

## 고도 불포화지방산으로 산화스트레스가 유도된 흰쥐의 뇌에서 비타민 E의 항산화효소 활성 및 CYP2E1 발현에 미치는 효과

최문지<sup>1</sup> · 김현경<sup>1</sup> · 이명숙<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>성신여자대학교 비만과학연구소

<sup>2</sup>성신여자대학교 식품영양학과 영양생화학/유전체 연구실

### Vitamin E *in vivo* Studies on the Activity of Antioxidant Enzymes and CYP2E1 Expression in High PUFA-treated Brains

Munji Choi<sup>1</sup>, Hyunkyung Kim<sup>1</sup>, and Myoungsook Lee<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Obesity Sciences and

<sup>2</sup>Dept. of Food and Nutrition, Sungshin University, Seoul 142-732, Korea

#### Abstract

It is shown that the risk of chronic disease is increased not only by the concentration of fat in the diet but also by the composition of dietary fatty acids. We investigated the anti-oxidant effects of vitamin E on dietary polyunsaturated fatty acid-fed mice. Ninety male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 9 groups: a normal diet group (C), 4 dietary polyunsaturated fatty acid diet groups (OA, LA, LNA, DHA), and 4 dietary polyunsaturated fatty acid diet with 0.05% vitamin E groups (OAE, LAE, LNAE, DHAE). The food efficiency in the dietary polyunsaturated fatty acid diet groups was higher than in the normal diet groups. The concentration of malondialdehyde (MDA) was significantly increased by LA and DHA fatty acids. Vitamin E significantly decreased LA and LHA-induced lipid peroxidation. The activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase was increased in the dietary polyunsaturated fatty acid diet groups compared to the control group, while these were decreased by supplements with vitamin E, except in the OAE group. Also, the protein expression of CYP2E1 was significantly increased in only the LNA group, while these were decreased by supplements with vitamin E. These results taken together indicate that vitamin E may have positive effects on a dietary polyunsaturated fatty acid diet-induced oxidative stress in brain tissue.

**Key words:** dietary polyunsaturated fatty acid, vitamin E, oxidative stress, brain

#### 서 론

국민건강영양조사에 따르면 1998년 이후 우리 식생활 패턴의 서구화현상에 따라 식이지방 섭취가 계속 증가하다가 2010년에는 약 20% 에너지 섭취비율로 나타났으며 주요 급원으로는 육류, 곡류, 식물성 유지류 등으로 보고되었다(1). 역학 조사 및 동물실험을 통해 동물성지방 섭취의 증가는 유방암, 피부암, 대장암과 동맥경화증 및 심장병 등의 증가와 관련 있는 것으로 보고되어 지방의 섭취를 줄이고 동시에 식물성 지방의 섭취를 권장해 왔다(2).

포화지방산에 비하여 다중불포화지방산(polyunsaturated fatty acid; PUFA)은 혈중 중성지질(TG), 총 콜레스테롤(TC), LDL-콜레스테롤을 낮추는 것으로 알려져 있다(3). 이외에도 prostaglandin(PG), leukotriene(LT) 및 thromboxane(TX)으로 전환되어 각종 생리현상의 유지, 조절 및 염증

반응 조절에도 관여하고 있다(4). 특히 어유에 많이 함유된  $\omega$ -3 지방산인 docosahexaenoic acid(DHA)는 혈중 TG 억제 및 혈관이완 효과가 보고되었다. 그러나 산화되기 쉬운 불포화지방산을 과잉 섭취하면 지질과산화물을 초래할 수 있다(5). 즉, PUFA의 불안정한 cis형 이중결합과 지방산 자체의 불포화도로 인해 자유라디칼 및 지질과산화물이 더욱 많이 생성할 가능성이 높으며 이는 세포막 파괴, 노화, 암 및 여러 종류의 퇴행성 질환을 일으켜 생체에 치명적인 영향을 미칠 수 있다(6,7). High-PUFA 식사를 한 동맥경화증 환자의 경우, 동맥경화증 사망률은 낮아졌지만 암으로 인한 사망률이 증가한 예로 알 수 있다(8).

생체 세포막의 주요 구성성분인 PUFA 및 체내 각종 지질은 활성산소(ROS)에 의한 malondialdehyde(MDA)와 같은 지질과산화물로 전환되며, 이렇게 생성되는 지질과산화물을 비롯한 여러 가지 체내 과산화물은 세포에 대한 산화적

\*Corresponding author. E-mail: mlee@sungshin.ac.kr  
Phone: 82-2-920-7211, Fax: 82-2-920-2078

파괴로 인해 각종 기능 장애를 야기하고 DNA 및 효소단백 등 각종 세포구성 물질에 대하여 산화성 변화를 일으킨다(9). 특히, 뇌는 높은 산소 요구와 높은 수준의 불포화지방산의 양, 상대적으로 빈약한 항산화 방어 기전 때문에 산화스트레스에 가장 민감한 조직이다(10). 또한 뇌는 높은 대사율과 풍부한 철분 함량, 높은 산소 소비량, 낮은 세포 재생능력 때문에 취약하다고 보고되었다(11,12). 즉, 뇌 조직은 산화스트레스에 민감하기 때문에 섭취되는 지방산에 의한 산화스트레스를 최소화하기 위해서는 항산화제의 적절한 섭취가 중요하다.

체내에는 ROS를 제거하여 세포파괴를 억제하거나 항산화 효소를 재생하여 항산화 능력을 강화시키는 항산화효소 시스템이 있다. Superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GPx), catalase(CAT) 등과 같은 항산화 효소계와 식품이나 보충제로 얻어야 하는 비 효소계 항산화제(vit C, E 및 Se)가 있다. 콩, 옥수수, 목화씨, 해바라기씨 등의 식물성 기름과 씨눈에 많이 함유된 비타민 E는 토코페롤( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocopherol)과 토코트리엔놀( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocotrienol)이 있다. 알파-토코페롤은 가장 큰 생물학적 활성을 갖고 있으며 세포막에 존재하는 비타민 E는 산소를 함유하는 활성물질로부터 산화되기 쉬운 PUFA를 대신하여 먼저 산화되어 생체막을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 고용량의 비타민 E를 섭취할 경우에 관상동맥성 심장질환, 뇌졸중 위험이 감소되는 것과 관련이 있다(13-15). 또한 식이로 섭취된 비타민 E는 막 안전성과 생리적인 기능에 관하여 중추신경계에 중요 역할을 하는 것으로 알려져 있으므로 본 연구에서는 비 효소계 항산화제 중 비타민 E가 적절하다(16).

뇌에서는 cytochrome P450 계열 중 DHA 등 고도 불포화지방산 및 포도당신생과정 전구체 등이 CYP2E1의 외인성 기질로써 산화, 환원, 결합 등의 과정을 통해 수용성으로 전환하여 대사, 배설되게 하는 기능을 가진다(17).

따라서 본 연구는 고농도 PUFA 섭취로 산화스트레스가 유도된 쥐에게 비타민 E의 첨가 식이가 뇌의 항산화효소 및 cytochrome P450 효소계(CYP2E1)의 활성에 미치는 영향을 관찰하여, PUFA에 대한 비타민 E의 항산화 효과를 규명함으로써 산화스트레스와 관련된 뇌혈관의 퇴행성 질환에 관한 예방인자를 제안하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물의 사육

3주령의 Sprage-Dawley계 수컷 흰쥐(85.8±5 g)를 1주간 기본식이로 적응시킨 후 난괴법(randomized block design)에 따라 10마리씩 9군(Control, OA, OAE, LA, LAE, LNA, LNAE, DHA, DHAE)으로 나누었다. 실험식이(Table 1)는 AIN-76을 기본식이로 대조군(C), 10% 올리브유 첨가군(oleic acid; OA, Virgin, Seoul, Korea), 10% 옥수수유 첨가군(linoleic acid; LA, 대상, Seoul, Korea), 10% 들깨유 첨가군(linolenic acid; LNA, CJ, Seoul, Korea), 10% 어유군(docosahexaenoic acid; DHA, 삼립웰가, Seoul, Korea) 및 식이 불포화지방산 사료조성에 0.05%  $\alpha$ -tocopherol(Sigma, St. Louis, MO, USA) 첨가군으로 나누어 8주간 급여하였으며, 물과 식이는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다. 체중은 주 1회, 식이섭취량은 매일 일정한 시각에 측정하였다. 실험기간 동안 실험동물은 온도 21.4±1.2°C 유지되는 동물실험실에서 사육하였다.

### 시료 수집 및 전처리

실험식이 급여 8주 후 실험동물을 12시간 절식시킨 후, 마취하여 심장으로부터 혈액을 채취하였다. 뇌는 조직 적출 후 생리식염수(0.9% NaCl)에 조직을 세척하여 액체 질소에 급속 냉동시킨 후 -70°C에서 냉동보관 하였다. 뇌 조직은 Tris-HCl(154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA,

Table 1. Composition of experimental diet for nine groups

(unit: g/100 g diet)

	C	OA	OAE	LA	LAE	LNA	LNAE	DHA	DHAE
Casein	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Corn starch	65	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5
Cellulose	5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mineral mixture <sup>1)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Corn oil	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Parm oil	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Olive oil	—	10	10	—	—	—	—	—	—
Linoleic acid	—	—	—	10	10	—	—	—	—
Linolenid acid	—	—	—	—	—	10	10	—	—
DHA	—	—	—	—	—	—	—	10	10
$\alpha$ -tocopherol	—	—	0.05	—	0.05	—	0.05	—	0.05

<sup>1)</sup>AIN-76 mineral mixture. <sup>2)</sup>AIN-76 vitamin mixture.

Abbreviations; C: control, OA: oleic acid, OAE: oleic acid+vit E, LA: linoleic acid, LAE: linoleic acid+vit E, LNA: linolenic acid, LNAE: linolenic acid+vit E, DHA: docosahexaenoic acid, DHAE: docosahexaenoic acid+vit E.

pH 7.4)로 균질화한 다음 4°C, 12,000×g에서 20분간 원심분리(Beckman Optima™ LE-80K, Beckman Instruments, Inc., Palo Alto, CA, USA)하였다. 원심분리 한 상층액을 4°C, 105,000×g에서 1시간 원심분리 하여 세포질과 마이크로솜으로 분리하였다.

**지질과산화물 함량 측정**

뇌 마이크로솜의 지질과산화 정도는 lipid peroxidation assay kit(Calbiochem, La Jolla, CA, USA)를 이용하였다. N-methyl-2-phenylindole이 45°C에서 MDA와 4-hydroxy-alkenal이 반응하여 발색하는 원리를 이용하여 Spectrophotometer(Pharmacia, Piscataway, NJ, USA) 586 nm에서 흡광도를 측정하여 1 mg protein에 해당하는 값으로 표기하였다.

**항산화 효소 활성도 측정**

뇌 세포질의 SOD 활성도는 RANSOD kit(Randox, Crumlin, UK)를 이용하여 측정하였다. 1 unit는 자동산화를 50% 방해하는데 필요한 효소의 양으로서 산출하여, 뇌 세포질 1 mg protein에 해당하는 enzyme unit로 환산하였다. GPx 활성도는 RANSEL kit(Randox)를 이용하여 측정하였다. 1 unit는 1분 동안 NADPH 1 mmol이 산화되는 양으로 산출하여, 뇌 세포질 1 mg protein에 해당하는 enzyme unit로 환산하였다.

**Cytochrome P450 발현 측정**

뇌 마이크로솜을 10% SDS polyacrylamide gel에 로딩하여 100 V에서 1시간 30분 전기영동 하였다. 전개시킨 후 coomassie 용액(Coomassie blue R-250, Sigma)으로 염색 시킨 후 탈색시킨 후 gel상에서 표준시료의 밴드와 검체의 밴드를 Densitometer(Quantity one program soft ware, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 이용하여 53 kD을 정량화 하였다.

**통계처리**

데이터 분석은 SAS(SAS 6.12, Cary, NC, USA)을 사용하여 평균과 표준편차를 나타내었다. α=0.05 신뢰수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군 간의 유의차를 검증하였다. 각 식이 불포화지방산군

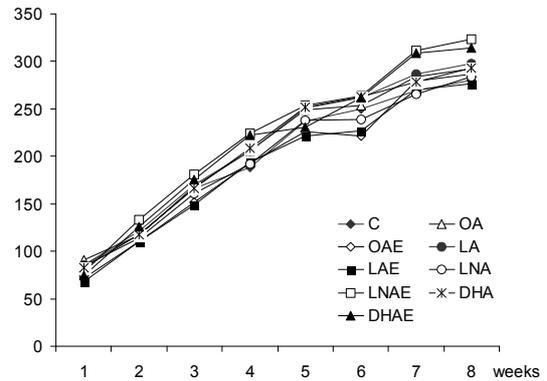


Fig. 1. Effects of vitamin E with on body weight change in rats fed with various types of dietary fatty acids for 8 weeks.

과 비타민 E 첨가군과의 independent t-test를 한 후, 각 변수 간의 양상은 coefficient(r)을 이용하여 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 변화**

실험동물의 체중변화와 식이섭취량을 Fig. 1과 Table 2에 제시하였다. 대조군의 체중변화는 2주와 3주째 성장률이 가장 높았다. 반면 실험군은 2~3주째가 가장 크게 증가하였으나 5~6주째부터 성장률이 감소하여 대조군과 성장경향이 비슷하였다. 각각의 식이 불포화지방산군에 대하여 항산화제인 비타민 E를 첨가하면 LAE군을 제외하고 모든 군에서 유의적으로 1일 체중증가량이 증가하였다. 특히 LNA군에서 19%로 가장 큰 증가량을 보였다. 1일 식이섭취량은 식이 불포화지방산군보다 대조군이 높은 섭취량을 보였으며 비타민 E 투여 효과는 OAE군에서는 변화가 없으며 LAE군에서는 감소하였고 나머지 LNAE, DHAE 군에서는 모두 식이섭취량이 증가하였다. 특히, LNAE군에서 9.3%로 가장 크게 증가하였다. 한편, 식이효율은 각 군당 평균 체중증가량을 평균 식이섭취량으로 나눈 값으로 대조군에 비하여 모든 실험군이 균일하게 높게 나타났다. 이는 식이 불포화지방산을 섭취한 군의 체중증가량이 대조군에 비하여 높은 결과에 의한 것으로 사료된다.

Table 2. Additional effects of vitamin E on mean daily body weight gains, diet intakes and food efficiency in 8 weeks fed rat with various fatty acids

	C	OA	OAE	LA	LAE	LNA	LNAE	DHA	DHAE
Body weight gains (g/day)	3.96 ±0.15 <sup>dl</sup>	4.10 ±0.27 <sup>d</sup>	4.38 ±0.31 <sup>bc</sup>	4.34 ±0.27 <sup>bc</sup>	4.25 ±0.13 <sup>bc</sup>	4.08 ±0.22 <sup>d</sup>	5.01 ±0.34 <sup>a</sup>	4.28 ±0.20 <sup>bc</sup>	4.89 ±0.17 <sup>a</sup>
Diet intakes (g/day)	17.08 ±5.26 <sup>b</sup>	14.46 ±4.19 <sup>cd</sup>	14.83 ±4.02 <sup>cd</sup>	15.31 ±3.90 <sup>c</sup>	13.90 ±3.01 <sup>d</sup>	13.88 ±4.31 <sup>d</sup>	18.10 ±4.17 <sup>a</sup>	15.25 ±4.28 <sup>c</sup>	16.76 ±4.20 <sup>b</sup>
Food efficiency (/day)	0.23 ±0.01 <sup>d</sup>	0.28 ±0.02 <sup>b</sup>	0.30 ±0.02 <sup>a</sup>	0.28 ±0.02 <sup>b</sup>	0.31 ±0.01 <sup>a</sup>	0.29 ±0.02 <sup>ab</sup>	0.28 ±0.02 <sup>c</sup>	0.28 ±0.01 <sup>bc</sup>	0.29 ±0.01 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SD. Different superscripts describe the statistical differences among the all 9 groups with p<0.05. Abbreviations; C: control, OA: oleic acid, OAE: oleic acid+vit E, LA: linoleic acid, LAE: linoleic acid+vit E, LNA: linolenic acid, LNAE: linolenic acid+vit E, DHA: docosahexaenoic acid, DHAE: docosahexaenoic acid+ vit E.

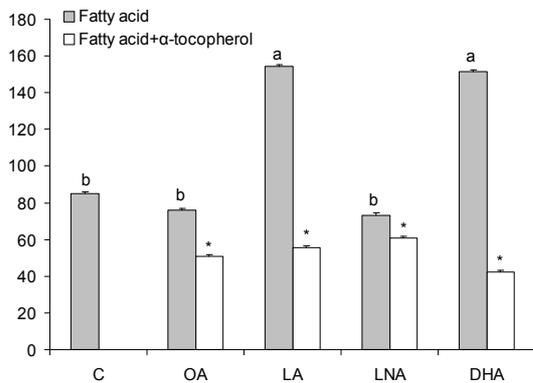


Fig. 2. Effects of vitamin E on lipid peroxides of brain in rats fed with various types of dietary fatty acids for 8 weeks. Different letters indicate different groups with significant statistical differences. \*Significant differences between fatty acid groups and fatty acid plus vitamin E groups, each respectively  $p < 0.05$ .

### 지질과산화물 함량 변화

식이 불포화지방산 및 식이 불포화지방산에 비타민 E를 첨가한 식이가 뇌 마이크로솜의 지질과산화물 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 측정된 지질과산화물 농도는 Fig. 2에 제시하였다. 식이 불포화지방산의 종류에 따른 결과를 보면 대조군에 비해 특히 LA와 DHA군에서 유의적으로 높은 경향을 보였다. 위 결과와 유사하게 Kim 등(18)은 ECV304세포에 DHA를 48시간 배양 후, 지질과산화물 생성이 대조군보다 10배 증가함을 보고하였다.  $\omega$ -6 지방산에 비해  $\omega$ -3 지방산을 섭취할 경우 cis형의 불안정한 이중결합과 지방산 자체의 불포화도로 인해 자유 라디칼과 과산화물 등의 지질과산화물이 더욱 많이 생성된 것으로 사료된다(19). 그러나 LNA( $\omega$ -3)와 LA( $\omega$ -6)로 행한 실험에서는 두 지방산 식이 간에 차이가 없거나 오히려 LA식이에서 과산화물 생성이 더 많았던 결과와 일치하는 경향을 보였다(20). 비타민 E 첨가 시 모든 군에서 첨가하지 않은 군에 비해 낮아지는 결과를 나타냈다. 특히 LAE, DHAE 군은 유의적으로 지질과산화물 생성이 억제되었다. 이는 비타민 E가 자유 라디칼과 과산화물의 중간생성물과 반응함으로써 불포화도가 높은 지방산의 산화를 효과적으로 저지한 결과로 사료된다(21). 이와 같이 식이 불포화지방산으로부터 생성된 지질과산화물 함량이 비타민 E를 혼합 섭취함으로써 효과적으로 감소될 수 있다는 결론을 통해 옥수수유, 어유, 들깨유 등의 섭취 시 비타민 E를 함께 섭취하거나 제품의 경우 첨가함으로써 지질과산화물로 인해 생성될 수 있는 산화 스트레스성 질환을 예방할 수 있을 것이라 생각된다.

### Superoxide dismutase(SOD) 활성

식이 불포화지방산 및 식이 불포화지방산에 비타민 E를 첨가한 식이가 뇌 세포질의 항산화 효소 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 뇌 조직 중 SOD 활성을 분석하였다 (Fig. 3). SOD 활성은 대조군에 비하여 특히 LA, LNA, DHA

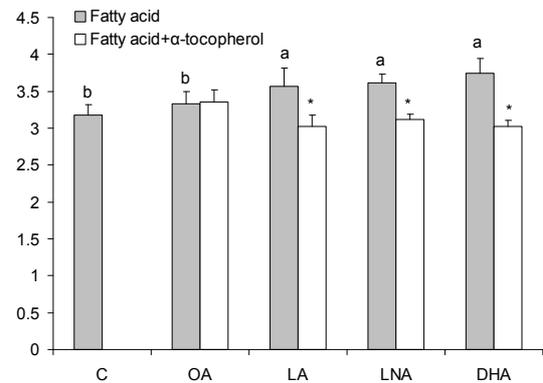


Fig. 3. Effects of vitamin E on SOD activity of brain in rats fed with various types of dietary fatty acids for 8 weeks. Different letters indicate different groups with significant statistical differences. \*Significant differences between fatty acid groups and fatty acid plus vitamin E groups, each respectively  $p < 0.05$ .

군에서 유의적으로 증가하였다. 식이 불포화지방산 및 비타민 E 첨가 섭취 시 OA군을 제외하고 모든 군에서 첨가하지 않은 군에 비하여 유의적으로 낮은 활성을 보였다. SOD는 항산화 방어 시스템에서 가장 중요한 효소 중의 하나로 자유 라디칼의 첫 번째 생성물인 과산화 음이온을 제거하는 역할을 한다(22). 즉, 이 효소 활성이 억제되면 과산화물 라디칼이 과산화물과 반응하여 자유 라디칼을 생성하고 지질과산화 반응이 촉진되어 세포막이 손상된다. 본 연구결과, 항산화제로 알려진 비타민 E 첨가 시 SOD 활성이 낮아진 이유는 알파-토코페롤이 자유 라디칼의 scavenger로 연쇄적인 과산화 반응의 진행을 억제하고, 이로 인한 과산화 음이온의 생성이 감소되기 때문으로 사료된다. 최근 연구에 따르면 활성산소를 생성하는 cyclosporin A에 비타민 E를 추가적으로 처리하였을 때, cyclosporin A만 처리한 군보다 유의적으로 과산화 음이온(superoxide anion)이 감소됨을 보고하였다(23). 세포질에 존재하는 SOD의 경우 지질과산화 반응의 방어기전으로 작용 시 내막에 주로 결합하는 비타민 E의 영향을 잘 반영한다. 즉, 비타민 E의 첨가로 인한 여분의 알파-토코페롤이 SOD의 항산화 역할을 분담해 준 것으로 사료된다.

### Glutathione peroxidase(GPx) 활성

뇌 세포질 중 GPx 활성은 Fig. 4에 나타내었다. GPx 활성은 대조군에 비하여 LA, LNA, DHA 군에서 유의적으로 증가하였다. 증가 정도는 DHA(16%)>LA(14%)>LNA(13%)으로 나타났다. Chen 등(20)은 GPx 활성은  $\omega$ -9 지방산 식이나 포화지방산 식이보다  $\omega$ -3이나  $\omega$ -6 식이에서 활성이 높았지만  $\omega$ -3이나  $\omega$ -6 지방산 식이 간에는 차이가 없음을 보고하였다. 그러나 어유 식이에서는 GPx 활성이 증가한다는 연구결과가 많이 보고되고 있다. Bhattacharya 등(24)의 연구에서 5% 어유 첨가 식이를 마우스에게 급여하였을 때 간의 GPx 활성이 유의하게 증가하여 본 연구와 일치하는 결과를 보였다. 최근의 연구에서 보면 쥐를 대상으로 고콜레스테

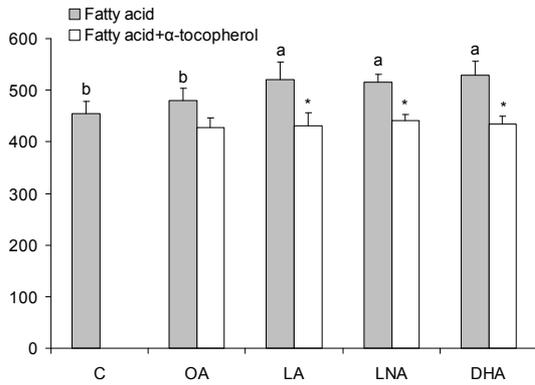


Fig. 4. Effects of vitamin E on GPx activity of brain in rats fed with various types of dietary fatty acids for 8 weeks. Different letters indicate different groups with significant statistical differences. \*Significant differences between fatty acid groups and fatty acid plus vitamin E groups, each respectively  $p < 0.05$ .

를 식이에 DHA를 첨가한 군에서 고콜레스테롤 식이군보다 뇌 조직의 catalase, GPx 활성이 증가된 결과를 보고하면서, 식이의 DHA가 이들 효소의 활성을 높임으로써 활성산소에 대한 간접적인 항산화 역할을 하는 것으로 제안하였다. 비타민 E 첨가 시 LAE, LNAE, DHAE 군의 경우 첨가하지 않은 군보다 활성이 유의하게 낮았다. 비타민 E 첨가 시 GPx 활성이 낮아진 것은 SOD와 마찬가지로 알파-토코페롤이 지질 하이드록시 라디칼의 scavenger로 연쇄적인 과산화반응의 진행을 억제하고, 이로 인한 과산화 음이온의 생성이 감소되기 때문인 것으로 사료된다. 이것은 Spallholz(25)의 보고에서 식이와 막 조직의 알파-토코페롤이 충분하면 셀레늄과

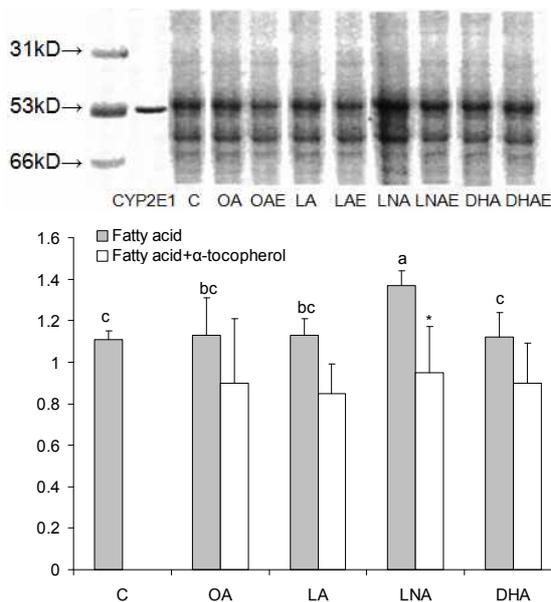


Fig. 5. Effects of vitamin E on CYP2E1 expression of brain in rats fed with various types of dietary fatty acids experimental diet for 8 weeks. Different letters indicate different groups with significant statistical differences. \*Significant differences between fatty acid groups and fatty acid plus vitamin E groups, each respectively  $p < 0.05$ .

GPx의 요구량이 감소되어진다는 사실과 일치한다.

### Cytochrome P450(CYP2E1) 발현

뇌 마이크로솜에서의 cytochrome P450 효소계의 발현은 Fig. 5에 나타내었다. Cytochrome P450 효소계는 약 150개의 이성체가 존재하며 이 중 지방의 산화와 깊게 관여하는 것은 cytochrome P450 4A1(CYP4A1)과 cytochrome P450 2E1(CYP2E1)이다. 특히, CYP2E1은 생체 이물질의 산화적 대사에 관여하는 효소로 라디칼 중간체나 활성산소 현상과 많은 기질에 독성을 띄게 하고 지질과산화와 DNA 산화까지 일으켜 결국엔 세포 손상을 야기한다(26).

대조군에 비하여 LNA(23%)에서 유의적으로 증가하였다. 이를 통하여 LNA는 CYP2E1의 기질로 작용한다고 사료된다. 비타민 E 첨가 시 LNAE군에서만 유의적으로 감소하였다. 즉, LNA군의 경우 CYP2E1의 발현이 촉진되었으며, 비타민 E의 항산화 작용을 받아 CYP2E1의 발현이 더욱 감소됨이 관찰되었다. Nanji 등(27)의 연구에서도 PUFA에 의하여 CYP2E1의 발현이 증가됨을 보고하였다(28). 또한 포화지방산보다 PUFA가 많이 함유된 식이를 섭취한 쥐 모델에서 CYP2E1의 발현이 증가한 것으로 보아 본 연구과 일치하는 결과를 나타내었다(29).

### 요 약

본 연구는 식이 불포화지방산으로 산화 스트레스가 유도된 쥐에게서 비타민 E의 항산화 효과를 알아보기 위해 4주령의 쥐 90마리를 1주일간 적응시킨 후, 정상식이를 섭취한 대조군(C), 식이 불포화지방산(올레산, 리놀레산, 리놀렌산, DHA)군, 식이 불포화지방산에 비타민 E를 첨가한 군으로 나누어 8주간 실시하였다. 체중변화는 대조군에 비하여 모든 군에서 증가하였고, 비타민 E 첨가군에서는 LA+비타민 E군을 제외한 모든 군에서 유의적인 체중증가가 나타났다. 뇌 마이크로솜의 지질과산화물 생성은 대조군에 비해 특히 LA, DHA 군에서 유의적으로 높은 경향을 보였다. 비타민 E 첨가 시 모든 군에서 첨가하지 않은 군에 비하여 지질과산화물 농도가 감소하였다. 뇌 세포질의 항산화 효소 SOD, GPx는 대조군에 비하여 모든 지방산 군에서 활성이 증가하였고 비타민 E 첨가 시 활성이 유의하게 감소하였다. 뇌 마이크로솜의 CYP2E1의 활성은 LNA군에서만 유의적으로 증가하고 비타민 E 첨가 시 LNAE군만이 유의하게 감소됨을 확인하였다. 이상의 실험결과, 식이 불포화지방산으로 유도된 뇌의 산화 스트레스는 비타민 E를 식이 불포화지방산과 같이 섭취함으로써 산화 스트레스 감소에 긍정적 영향을 미치는 것으로 나타났다.

### 문 헌

1. Ministry of Health and Social Affairs. 2010. 2010 National

- health and nutrition survey*. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea. p 42-43.
2. Alcantara EN, Speckmann EW. 1976. Diet, nutrition, and cancer. *Am J Clin Nutr* 29: 1035-1047.
  3. Reiser R. 1973. Saturated fat in the diet and serum cholesterol concentration: a critical examination of the literature. *Am J Clin Nutr* 26: 524-555.
  4. Sharma S, Stolina M, Yang SC, Baratelli F, Lin JF, Atianzar K, Luo J, Zhu L, Lin Y, Huang M. 2003. Tumor cyclooxygenase 2-dependent suppression of dendritic cell function. *Clin Cancer Res* 9: 961-968.
  5. Jenkinson A, Franklin M, Wahle K, Duthie G. 1999. Dietary intakes of polyunsaturated fatty acids and indices of oxidative stress in human volunteers. *Eur J Clin Nutr* 53: 523-528.
  6. Buckingham KW. 1985. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115: 1425-1435.
  7. Staprans I, Rapp JH, Pan XM, Feingold K. 1993. The effect of oxidized lipids in the diet on serum lipoprotein peroxides in control and diabetic rats. *J Clin Invest* 92: 638-643.
  8. Pearce LM, Dayton S. 1971. Incidence of cancer in men on a diet high in polyunsaturated fat. *Lancet* 297: 464-467.
  9. Darley-Usmar V, Wiseman H, Halliwell B. 1995. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett* 369: 131-135.
  10. Reiter RJ. 1995. Oxidative processes and antioxidative defense mechanism in the aging brain. *FASEB J* 9: 526-533.
  11. Cui K, Luo X, Xu K, Ven Murthy MR. 2004. Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 28: 771-799.
  12. Sah R, Galeffi F, Ahrens R, Jordan G, Schwartz-Bloom RD. 2002. Modulation of the GABA(A)-gated chloride channel by reactive oxygen species. *J Neurochem* 80: 383-391.
  13. Dargel R. 1992. Lipid peroxidation—a common pathogenetic mechanism? *Exp Toxicol Pathol* 44: 169-181.
  14. Nelson CW, Wei EP, Povlishock JT, Kontos HA, Moskowitz MA. 1992. Oxygen radicals in cerebral ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 263: H1356-H1362.
  15. Stampfer MJ, Rimm EB. 1995. Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 62: 1365S-1369S.
  16. Meydani M, Macauley JB, Blumberg JB. 1986. Influence of dietary vitamin E, selenium and age on regional distribution of  $\alpha$ -tocopherol in the rat brain. *Lipids* 21: 786-791.
  17. Gonzalez FJ. 2005. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1. *Mutat Res* 569: 101-110.
  18. Kim YY, Kim HS, Kim MH, Jang SJ, Lee M. 2006. Effect of docosahexaenoic acid (DHA) on the apoptosis of human endothelial ECV304 Cells. *Korean J Nutr* 39: 357-365.
  19. Hu ML, Frankel EN, Leibovitz BE, Tappel AL. 1989. Effect of dietary lipids and vitamin E on in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J Nutr* 119: 1574-1582.
  20. Chen LC, Boissonneault G, Hayek MG, Chow CK. 1993. Dietary fat effects on hepatic lipid peroxidation and enzymes of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism and NADPH generation. *Lipids* 28: 657-662.
  21. Horwitt M. 1976. Vitamin E: a reexamination. *Am J Clin Nutr* 29: 569-578.
  22. Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, New York, NY, USA. p 107-129.
  23. De Arriba G, de Hornedo JP, Rubio SR, Fernandez MC, Martinez SB, Camarero MM, Cid TP. 2009. Vitamin E protects against the mitochondrial damage caused by cyclosporin A in LLC-PK1 cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 239: 241-250.
  24. Bhattacharya A, Lawrence RA, Krishnan A, Zaman K, Sun D, Fernandes G. 2003. Effect of dietary n-3 and n-6 oils with and without food restriction on activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in livers of cyclophosphamide treated autoimmune-prone NZB/W female mice. *J Am Coll Nutr* 22: 388-399.
  25. Spallholz J, Boylan L. 1989. Effect of dietary selenium on peritoneal macrophage chemiluminescence. *Fed J* 3: A778.
  26. Robertson G, Leclercq I, Farrell GC. 2001. II. Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 281: G1135-G1139.
  27. Nanji AA, Zhao S, Sadrzadeh SM, Dannenberg AJ, Tahan SR, Waxman DJ. 1994. Markedly enhanced cytochrome P450 2E1 induction and lipid peroxidation is associated with severe liver injury in fish-oil-ethanol fed rats. *Alcohol Clin Exp Res* 18: 1280-1285.
  28. Takahashi H, Johansson I, French SW, Ingelman-Sundberg M. 1992. Effects of dietary fat composition on activities of the microsomal ethanol oxidizing system and ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP2E1) in the liver of rats chronically fed ethanol. *Pharmacol Toxicol* 70: 347-351.
  29. Chen Q, Galleano M, Cederbaum AI. 1997. Cytotoxicity and apoptosis produced by arachidonic acid in Hep G2 cells overexpressing human cytochrome P4502E1. *J Biol Chem* 272: 14532-14541.

(2012년 4월 16일 접수; 2012년 6월 5일 채택)