

어유의 Eicosapentaenoic Acid의 식이섭취가 성숙쥐의 혈청 및 간의 지질조성에 미치는 영향*

정영진 · 박정숙 · 박화진** · 장유경***

충남대학교 가정대학 식품영양학과

한국인삼연초연구원, ** 한양대학교 가정대학 식품영양학과***

Effect of Dietary Eicosapentaenoic Acid on Serum and Liver Lipids Patterns of Male Rat

Chung, Young-Jin · Park, Jung-Sook · Park, Hwa-Jin** · Chang, Yu-Kyung***

Department of Food and Nutrition, College of Home Economics, Chungnam National University

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute,** Department of Food and Nutrition, College of

Home Economics, Hanyang University,*** Seoul, Korea

ABSTRACT

The dietary effects of marine n-3, plant n-3 and plant n-6 fatty acid on serum lipids levels, liver phospholipid fatty acid composition in rat were investigated. Four groups of male Sprague-Dawley rats, 30 weeks old, were fed on one of 4 different experimental diets for 4 weeks. The diets were composed of 15% fat(w/w) of either concentrated EPA oil(20 : 5, n-3 : 65%), fish oil(20 : 5, n-3 : 19%, 22 : 6, n-3 : 18%), perilla oil(18 : 3, n-3 : 60%) or corn oil(18 : 2, n-6 : 49%).

Blood was initially taken before experimental feeding and also taken after 2 weeks and 4 weeks feeding the diet respectively and then examined for the levels of serum lipids. Rats were sacrificed at 4 weeks after the diet for the analysis of liver phospholipid fatty acid.

EPA feeding remarkably decreased the serum levels of triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol and total phospholipid than any other oil feeding.

Fish oil feeding decreased serum HDL-cholesterol level comparable to the effect of EPA feeding and decreased total cholesterol and phospholipid less than but close to the effect of EPA feeding.

Perilla oil feeding did not change serum levels of triglyceride and phospholipid, but it decreased serum total cholesterol a lot and HDL-cholesterol a little. Corn oil feeding did not affect triglyceride and total cholesterol while it increased serum level of HDL-cholesterol and total phospholipid. Serum HDL-cholesterol level was increased only in corn oil group.

채택일 : 1994년 6월 24일

*이 논문은 1992년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

But contrary to the result of serum total phospholipid, liver phospholipid level found to be higher in fish oil and EPA groups than in perilla oil and corn oil groups.

The fatty acid composition of liver phospholipid, phosphatidylcholine(PC) and phosphatidylethanolamine(PE) turned out to be affected by dietary fatty acid.

18 : 2 of liver PC was the lowest in FO group following CO group.

The ratio of 20 : 4/18 : 2 was lower in PO group than in EPA group in consequence of higher 18 : 2 and lower 20 : 4 in PO group and vice versa in EPA group.

In the liver PC and PE, similar trends in the ratios of n-6/n-3 and 20 : 4/18 : 2 were found showing higher ratios with CO and EPA group over FO and PO group.

EPA group showed the lowest level of 20 : 5 and lower level of 20 : 6 than DHA group.

Fish oil was more efficient than EPA oil and PO in lowering the ratio of n-6/n-3 in consequence of the highest 22 : 6, and the lowest 18 : 2 in liver phospholipid. But PO lowers the ratio of 20 : 4/18 : 2 more than FO.

In conclusion, EPA oil was more effective in lowering serum lipids than FO and PO. Reviewing the dietary effect of fatty acid on eicosanoids composition in rats, it is considered that more possibility was with FO than PO in the effectiveness of atherosclerosis prevention and more with PO than with EPA oil. It was also found that FO showed more effective than EPA oil for atherosclerosis prevention. It was hardly found that CO had any effect on lowering serum lipids and on eicosanoids composition in liver phospholipid for the prevention of atherosclerosis.

KEY WORDS : EPA · perilla oil · n-3 fatty acid · n-6 fatty acid · serum lipid · liver phospholipid fatty acid.

서 론

최근 우리나라인이 섭취하는 식이중 지방의 비율은 매년 증가하고 있으며, 이에 따른 질병의 발생 양상도 크게 변화되어 1990년도 사망원인중 순환기 질환이 26.9%로 1위를 차지하여 그 원인과 예방 대책이 시급히 요구되고 있다¹⁻³⁾. 관상동맥성 심장질환의 발병은 비정상적인 지질대사가 주요 위험인자중의 하나이며, 식이내의 지방의 총량과 지방의 종류가 체내 지질 농도를 좌우하는 중요한 요인이 된다고 한다⁴⁾.

혈청 지질 농도에 영향을 미치는 식이 지방의 종류는 구성지방산에 의하는데 대체로 고도불포화 지방산이 혈청지질 저하효과가 큼이 오래전부터 알려져왔다. 이러한 고도불포화지방산(PUFA)으로는 식물성 지방, 즉 옥수수 기름속에 있는 linoleic

acid(LA, C18 : 2 n-6), 들기름에 있는 α -linolenic acid(LNA, C18 : 3 n-3)와 바다동물이나 생선등에 있는 eicosapentaenoic acid(EPA, C20 : 5 n-3) 및 docosahexaenoic acid(DHA, C22 : 6 n-3) 등이 있다. 식물성 기름과 어유는 비슷한 정도로 혈청의 총 cholesterol과 LDL-cholesterol을 낮추며, 특히 어유는 triglyceride 및 VLDL-cholesterol을 낮추는 효과가 크다고 보고되었다⁵⁻⁹⁾.

그러나 PUFA중에서도 n-3계열의 지방산은 동량의 n-6계열의 지방산보다 triglyceride의 저하효과가 더 크다¹⁰⁾고 하나 최근에는 n-3 불포화지방산중에서도 식물성유의 LNA보다는 어유속의 C₂₀ 이상의 PUFA인 EPA나 DHA가 더욱 혈청지질 저하효과가 크다고 보고된 바 있다. 이는 EPA나 DHA의 단독 또는 종합적인 작용효과이러라 생각되어지나, 이 두 지방산의 효과의 차이에 관하여는 아직 정확히

확인되어 있지 않다. 생선이나 어유를 섭취시켰을 때 혈청 총 cholestrrol, triglyceride등이 감소한다는 데에는 일치하나 LDL-cholesterol, HDL-cholesterol 등에 대한 결과는 다양하게 나타난다¹¹⁻¹⁷⁾.

어유에 의한 혈청지질의 반응이 다르게 나타나는 이유로서 어유는 n-3 PUFA, MUFA, SFA의 heterogeneous mixture일뿐 아니라¹⁸⁾, 실험시 사용된 어유의 섭취량과 섭취 기간의 차이외에도 어유의 급원의 차이때문으로 생각해 볼 수 있다. 어유는 생선급원에 따라 2개의 주요 지방산 즉 EPA와 DHA의 상대적인 조성에 큰 차이가 있고, 총 n-3 지방산의 함량이 크게 다르기 때문에 어유에 대한 많은 연구 결과가 일치하지 않은 것으로 여겨진다.

그러나 최근에는 어유의 섭취로 인해 혈청지질 농도가 저하됨으로써 관상심장질환의 위험도가 감소한다기보다는 관상심장질환의 직접적인 사망원인이 되는 동맥경화와 혈전형성의 억제작용에 의해 그 위험도가 감소한다는 보고가 있다¹⁹⁾. 식이 지방산의 변화는 세포막 인지질의 지방산 조성에 변화를 초래하고, 이는 다시 prostaglandin을 경유하는 여러 생리적 반응에 영향을 미칠수 있음이 제시되어 왔다²⁰⁻²²⁾.

따라서 본 연구에서는 이들 prostaglandin의 전구체가 되는 eicosanoids의 수준이 식이 지방산에 의해 영향을 받는지, 또한 어유의 n-3, 식물성 n-3 및 n-6 지방산에 의해 효과의 차이가 나는지를 살펴보고 또한 동맥경화형성의 주요 요인중의 하나인 혈청지질의 개선작용에 미치는 이들 n-3, n-6지방산의 효과를 비교해 보고자 성숙쥐에게 지방의 종류를 EPA의 함유 비율이 60% 이상이 되는 EPA 농축어유나 EPA와 DHA가 비슷한 구성비(EPA; 19%, DHA; 18%)로 이루어진 어유(정어리유), 식물성 n-3계인 α -linolenic acid의 급원이 되는 들기름, n-6계의 linolic acid의 급원인 옥수수 기름의 4종으로 나누어 섭취시키고 이들 지방산 섭취에 따른 혈청지질 수준의 차이와 섭취기간에 따른 변화를 살펴보고, 간의 인지질의 지방산 조성을 비교하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 식이

생후 30주된 Sprague-Dawley종 숫컷쥐 40마리를 난괴법에 의해 4군으로 나누어 실험 식이를 4주간 투여하였다. 실험식이의 구성은 Table 1에서와 같이 AIN-76 식이를 기초로 하여 식이 100g 중 탄수화

Table 1. Composition of experimental diets(g/100g diet)

Ingredients	Diet group ¹⁾				
	FO	EPA	PO	CO	
Casein	20	20	20	20	
Carbohydrates	Corn starch	15	15	15	15
	Sucrose	40	40	40	40
Fat	Fish oil	15			
	EPA		15		
	Perilla oil			15	
	Corn oil				15
DL-Methionine		0.3			
Mineral-Mix. ²⁾		3.5			
Vitamin-Mix. ³⁾		1.0			
Choline		0.2			
Fiber		5.0			

- 1) Diet group : FO ; fish oil, EPA ; concentrated EPA oil, PO ; perilla oil CO ; corn oil
- 2) Mineral mix. ; same as in AIN-76 formula mineralmix. ; AIN-76 by Nihon Nosan Kogyo K. K ; percent of mineral mixture CaHPO₄, 50.0 ; NaCl, 7.4 ; K citrate H₂O, 22.0 ; K₂SO₄, 5.2 ; MgO, 2.4 ; MnCO₃, 0.35 ; Fe-citrate, 0.6 ; ZnCO₃, 0.16 ; CuCO₃, 0.03 ; KIO₃, 0.001 ; Na₂SeO₃, 0.0007 ; CrK(SO₄)₂12H₂O, 0.055 ; sucrose powered to make 100%
- 3) Vitamin mix. ; same as in AIN-76 formula vitamin mix. ; AIN-76 by Nihon Nosan Kogyo K. K ; percent of vitamin mixture thiamin, HCL, 0.06 ; riboflavin, 0.06 ; pyridoxine, HCL, 0.07 ; niacin, 0.3 ; Ca pantothenate, 0.16 ; folate, 0.02 ; biotin, 0.002 ; Vit.B12, 0.0001 ; Vit.A, 0.022 ; Vit.E, 0.50 ; Vit.D3, 0.00025 ; Vit.K, 0.005 ; sucrose powered to make 100%

물이 55% (w/w), 단백질이 20% (w/w), 지방이 15% (w/w)가 되도록 고정하였으며, 지방산 공급원에 따라 실험군을 명명하였다. EPA와 DHA가 같은양 함유된 생선기름(정어리유)을 섭취한 군을 FO군, EPA가 주된 지방산인 EPA군, α -linolenic acid가 주된 지방산인 perilla oil을 섭취한 군을 PO군, linoleic acid가 주된 지방산인 corn oil을 섭취한 군을 CO군이라 하였다.

옥수수기름은 동방유량의 옥배유를 구입하였고, 들기름은 대전 시내에서 시판되고 있는 들깨를 구입하여 가정용 기름제조기로 제조하여 사용하였으며, 어유와 EPA 농축유는 고려합성연구소(대전)에서 회사받아 사용하였다. 식이 지방의 지방산 조성을 분석한 결과는 Table 2에서와 같다.

식이 제조는 3일 단위로 제조하여 각 군마다 1일분씩 질소 충전하여 냉동(-20°C)보관하여 사용하였다. 식이는 매일 일정한 시간에 공급하고, 물과 식이는 제한하지 않았으며, 남은 양은 폐기하였고 식이통은 매일 세척했다.

2. 채혈 및 희생

식이 시작전과 식이 시작 2주 후 12시간 단식시킨 후 꼬리를 잘라 채혈하여 혈청을 분리하고 실험 전까지 냉동보관했다. 식이시작 4주후가 되는 희생 당일 역시 12시간 단식시키고, ether 마취하여 심장에서 채혈후 개봉하여 간을 얻었다. 혈액은 혈청을 분리하고, 간은 dry ice와 ethanol을 이용하여 급속 동결시켜 실험전까지 -70°C에서 보관했다.

3. 혈청의 지질 분석

Triglyceride 정량은 Glycerol-3-phosphate oxidase-p-chlorophenol color development method을 적용한 kit시약(일본 Wako제)을 이용하여 혈청중의 triglyceride를 정량하였다.

총 cholesterol 정량은 Cholesterol oxidase-p-chlorophenol법을 적용한 kit(Wako제)를 이용하여 혈청중의 총 cholesterol 함량을 측정하였다.

HDL-cholesterol 정량은 헤파린-망간 결합 침전법을 적용한 kit(Wako제)를 이용하여 정량하였다.

동맥경화 지수(Atherogenic index)는 total-cholesterol과 HDL-cholesterol로부터 계산했다.

총 인지질 정량은 Choline oxidase phenol법을 응용한 kit(Wako제)를 이용하여 정량하였다.

4. 간 조직의 총 인지질농도

간 조직중의 total lipid는 Bligh & Dyer's method²³⁾를 응용하여 추출했다. 이 중 일부를 위해 Bartlett's method²⁴⁾를 이용하여 총 인지질을 정량하였다.

5. Gas chromatography에 의한 Phosphatidylcholine과 phosphatidylethanolamine의 지방산 분석

간 조직에서 추출한 지질을 TLC plates 위에 일

Table 2. Fatty acid composition of dietary oils (Unit : %)

Fatty acid	Dietary oil			
	FO	EPA	PO	CO
14 : 0	6.01	—	—	—
16 : 0	25.92	—	6.13	11.49
Unknown	6.83	—	—	—
18 : 0	5.06	1.19	2.34	2.09
18 : 1	14.42	0.97	18.90	30.53
Unknown	—	—	—	2.99
Unknown	—	—	—	3.15
18 : 2(n-6)	trace	trace	12.67	48.70
18 : 3(n-3)	—	4.67	59.97	1.03
Unknown	—	10.06	—	—
18 : 4(n-3)	—	1.70	—	—
20 : 4(n-6)	—	8.44	—	—
Unknown	—	2.78	—	—
20 : 5(n-3)	19.35	63.29	—	—
Unknown	—	1.24	—	—
Unknown	—	1.14	—	—
22 : 6(n-3)	18.44	3.98	—	—
SFA	36.99	1.19	8.47	13.58
MUFA	14.42	0.97	18.90	30.53
PUFA	37.79	82.08	72.64	49.73
n-6	0	8.44	12.67	48.70
n-3	37.79	73.64	59.97	1.03
n-6/n-3	0	0.11	0.21	47.28

SFA : Saturated fatty acid

MUFA : Monounsaturated fatty acid

PUFA : Polyunsaturated fatty acid

정량 점적하여 chloroform : acetone : methyl alcohol : acetic acid : 증류수(100 : 100 : 50 : 4 : 10 v/v)를 전개 용매로 하여 전개한 후 진공상태에서 충분히 건조시키고, 다시 chloroform : acetone : acetic acid : 증류수(180 : 150 : 30 : 10 v/v)를 전개용매로 하여 같은 위치로 2중 전개시켰다.

전개가 끝나면 충분히 건조시켜 표준물질과 대조하여 각 분획별로 표시하고, silicic acid를 회수하여 chloroform : methyl alcohol(1 : 2 v/v)로 용출하여 N₂ gas로 농축한 후 Morrison method²²⁾로 esterification한 후 GC(HP 5890II)를 이용하여 지방산 분석을 하였다. Column은 SP-2340(capillary column 30m, 0.25mm, 0.20 μ m)을 사용했고 FID로 분석하고, 가스 유량은 air가 300~400ml/min, H₂가 30~40ml/min, N₂가 1ml/min로 흐르게 하였다. 주입구 온도는 210 $^{\circ}$ C, 검출기 온도는 230 $^{\circ}$ C로 설정했다. 초기온도는 150 $^{\circ}$ C로 3분간 머무르게 하고, 3 $^{\circ}$ C/min씩 증가하여 230 $^{\circ}$ C에서 5분간 머무르게 하였다.

6. 통계 분석

모든 자료는 평균 \pm 표준편차로 나타내었고, 혈청 지질 농도는 반복 측정 자료분석(ANOVA of repeated measure)을 시도 하여 각 혈청 지질 성분에 따라 식이군과 섭취 기간과의 교호작용, 식이군간 차이 섭취 기간의 효과에 대하여 검정하였다. 동일 기간내에서의 식이 효과에 관하여는 initial value에서 각기 2주후, 4주후의 결과의 차이와 2주에서 4주후의 결과의 차이를 조사하였다. 이때 군간 차이나는 부분에 대하여는 Tukey의 다중비교를 하였다. 한편 동일군내에서의 섭취 기간에 따른 효과를 보기 위하여 각 군별로 Repeated measurement 분석을 시도하여 initial value를 기준으로 2주와 4주의 연속

기간 간의 결과의 차이를 검정하였다. 그런데 이들이 상호 직교하지 않기 때문에 Bonferroni 방법으로 유의수준을 $\alpha/3$ ($p < \alpha/3$, $\alpha = 0.05$)로 조정하여 $p < 0.017$ 수준에서 보았다.

간의 PC 및 PE의 지방산 조성은 각 지방산별로 따라 군간의 차이를 ANOVA와 Tukey의 다중비교에 의해 검정 하였다.

결과 및 고찰

1. 동물의 체중 변화 및 사료 효율

Table 3에 4주간의 실험식이후의 동물의 체중증가량과 사료섭취량과 사료효율을 나타내었다. FO군과 CO군은 실험식이 섭취 4주후 모두 체중이 증가했으나 EPA 군은 시작전보다 감소되었으며 PO군은 큰 변화가 없고 약간 증가경향을 나타내었다.

식이섭취량은 FO군과 CO군과 PO군은 비슷하고, EPA군이 가장 낮았다. 따라서 사료효율면에서도 EPA군이 가장 낮은수치를 나타내고 있다. 이는 아마도 본 실험에 사용된 쥐가 어린 쥐가 아니고 성장이 끝난 성숙 쥐이었고, 농축 EPA에서 나는 강한(비린)냄새로 인해 식이 섭취가 감소하고 또한 식이내 지방의 중량이 15%로 높아 지방함성은 저하되고 분해가 항진됨에 따라 체중감소가 일어난 것으로 생각해 볼 수 있다. 본 실험실에서 어린 쥐를 대상으로 행한 10% 지방식이 실험에서 EPA군의 체중증가량과 부고환지방량이 다른 군에 비해 적었으나 다른 조직의 무게는 차이가 없었는데 비해, 5% 지방식에서는 부고환지방 조직 무게만 적고 체중증가량과 다른 조직의 무게는 차이가 없었던 점이 이에 대한 보충 설명이 될 수 있을 것이다.

Table 3. The changes of body weight, food intake and food efficiency ratio during 4 weeks feeding

	Diet group			
	FO	EPA	PO	CO
Body weight gain(g/4wks)	30.9 \pm 34.4 ^{b1)2)}	-41.2 \pm 23.4 ^a	17.8 \pm 24.5 ^b	36.8 \pm 35.3 ^b
Food intake(g/day)	17.4 \pm 1.9 ^b	12.9 \pm 2.8 ^a	19.3 \pm 1.8 ^b	17.2 \pm 3.5 ^b
Food efficiency ratio	0.057 \pm 0.068 ^b	0.115 \pm 0.086 ^a	0.030 \pm 0.044 ^b	0.064 \pm 0.052 ^b

1) Means \pm SD

2) Values in the same row with differnt superscripts are significantly different at $p < 0.05$

3) Food efficiency ratio=Body weight gain(g/day)/Food intake(g/day)

2. 혈청 지질 성분

Table 4-I, II에 식이 섭취 2주후와 4주후의 식이군별 혈청 지질 성분의, 평균과 표준편차를 나타내었고 식이 시작전 농도를 기준으로 동일기간 내에서 군간의 차이의 유의성을 검증한 결과를 나타내었다. Table 4-II에는 동일 식이군내에서 식이 섭취 기간에 따른 혈청 지질농도 변화의 유의성을 식이 시작전 농도를 기준으로 검증한 결과를 나타내었다.

1) 혈청 triglyceride 농도

Table 4-I, II에 나타난 혈청 triglyceride(TG)농

도는 개체간의 큰 차이로 인해 통계적인 유의성을 나타낸 것이 적었다. 그러나 EPA군에서는 혈청 TG함량이 실험식이 2주 후에 처음의 50% 수준으로 감소하여, PO군과 CO군에 비해 크게 낮았고, 4주후에도 그대로 그 수준을 유지하였다. EPA군과 FO군간에, CO군과 PO군간에, FO군과 PO군간에 차이를 내지 않았다. FO군, PO군과 CO군에서는 섭취기간의 경과에 따라 혈청 TG농도의 변화를 나타내지 않았는데, EPA군은 2주후에 혈청 TG농도의 변화가 나타났다. 이는 n-6계 linoleic acid를 섭취시켰을 때는 혈청내 TG의 농도가 크게 감소되지 않았으나¹¹⁾¹²⁾²⁶⁾, n-3계 EPA나 DHA를 섭취

Table 4-I. The concentration changes of serum lipids by diet groups by duration

Serum lipid	Diet	Initial	After 2 weeks	After 4 weeks
Tri-glyceride (ml/dl)	FO	121.8 ± 53.9 ¹⁾	97.0 ± 31.7 ^{ab2)}	97.3 ± 16.6 ^{ab}
	EPA	152.2 ± 79.8	73.4 ± 27.8 ^a	75.0 ± 20.6 ^a
	PO	120.8 ± 46.8	143.8 ± 41.8 ^b	119.4 ± 57.8 ^{ab}
	CO	134.0 ± 39.8	162.2 ± 76.4 ^b	194.8 ± 73.6 ^b
Total cholesterol (ml/dl)	FO	89.2 ± 10.0	79.6 ± 14.8 ^{bc}	57.4 ± 8.3 ^b
	EPA	103.2 ± 19.0	53.2 ± 3.1 ^a	43.5 ± 5.2 ^a
	PO	112.8 ± 18.0	94.3 ± 12.0 ^b	74.4 ± 11.0 ^{ab}
	CO	106.8 ± 11.0	118.5 ± 23.6 ^c	111.6 ± 18.3 ^c
HDL-cholesterol (ml/dl)	FO	59.5 ± 7.4	33.2 ± 5.4 ^a	32.4 ± 3.6 ^{a A3)}
	EPA	51.2 ± 12.4	30.0 ± 4.9 ^{ab}	30.0 ± 3.9 ^{ab A}
	PO	55.4 ± 5.1	61.4 ± 6.7 ^c	49.2 ± 5.8 ^{b B}
	CO	58.0 ± 9.2	52.4 ± 10.4 ^{bc}	72.9 ± 11.7 ^{c C}
Phospho-lipid (ml/dl)	FO	148.6 ± 31.7	114.7 ± 27.0 ^b	98.1 ± 18.9 ^{a A}
	EPA	160.4 ± 32.7	81.8 ± 9.8 ^a	82.8 ± 8.8 ^{a AB}
	PO	131.1 ± 14.4	134.6 ± 12.8 ^b	141.6 ± 8.4 ^{b AB}
	CO	184.2 ± 21.0	175.2 ± 21.4 ^b	203.7 ± 34.3 ^{b B}
Atherogenic Index ⁴⁾	FO	0.51 ± 0.23	1.43 ± 0.53 ^b	0.78 ± 0.16 ^{b A}
	EPA	0.97 ± 0.36	0.82 ± 0.36 ^a	0.45 ± 0.13 ^{a AB}
	PO	1.06 ± 0.44	0.54 ± 0.11 ^a	0.52 ± 0.20 ^{a B}
	CO	0.86 ± 0.11	1.26 ± 0.05 ^b	0.53 ± 0.11 ^{a A}

1) Mean ± SD

2) Values in the same column with different small alphabet letters in each serum lipid parameter are significantly different among diet groups based on the initial value at P < 0.05 as analyzed by repeated measure design

3) Values in the same column with different large alphabet letters in each serum lipid parameter are significantly different among diet groups based on the differences from the 2nd week's value, at P < 0.05 as analyzed by repeated measure design

4) Atherogenic Index = $\frac{\text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}}{\text{HDL-cholesterol}}$

Table 4-II. Analysis of significance of the concentration changes of serum lipids by duration of feeding in a diet group

Serum lipid	Diet	After 2 weeks	After 4 weeks
Triglyceride	FO		
	EPA	+	+
	PO		
	CO		
Total cholesterol	FO		+ #
	EPA	+	+ #
	PO		+ #
	CO		
HDL-cholesterol	FO	+	+
	EPA	+	+
	PO		#
	CO		#
Phospholipid	FO	+	+
	EPA	+	+
	PO		
	CO		+ #
Atherogenic-Index	FO	+	+ #
	EPA		+ #
	PO	+	+
	CO	+	+ #

+ : Significantly different from the initial value at $p < 0.017$ ($p < \alpha_3$, $\alpha = 0.05$) in the diet group.
 # : Significantly different from the 2nd week's value at $p < 0.017$ ($p < \alpha_3$, $\alpha = 0.05$) in the diet group.

시켰을 때에는 혈청 TG가 감소되었다는 연구결과들⁹⁾²⁷⁻²⁸⁾도 있고, 유의성 있는 효과를 내지 못한 경우도 있었는데 그 이유를 짧은 사육기간 때문으로 보기도 하였다²⁹⁾. 본 결과에서 나타난 EPA군의 체중감소도 혈청 TG저하의 한 요인으로 작용하였을 가능성을 생각해 볼 수 있다.

본 결과에서, n-6계 불포화 지방산인 LA는 n-3계 지방산보다 혈청 TG를 저하시키기 보다는 상승시킬 우려까지 있으며, 어유의 n-3계인 EPA가 식물성 n-3계인 LNA보다 혈청 TG 저하효과가 현저히 큼을 알 수 있었다. FO군은 EPA군에 비해 그 효과가 뚜렷하지 않았는데 FO군의 n-3계 지방산의 함량이 EPA군의 절반수준이었고 30% 정도나 들어있는 14

:0과 16:0의 영향 때문이 아니었나 생각된다.

2) 혈청 total cholesterol 농도

Table 4-I, II에서 보면 혈청cholesterol의 농도에 있어서, 식이군간에, 또한 섭취기간에 따라 유의적인 차이를 보였다. FO군과 PO군은 기간에 따라 비슷한 정도로 감소하나, EPA군에서의 감소는 혈청 TG농도에서와 같은 양상으로 나타나 식이 시작 2주 후에 처음의 50% 수준으로 감소하고 있다. CO군은 식이로 인한 변화를 볼 수 없었다.

박현서³⁰⁾의 경우도 쥐에게 15% (w/w) 지방 식이를 섭취시켰을때 어유에 의해서 유의적으로 감소했으나, 옥수수유에 의해서는 감소되지 않았으며 그 외의 다른 연구⁷⁾¹⁴⁾에서도 어유에 의해 혈청cholesterol이 감소한다는데 일치하고 있다.

Sanders등²⁷⁾은 Max EPA를 섭취시켰을때 혈청 cholesterol이 감소했으나, α -linolenic acid가 풍부한 linseed oil을 섭취시켰을때는 감소되지 않았다고 했다. 그러나 본 연구에서는 α -linolenic acid가 풍부한 들기름을 섭취시킨 결과, 변화비율이 EPA군에서보다는 적지만 FO군과는 거의 같은 수준으로 저하됨을 볼 때 같은 n-3계 지방산 중에서도 어유의 n-3계인 EPA가 식물성 n-3계인 linolenic acid보다 혈청cholesterol 저하효과가 현저히 컸음을 알 수 있다(Table 4-I, II). 이는 아마도 EPA군에서 나타난 체중감소도 한 요인이 될 수 있으리라고 볼 수 있다.

9% 지방첨가식이로 n-3지방산을 28% 함유하는 어유를 먹인 Schrijver등²⁸⁾의 실험결과에서 혈청 cholesterol의 큰 감소(50%)를 보고하여 본 실험결과와 일치한 경향을 보였다.

식사중에 함유되어 있는 포화지방산의 종류에 따라 혈청 cholesterol의 농도에 미치는 효과가 다름이 보고되어 있다. 즉, lauric acid(12:0), myristic acid(14:0) 및 palmitic acid(16:0)는 혈청 cholesterol의 농도를 상승시키는 작용이 있으나 stearic acid(18:0)는 혈청 cholesterol농도의 상승을 가져 오지는 않는다고 한다³²⁻³³⁾. 본 실험에 사용된 fish oil의 지방산 중에 myristic acid(14:0) 및 palmitic acid(16:0)가 각각 6.01%, 25.9%를 함유하고 있음에도 불구하고 FO군에서 혈청 cholesterol의 농

도가 저하되는 이유는 어유중에 있는 n-3 지방산(20 : 5, 22 : 6)의 혈청 cholesterol 저하효과가 14 : 0, 16 : 0의 cholesterol 상승효과에 비해 훨씬 큰 때문이 아닌가 생각된다. 또한 EPA군에서 혈청 cholesterol의 농도가 현저하게 감소되는 이유는 식이중에 함유되어 있는 n-3계열의 지방산과 n-6계열의 지방산의 비가 높는데 기인할 수도 있다고 보여진다 (Table 2)³⁴⁾.

3) HDL-cholesterol 농도

식이군별 혈청내 HDL-cholesterol 농도와 섭취 기간별 변화를 살펴보면 (Table 4-I, II), FO군과 EPA군은 2주 후에 급격한 감소를 보이고, 4주까지 그대로 유지되나 PO군과 CO군간에는 섭취기간과 식이군간에 상호작용 효과가 나타나서 PO군에서 2주까지 변화가 없다가 4주 후에 감소가 일어났다. 이에 반해 CO군에서는 2주까지는 변화가 없다가 4주 후에 증가하였다. 그러나 PO군은 CO군에 비해 4주간의 식이 섭취 후 HDL-cholesterol 농도에 변화가 적게 나타났음을 알 수 있다.

n-3계열의 EPA를 많이 함유한 어유가 HDL-cholesterol의 함량을 증가시킨다는 보고도 더러 있으나, 본 연구결과에서처럼 어유의 n-3계 지방산에 의해서 감소된다는 연구도 있다¹¹⁻¹²⁾. 이와같이 고도불포화지방산을 섭취함으로써 혈청 HDL-cholesterol 수준이 저하되는 기전으로는 전체적인 cholesterol 저하로 nascent HDL과 ApoA-I의 생성저하 때문일 것으로 판단되고 있다³⁵⁾. 또한 어유 섭취시 hepatic lipase (HL) 활성이 감소하는데, HL의 활성 감소는 간에서의 HDL분해의 감소와 uptake의 감소를 가져오게 되므로 이것으로는 설명될수없고 간에서의 HDL형성의 감소 때문인것 같다는 견해도 있다³⁶⁾.

식물성 n-3계인 linolenic acid의 경우는 급원에 따라 다른 효과가 나타남이 보고되고 있다. 사람을 대상으로 linseed oil을 9.38g을 2주간 투여했을 때 HDL-cholesterol에 영향을 주지 못했다는 보고도 있으나³⁷⁾, 쥐에게 들기름의 섭취 비율이 많아질수록 유의적인 차이는 없었지만 HDL-cholesterol 농도의 점차적인 감소가 있었다는 보고¹⁵⁾는 들기름의 섭취기간이 경과됨에 따라 저하효과를 나타낸 본

연구결과와 비슷한 결과라 하겠다. 또한 본 결과에서 n-3계 지방산은 전체적으로 혈청 HDL-cholesterol 농도를 저하시켰고 그 저하정도가 어유의 n-3계가 식물성 n-3계에 비해 훨씬 컸다고 할 수 있으나, EPA를 보다 적게 함유한 FO군에서 EPA군에 비해 저하율이 더 컸음을 볼때, EPA 이외에 어유에 많은 DHA 등 HDL cholesterol 저하에 크게 기여할 다른 요인이 있었을 것으로 생각해 볼 수 있다. 혈청 인지질속의 DHA는 HDL의 주요 apoprotein인 ApoA-I 농도 저하와 함께 HDL-cholesterol 농도를 저하시킨다고 보고한 논문³⁸⁾도 있다. 따라서 EPA나 linolenic acid에 의한 HDL의 저하효과는 더욱 연구되어야 할 과제로 사료된다. 그러나 가족성 고콜레스테롤혈증 (familial hypercholesterolemia)과 고콜레스테롤혈증 (hypercholesterolemia)에서는 혈청의 total cholesterol, triglyceride, phospholipids의 농도가 증가하고 또한 HDL-cholesterol의 농도도 증가한다³⁹⁾. 본 실험에서의 FO군과 EPA군에서는 이와 상반되는 혈청지질 결과를 보임으로써 이들 질병의 예방 및 관리에 어유섭취가 효과적일 것임을 제시해 주고 있다.

4) 혈청 total phospholipid 농도

EPA군에서는 혈청 triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol에서와 똑같은 양상으로 식이시작 2주 후에 EPA군에서 혈청 총 인지질 농도가 처음의 50% 수준으로 크게 감소하고 (Table 4-I, II) 4주 후에도 계속 그대로 유지되는 것으로 보인다. FO군에서도 EPA군과 비슷하게 2주 후에 감소가 나타나고 4주 후에도 큰 변화없이 처음의 2/3 수준에 이르고 있다. 이에 반해 CO군에서 4주 후의 수준이 2주 후의 수준에 비해 다소 증가하기는 하지만 PO군과 CO군은 섭취에 따른 유의적인 변화를 보이지 않았다. 이와 같이 어유의 n-3계 지방산이 함유된 식이를 섭취함에 따라 혈청내 인지질이 감소한 본 연구 결과는 다른 연구 결과³⁶⁾⁴⁰⁾와도 일치하고 있다. 그리고 혈청중의 인지질 함량이 FO군 특히 EPA군에서 크게 감소한 점은 혈청중의 triglyceride와 total cholesterol의 감소현상과 동반되어 나타난 것으로서 이를 동맥경화증 환자에서 phospho-

lipid의 농도가 증가한다는 사실과 관련시켜 볼 때 앞으로 n-3계 지방산 섭취와 인지질 대사 특히 인지질 class와의 관계등을 밝히는 연구가 뒤따라야 하리라 본다.

5) 동맥경화지수(Atherogenic Index, AI)

성인병의 초기증상으로서 동맥경화증의 발병지표로 널리 사용되고 있는 동맥경화지수(AI)를 앞에서 분석한 HDL-cholesterol과 total cholesterol로부터 계산하여 구한 결과를 Table 4-I, II에 나타내었다.

EPA군은 total cholesterol과 HDL-cholesterol이 2주 후에 모두 감소하였으나 4주 후에 HDL-cholesterol의 저하는 더 일어나지 않았고, total cholesterol은 4주 후에도 더욱 저하되었기 때문에 동맥경화지수가 2주에는 변화가 없다가 4주후에 감소를 나타내었다. 반면 PO군은 EPA군보다 동맥경화지수가 더 빠르게 저하되는 경향으로 나타났다. PO군은 EPA군과는 반대로 total cholesterol이 4주후에야 감소되고 HDL cholesterol은 2주후에 약간 증가하는 경향을 보이다가 4주후에 약간 감소했기때문에, AI는 EPA군보다 더 빨리 2주후에 감소가 일어나고 4주후에도 그 수준을 유지하는 것으로 나타났다. 그러나 FO군에서는 혈청 total cholesterol이 4주후에 감소하고 HDL-cholesterol이 2주에 감소하여 4주까지 유지됨으로써 동맥경화지수는 2주후에 크게 증가되었고, 4주후에는 저하되었으나 식이 시작전에 비해서는 AI의 증가를 나타내었다.

CO군에서는 동맥경화지수가 4주후에 감소하는 경향을 나타내고 있는데 이는 total cholesterol이 변화되지는 않았어도 HDL-cholesterol의 증가때문으로 보인다.

PO식이 EPA에 비해 AI에 미치는 영향은 상대적으로 단기기간내에 나타날 수 있으며 이는 P/S

ratio가 클수록 AI가 감소한다는 최진호, 윤형식의 보고²⁹⁾와는 부분적으로 일치하지 않는다.

3. 간조직의 지질 분석

1) 간의 총 인지질

Table 5에 식이군에 따른 간의 총 인지질 농도를 나타내었다. FO군과 EPA군이 PO군과 CO군에 비해 간의 총 인지질 함량이 높았다. 이는 앞에서의 혈청 총 인지질에 대한 결과와 대조를 이루고 있다. PO군과 CO군 간에는 차이가 없었다. 이와같이 FO군에서 간의 총인지질이 높게 나타나는 이유가 간에서의 free fatty acid의 합성도 감소되고 간으로부터 혈장으로 lipid output이 감소된 때문이라는 견해⁴⁰⁾가 본 결과를 뒷받침해 준다고 볼 수 있다.

2) Phosphatidylcholine과 phosphatidylethanolamine의 지방산 조성

어유의 섭취가 인지질 대사에 미치는 영향에 관한 연구는 극히 적은 상태이다. 식이지방산의 종류에 따라 rat 체내에서 합성되는 인지질 class가 다른 지에 대해서는 이견이 있으나, 각 organelle막에 함유되어 있는 PC와 PE가 각기 39~58%, 13~35%로서⁴¹⁾ 간 인지질중 거의 대부분을 구성하고 있으며 eicosanoids의 전구체가 되는 지방산의 내피계 인지질로의 유입정도가 PC>PE>PI>PS의 순으로 크다는 점⁴²⁾, 또한 n-3지방산 식이가 n-6 지방산에 비해 간세포에 choline계 인지질의 비율을 낮춘다고 하는 보고가 있어 PC와 PE를 택해 지방산 조성을 분석하였으며, 이를 Table 6과 7에 나타내었다.

간세포의 인지질은 대부분 인지질의 제 1위치에 포화지방산, 제 2위치에 불포화지방산이 결합된 분자종을 가지나 많은 양의 불포화지방산을 취해 섭취시켰을 경우 생체내에서 제 1위치 및 제 2위

Table 5. The total phospholipid concentration of liver

	Diet group			
	FO	EPA	PO	CO
Liver total Phospholipid(mg/gmtissue)	3.02±0.25 ^{aj)2)}	2.86±0.23 ^a	2.36±0.39 ^b	2.38±0.29 ^b

1) Mean±SD

2) Values in the same row with different superscript are significantly different at P<0.05

EPA식이시 성숙쥐의 혈청 및 간의 지질조성

Table 6. The fatty acid composition of rat liver phosphatidylcholine expressed as area percent of total fatty acid methyl esters

Fatty acid	Diet group			
	FO	EPA	PO	CO
16 : 0	24.25 ± 1.17 ^{a1)2)}	27.28 ± 0.012 ^b	23.04 ± 0.018 ^a	24.67 ± 1.43 ^{ab}
18 : 0	24.43 ± 1.75 ^b	19.99 ± 0.024 ^a	23.40 ± 0.037 ^b	24.11 ± 1.21 ^b
18 : 1	3.71 ± 0.80	4.98 ± 0.022	4.47 ± 0.023	2.97 ± 0.75
18 : 2(n-6)	5.53 ± 0.82 ^a	8.05 ± 0.037 ^b	18.75 ± 0.022 ^c	8.88 ± 0.42 ^b
18 : 3(n-3)	n.d. ³⁾	n.d.	trace	n.d.
20 : 4(n-6)	14.87 ± 1.00 ^a	28.21 ± 0.019 ^b	17.56 ± 0.039 ^a	33.79 ± 1.49 ^c
20 : 5(n-3)	5.40 ± 0.15 ^c	2.08 ± 0.014 ^a	4.70 ± 0.01 ^b	0
22 : 6(n-3)	18.98 ± 2.21 ^b	6.89 ± 0.016 ^a	6.44 ± 0.019 ^a	5.61 ± 1.40 ^a
SFA	48.67 ± 0.65	47.28 ± 0.033	46.44 ± 0.049	48.78 ± 2.65
MUFA	3.71 ± 0.80	4.89 ± 0.021	4.47 ± 0.023	2.97 ± 0.75
PUFA	44.78 ± 0.55 ^a	45.23 ± 0.045 ^a	47.45 ± 0.068 ^b	48.27 ± 1.01 ^b
n-6	20.41 ± 1.82 ^a	36.25 ± 0.044 ^b	36.29 ± 0.062 ^b	42.66 ± 1.9 ^c
n-3	24.37 ± 2.36 ^c	8.98 ± 0.0024 ^{ab}	11.14 ± 0.011 ^b	5.61 ± 1.40 ^a
n-6/n-3	0.93 ± 0.23 ^a	4.04 ± 0.037 ^c	3.26 ± 0.0039 ^b	7.60 ± 1.36 ^d
20 : 4/18 : 2	2.78 ± 0.16 ^b	3.51 ± 0.017 ^c	0.94 ± 0.0024 ^a	3.81 ± 0.0027 ^d

SFA : Saturated fatty acid MUFA : Monounsaturated fatty acid PUFA : Polyunsaturated fatty acid

1) Mean ± SD

2) Values in the same row with different superscripts are significantly different at P < 0.05

3) n.d. : non-detectable

Table 7. The fatty acid composition of rat liver phosphatidylethanolamine expressed as area percent of total fatty acid methyl esters

Fatty acid	Diet group			
	FO	EPA	PO	CO
16 : 0	23.05 ± 0.16 ^{c1)2)}	19.44 ± 0.078 ^a	20.31 ± 0.074 ^b	20.29 ± 0.15 ^b
18 : 0	26.10 ± 0.14 ^a	28.31 ± 0.032 ^c	30.94 ± 0.14 ^d	27.40 ± 0.092 ^b
18 : 1	3.14 ± 0.38	2.15 ± 0.23	0	2.63 ± 0.50
18 : 2(n-6)	4.72 ± 0.014 ^b	3.95 ± 0.013 ^a	9.04 ± 0.055 ^d	4.99 ± 0.02 ^c
20 : 4(n-6)	13.85 ± 0.047 ^a	21.60 ± 0.10 ^c	18.81 ± 0.05 ^b	27.39 ± 0.16 ^d
20 : 5(n-3)	5.56 ± 0.013 ^b	2.79 ± 0.019 ^a	6.99 ± 0.044 ^c	0
22 : 6(n-3)	21.13 ± 0.068 ^d	15.09 ± 0.041 ^b	13.92 ± 0.079 ^a	17.29 ± 0.08 ^c
SFA	49.15 ± 0.29 ^b	47.76 ± 0.060 ^a	51.24 ± 0.063 ^c	47.69 ± 0.24 ^a
MUFA	3.14 ± 0.38 ^b	2.10 ± 0.20 ^a	0	2.63 ± 0.50 ^{ab}
PUFA	45.25 ± 0.11 ^b	43.43 ± 0.14 ^a	48.76 ± 0.061 ^c	49.68 ± 0.26 ^d
n-6	18.56 ± 0.05 ^a	25.55 ± 0.12 ^b	27.85 ± 0.08 ^c	32.38 ± 0.18 ^d
n-3	26.66 ± 0.067 ^d	17.88 ± 0.057 ^b	20.71 ± 0.18 ^c	17.29 ± 0.082 ^a
n-6/n-3	0.698 ± 0.0020 ^a	1.43 ± 0.007 ^c	1.348 ± 0.013 ^b	1.88 ± 0.0024 ^d
20 : 4/18 : 2	2.936 ± 0.0087 ^b	5.46 ± 0.011 ^c	2.08 ± 0.013 ^a	5.48 ± 0.013 ^c

SFA : Saturated fatty acid MUFA : Monounsaturated fatty acid PUFA : Polyunsaturated fatty acid

1) Mean ± SD

2) Values in the same row with different superscripts are significantly different at P < 0.05

치에 포화지방산이 결합된 분자종의 인지질이 만들어진다고 한다²⁶⁾. Kito⁴³⁾는 linoleic acid(18 : 2)를 쥐에게 섭취시켰을 경우 간인지질은 16 : 0, 18 : 0 및 20 : 4의 지방산으로 구성되어있는 인지질이 만들어지지만, 20 : 4의 전구물질을 투여하지 않았을 경우에는 20 : 4가 함유된 인지질이 만들어지지 않는다고 하였다.

PO군과 CO군에는 18 : 2가 각각 12.67%, 48.70% 함유되어 있으므로⁴⁴⁾ PO 및 CO군의 PC 및 PE에 16 : 0, 18 : 0, 20 : 4의 지방산이 다량 함유되어 있는 것은 Kito의 이론과 일치하는 것이고, 한편 FO군 및 EPA군의 식이에는 18 : 2를 거의 미량 함유하고 있음에도 불구하고 FO군과 EPA군의 PC 및 PE에 16 : 0, 18 : 0 및 20 : 4의 지방산이 결합되어 있는것은, 무지방식이 섭취군의 지방산 조성을 측정하지 못하여 정확히는 알 수 없으나, 원래 쥐 간자체의 PC 및 PE에 16 : 0, 18 : 0, 20 : 4의 지방산이 함유되어 있을수도 있고 또한 FO와 EPA의 섭취에 의해 이들의 지방산이 생성되어 PC 및 PE에 결합됐을 가능성도 배제시킬 수 없다. 전자의 가능성을 지지해주는 것은 PC 및 PE등의 diacylglycerophospholipid 는 glycerol 측쇄의 제 1위치에 16 : 0, 18 : 0등의 포화지방산이, 제 2위치에 18 : 1, 18 : 2, 20 : 4 및 20 : 5 등의 불포화지방산을 함유하는 분자종을 90% 이상 함유하고 있기때문이다⁴⁵⁾.

인지질의 총 불포화지방산의 비율은 모든 식이군에서 43%~50%범위에 분포하였으며 식이군에 따른 차이가 PC와 PE간에 비슷한 경향으로 나타났다. 즉 PC, PE 모두에서 CO군과 PO군에서 EPA군과 FO군에 비해 총불포화지방산의 비율이 약간 높게 나타났다.

식이 지방산중 18 : 2를 다량 함유한 CO군에서 소량 함유한 PO군에서 보다 간 인지질의 지방산중 18 : 2가 적게 나타나고 18 : 2를 미량 함유한 어유나 EPA oil을 섭취한 쥐의 경우와 거의 비슷한 수준이었으나, PO군에서는 다른군에 비해 18 : 2가 현저히 많았던 점을 볼때(PC 18%, PE 9%, Table 6, 7) 18 : 3(n-3)이 많을경우 $\Delta 6$ desaturase활성에 경쟁이 일어나 18 : 2의 20 : 4로의 대사가 억제된 결과 다른 군에 비해 18 : 2가 많고 20 : 4가 EPA군,

CO군에 비해 적었다고 볼 수 있다. 들기름의 주된 지방산인 18 : 3은 다른 식이군에서는 물론 PO군의 간 PC나 PE에서도 미량밖에 검출되지 않았다.

또한 어유에는 20 : 4의 전구물질인 18 : 2가 미량(trace) 존재함에도 FO군에서 20 : 4가 PC 및 PE에 10% 이상 나타나는 것은 간에서의 PC와 PE의 분자종에서 1-stearoyl-2-arachidonyl이 특이적으로 생성된다는 Thomson등의 결과⁴⁶⁾를 뒷받침해준다. 이와같은 경향은 모든 식이군에서 공통되게 나타났다. 20 : 4는 PC와 PE에서 CO군에 가장 많았으며, EPA군은 CO군에 근접하는 수준으로 높았는데 비해 FO군은 PO군 수준보다 낮았다. 이와같이 PC와 PE에서 20 : 4 수준은 식이군에 따른 차이가 크게 났으며(13%~34%) 식이내 지방산 조성과 관련시켜 볼때 변화가 큰 지방산의 하나이었다. Blank⁴⁷⁾의 보고에 의하면 macrophage-like cell의 배양액에 EPA를 첨가시 인지질 내의 oleic acid 수준은 저하시키고 arachidonic acid수준은 변화시키지 못하는데 비해 DHA첨가시에는 oleic acid 감소와 함께 arachidonic acid 수준도 1/3정도 감소시켰다고 했다.

20 : 5는 식이에 20 : 5를 다량 함유한 EPA군에서 PC, PE 모두가 CO군 다음으로 가장 낮았고, CO군에서는 간의 PC와 PE 모두에서 거의 나타나지 않았는데 이는 20 : 5의 전구체가 되는 n-3 지방산이 적게 함유되어 있기 때문으로 볼 수 있으리라 여겨지며, 옥수수유를 10일간 섭취시킨후 심근(心筋)의 PC와 PE의 지방산중 20 : 5가 나타나지 않은 결과⁴⁸⁾와 일치한다. Weiner등⁴⁹⁾도 oleic acid(18 : 1)와 linoleic acid(18 : 2)를 섭취시켰을때 간의 PC와 PE중에 20 : 5가 함유되지 않았다고 한다.

체내에서 α -linolenic acid가 EPA나 DHA로의 전환에 대해서는 아직 명확하지 않으나 대체적으로 전환율이 낮음이 보고되고 있다¹⁹⁾⁴⁸⁾. 그러나 이들은 혈장이나 혈소판 및 적혈구에서의 결과임에 비해, 본 연구결과에 의하면 식이에 20 : 5를 전연 함유하지 않았던 PO군의 간 PC나 PE에서 EPA군보다 훨씬 많은 20 : 5를 나타냄으로 18 : 3의 전환이 큼을 알 수 있었으며, 따라서 위에서 언급된 18 : 2가 PO 에서 많이 나타난 이유를 18 : 3과 $\Delta 6$ desaturase와 $\Delta 5$ desaturase에 대한 경쟁이 일어나

18:2의 전환이 방해받을 수 있다는 주장을 뒷받침하고있다. 이는 Weiner등⁴⁹⁾의 결과와 일치하며 따라서 식이로 섭취한 18:3은 체내에서 20:5와 22:6으로의 전환이 클 것으로 생각해 볼 수 있다.

22:6은 20:5와는 달리 모든 식이군에서 상당량 나타났으며 전체적으로 PC에서 보다는 PE에서 더욱 높은 비율을 나타내었는데, EPA나 DHA를 세포배양액에 넣어주면 세포내 인지질로 해당 지방산의 유입이 일어나는데 ethanolamine plasmalogen에 DHA를 함유한 것이 가장 많았다고 한 보고⁴⁷⁾와 관련시켜 볼 수 있다. FO군이 PC, PE 모두에서 다른군에 비해 22:6 수준이 월등히 높았으며, 이는 그 식이속에 함유된 DHA때문으로 추측해 볼 수 있다.

PE에서는 EPA군이 PO군에 비해 22:6의 수준이 높았으나 PC에서는 유의적인 차이가 없었다. 따라서 desaturation과 elongation 속도에 있어 18:3이 20:5보다 더 클 수 있으리라고 생각해 볼 수 있다.

FO군과 EPA군을 비교해 볼 때 FO군이 EPA군에 비해 간 인지질내에 n-6/n-3의 비가 크게 낮았고 20:5와 22:6이 많이 나타났는데 이를 식이중의 지방산 조성과 관련시켜 보면 EPA oil이 어유에 비해 20:4가 많았던 점 외에, 22:6은 적었으나 18:3과 20:5는 단연 많았으므로 전구체가 되는 지방산이 많을 경우 간의 $\Delta 6$ desaturation을 억제하는 feed back mechanism에 의해 desaturation과 elongation 속도가 느려지기 때문으로도 볼 수 있겠다.

간 세포막의 주요인지질인 PC 및 PE에 간의 재생에 필요한 prostaglandins의 전구물질인 20:4⁴⁴⁾가 상당량 포함되어 있음을 볼때 식이와 함께 섭취한 지방산이 세포막 인지질의 지방산 조성을 변화시켜 prostaglandin의 생성에 변화를 가져올 가능성이 있음을 추측할 수 있다.

n-6/n-3의 비는 PC와 PE간에 상당한 수준의 차이를 나타내어 모든 식이군에서 PC의 경우가 PE에서 보다 월등히 높았다. PC에서는 FO군을 제외한 나머지 세 군은 n-6/n-3비가 모두 3~4로 높았는데 PE에서는 이들 세 군에서 모두 2미만으로 낮았다. PC와 PE 모두에서 n-6/n-3비가 가장 낮게 나타난

FO군과는 달리, EPA군은 상당히 높은 수치를 나타내었다. 20:4/18:2의 비는 PC와 PE를 모두 합하여 생각할 때 CO군과 EPA군이 비슷하게 높았으며 PO군과 FO군이 낮았으나, PO군에서 가장 낮았다.

대체로 CO군과 EPA군이 FO군과 PO군에 비해 n-6/n-3, 20:4/18:2의 비가 모두 높았다. 이것은 식이지방산 조성을 조절함으로써 간 재생의 역할을 하는 prostaglandin 또는 thromboxane의 전구물질의 체내제공을 조절해 줄 수 있음을 의미한다고 보겠다⁵⁰⁾.

본 연구에서는 식이지방의 조절에 의해 혈청중의 triglyceride, cholesterol, HDL-cholesterol, 동맥경화 지수 및 인지질의 함량과 간 인지질의 지방산 조성이 변화됨을 보여 주었고 n-3계 중에서도 EPA군의 20:5가 PO군의 18:3보다 혈청 지질 저하 효과가 큼을 알 수 있었으나, 간의 지방산 조성에 나타난 결과를 볼때는 PO군의 18:3은 간에서 20:5와 22:6으로 전환이 많이 일어남을 예측하게 해주었고 n-6/n-3, 20:4/18:2의 비에서 모두 FO군이 EPA군 보다 낮았던 점으로 미루어 어유속에 함께 들어있는 DHA가 EPA와 다르게 작용함을 알 수 있었다. 따라서 22:6이 18:3보다, 18:3이 20:5보다, 22:6이 20:5보다 동맥경화 예방에 더 효과가 클 것을 암시해 주고 있다.

요약 및 결론

지방의 종류를 FO, EPA 농축유, PO, CO의 4종으로 하여 지방의 양을 식이 무게의 15%를 함유한 식이를 30주령의 성숙쥐에게 4주간 섭취시키고 식이 시작전과 시작 2주후에 각각 채혈하고, 식이 시작 4주후에 희생하여 혈액의 지질과 간의 인지질 및 지방산 조성을 분석하여 지질대사에 미치는 어유의 n-3계 불포화지방산인 EPA와 식물성 n-3계와 n-6계 불포화지방산의 식이 효과를 비교 검토하였다.

1. 혈청의 지질 조성

혈청내 triglyceride 농도는 FO군과 EPA군이 PO

군과 CO군에 비하여 상대적으로 낮은 수준을 보였다. EPA 군은 섭취 2주 후에는 처음의 50% 수준으로 감소하였다. CO군, FO군, PO군은 크게 변화하지 않았다. 혈청 total cholesterol 농도는 CO군이 가장 높고, EPA군이 가장 낮고 FO군, PO군은 중간 수준이었다. CO군은 혈청 total cholesterol 농도의 변화가 없었다. EPA군은 2주 후에 50% 수준으로 저하되고 FO, PO군은 4주 후에 30% 정도의 저하가 나타나서 같은 n-3계 지방산 중에서도 EPA가 linolenic acid보다 혈청cholesterol 저하효과가 나타나는 기간과 정도가 현저히 컸다. 혈청내 HDL-cholesterol은 FO군, EPA군에서는 모두 2주 후에 40% 이상 감소하였으나 PO군에서는 4주 후에 미약한 감소가 있었으며 CO군에서는 4주에 약간 증가하였다. 동맥경화지수는 EPA군에서 4주 후에, PO군에서는 2주 후에 감소를 보였고, FO군과 CO군에서는 증가한 후 감소되었으나 FO군이 다른군에 비해 높은 동맥경화지수를 나타내었다. 혈청 total phospholipid 농도는 EPA군과 FO군이 PO군과 CO군에 비해 낮았고 EPA군에서 감소효과가 크고 빠르게 나타났으며, FO군도 EPA군과 유사한 경향이었으나 감소정도가 적었다. PO군에서는 변화가 없었고 CO군에서는 4주 후에 혈청 total phospholipid의 증가를 나타내었다.

2. 간의 인지질농도와 지방산 조성

간의 총인지질 농도는 FO군과 EPA군이 PO군과 CO군에 비해 높았다.

간의 인지질중 PC와 PE의 지방산 조성을 보았을 때, 16:0은 FO군에서 많이 나타났으며, 어유에 비해 18:0을 적게 함유하고 있는 EPA군의 간 PC나 PE에서의 18:0은 FO군과 비슷한 수준으로 나타났다. 그러므로 섭취한 식이의 지방산조성과는 다르게 포화지방산의 비율은 모든 식이군에서 약 50% 정도로 비슷하였다.

간 PC나 PE에서 18:2는 PO군이 다른군에 비해 현저히 높았으며 CO군이 그 다음 수준이었고, FO군과 EPA군이 낮았다. EPA군의 간 PC와 PE에서 20:4가 CO군과 비슷한 수준으로 높게, 20:5는 식이군중에서 가장 낮게 나타났으며, 22:6은 PO

군, CO군과 큰 차이를 보이지 않았다. FO군에서는 PC, PE 모두에서 20:4의 수준은 가장 낮고 22:6 수준이 월등히 높았는데 20:5 수준 역시 다른군에 비해 높았다. PO군은 20:4가 FO군과 비슷하게 낮고 20:5는 높은 수준이었는데 비해 22:6은 낮았고 특히 PE에서는 CO군에 비해서도 낮은 수준을 나타내었다. 또한 CO군에서는 20:5가 전혀 나타나지 않았다. 20:4/18:2의 비는 PC와 PE를 모두 합하여 볼 때 CO군과 EPA군이 비슷하게 높았으며 PO군이 FO군에 비해 더 낮았다. n-6/n-3 비는 PC와 PE 모두에서 $FO < PO < EPA < CO$ 순으로 FO군이 가장 낮았다.

결론적으로, 어유의 n-3계인 EPA가 식물성 n-3계인 들기름에 비해서 혈청지질 저하효과가 큼을 알 수 있었으며 간조직의 인지질 중 PC와 PE의 지방산 조성에서 FO군이 PO군에 비해, PO군이 EPA군에 비해 n-6/n-3의 비가 낮게 나타난 결과로부터 생체조직내 eicosanoids 조성에 미치는 식이 지방산의 효과를 고려할 때, EPA와 DHA를 비슷하게 함유하는 어유가 농축 EPA유보다, 어유가 들기름보다, 들기름이 농축EPA유보다 동맥경화에 방 효과가 클 가능성을 보여주었다. 식물성 n-6계인 CO군은 혈청지질 저하효과를 찾아 보기가 힘들었고 간조직의 인지질내의 eicosanoid 조성에 영향을 미치는 n-6/n-3, 20:4/18:2의 비가 모두 높게 나타남으로써 동맥경화 예방효과를 발견할 수 없었다.

■ 감사의 글

본 연구를 위해 농축 EPA oil을 제공해 주신 고려합성연구소의 임건빈 차장님과 김영주 과장님께 깊이 감사드립니다

Literature cited

- 1) 국민영양조사보고서. 보건사회부, 1976
- 2) 국민영양조사보고서. 보건사회부, 1992
- 3) 보건사회통계연보. 보건사회부, 1992
- 4) 박현서 · 이숙민. 식이의 n-3지방산과 지방의 불포화도가 혈장 지질 조성에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25(7) : 555-568, 1992

- 5) Kramer FB, Greenfield M, Tobey TA, Reaven GM. Effect of moderate increase in dietary polyunsaturated : saturated fat on plasma triglyceride and cholesterol levels in man. *Br J Nutr* 47 : 259-268, 1982
- 6) Wong S, Reardon M, Nestel P. Reduced triglyceride formation from long chain polyenoic fatty acids in rat hepatocytes *Metabolism* 34(10) : 900-905, 1985
- 7) Hartog JM, Verdow PD, Klompe M, Lamers MJ. Dietary mackerel oil in pigs : effect on plasma lipids, cardiac sarcolemmal phospholipids and cardiovascular parameters. *J Nutr* 117 : 1371-1378, 1987
- 8) Chen IS, Hotta SS, Iketa I, Sheppard AJ, Vahoun G. Digestion, absorption of menhaden oil, fish oil concentrate and corn oil by rats. *J Nutr* 117 : 1676-1680, 1980
- 9) Saynor R, Verel D, Gillot T. The long term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipid, bleeding time, platelets and angina. *Atherosclerosis* 50 : 3-10, 1984
- 10) Harris WS, Connor WE, Reardon MR, Connor S, Boston R. Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. *J Clin Invest* 74 : 82-90, 1984
- 11) 최주선 · 박현서. 쥐에게 n-3계 불포화 지방산 식이의 혈장지질 저하 효과와 과산화물 형성에 미치는 영향. *한국영양학회지* 23(6)408-417, 1990
- 12) Harris WS, Connor WE, McMurry MP. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats : salmon oil versus vegetable oils. *Metabolism* 32(2) : 179-184, 1983
- 13) 남정혜 · 박현서. 식이지방 수준에 따라 n-6과 n-3계 불포화지방산이 혈장 지질성분에 미치는 영향에 관한 비교 연구. *한국영양학회지* 24(4) : 314-325, 1991
- 14) Hamazaki T, Nakazawa R, Tateeno S, Sshishhido H, Isoda K, Hattori Y, Yoshida T, Fujika T, Yano S, Kumagai A. Effects of fish oil rich in eicosapentaenoic acid serum lipid in hyperlipidemic hemodialysis patients. *Kidney International* 26 : 81-84, 1984
- 15) 정혜림. 참깨유와 들깨유를 급원으로 n-3와 n-6지방산 비율을 달리한 식이가 흰쥐의 혈청지질 함량과 혈소판 기능에 미치는 영향. 이화여자대학교 석사학위논문, 1992
- 16) Kestin M, Clifton P, Bellin GB and Nestel PJ. n-3 fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants. *Am J Clin Nutr* 51 : 1028-1034, 1990
- 17) Kinsella JE, Lokesh B, Stone RA. Dietary ω -3 polyunsaturated fatty acid and amelioration of cardiovascular disease : Possible mechanisms. *Am J Clin Nutr* 52 : 1-28, 1990
- 18) Spady DK. Regulatory effects of individual n-6 and n-3 PUFA on LDL transport in the rat. *J Lipid Res* 34 : 1337-1346, 1993
- 19) Kwon JS, Snook JT, Wardlaw GM, Hwang DH. Effects of diets high in saturated fatty acids, canola oil, or safflower oil on platelet function, thromboxane B₂ formation, and fatty acid composition of platelet phospholipids. *Am J Clin Nutr* 54 : 351-8, 1991
- 20) Putnam JC, Carlson SE, De Voe PW, Barness LA. The effect of variations in dietary fatty acid in the fatty acid composition of erythrocyte phosphatidyl choline and phosphatidylethanolamine in human infants. *Am J Clin Nutr* 36 : 106-114, 1982
- 21) Needleman P. Triene prostaglandins : Prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties. *Proc Natl Acad Sci* 76 : 944, 1979
- 22) Simopoulos AP. ω -3 fatty acids in growth and development and in health disease, part I ; The role of ω -3 fatty acids in growth and development. *Nutrition Today* 23(2) : 10-19, 1988
- 23) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Phys* 37 : 911-917, 1959
- 24) Bartlett GB. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 234(3) : 466-468, 1959
- 25) Morrison WR, Smith LK. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipid with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5 : 600-608, 1964
- 26) Okuyama. 생화학(일본). 56(10) : 1234-1250, 1984

- 27) Sanders T, Roshanai F. The influence of different type of ω -3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64 : 91-99, 1983
- 28) Sanders T, Vicker M, Haines AP. Effect on blood lipids and haemostasis of a supplement of cod-liver oil, rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acids, in healthy young men. *Clin Sci* 61 : 317-324, 1981
- 29) 최진호. 도코사헥사엔산과 노화. 한국노화학회. 한국영양학회 춘계학술대회(초록집) 43, 1994
- 30) 박현서. 제 81회.학.연.산 연구교류회 발표요약문. 1992
- 31) Schrijver RD, Vermeulen D and Viaene E. Lipid metabolism responses in rats fed beef tallow, native or randomized fish oil and native or randomized peanut oil. *J Nutr* 121 : 948-955, 1991
- 32) Khosla P, Hayes KC, Comparison between the effects of dietary saturated(16 : 0), monosaturated (18 : 1) and polysaturated(18 : 2) fatty acids on plasma lipoprotein metabolism in cebus and rhesus monkeys fed cholesterol free diets. *Am J Clin Nutr* 55 : 51-62, 1992
- 33)菅野道廣. 油脂의 영향 : 油脂의 영향과 질병 幸書房 (일본), ED. 原一郎, pp150-168, 1990
- 34) 奥山治美. lipid, pp169-185, 1990
- 35) Park JS, Thuren TY. Decreased binding of apo A-1 to phosphatidylcholine monolayers containing 22 : 6 n-3 in the Sn-2 position. *J Lipid Res* 34 : 779-788, 1993
- 36) Hang A, Hostmark AT, Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. *J Nutr* 117 : 1011-1017, 1987
- 37) Sanders TAB, Hochland MC. A comparison of the influence of on plasma lipids and platelet function of supplements of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid. *Brit J Nutr* 50 : 521-529, 1983
- 38) 이양자. ω 3계 지방산의 영양생화학적 기능. 한국노화학회. 한국영양학회 춘계학술대회(초록집). 9, 1994
- 39) Mabuchi H. The Lipid(Japan), pp14-21, 1993
- 40) Kobatake Y, Hitahara F, Innami S and Nishide E. Dietary effect of ω -3 type polyunsaturated fatty acids on serum and liver lipid levels in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 29 : 11-23, 1983
- 41) Daum G. *Biochem Biophys Acta* 822, 1, 1985
- 42) Takayama H, Gimbrone MA Jr, Schafer AI. preferential incorporation of eicosanoid precursor fatty acids into human umbilical vein endothelial cell phospholipids. *Biochem Biophys Acta* 922 : 314-322, 1987
- 43) Kito M. 화학과 생물(일본), 21(3) : 162-167, 1985
- 44) Satoh K. Cyclic AMP and prostaglandins. 最新醫學, 40 : 282, 1985
- 45) Toyoaki Akino. 油化學, 30(10) : 705-716, 1981
- 46) Thomson W, Macdonald WG. *Biol J Chem* 250 : 6779, 1975
- 47) Blank ML, Smith ZL, Lee J, Snyder F. Effects of eicosapentaenoic acid docosahexaenoic acid supplements on phospholipid composition and plasmalogen biosynthesis in P 388 D1 cells. *Arch Biochem Biophys* 269 : 603-611, 1989
- 48) Schacky CV, Fischer S, Weber PC. Long-term effects of dietary marine ω -3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in humans. *J Clin Invest* 76 : 1626-1631, 1985
- 49) Weiner TW, Sprecher H. Dietary manipulation of these acids in rat liver and platelet phospholipids and their incorporation into human platelet lipids. *Biochem Biophys Acta* 792 : 293-303, 1984
- 50) Morita I, Murota S-I. Liver prostanoids, in prostaglandins : Biology and chemistry of prostaglandins and related eicosanoids, Ed. P.B. Curtis prior, churchill press, pp311-322, 1988