuvansi 등, 2006). Fig. 5-8는 항체의 주사 처리에 의한 돼지 혈액 내 BUN, glucose, TG 및 TC 농도 변화를 나타낸 것이다. 혈 중 BUN 함량은 시험종료 시점인 주사 후 4주에서 AAb 및 SAb 유의적으로 (P<0.05) 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 5). 일반적으로 BUN의 증가는 단백질의 체내 이용성이 개선되어 단백질의 흡수율이 증가된 것으로 해석할 수 있다(Enright 등, 1990). 실제 항체를 처리한 처리구에서 지방세포의 파괴와 동시에 단백질 합성이 보상적으로 일어난다는 보고(Futter와 Flint, 1987; Panton 등, 1990)들이 있다. 하지만, 본 연구에서 나타난 증가는 후보 항체 주사 전(0주) 및 주사 후2주에서도 유의적(0주) 또는 수치적으로(2주) 유사한 패턴이 나타난 것으로 볼 때, 항체 처리에 의한 차이보다는 개체간의 차이로 인한 현상으로 사료되어 BUN 함량의 결과만으로는 보상성장이 일어났다고 판단하기 어렵다. 따라서, 향후 개발된 지방 감소 후보항체의 *in vivo* 효과 시험 시 단백질 보상성장 유무에 대해서도 자세하게 조사되어야 할 것으로

생각된다. 한편, 주사 전을 기준으로 볼 때, 주사 후 4 주차의 모든 시험구에서 유의적으로 BUN 감소(P<0.05)가 나타났다. 하지만, 이것 역시 후보 항체 처리구 뿐만 아니라, control 및 NAb 구의 BUN 함량도 감소되는 것으로 보아 항체보다는 시험 진행 및 샘플링에서 기인된 영향으로 판단된다. 전 시험구의 BUN 농도

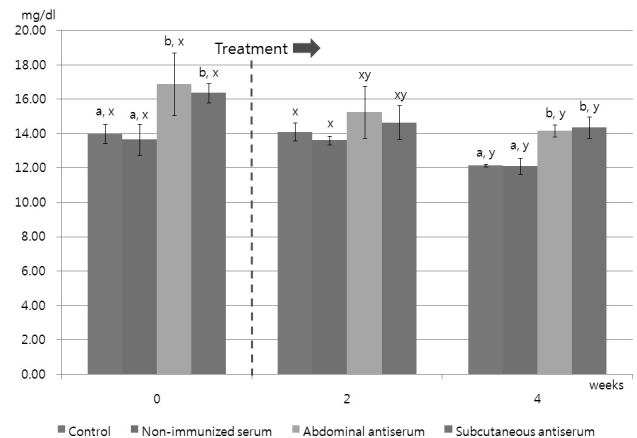


Fig. 5. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats on blood urea-N concentration in pigs. Mean±S.E.(n=3). Values with different letters a or b are different between 4 groups within the same time and x or y are different between 3 times (0, 2, and 4 weeks) by the same group (P<0.05).

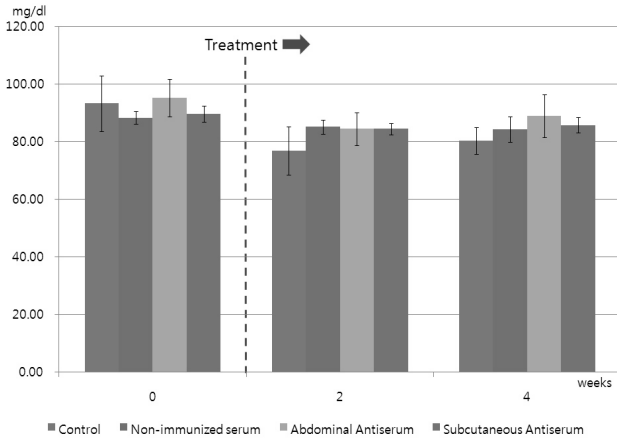


Fig. 6. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats on plasma glucose concentration in pigs. Mean \pm S.E. (n=3).

(12.1~16.9 mg/dl)는 기존 연구에서 일반적인 사료 급여 시 나타나는 비육돈의 BUN 평균 농도 범위에서 크게 벗어나지 않는 것으로 나타났다(Kook 등, 2005; Kim 등, 2006; Park 등, 2006).

Fig. 6은 항체의 처리로 인한 돼지 혈장 내 glucose 함량의 변화를 나타낸 것이다. 돼지 혈 중 glucose 수준은 항체 주사 전, 주사 후 2주 및 4주 경과 시까지 유의적 차이를 나타내지 않았다($P > 0.05$). 또한, 동일한 시간(week) 내 시험구 간의 glucose 함량에서도 통계적 유의성이 나타나지 않았다. 다만, 주사 후 2주째 control에서 나타난 glucose 농도의 수치적 감소는 특별한 외부 영향이 없었던 무처리구이었기 때문에 혈액 채취 등으로 인한 오차 또는 시험축들의 개체 차에 기인한 것으로 판단된다. 이러한 결과는 후보 항체의 처리로 인하여 파괴된 지방세포에서 유리되는 TG의 대사로 인하여 혈중 glucose 농도가 증가할 것이라는 예상과는 다소 상이한 결과이다. Moloney 등(1998)은 흰쥐를 이용한 지방 감소 항체 연구에서 혈중 glucose 농도에 변화가 없었다고 보고하였으며, 한우에 있어서도 본 연구 결과와 유사하게 부위별 지방 감소 후보항체 처리 시 혈액 내 glucose 농도에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였다(Choi 등, 2009b). 한편, 기존 연구에서 돼지를 이용한 일반적인 사료 급여와 비교했을 때 본 시험에 사용된 시험축들의 glucose 농도(76.8~95.3 mg/dl)는 모두 정상 수준이었다(Kook 등, 2005 Park 등, 2006).

Fig. 7은 후보 항체 주사 처리가 혈액 내 TG 농도에 미치는 영향을 보여주고 있다. 혈액 내 TG 농도는 동일한 시간(week) 내 시험구 간 유의적인 차이는 나타나지 않았다($P > 0.05$). 항체 주사 전(0주)과 비교해서 주사 후 2 및 4주에서 유의적(control, NAb 및 AAb; $P < 0.05$) 및 수치적으로(SAb, $P > 0.05$) 증가를 보였다. 이것은 돼지 체내 지방세포가 항체에 의해서 파괴되어 유리된 TG에 의해 기인되었다고 추측될 수 있지만(Baek과 Choi, 2002), 전술한 바와 같이 시험구 간 TG 농도의 유사한 패턴과 혈 중 glucose 농도에서 유의적 증가가 없었던 것으로 보아 단순히 후보

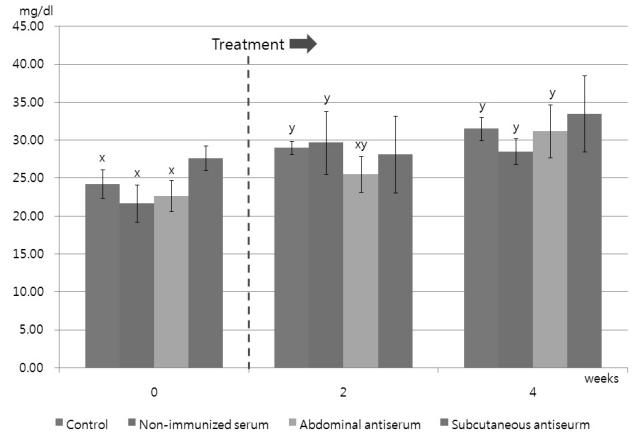


Fig. 7. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats on plasma triglyceride concentration in pigs. Mean \pm S.E. (n=3). Values with different letters x or y are different between 3 times (0, 2, and 4 weeks) by the same group ($P < 0.05$).

항체에 의한 증가라고 판단할 수는 없다. 다만, Choi 등(2009b)의 연구에서 항체 처리 시 혈중 glucose 농도의 증감에는 영향을 주지 않으면서도 혈액 내 TG의 수치적 증가가 나타난 것으로 볼 때, 향후 항체에 의한 돼지 *in vivo* 체지방 함량 연구 시 좀더 추가적인 고찰이 필요할 것으로 생각된다.

Fig. 8은 후보 항체 주사 처리가 혈액 내 TC 농도에 미치는 영향을 나타내고 있다. 항체 주사 전(0주)과 비교해서 혈액 내 TC 농도는 주사 후 2주에서는 유의적인 차이는 나타나지 않았고($P > 0.05$), 주사 후 4주에서는 AAb 및 SAb에서 유의적 감소($P < 0.05$)를 보였다. 같은 시간(week) 내 시험구 간 TC 농도는 control에 비해 유의적인($P < 0.05$) 감소를 보였다. 비록 항체 주사

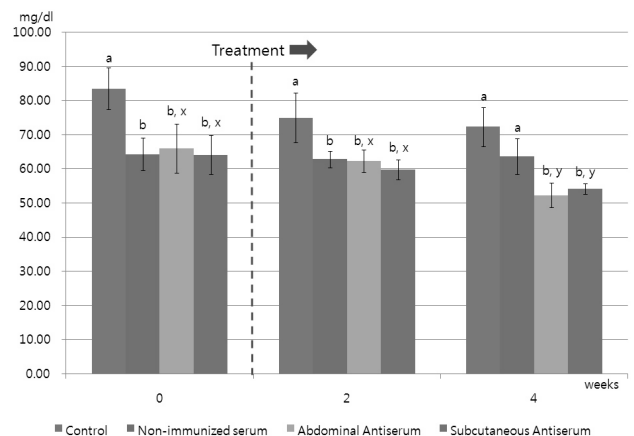


Fig. 8. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats on plasma total cholesterol concentration in pigs. Mean \pm S.E. (n=3). Values with different letters a or b are different between 4 groups within the same time ($P < 0.05$).

전에서 시험구 간 유사한 패턴이 나타나 TC 농도 감소와 체지방량 감소의 관련성을 명확히 설명하기 어렵지만, 혈액 내 TC 농도는 체내 지방침착도 및 도체 지방량과 양의 밀접한 관계가 있음을 고려할 때(Wheeler 등, 1987; Early 등, 1990), 추가적인 *in vivo* 시험이 필요할 것으로 사료된다. 한편, 본 연구에서의 TC 농도 (52.3~83.5 mg/dl)는 기존 연구에서 일반적인 단위동물의 혈액 내 TC농도와 유사한 수준이었다(Park 등, 2006 Cui 등, 2008).

이상의 결과를 종합해보면, 본 연구에서 이용된 돼지 복강 및 피하 체지방 감소 후보 항체는 *in vitro* (Choi 등, 2010) 뿐만 아니라 *in vivo* 영양생리대사에 부정적 영향을 미치지 않는 안전한 항체로 판단된다.

요 약

본 연구는 비거세돈 12두를 이용하여 돼지 복강 및 피하지방 감소 후보 항체를 생체 주사 처리 시 체중, 분 소화율 및 혈액 대사물질 등 영양생리대사에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다. Choi 등 (2010)에서 개발된 돼지 복강 및 피하지방 감소 후보 항체를 피하 주사하였을 때 주사 후 4주까지 평균 체중은 수치적 증가가 발생했으나 ($P>0.05$), 전 기간에 걸쳐 수치적 증가를 보여 항체의 처리로 인한 영향보다는 돼지의 일반적인 성장에 기인하는 것으로 판단된다. 항체 주사 처리 시 건물, 조단백질, 조지방 및 조섬유의 분 소화율은 항체 주사 전, 후 및 시험구 간의 통계적 유의성이 나타나지 않았다 ($P>0.05$). 조회분 소화율의 경우 항체 주사 후 2주째 control에서 감소를 및 4주째 NAb에서 증가를 보였으나 ($P<0.05$), AAb 및 SAb에서는 유의적 변화가 없었다. 혈액 대사물질의 변화에서는 항체 주사 후 4주의 AAb 및 SAb에서 BUN 농도가 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다 ($P<0.05$). 하지만, 후보 항체 주사 전에서도 유사한 패턴으로 유의적 증가를 보여 항체 처리에 의한 차이보다는 개체간의 차이로 사료된다. 혈액 내 glucose 및 TG 농도는 후보 항체 처리에 의한 유의적 차이는 나타나지 않았다 ($P>0.05$). 체지방 함량과 밀접한 관계에 있는 혈액 내 TC 농도에서는 control 대비 후보 항체 주사 후 4주차 AAb 및 SAb에서 유의적 감소가 나타나 ($P<0.05$), 체지방 감소가 일어나고 있음을 간접적으로 추론할 수 있다. 이상의 결과를 볼 때, 본 연구에서 이용된 AAb 및 SAb는 *in vivo* 영양생리대사에 부정적 영향을 미치지 않는 안전한 항체로 판단된다.

Key words : 돼지, 다클론 항체, 분 소화율, 혈액 대사물질, 지방

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업 수행결과의 일부로 연구비 지원에 감사 드립니다.

- AOAC. 1995. Official method of analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemist, Washington DC.
- Baek, K. H. and Choi, C. B. 2002. Effects of polyclonal antiserum against adipocyte plasma membrane proteins on body composition of passively immunized Sprague-Dawley male rats. J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.) 44:39-44.
- Baek, K. H., Choi, C. W., Choi, C. B. and Lee, B. S. 2007. Passive immunization approach to reduce body fat in pigs using fat-specific polyclonal antiserum. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 20: 1594-1599.
- Baek, K. H., Kwak, T. H., Oh, Y. S., Choi, C. W., Jung, K. K. and Choi, C. B. 2005. Studies on the development and utilization of polyclonal antibodies against swine adipocyte plasma membrane proteins. J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.) 47:19-28.
- Choi, C. B., Lee, M. J. and Kwon, E. J. 1997. Development of polyclonal antibody to adipocyte plasma membrane proteins isolated from Korean Naive Cattle. Korean J. Anim. Sci. 39: 669-674.
- Choi, C. B., Lee, M. J. and Kwon, E. J. 1998. Production of polyclonal antibodies specific to porcine adipocyte plasma membrane proteins in sheep. Korean J. Biomed. Lab. Sci. 4: 57-63.
- Choi, C. B. and Lee, S. R. 1996. Studies on the production of lean pork by immunological approach - Development of antibodies to porcine adipocyte plasma membrane. Korean J. Anim. Sci. 38:369-374.
- Choi, C. W., Baek, K. H., Choi, C. B., Oh, Y. K. and Hong, S. K. 2010. Development of polyclonal antibodies to abdominal and subcutaneous adipocytes for producing fat-reduced high quality pork. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 30(1):87-94.
- Choi, C. W., Baek, K. H., Kim, S. J., Cho, S. B., Park, J. C., Kim, I. C., Kim, S. H., Ji, S. Y. and Choi, C. B. 2009a. Screening of specific protein binding to antibody against adipocyte plasma membrane proteins of pig. 한국동물자원과학회 학술발표회. PF29024. pp. 173
- Choi, C. W., Baek, K. H., Kim, S. J., Oh, Y. K., Hong, S. K., Kwon, E. K., Song, M. K. and Choi, C. B. 2009b. Effects of polyclonal antibodies to abdominal and subcutaneous adipocytes on ruminal fermentation patterns and blood metabolites in Korean native steers. J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.). 51: 231-240.
- Choi, C. W., Kim, Y. H., Kim, S. J., Song, M. K., Kwon, E. K., Oh, Y. K., Hong, S. G. Choi, S. H. and Baek, K. H. 2008. Development of polyclonal antibodies to abdominal and subcutaneous adipocytes for fat-reduced Hanwoo beef production. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 28:651-659.
- Cui, X. S., Kim, H. I. and Cho, S. K. 2008. Effect of the water

- soluble extracts from velvet antler on lipid metabolism and blood components in rats. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)*. 50:417-428.
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*. 11:1-42.
- Early, R. J., McBride, B. W. and Ball, R. O. 1990. Growth and metabolism in somatotropin-treated steers : 1. Growth, serum chemistry and carcass weights. *J. Anim. Sci.* 68:4134-4143.
- Enright, W. J., Quirke, J. F., Gluckman, P. D., Breier, B. H., Kennedy, L. G., Hart, I. C., Rochechoert, J. F. and Allen, P. 1990. Effects of long-time administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. *J. Anim. Sci.* 68:2345-2356.
- Flint, D. J., Coggrave, H., Futter, C. E., Gardner, M. J. and Clarke, D. J. 1986. Stimulatory and cytotoxic effects of an antiserum to adipocyte plasma membranes on adipose tissue metabolism *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Obes.* 10:69-77.
- Flint, D. J. 1998. Effects of antibodies to adipocytes on body weight, food intake, and adipose tissue cellularity in obese rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 252:263-268.
- Futter, C. E. and Flint, D. J. 1987. Long-term reduction of adiposity in rats after passive immunization with antibodies to rat fat cell plasma membranes. In: E. M. Berry, S. H. Blondheim, H. E. Eliahon and E. Shafir (Ed.). *Recent Advances in obesity research: V.* in Proc. 5th Int. Congr. on Obesity, Sept. 14-19, 1986, Jerusalem, Israel. p181. John Libbey and Company, London.
- Futter, C. E., Panton, D., Kestin, S. and Flint, D. J. 1992. Mechanism of action of cytotoxic antibodies to adipocytes on adipose tissue, liver, and food intake in the rat. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 16(8):615-622.
- Hong, T. T. and Lindberg, J. E. 2007. Effect of guar gum on nitrogen secretion into isolated loops of jejunum in conscious growing pigs. *Br. J. Nutr.* 52:499-505.
- Kestin, S., Kennedy, R., Tonner, E., Kiernan, M., Cryer, A., Griffin, H., Butterwith, S., Rhind, S. and Flint, D. J. 1993. Decreased fat content and increased lean in pigs treated with antibodies to adipocyte plasma membranes. *J. Anim. Sci.* 71, 1486-1494.
- Kim, H. J., Min, B. J., Cho, J. H., Chen, Y. J., Yoo, J. S., Kim, I. H., Jang J. S. and Lee, Y. K. 2006. Effects of mud flat bacteria origin protease supplementation on growth performance, amino acid digestibility, blood characteristics, meat quality, fecal VFA and NH₃-N concentration in finishing pigs. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 48:49-58.
- Kook, K., Jeong, J. H. and Kim, K. H. 2005. The effects of supplemental levels of bamboo vinegar liquids on growth performance, serum profile, carcass grade, and meat quality characteristics in finishing pigs. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 47:721-730.
- Kwon, E. G., Hong, S. K., Seong, H. H., Yun, S. G., Park, B. K., Cho, Y. M., Cho, W. M., Chang, S. S., Shin, K. J. and Paek, B. H. 2005. Effects of ad libitum and restricted feeding of concentrates on body weight gain, feed intake and blood metabolites of Hanwoo steers at various growth stages. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 47:745-758.
- Moloney, A. P. 1995. Immunomodulation of fat deposition. *Livest. Prod. Sci.* 42:239-245.
- Moloney, A. P., Allen, P. and Enright, W. J. 1998. Passive immunization of sheep against adipose tissue: effects on metabolism, growth and body composition. *Livest. Prod. Sci.* 56:233-244.
- Moloney, A. P., Moore, W. and Allen, P. 1994. Decreasing body fat by passive immunisation against adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 72 (suppl. 1):364.
- Moloney, A. P., Allen, P. and Enright, W. J. 2002. Body composition and adipose tissue accretion in lambs passively immunised against adipose tissue. *Livest. Prod. Sci.* 74:165-174.
- Panton, D., Futter, C., Kestin, S. and Flint, D. 1990. Increased growth and protein deposition in rats treated with antibodies to adipocytes. *Am. J. Physiol.* 258:E985-9.
- Park, J. C., Kim, Y. H., Jung, H. J., Lee, S. D., Jang, H. D., Kim, I. C., Lee, S. J., Lee, J. J., Lee, C. H. and Lee, S. S. 2006. Effects of dietary supplementation of cultured wild-ginseng powder or its fermented culture byproducts on growth performance and carcass parameters in finishing pigs. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 48:819-826.
- Raghuvansi, S., Tripathi, M., Mishra, A., Chaturvedi, O., Prasad, R., Saraswat, B. and Jakhmola, R. 2006. Feed digestion, rumen fermentation and blood biochemical constituents in Malpura rams fed a complete feed-block diet with the inclusion of tree leaves. *Small Rumin. Res.* 71:21-30.
- SAS. 2002. *SAS User's Guide, Statistics, Version 9.1 Ed.* SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Sauer, W. C., Mosenthin, R., Ahrens, F. and den Hartog, L. A. 1991. The effect of source of fiber on idea and fecal amino acid digestibility and bacterial nitrogen excretion in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 69:4070-4077.
- Scheuerermann, S. E. 1993. Effect of the probiotic Paciflor (CIP5832) on energy and protein metabolism of growing pig. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41:181-186.
- Wheeler, T. L., Davis, G. W., Stoecker, B. J. and Harmon, C. J. 1987. Cholesterol concentration of longissimus muscle, subcutaneous fat and serum of two beef cattle breed types. *J. Anim. Sci.* 65:1531-1537.

(접수일자 : 2010. 1. 20 / 수정일자 : 2010. 6. 8 /

채택일자 : 2010. 7. 22)