

동맥경화증의 실험동물 모델화와식이섬유의 동맥경화 방어기전에 관한 연구

김형욱 · 이영순 · 이홍식 · 신광순 · 임창형
서울대학교 수의과대학
(1993년 7월 10일 접수)

Studies on the Laboratory Animal Modelling of Atherosclerosis and the Preventive Mechanisms of Dietary Fiber against Atherosclerosis

Hyoung-ook Kim, Yong-soon Lee, Heung shik S Lee, Kwang-soon Shin, Chang-hyeong, Lim
College of Veterinary Medicine, Seoul National University
(Received July 10, 1993)

Abstracts : mechanisms for the hypocholesterolemic effects of β -glucan remain unclear. Rats were divided into 3 groups : normal control group, atherogenic group(oral administration of cholesterol 40 mg/kg/day plus vit. D₂ 320,000 IU/kg/day), β -glucan treatment group(atherogenic treatment plus β -glucan 0.135 g/kg/day). The β -glucan treatment group showed moderate increases of serum lipids concentration compared with atherogenic group. In histopathological examination, aortas showed no critical lesions. The total fecal neutral sterols and bile acids excreted for 6 days was increased compared with both normal and atherogenic group.

To compare effects of soluble fiber and insoluble fiber extracted from barley on postprandial lipemia, 5 healthy male adults ingested on separate days a low-fiber(total dietary fiber 2.61g) control meal or dietary fiber-enriched(12.61g) meals. Fasting and postprandial blood samples were obtained for 6.5h and serum lipids were analyzed. The serum total lipids, total cholesterols, LDL & VLDL-cholesterol were markedly reduced with soluble fiber-enriched meals, but no decrease with insoluble fiber-enriched meals.

These results suggest that mechanisms for the hypocholesterolemic effect of β -glucan on rats were due to the inhibition of cholesterol absorption in the intestinal lumen and acceleration of cholesterol catabolism in the liver. And the soluble dietary fiber(β -glucan) has the hypocholesterolemic effect by dropping serum LDL & VLDL-cholesterol in the clinical study.

Key words : atherosclerosis, β -glucan(dietary fiber), cholesterol excretion, postprandial lipemia, gas-liquid chromatography.

서 론

토끼에 고콜레스테롤 식이를 급여함으로써 동맥경화

를 일으킨 Anitschkow와 Chalataw¹의 연구 이래로 메추라기, 닭, 비둘기 등의 조류와 원숭이, 돼지 등이 실험적 동맥경화증의 모델로 비교적 많이 사용되어 왔다.

• 본 연구는 '92년도 교육부 학술연구조성비 대학부설연구소 연구비 지원에 의해 수행되었음.

모델의 유형은 노령동물에서의 자연발증 되풀이하여 교배함으로써 얻어진 동물에서의 자연발증 그리고 콜레스테롤 투여로 유발한 동맥경화의 세가지 유형으로 나누어 볼 수 있다.

이른바 동맥경화는 인체 부검례에서는 극히 다양한 형태가 혼재되어 있으나 단순히 구분하자면 섬유근성 경화 (fibromuscular sclerosis) 와 아테롬 (粥狀) 경화 (atherosclerosis)로 대별할 수 있다. 섬유근성 경화는 생리적 경화의 연장으로, 내막과 중막의 미만성 비후, 증식에 유리화 등의 퇴행성 변화가 더해진 상태이며 고혈압과 관계가 있으며, 죽상 경화는 중·대동맥에 보이는 지질의 침착이 주체가 되어 평활근 세포의 증식, 결합적 산생 등을 동반하는 변성, 괴사 등 퇴행성 병변이 현저한 변화로, 고지혈증(hyperlipemia)이 발병에 필수적이다.

일반적으로 실험동물에서 실험의학의 여러방면에서 무엇보다도 널리 사용되고 있는 유용한 실험동물인 랫드, 마우스는 콜레스테롤 부하에 대한 감수성이 낮아 동맥경화증의 모델로서는 부적당한 것으로 알려져 왔다. 그 이유는 토끼나 돼지와는 달리 고지방 고콜레스테롤 식이를 급여했던 경우에도 혈관벽에 지방침착을 잘 일으키지 않으며 특히 대동맥 등의 큰 혈관에서 지방 침착을 보기 위해서는 대단히 장기간 동안 고지방 고콜레스테롤 식이를 급여하는 것이 필요하다고 한다.²

사망원인 통계연보에 의하면 1987년에는 전체 193,954명의 사망자 가운데 58,920명이 동맥경화증, 각종 심질환, 고혈압성 질환, 뇌혈관 질환 등의 순환기계 질환으로 사망하여 30.4%의 높은 비율을 보여 한국인의 첫 번째 사망원인으로 나타났다.³ 동맥경화증의 위험인자로는 고콜레스테롤혈증이 가장 중요한 원인으로 여겨지고 있으며, 그외에 비만, 고혈압, 당뇨, 운동부족 등이 지적되고 있다.

서구의 많은 연구자들에 의한 역학조사에서 식이섬유의 섭취량이 많은 사람들은 관상동맥성 심장질환 사망률이 상대적으로 낮았다는 것이 보고되었다.⁴⁻⁶ 보리와 귀리 등의 곡류에 다량 함유되어 있는 수용성 식이섬유의 하나인 β -glucan이 혈중콜레스테롤 농도를 저하시켜 동맥경화 예방효과가 있음이 앞서의 연구에 의해 밝혀졌다.^{7,8}

그러나 수용성 식이섬유에 의한 혈중콜레스테롤 농도 저하 기전에 대해서 일치된 견해는 없으며, 식이섬유가 콜레스테롤과 결합하여 소화관내로의 흡수를 방해하여 배설이 증가되기 때문이거나⁹, 체내에서 콜레스테롤 이화를 촉진시키거나¹⁰, 타이로신 등 혈중콜레스테롤을 저하시키는 호르몬 분비와 관련되거나¹¹, 식이섬유가

담즙과 결합하여 지질이 체내로 흡수되지 못하게 하기 때문이거나¹², 지방질의 수송체인 지단백(lipoprotein)의 대사를 변동시키거나¹³, 식이섬유가 대장에서 발효됨으로 생기는 휘발성 지방산(short-chain fatty acid)의 간장내 콜레스테롤 생합성 억제에 의한 것¹⁴ 등으로 추측되고 있다.

이상과 같은 연구배경에 근거하여, 랫드를 이용한 동맥경화증의 실험동물모델화를 통해 β -glucan의 혈중콜레스테롤 농도 저하기전을 알아보고, 한국인의 식생활과 밀접한 관련을 가지는 보리로부터 분리된 식이섬유의 임상적 효과를 건강한 성인남자의 식후지방혈증을 토대로 알아보고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

동물실험

실험동물 : 11주령의 수컷 랫드(Sprague-Dawley) 30마리를 실험에 사용하였다. 모든 실험군은 실험전 1주일간 랫드용 대사케이지에 적응기간을 거쳐서, 실험기간 동안 하루 12시간(오후 9시~오전 9시)을 대사케이지 한 개에 1마리씩 넣어 사용하여 이튿날 분변을 수거하였다.

실험설계 및 약물투여 : 랫드 10마리를 한 군으로 하여 Text-Fig 1과 같이 정상대조군, 동맥경화 유발군, β -glucan 투여군의 3개군을 두었다. 정상대조군은 무처치군이며, 동맥경화 유발군은 1일, kg당 vitamin D₂(BDH Co, England) 320,000 IU와 cholesterol (Yakuri Pure Chemicals Co, Japan) 40mg 을 용매인 olive oil (Avondale Lab, England) 20mg에 혼합시킨 용액을 첫 투여일을 1일로 하여 4일간 연속으로 랫드용 존데로 경구투여하였다. β -glucan 투여군은 처음 4일간은 동맥경화 유발군과 동일하게 동맥경화 유발물질을 경구투여함과 동시에 β -glucan(Sigma Co, USA)을 1일, kg당 0.135g을 증류수 1.5ml에 혼합하여 존데로 투여하였으며, 나머지 3일간은 증류수에 혼합한 β -glucan만을 투여하였다.

혈액 및 장기의 처리방법 : 실험종료 13시간 전에 모든 군의 동물을 절식시킨 후 ether 마취하에 체중을 측정 후 복강을 열어 복대정맥으로부터 혈액을 채취하였고, 간장과 심장, 대동맥을 적출하여 10% 중성포르말린에 고정하였다.

채취한 혈액은 3000rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 총콜레스테롤치와 HDL 콜레스테롤치는 혈청을 분리한 즉시 측정하였고 나머지는 -60°C에 보관하면서 필요할 때마다 분석에 이용하였다. 적출한 간장은 무게를 측정 후 천칭으로 정확한 1g을 달아

적당량의 해사(sea sand)를 첨가하여 유발로 2분간 균질화한 다음, 9ml의 isopropyl alcohol을 넣어 10%(w/w) 균질액으로 하여 4℃ 냉장상태에서 2일간 방치 후 3000rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액을 지질치 분석에 사용하였다.

혈중 및 간 지질치의 분석방법 : 총콜레스테롤은 OP-A법(榮研 콜레스테롤 정량 set, 日本), 총지방은 Sulf-o-phosphovanillin법(國際 총지질 정량 set, 日本), HDL 콜레스테롤은 효소법(國際 HDL-cholesterol 정량 set, 日本), 중성지방은 효소법(榮研 중성지방 정량 set, 日本)으로 측정하였으며, LDL 및 VLDL 콜레스테롤은 총콜레스테롤에서 HDL 콜레스테롤을 뺀 것으로 계산하였다. 간 조직중 총콜레스테롤은 OPA 법(榮研 콜레스테롤 정량 set, 日本)으로, 중성지방은 효소법(榮研 중성지방 정량 set, 日本)으로 측정하였다.

광학현미경적 표본제작 : 조직학적 검사를 위하여 심장과 대동맥은 10% 중성포르말린에 고정하여 세절한 후 자동조직처리기(Fisher Co, Model 116A, USA)를 거쳐 microtome(American Optical, Model A0810, USA)으로 3 μ m의 두께로 조직을 절편하여 hematoxylin과 eosin으로 염색하였으며, 그외에 Vönkossa 염색으로 갈슘 침착여부를 관찰하였다. 생체에서 떼어낸 동맥부위는 Cryocut(American Optical, USA)로 10 μ m두께의 동결절편을 만들어 Oil red O로 염색하여 지질침착여부를 관찰하였다.

가스크로마토그래피를 이용한 분변내 중성스테롤치와 담즙산치 분석 : Miettinen 등¹⁵의 방법에 따라 fecal neutral sterol을, Grundy 등¹⁶의 방법에 따라 fecal bile acid를 분석하였다. 분변은 매일 일정시간에 대사케이지에서 채취하여 동결건조한 후 -70℃에 보관하였고 각 군별로 3마리분의 분변을 무작위로 선별하여 혼합한 시료를 만들었으며, 건조시료에 증류수를 첨가하여 교반한 후 부분시료 1g을 취하여 초차용기에 넣어 4℃에 보관하며 분석을 실시하였다. 균질화된 부분시료는 90% ethano에 1N 농도로 녹인 NaOH용액 20ml을 첨가하여 1시간동안 reflux하여 saponification을 실시하였다.

중성스테롤의 추출을 위하여 이 용액에 물 10ml와 50ml의 petroleum ether를 첨가한 후 원심분리(1000×g, 5min)하여 상층액 분리과정을 세 번 반복하여 얻어진 용액을 기화시켜 용질을 얻고, 이 용질로부터 중성스테롤의 일차적인 분리를 위해 박층크로마토그래피(thin layer chromatography : florisil TLC)를 실시하여 얻어진 분획을 모아서 얻은 용질을 2ml의 ethyl acetate에 용해시켜 내부표준물질(internal standard)로서 5 α -cholestan-ol을 첨가한 후 가스크로마토그래피 분석을 위해 N, O-

bis(trimethylsilyl)acetamide(Janssen Chemica, Belgium)로 trimethylsilylation을 실시하여 정량적으로 분석하였다.

중성스테롤의 추출 후에 하층의 수용액에 chloroform과 methanol을 2 : 1(v/v)로 혼합한 용액 75ml을 첨가하여 1000×g로 5분간 원심분리한 후 용매를 증발시켜 얻어진 진한 갈색양의 용질을 methylation한 후 TLC plate(silicagel H)를 거쳐 중성스테롤 분석과 동일한 과정을 통하여 trimethylsilylation을 실시하여 정량분석하였으며, 가스크로마토그래피의 제조조건은 중성스테롤의 분석시와 동일하게 실시하였다.

시료가 녹아있는 ethyl acetate용액을 증발시킨 후 500 μ l의 N, O-bis(trimethylsilyl)acetamide을 첨가하고 1ml의 pyridine을 더하여 GC-15A(Shimadzu, Japan) 가스크로마토그래피를 사용하여 분석하였으며, 분석의 제조조건은 다음과 같다. 헬륨(He : pressure 1.5kg/cm², make up gas 60mm/min)을 carrier gas로 사용하였고, FID(flameionization detector)를 detector로 사용하였다. SE-54(WCOT : wall coated open tubular) column을 column length 25m로 하여 사용하였고, 시료는 중성스테롤의 비교정량시에는 2.5 μ l, 담즙산의 비교정량시에는 5 μ l의 양을 주입하였다. Column oven temperature 278℃, injection port temperature 290℃, detection port temperature 290℃의 조건하에서 sensitivity 10⁻¹×2⁻¹로 측정하였다. 얻어진 그래프는 표준시료로부터 기록된 그래프(Text-Fig 2)의 retention time과 면적을 기준으로 C-R4A CHROMATOPAC을 사용하여 분석하고자 하는 중성스테롤 및 담즙산을 정성, 정량적으로 계산하였다.

통계학적 분석 : SAS(Statistical analysis system) 통계 패키지 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA : Analysis of variance)과 Scheffe's test를 실시하여 각 군간의 실험결과를 다중비교하였다. 전항목에 대하여 p < 0.05, p < 0.01 및 p < 0.001의 수준에서 유의성을 검정하였다.

임상시험

시험대상 : 시험에 참여한 사람은 건강한 성인남자 5명이며 갖추어야 할 조건은 특정한 질병이 없는 건강상태일 것, 정상시의 혈중콜레스테롤치가 220mg/dl 이하일 것, 확장기 혈압이 90mmHg이하일 것, 체중에서 지방이 차지하는 비율이 23% 미만일 것, 시험에 참여하기 최소 3개월 이내에 혈중콜레스테롤치를 저하시키는 약물을 복용한 일이 없을 것 등으로 Wolthuis et al¹⁷의 기준을 참고하였다.

식단의 구성 및 식이섭유의 조성 : 식이섭유가 식후지방혈중에 미치는 영향을 알아보기 위하여 3가지의 식단

을 구성하였다. 먼저 한국인의 평균영양섭취 권장량¹⁸에 토대하여 섬유함량이 상대적으로 낮은 대조식단(control diet)을 구성하였으며 재료, 열량, 영양소 조성은 Table 1에 제시하였다. 또한 대조식단의 식품가운데 쿠키에 불용성 또는 수용성 식이섬유[(주)진로 제공]를 각 10g씩 첨가한 것을 수용성 식이섬유식단, 불용성 식이섬유식단으로 하여, 두 종류의 식이섬유가 식후지방혈중에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 2종의 식이섬유의 조정은 (주)진로로부터 제공받았으며 Table 2에 나타낸 바와 같다.

시험설계 : 시험은 약 20일의 간격으로 2회 시행하였으며 1회 시험때 대조 식단을 섭취한 사람은 2회 시험때 식이섬유식단을, 1회 시험때 식이섬유식단을 섭취한 사람은 2회 시험때 대조식단을 섭취하였다. 얻어진 결과는 각 개인별로 대조식단 섭취시의 결과와 식이섬유식단 섭취시의 결과를 비교하여 분석하였다. 2가지의 식이섬유를 전기믹서기에 분쇄하여 밀가루, 계란, 버터 등과 혼합하여 식이섬유 쿠키를 제조하였고 그 중량을 측정하여 섭취해야 할 성분이 빠지지 않도록 분배하였다.

시험대상자들이 10시간이상 절식한 후에 상완정맥을 통해 채혈하고 이 혈액에서 분석된 수치를 기저선(baseline, 0 h)으로 하여 이후에 얻어진 식후상태 혈액분석치의 증감을 비교하는 근거로 삼았다. 채혈 후 준비된 식사를 섭취하고, 최초의 채혈 후 1시간 그리고 마지막 채혈과 직전채혈 사이의 1시간 간격을 제외하고 6.5시간동안 매 30분마다 채혈하였다. 시험대상자들은 시험이 진행되는 동안 물을 제외하고는 기타의 다른 음식섭

취가 허용되지 않았다.

혈액의 처리방법 : 정맥 채혈하여 혈액응고를 확인하고 4℃에서 30분 방치한 후 3000rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하여, 분리된 혈청은 -60℃에 보관하면서 필요할 때마다 분석에 이용하였다.

혈중지질치의 분석방법 : 혈청의 생화학적 분석중, 포도당은 GOD-PAP(Glucose Oxidase-Peroxidase Aminophenazone)법, 중성지방은 GPOPAP(Glycerol Triphosphate Oxidase-Peroxidase Aminophenazone)법, 총콜레스테롤은 CHOD-PAP(Cholesterol Oxidase-Peroxidase Aminophenazone)법을 이용하여 자동분석기(Hitachi 736-50, Japan)로 측정하였으며, 인슐린은 RIA법으로 γ -counter(Packard, USA)를 사용하여 측정하였고, 총지방은 Sulfo-phosphovanillin법, HDL 콜레스테롤은 효소법으로 측정하였으며, LDL 및 VLDL 콜레스테롤은 총콜레스테롤에서 HDL 콜레스테롤을 뺀 것으로 구하였다. Chylomicron은 2mL의 혈청과 2.4mL의 밀도용액(Na₂-EDTA 0.037 g/10mL + NaCl 0.85g/10mL)을 첨가하여 Beckman L8-M 초고속원심분리기로 12℃에서 1.5시간동안 60,000×g로 초고속원심분리하여 얻었으며, Chylomicron cholesterol 및 triglyceride는 혈청에서와 동일하게 분석하였다. Apolipoprotein(apo A-1, apo B)은 RID법(RID Plate Reader, Binding site, England)으로 측정하였다.

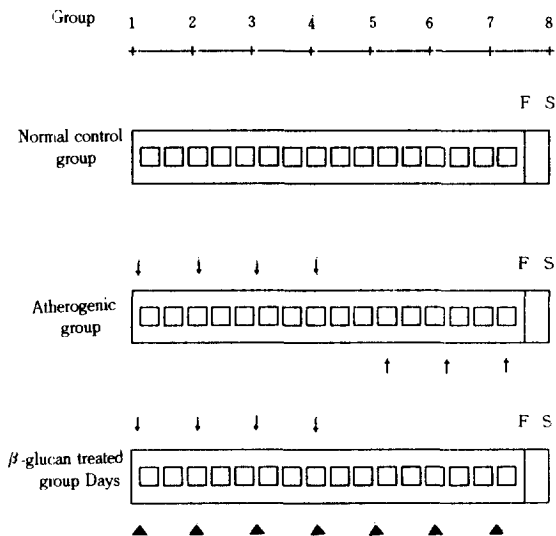
통계학적 분석 : SAS(Statistical analysis system) 통계 패키지 프로그램을 이용하여 개인별로 식이섬유식단 섭취시와 대조식단 섭취시의 baseline을 기준한 경시적 변

Table 1. Materials and nutritional composition of control diet

Foods	Weight (g)	Calory (kcal)	Protein (g)	Lipid (g)	Cholesterol (mg)	CHO* (g)	Cellulose (g)
Rice	250	347.50	6.75	0.50	-	79.25	0.50
Kim-chi	50	9.50	1.00	0.30	-	0.65	0.32
Potato	50	40.00	0.75	0.10	-	9.25	0.25
Onion	30	9.90	0.33	0.09	-	2.16	0.15
Carrot	30	10.50	0.33	0.10	-	2.28	0.30
Hot pepper	10	0.09	0.13	0.03	-	0.01	0.56
Garic	10	14.30	0.30	0.06	-	3.40	0.08
Butter	30	216.90	0.16	24.42	63.0	-	-
Egg	100	149.00	12.10	10.50	470.00	0.10	-
Shrimp	50	42.00	8.10	0.60	65.0	0.40	-
Mushroom	10	2.40	0.36	0.02	-	0.36	0.08
Radish	20	6.00	0.40	0.02	-	0.12	0.09
Welsh onion	10	2.40	0.17	0.04	-	0.47	0.14
Cookie	80	375.80	5.91	16.74	143.3	52.10	0.14
Milk	100	59.00	2.90	3.20	11.00	4.50	-
Total	830	1286.1	39.68	56.71	752.3	155.05	2.61

*CHO : carbohydrate.

동의 차이에 대한 분산분석(analysis of variance)과 Student's t-test(for paired values)를 실시하여 실험결과를 전항목에 대하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.



Text-Fig .1 Experimental design.

- basal diet.
- ↓ Oral administration of vitamin D₂(320,000 IU/kg) and cholesterol(40mg/kg) and olive oil(20mg/kg).
- ↑ Oral administration of D.W.
- ▲ Oral administration of β -glucan(0.135g/kg) in 1.5ml of D.W.
- F Fasting for 12 h before sacrificed.
- S Sacrifice.

Table 2. Composition of dietary fiber

	Soluble fiber	Insoluble fiber
Dry matter(%)	97.4	96.2
Total dietary fiber(g)	62.8	79.5
Soluble fiber(g)	59.5	-
Insoluble fiber(g)	-	79.5
Protein(g/100g dry matter)	10.57	11.30
Lipid(g/100g dry matter)	-	-
Carbohydrate(g/100g dry matter)	9.91	10.99
Phytosterol(mg)	-	-

결 과

동물실험 결과

체중변화 및 간장의 중량 : 시험개시시 무처리 정상대조군 및 동맥경화 유발군과 β -glucan 투여군의 체중은 각군 모두 약 340g 정도로 비슷하였으나 시험종료시 동

맥경화 유발군과 β -glucan 투여군의 체중은 약 270g으로 정상대조군에 비하여 두군 모두 유의성 있게 감소하였으나($p < 0.001$), 간장의 무게는 각 군간의 차이가 없었다.

혈청 및 간장 지질성분의 변화 : 혈청중의 총콜레스테롤치는 정상대조군의 56.91mg/100ml에 비해 동맥경화 유발군은 112.66mg/100ml으로 유의성있는 증가를 보였으며($p < 0.001$), β -glucan 투여군은 95.72mg/100ml으로 동맥경화 유발군에 비해 유의하게 감소하였으나($p < 0.05$), 정상대조군에 비해서는 증가하였다($p < 0.05$). HDL 콜레스테롤치는 정상대조군에 비해 동맥경화 유발군, β -glucan 투여군 모두에서 18~15mg/100ml 증가하는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다. LDL 및 VLDL 콜레스테롤치는 정상군의 16mg/100ml에 비해 동맥경화 유발군은 57.5mg/100ml으로 유의성있게 증가하였으며($p < 0.001$), β -glucan 투여군은 37.3mg/100ml으로 정상대조군에 비해서는 증가하였으나 동맥경화 유발군에 비해서는 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 총지질치는 정상대조군의 246.4mg/100ml에 비해 동맥경화 유발군은 490mg/100ml으로 유의성있게 증가하였으며($p < 0.01$), β -glucan 투여군은 366mg/100ml으로 동맥경화 유발군에 비해 다소 감소한 것으로 나타났다. 중성지방량은 정상군에 비해 동맥경화 유발군과 β -glucan 투여군은 모두 증가하였으나 유의성은 없었다(Table 3). 동맥경화 유발군과 β -glucan 투여군의 간장조직의 지질변화로서 콜레스테롤치가 정상대조군의 8.7mg/g에 비해 3~4mg/g 증가하였으나 유의성은 없었고, 중성지방치는 동맥경화 유발군이 86mg/g, β -glucan 투여군이 62mg/g으로 정상대조군의 179mg/g에 비하여 유의성있게 감소하였다($p < 0.001$, Table 3).

Atheromatous Index의 분석 : Atheromatous Index의 분석은 Table 4에서 나타난 바와 같이 HDL-cholesterol/total cholesterol비는 β -glucan 투여군에서는 0.6으로 정상대조군의 0.7에 가까운 수치를 보였으나 동맥경화 유발군은 0.49로 낮은 수치를 나타내었다. LDL & VLDL-cholesterol/total cholesterol비는 β -glucan 투여군이 0.39, 동맥경화 유발군이 0.51로 모두 정상대조군의 0.28보다 높은 수치를 나타내었으나 β -glucan 투여군이 다소 낮은 수치를 나타내었다. LDL & VLDL-cholesterol/HDL-cholesterol은 정상대조군의 0.39에 비해 동맥경화 유발군은 1.04로 높은 수치를 나타내었으나, β -glucan 투여군에서는 동맥경화 유발군에 비해 낮고 정상대조군에 근사한 0.63을 나타내었다.

분변내 중성스테롤치 및 담즙산치의 분석 : 실험기간 중 수거한 분변에서 가스크로마토그래피법으로 중성스

테롤과 담즙산을 분석한 결과 β -glucan 투여군에서 배설된 스테롤의 양이 정상대조군과 동맥경화 유발군에 비해 월등히 높았으며 주된 물질은 중성스테롤의 경우에는 coprostanol이었고, 담즙산의 경우에는 Cholic acid였다. 정상대조군, 동맥경화 유발군, β -glucan 투여군의 순서로 배설된 중성스테롤과 담즙산의 총량이 높은 것으로 나타났다.

1) 중성스테롤의 배설량 : Table 5에 나타낸 것처럼 실험기간중 중성스테롤배설은 균일한 일별 변화를 보이지 않았으며 정상대조군에서는 β -sitosterol, coprostanone이 주된 배설물질이었으나 동맥경화 유발군에서는 coprostanol이 주된 물질이었고 β -sitosterol, campesterol, stigmasterol 순으로 증가한 것으로 나타났으나 정상대조군에서 증가한 것으로 나타난 coprostanone은 실험 5일째와 6일째를 제외하고는 검출되지 않았다.

β -glucan 투여군에서의 중성스테롤 배설가운데 흡수되지 않은 콜레스테롤이 장관내에서 미생물의 작용으로 생성되는 것으로 알려진 coprostanol이 두드러지게 높았으며, 이후의 배설량순서는 β -sitosterol, campesterol, coprostanone이었으며 이 가운데 coprostanone은 동맥경화 유발군과 유사하게 실험 4일째 이과에서는 검출되

지 않았다.

β -glucan 투여군은 정상대조군과 동맥경화 유발군에 비해 coprostanol의 배설이 증가된 점과 정상대조군에 비해 동맥경화 유발군과 β -glucan 투여군에서 β -sitosterol의 배설감소가 두드러진 변화로 나타났다.

2) 담즙산의 배설량 : 담즙산 배설량의 일변화(Table 6) 역시 중성스테롤의 배설처럼 각 군간에 차이를 나타내지 않았으며 담즙산의 배설총합은 정상대조군에 비해 동맥경화 유발군과 β -glucan 투여군이 모두 높은 수치를 나타냈으며, β -glucan 투여군과 동맥경화 유발군의 배설량은 큰차이를 보이지 않았다. 모든 군에서 deoxycholic acid는 검출되지 않았다. 정상대조군의 경우 cholic acid가 주로 배설되며 lithocholic acid, chenodeoxycholic acid의 순서였으나 chenodeoxycholic acid의 배설량은 매우 적었다. 동맥경화 유발군의 경우 역시 cholic acid가 가장 많은 양으로 나타났고 총배설량에서는 정상대조군보다 높았으나 배설의 양상은 lithocholic acid, chenodeoxycholic acid의 순서로 동일하였다. β -glucan 투여군에서도 배설의 양상은 동일하였으며 동맥경화 유발군에 비해 담즙산 배설이 약간 증가하였으나 큰 차이는 나타나지 않았다.

Table 3. Effect on serum and liver lipids in rats

(Mean \pm SD)

Group	Serum(mg/100ml)					Liver(mg/g liver)	
	Total CHL	HDL	LDL & VLDL	TL	TG	CHL	TG
Normal group	56.91 \pm 21.95	40.76 \pm 2.26	16.05 \pm 2.18	246.40 \pm 137.66	79.47 \pm 23.48	8.69 \pm 2.16	179.19 \pm 33.74
Atherogenic group	112.66 ^a \pm 33.09	55.14 \pm 29.57	57.52 ^a \pm 23.73	490.00 ^a \pm 173.84	106.25 \pm 40.59	11.16 \pm 6.84	86.45 ^b \pm 34.37
β -glucan treatment group	95.72 ^{a,c} \pm 11.82	58.42 \pm 5.92	37.31 ^c \pm 14.36	366.33 \pm 103.08	118.75 \pm 40.93	12.23 \pm 17.23	61.88 ^b \pm 55.46

CHL, cholesterol ; HDL, High density lipoprotein cholesterol ;

LDL & VLDL, Low density and very low density lipoprotein cholesterol ;

TL, Total Lipids ; TG, triglyceride.

a. Significantly different from normal control group($p < 0.05$).

b. Significantly different from normal control group($p < 0.001$).

c. Significantly different from atherogenic group($p < 0.05$).

Table 4. Effect on the atheromatous index in rats

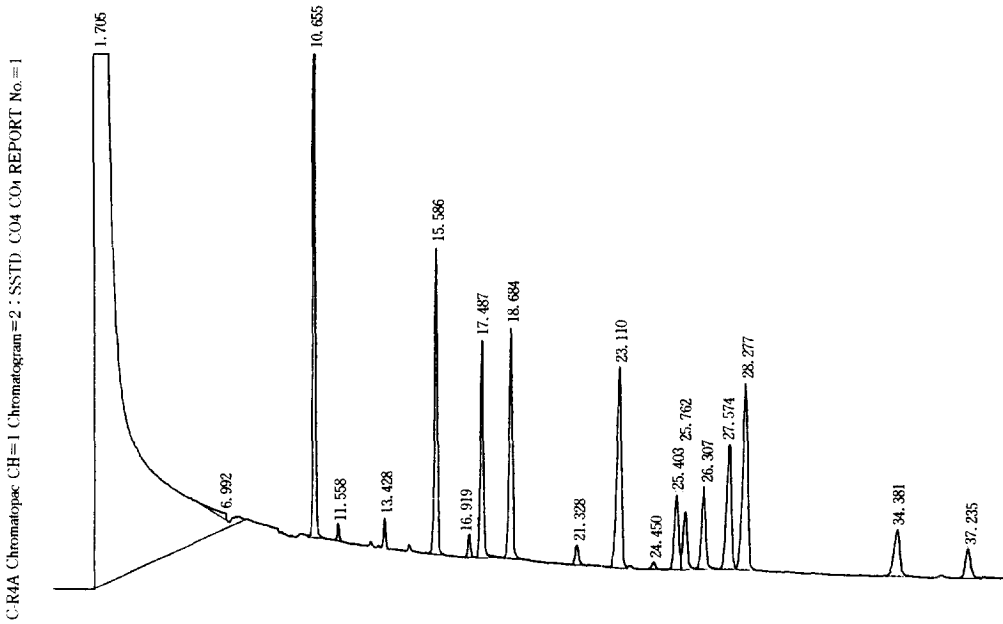
(Mean \pm SD)

Group	Atheromatous Index(ratio)		
	HDL-C/T-C	LDL&VLDL-C/T-C	LDL&VLDL-C/HDL-C
Normal control group	0.71 \pm 0.13	0.28 \pm 0.07	0.39 \pm 0.14
Atherogenic group	0.49 \pm 0.21 ^a	0.51 \pm 0.11 ^a	1.04 \pm 0.32 ^a
β -glucan treatment group	0.61 \pm 0.16	0.39 \pm 0.22 ^b	0.63 \pm 0.25

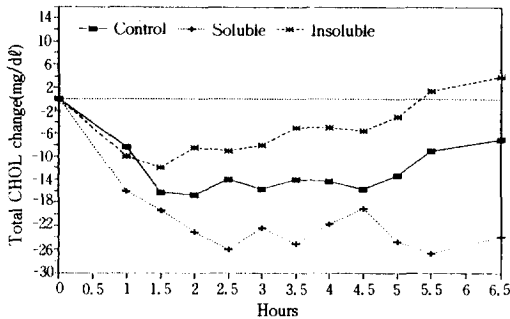
T-C, total cholesterol ; HDL-C, High density lipoprotein cholesterol ; LDL & VLDS-C, Low density and very low density lipoprotein cholesterol.

a. Significantly different from normal control group($p < 0.05$).

b. Significantly different from atherogenic group($p < 0.05$).

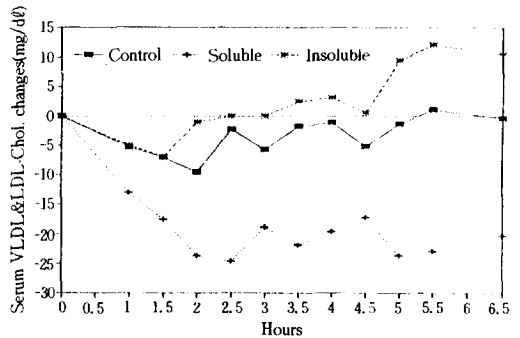


Text-Fig 2 Standard sample graph for GLC analysis of fecal neutral sterols and fecal bile acids.



Text-Fig 3. Postprandial serum total cholesterol response to the low-fiber control diet and the fiber-enriched diets.

대동맥 및 관상동맥의 조직병리학적 관찰 : 정상대조군의 대동맥에서는 지질침착이나 칼슘침착, 내피세포 탈락 등의 병변을 관찰할 수 없었으나 동맥경화 유발군의 대동맥에서는 내피세포의 박리 및 중막 탄성섬유막 세포의 심한 굴곡 또는 파괴, 중막근육세포의 괴사로 중막의 수종화 현상이 두드러지게 관찰되었으며(Fig 1), 내막과 중막의 탄성섬유막에 전체적으로 칼슘이 침착되었고, 중막평활근 세포간극의 지방침착(Fig 3)이 관찰되었다. β -glucan 투여군에서 관찰된 대동맥의 소견은 완전한 정상대동맥 소견에는 미치지 못하였으나 경미한 수종성 변화와 내막의 국소적 칼슘침착(Fig 2),



Text-Fig 4. Postprandial serum LDL & VLDL-cholesterol response to the low-fiber control diet and the fiber-enriched diets.

중막평활근 세포간극의 국소적이고 미약한 지방침착만이 관찰되었다.

정상대조군의 관상동맥에 비하여 동맥경화 유발군의 관상동맥은 간혹 중막의 수종화 병변과 내막의 탄성섬유막이 불연속적으로 파괴된 병변이 관찰되었으며 칼슘 및 지방의 침착이 소량 관찰되었다. β -glucan 투여군에서는 주목할만한 병변을 발견할 수 없었으며 지질 및 칼슘의 침착도 거의 관찰할 수 없었다.

임상시험 결과 : 보리로 부터 분리한 수용성 식이섬유

Table 5. Excretion of fecal neutral sterols in rats

(ppm)

Neutral sterols groups	1d	2d	3d	4d	5d	6d	Total
Coprostanol							
Normal	15.75	41.31	23.34	6.51	26.06	25.08	138.05
Atherogenic	33.87	38.92	24.34	67.83	173.91	48.73	387.60
β -glucan	146.25	94.42	145.95	53.49	180.59	331.73	952.42
Coprostanone							
Normal	27.97	72.66	6.51	ND	ND	39.37	146.51
Atherogenic	ND	ND	ND	5.16	7.39	ND	1.29
β -glucan	ND	ND	48.56	ND	ND	ND	48.56
Campesterol							
Normal	6.65	19.33	13.15	4.37	17.26	15.13	75.90
Atherogenic	5.24	5.70	4.97	3.76	40.45	7.79	67.91
β -glucan	9.60	36.75	14.28	11.60	21.22	21.20	114.58
β-sitosterol							
Normal	42.41	79.53	43.45	12.87	36.29	ND	214.55
Atherogenic	17.60	8.01	8.67	8.83	18.55	10.65	72.33
β -glucan	24.21	67.01	ND	30.68	40.40	19.93	182.24
Stigmasterol							
Normal	2.74	30.57	3.41	4.76	ND	ND	41.48
Atherogenic	ND	ND	ND	4.75	8.99	ND	13.74
β -glucan	17.58	18.95	ND	ND	ND	ND	48.56
Total							
Normal	95.51	243.40	89.86	28.53	7.85	79.58	616.51
Atherogenic	56.71	52.63	37.98	90.34	241.91	67.17	554.15
β -glucan	197.65	217.13	69.60	31.93	25.68	37.80	1334.33

Data are shown as daily analyses of pooled 3 rats' feces for each experimental group.

ND : No detection.

와 불용성 식이섬유의 동맥경화 예방효과를 알아보기 위하여 건강한 성인남자를 대상으로 식후지방혈증을 토대로 시험을 실시한 결과는 다음과 같다.

혈당치 변동 및 인슐린치의 변동은 대조식단 섭취시와 식이섬유식단 섭취시의 차이가 없었으며 수용성 식이섬유섭취시와 불용성 식이섬유섭취시에도 차이가 없었다. 혈중 중성지방치의 변동은 불용성 식이섬유 섭취시 다소 증가하는 것으로 나타났으나 수용성 식이섬유 섭취시 대조식단 섭취시에 비하여 다소 감소하는 추세를 보였다.

식후 혈중 총콜레스테롤치의 변동(Text-Fig 3)은 수용성 식이섬유 섭취시 뚜렷하게 감소하여 시험 중 지속적으로 낮은 수치를 나타냈으며 최초의 혈중콜레스테롤치로부터 6.5시간 동안의 증감변동치를 모두 합하여 보았을 때 대조식단 섭취시와 불용성 식이섬유 섭취시에 비하여 혈중콜레스테롤치를 유의하게 낮추어 주는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 그러나 불용성 식이섬유 섭

취시에는 그러한 경향이 인정되지 않았다.

또한 동맥경화증의 발생을 막아주는 것으로 알려져 있는 혈중 HDL 콜레스테롤치의 변동을 조사한 결과 수용성 식이섬유섭취시에는 대조식단 섭취시에 비하여 높은 수준의 HDL 콜레스테롤치를 유지하였으나 불용성 식이섬유 식단섭취시에는 이와 반대의 경향을 보였다.

동맥경화증에 있어서 가장 중요한 위험인자로 인정되고 있는 LDL 및 VLDL 콜레스테롤치의 변동을 조사하였을 때에 수용성 식이섬유 섭취시 가장 낮은 수준을 유지함을 알 수 있었으며(Text-Fig 4), 시험시간 중의 총변동치에서도 수용성 식이섬유섭취시 LDL 및 VLDL 콜레스테롤치의 뚜렷한 감소를 나타냄을 알 수 있었다. 그러나 불용성 식이섬유 섭취시에는 LDL 및 VLDL 콜레스테롤치의 변동이 대조식단과 비교하여 별다른 차이가 없었다.

Chylomicron cholesterol 및 chylomicron triglyceride치의 경시적 변동과 apolipoprotein (apo) A-1, apo B의 변

Table 6. Excretion of fecal bile acids in rats

Bile acids group	1d	2d	3d	4d	5d	6d	Total (ppm)
Lithocholic acid							
Normal	195.32	322.70	292.50	270.17	312.04	238.54	1631.27
Atherogenic	128.32	474.36	407.93	590.34	642.96	448.78	2692.69
β -glucan	436.53	346.62	237.03	371.71	646.25	340.53	2323.67
Cholic acid							
Normal	496.23	99.9	425.46	358.16	340.37	322.09	341.51
Atherogenic	141.99	1160.9	416.70	1054.82	185.36	591.95	3551.73
β -glucan	1068.88	161.3	203.23	1181.24	1072.22	250.89	3937.78
Chenodeoxycholic acid							
Normal	ND	ND	78.15	ND	124.30	69.53	271.98
Atherogenic	ND	124.69	242.32	385.91	60.22	162.63	975.77
β -glucan	68.43	125.10	137.74	615.40	598.22	ND	1544.88
Total							
Normal	691.55	422.60	796.11	628.33	776.71	630.16	3918.46
Atherogenic	270.32	1759.95	1066.95	2031.07	888.54	1203.37	7330.19
β -glucan	1573.84	633.04	578.00	2114.3	2315.69	591.42	7807.33

Data are shown as daily analyses of pooled 3 rats' feces for each experimental group.

ND : No detection

동에서는 각 시험식단 사이의 뚜렷한 차이가 인정되지 않았다. 혈중의 총지질치의 식후변동을 조사하였을 때 수용성 식이섬유 섭취시 뚜렷한 감소효과가 관찰되었으나 불용성 식이섬유 섭취시에는 그러한 효과가 인정되지 않았다.

고찰

현재 랫드에서 동맥경화에 대한 유전적 질환모델동물은 ALR(Arteriolipidosis-prone Rat), NRA(normotensive atherogenic rat) 등이 알려져 있으나² 이것은 고지방 고콜레스테롤 식이에 대한 감수성이 예민하다는 것에 불과하다. 동맥경화증은 고혈압과 높은 상관관계를 가지기 때문에 자연발생 고혈압 랫드(SHR : spontaneous hypertensive rat)에 고지방 고콜레스테롤 식이를 급여했던 경우 장간막과 뇌저부 동맥 등 소동맥에 1~2주간이라는 단기간에 지방침착이 일어났다는 보고에 착안한 선발육종에 의한 ALR이 얻어졌고 이 가운데 동맥경화 소인과 고혈압 소인의 분리를 위하여 ALR과 Wistar-Kyoto 랫드를 교배하여 정상혈압이지만 동맥에서 지방침착을 보이는 NAR이 분리되었다. 이들은 고지방 고콜레스테롤 식이에 대한 감수성이 정상 랫드에 비해 높고, 짧은 기간동안의 급여에 대해서도 높은 고지혈증을 나타낸다고 한다.² 그러나 NAR이나 ALR 모두 뇌저부 혈관, 장간막 혈관 등 소동맥에 지질침착을 보이는 특징을 가지고 있을 뿐 중·대동맥의 지질침착을 비롯한 아

테롬병변을 자연발증적으로 나타내는 질환모델동물은 아직 발견되지 않았다.

동맥경화증은 그 발병원인이 단순한 유전성 질환이 아니며 대개가 식이성으로 인해 일어나는 질병이기 때문에 어쩌면 자연발증적 질환모델동물의 확립은 불가능한 일일지도 모른다. 본 실험에서 제안하는 실험적 동맥경화증모델은 이러한 식이성 인자를 조절함으로써 비교적 단기간에 대동맥의 내막과 중막에 다양한 병변이 유발되며, 식이섬유의 동맥경화증 방어기전 연구의 결과가 역학적 조사나 임상시험에서 얻어진 결과와 일치하는 것으로 볼 때 동맥경화증 연구 모델의 하나로 가치가 있다고 생각된다.

혈청의 콜레스테롤치의 조절경로는 간에서의 콜레스테롤 합성 및 분해속도, 소장에서의 식이성 콜레스테롤의 흡수정도에 의한 것인데¹⁹, 식이콜레스테롤의 흡수가 증가하면 혈청콜레스테롤치도 증가한다. Chen et al.²⁰은 수용성 식이섬유가 장관을 통과하는 과정에서 대장미생물의 발효작용으로 생기는 휘발성 지방산 가운데 propionate와 콜레스테롤을 사료에 첨가해준 랫드에서 간과 혈중콜레스테롤의 농도저하 효과를 얻었다고 한다. 그러나 Richard와 David¹⁰가 β -glucan이 풍부한 것으로 알려진 귀리를 투여한 랫드에서의 연구보고에 의하면 propionate의 간문맥 혈액농도는 *in vitro* 실험에서 콜레스테롤 생합성을 억제하는 propionnate 농도의 2%에 불과하므로 귀리의 콜레스테롤 농도저하 효과는

콜레스테롤 생합성억제에 기인한 것이기 보다는 콜레스테롤의 catabolism 촉진으로 인한 분변으로의 steroid 배설증가에 의한 것이라고 하였다. 본 실험에서 나타난 β -glucan 투여군의 간장의 지질치도 정상대조군에 비해 감소되지 않았으므로 β -glucan이 간장에서 콜레스테롤 생합성을 억제하지 않는 것으로 생각된다.

음식물을 통하여 장관내로 들어온 콜레스테롤은 monoglyceride와 지방산, 생합성된 콜레스테롤, 담관에서 배설된 bile salts, lecithin 등과 결합하여 mixed micelle을 형성하여 장관벽을 통과하여 흡수되며 림프관, 혈관을 거쳐 간에서 대사되어 담즙에 섞여 배설되거나 담즙으로 합성되어 배설되며, 혹은 혈액속으로 운반되어가게 된다.²¹ 장관내에서 micelle을 형성하지 않는 경우 장내미생물에 의하여 주로 coprostanol로 변화되어 분변으로 배설된다고 하며 Dietschy와 Wilson²²은 무균동물을 사용한 실험에서는 coprostanol이 증가되지 않았으므로 콜레스테롤로부터 coprostanol을 만들어내는 작용이 장내미생물에 의한 것임을 증명하였다. 한편 Kay⁹는 혈청 콜레스테롤치의 저하는 담즙산 또는 식이성 콜레스테롤이 식이성 섬유와 결합하여 분변으로 배설되기 때문에 식이성 콜레스테롤의 흡수를 방해하여 혈청콜레스테롤 농도를 저하시킨다고 하였으며, β -glucan 투여시 분변내에서 얻어진 중성스테롤과 담즙산 모두가 정상대조군에 비해 높은 양으로 나타났고, 담즙산의 배설량은 동맥경화 유발군과 비슷하였으나 약간 높았고, 중성중성스테롤의 양은 2배이상 증가하였으며 중성스테롤의 주성분이 coprostanol이었던 것으로 미루어 볼 때 혈청콜레스테롤 농도가 저하되는 이유는 β -glucan이 투여한 식이성 콜레스테롤과 결합하여 흡수를 저해시키고, 일단 흡수된 콜레스테롤에 대한 이화를 촉진하여 중성스테롤 및 담즙의 형태로 분변을 통한 배설을 증가시키기 때문인 것으로 사료된다.

동맥경화증은 오랜기간동안 진행되어 일단 문제시 되면 정상회복이 어려우므로 평소 식생활개선을 통한 예방적 측면이 강조되지 않을 수 없다. 임상시험의 결과

를 종합하여 볼 때 한국인의 식생활과 밀접한 관계를 가지는 보리에서 분리한 두가지 식이섬유 가운데 수용성 식이섬유의 섭취시 식후 혈중콜레스테롤치의 저하효과가 있었으며 이는 동맥경화증의 위험인자인 LDL 및 VLDL 콜레스테롤의 뚜렷한 감소에 기인한 것이므로 보리로 부터 분리된 수용성 식이섬유(β -glucan)의 섭취는 동맥경화증을 예방하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

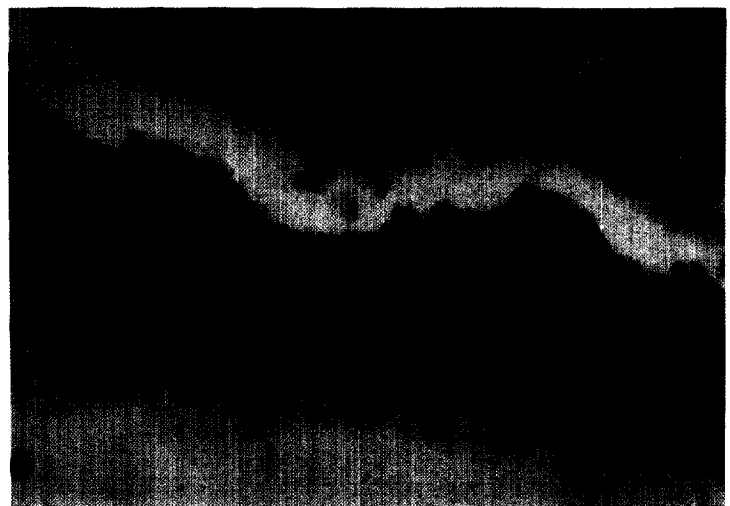
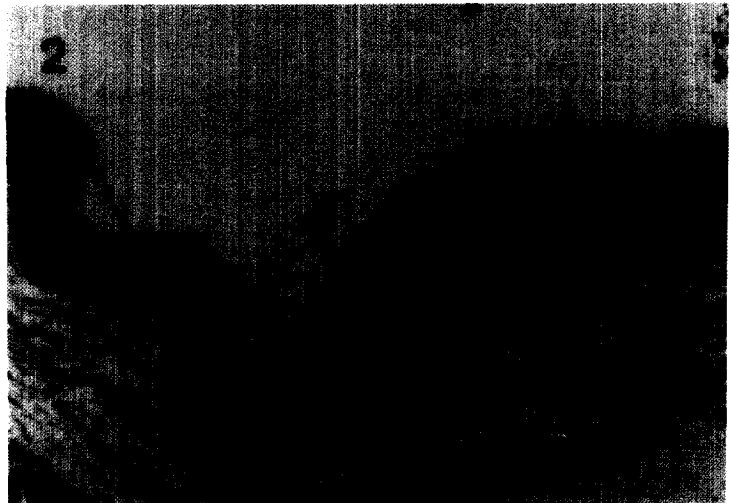
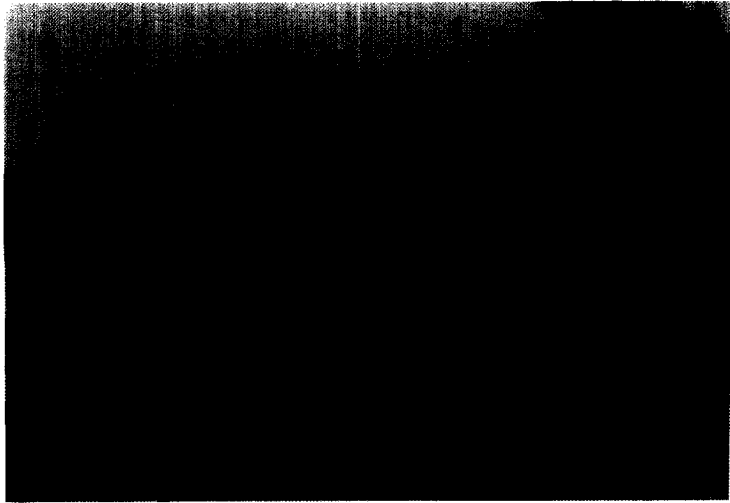
1970년대 후반부터 apolipoprotein A-I, A-II, B 등의 혈장농도가 혈중지질치나 HDL 콜레스테롤 농도보다 환자환자의 관상동맥성 심장질환(coronary heart disease) 유무를 판단할 수 있는 더욱 좋은 진단지표라는 임상적 연구들이 발표되어왔다.²³ 비록 apolipoprotein이 진단에 유용한가는 논란의 대상이나²⁴, apolipoprotein은 지질의 운반 및 체외배설에 관여하는 바가 크며 최근 Warden et al²⁵은 HDL 콜레스테롤을 구성하는 apolipoprotein 가운데 apolipoprotein A-II를 과발현시키는 transgenic mice를 이용한 연구에서 HDL 콜레스테롤이 증가하더라도 apo A-II가 과량 발현될 경우 심한 동맥경화를 일으켰다고 함으로써 상식적으로 알려진 바 처럼 HDL 콜레스테롤의 증가만으로는 동맥경화증을 예방할 수 없다고 보고하기도 하였다. 이처럼 혈중콜레스테롤이 심맥관계 질환의 가장 큰 위험인자임은 사실이지만 체내에서 지방운반을 담당하는 지단백 및 apolipoprotein의 대사이상 역시 고콜레스테롤혈증에 버금가는 위험요소로 지적되고 있으므로 심맥관계 질환의 위험이 있는지 여부를 정확하게 예측해낼 수 있는 진단지표에 관한 연구가 이후 계속되어야 할 것으로 생각된다.

참고 문헌

1. Anistchow N, Chalato S. Ueber experimentelle cholesterinstetase und die Bedeutung für die Entstehung einiger pathogischer Prozesse, *Zentralbl Allg Pathol* 1913 ; 24 : 1~9.
2. Kawamata J, Matsusita H. 編集. 『疾患, 모델動物

Legends for figures

- Fig 1.** The abdominal aorta of rat from atherogenic group. Medial edema, tilted medial elastic membrane, clear spaces between darkly stained elastic membranes maybe the sites of lipid deposition occurred.(H-E stain. $\times 400$).
- Fig 2.** The abdominal aorta of rat from β -glucan treated group. Focal and mild calcified lesions are shown in intima. (Vönkossa stain. $\times 400$).
- Fig 3.** The abdominal aorta of rat from atherogenic group. Severe lipid deposition sites can be detected by red color. Medial lipid depositions are predominant.(Oil red O stain $\times 400$).



- 핸드북』醫齒藥出版株式會社；日本 東京, 1979；197~204.
3. 경제기획원 조사통계국. 『1987년 사망원인 통계연보(인구동태 신고에 의한 집계)』, 서울；유한사, 1988；184.
 4. Kromhout D, Bosschieter EB, De lezenne Coulander C. Dietary fiber and 10-year mortality from coronary heart disease, cancer and all causes, *Lancet* 1982；2：518~522.
 5. Kushi LH, Lew RA, Stare FJ, et al. Diet and 20-year mortality from coronary heart disease. The Ireland-Boston diet-heart study. *N Engl J Med* 1985；312：811~818.
 6. Khaw KT, Barrett-Connor E. Dietary fiber and reduced ischemic heart disease mortality rats in men and women；A 12-year prospective study. *Am J Epidemiol* 1987；126：1093~1102.
 7. 정의배, 이영순. 랫트의 실험적 동맥경화증에 대한 β -glucan의 예방효과. 한국식품위생학회지 1986；1：1~12.
 8. Klopfenstein CF, Hosoney RC. Cholesterol-lowering effects of betaglucan-enriched bread. *Nutr Rep Int* 1987；36：1091~1099.
 9. Kay RM. Dietary fiber. *J Lipid Res* 1982；23：221~241.
 10. Fichard JL, David LT. Effects of dietary oat bran on fecal steroid excretion, plasma fatty acids and lipid synthesis in rats. *Nutr Res* 1985；5：839~846.
 11. Jenkins DJA, Hill MS, Cummings JH. Effect of wheat fiber on blood lipids, fecal steroid excretion and serum iron. *Am J Clin Nutr* 1975；28：1408~1411.
 12. Vahouny GV. Dietary fiber, lipid metabolism, and atherosclerosis. *Fed Proc* 1986；41：2801~2806.
 13. Bosello O, Cominacini L, Zocca I, et al. Effects of guar gum on plasma lipoproteins and apolipoproteins C-II and C-III in patients affected by familial combined hyperlipoproteinemia. *Am J Clin Nutr* 1984；40：1165~1174.
 14. Bridges SR, Anderson JW, Deakins DA, et al. Oat bran increases serum acetate of hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* 1992；56：455~459.
 15. Miettinen TA, Ahrens EHJr, Grundy SM. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids. *J Lipid Res* 1965；6：411~424.
 16. Grundy SM, Ahrens EHJr, Miettinen TA. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids. *J Lipid Res* 1965；6：394~410.
 17. Wolthuis MS, Albers HFF, van Jeveren JGC, et al. Influence of dietary fiber from vegetables and fruits, bran or citrus pectin on serum lipids, fecal lipids, and colonic function. *Am J Clin Nutr* 1980；33：1745~1756.
 18. 한국보건사회연구원편. 『한국인의 영양권장량』 1991.
 19. Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1977；46：897~930.
 20. Chen WL, Anderson JW, Jennings D. Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1984；175：215~218.
 21. 菅野道廣, 今泉勝己 著(1986), 『コレステロール』 第二版. 이상영, 최영준 옮김. 『콜레스테롤』 서울；신광출판사, 1990.
 22. Dietschy JM, Wilson JD. Regulation of cholesterol metabolism. *N Engl J Med* 1970；282：1128~1138 1241~1249.
 23. Avogaro P, Bittolo BG, Cazzolate G, et al. Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis? *Lancet* 1979；1：901~903.
 24. Hamsten A. Apolipoproteins, dyslipoproteinaemia and premature coronary heart disease. *Acta Med Scand* 1988；223：389~403.
 25. Warden Ch, Hedrick CC, Qiao JH, et al. Atherosclerosis in Transgenic Mice Overexpressing Apolipoprotein A-II. *Science* 1993；261：479~472.