

조기 이유한 훈취에서 유단백질의 섭취수준과 조성비가 기관성장과 단백질대사에 미치는 영향

박 미 나 · 이 연 숙

서울대학교 농업생명과학대학 농가정학과

Effects of Milk Protein Levels and Casein/Whey Ratios on Organ Growth and Protein Metabolism in Early Weaned Rats

Park, Mi Na · Lee, Yeon Sook

Department of Home Economics, College of Agriculture and Life Sciences,
Seoul National University, Suwon, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of protein levels and casein/whey ratios on organ growth and protein metabolism in early weaned rats. Premature rats weaned by the 17th day were fed six semipurified synthetic, isocaloric and gel diets that contained three levels (low, medium and high) and two different combinations(casein/whey : 80 : 20 or 20 : 80) of milk protein for 8 days. On the 25th day postpartum, fresh weight and DNA, RNA and protein contents in brain, liver, kidney and muscle were determined to ascertain organ and cellular growth. Futher, with a view to ascertain protein metabolism and renal functions, serum total protein, α -amino N, urea N, and creatinine and urinary urea N, creatinine and hydroxyproline were determined. Total DNA contents of brain, liver and kidney, which may represent as an index of cell numbers in those organs were significantly decreased in the rats fed diets containing low level protein regardless of casein/whey ratio. However, as far as the rats fed high protein diets were concerned, their fresh weight, protein contents and GFR of kidney were significantly increased. Furthermore, nitrogen components, α -amino N, urea N and creatinine in serum and urine were also increased. Another observation was that high casein/whey ratio significantly facilitated accumulation of proteins in muscle and kidney and urinary hydroxyproline excretion, not affecting the DNA content of those organs. This study showed that low(8%) or high(32%) contents of protein had less desirable effects either on protein metabolism or on organ cellular growth in prematurely weaned rats, whereas there were no effects on general growth and bone strength. (*Korean J Nutrition* 30(1) : 3~11, 1997)

KEY WORDS : early weaning · organ growth · protein metabolism · renal function.

서 론

태생으로부터 출생후 초기에 일어나는 기관의 질적 성장기(hyperplasia) 동안의 영양불량은 신체 기능의 영

채택일 : 1996년 11월 4일

구적인 결합을 초래하므로 성장 발달에 있어서 이 시기 를 'critical period'라고 한다¹⁾. 반면에 영양과잉은 비만(hyperplastic obesity)을 초래하기도 한다. 이러한 중요한 시기에 일어나는 가장 중대한 식이환경의 변화는 이유(weaning)이다. 이유란 수유영양으로부터 점차 반고형식, 고형식으로 이행되는 과정을 말하며, 영아의 정

4 / 조기이유시 유단백질의 섭취수준과 조성비의 영향

상적인 성장 발달에 있어서 생리적으로 필수적인 절차이다²⁻³⁾. 따라서 이유의 시기와 이유식의 질과 양은 영아의 성장 발달 뿐만 아니라, 그 이후의 성장과 대사에도 매우 중요한 영향을 미친다²⁻³⁾.

일반적으로 영양학자들은 이유개시의 적기를 생후 5~6개월로 체중이 7kg에 달했을 때라고 보고 있으며, 3~4개월 이전의 조기 이유는 불필요함을 주장하고 있다. 그러나 유럽과 북미의 선진국에서는 영아의 90% 이상이 4개월경에 반고형식을 섭취하는 것으로 보고되었고, 개발도상국에서도 특히 도시지역에서 조기 이유의 경향이 나타났다²⁻³⁾. 우리나라의 경우, 서울지역을 비롯한 도시지역의 이유실태 조사결과⁴⁻⁵⁾를 보면 4개월 이전의 조기 이유 경향이 점차 두드러지고 있다. 정상 이유의 경우는 점진적인 식이 조성의 변화에 대하여 적절한 대사적 적응능력이 생기지만, 조기 이유의 경우는 보다 미숙한 소화 및 대사능력으로 상당한 영양적 위험성을 내포하고 있다. 이유의 시작 시기를 결정하는 요인으로서 영양·생리적 측면보다는 사회·인류학적 측면이 더 고려되고 있음을 감안할 때, 조기 이유의 영양문제에 관한 연구는 반드시 필요하다²⁾.

일반적으로 모유의 대체식으로 사용되고 있는 조제분유 및 이유식은 모유에 비해 단백질 함량이 높다. 고단백 조제분유가 영아의 건강에 위험 인자로 인식되고 있음에도 불구하고, 생후 4~6개월경 영아들에게 해로운 효과를 나타내지 않고, 영아는 보다 높은 수준의 단백질 섭취에 대해 내성을 가진다고 추측해 왔다⁶⁾. 실제로 산업사회에서는 지방, 탄수화물, 단백질 간의 적정비가 알려져 있지 않음에도 불구하고, 낮은 이용율을 이유로 모유보다 단백질 함량이 높은 영아용 follow-up formulas를 제조해 온 것이 사실이다. 최근 영아를 대상으로 한 대사 연구들⁷⁻⁸⁾에서 고단백 수준이 유해하다는 뚜렷한 증거는 없지만, 조제분유의 단백질 수준은 요구량 보다는 높다고 보고되었다. 특히, 단백질과 전해질이 많은 식품은 신장의 용질부하(renal solute load)를 증가시키며, 이러한 식품이 생후 3개월 경에 주어질 경우 신장은 더 농축된 뇨를 생성하므로써 보통 혈장 삼투압이 2배나 증가된다⁹⁾고 한다. 또 신장 용질의 높은 부하를 가진 식품은 갈증을 일으켜서, 영아가 조제분유를 더 많이 먹게되고 따라서 에너지 섭취량도 증가하게 된다⁹⁾.

이상과 같이 이유의 개시 시기와 이유 보충식의 질과 양을 결정하는 것은 이유기 영아의 생리발달적 측면 뿐만 아니라 영양소대사까지 고려해야 하는 중요하고도 어려운 문제이다. 지금까지의 실험적 연구들은 이유식의 조성 중 에너지와 지방수준에 집중되어 왔지만, 단백질의 질적·양적 급여 효과에 대한 연구는 그 중요성에 비

추어 매우 미흡한 실정이다⁹⁻¹⁰⁾. 이런 관점에서 본 연구는 조기 이유시 유단백질의 수준과 조성이 기관성장과 단백질대사에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위하여 생후 17일째 조기 이유시킨 흰쥐에게 유단백질의 수준과 조성을 달리한 식이를 급여하여 분석·검토하므로써 조기 이유시 단백질 영양의 문제점을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 설계와 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley종(서울대학교 실험동물 사육장에서 구입) 흰쥐 암컷(200g) 2마리와 수컷(250g) 1마리를 한 케이지에 10일 동안 넣어주는 방법으로 교배시켜, 임신된 쥐는 각각 한마리씩 케이지에 넣어 분만시켰다. 분만 후 24시간 이내에 새끼 쥐의 체중을 재고 성별을 구별하여, 어미 한마리 당 수컷 새끼 9마리를 수유하도록 조정하였다. 생후 17일째 되는 날 어린쥐를 어미와 분리하여 실험군 당 8마리로 분배하였다. 실험군은 단백질의 수준에 따라 저, 중, 고의 3수준으로 나누고, 각 수준에서 casein : whey의 유단백질의 조성비를 80 : 20과 20 : 80의 2군으로 처리하여 모두 6군(Low protein-Casein : LC, Low protein-Whey : LW, Medium protein-Casein : MC, Medium protein-Whey : MW, High protein-Casein : HC, High protein-Whey : HW)으로 실험을 수행하였다. 한 케이지에 4마리씩 넣어 실험식이를 생후 25일까지 8일간 급여하였다. 실험 종료 3일 전에 대사 케이지에 2마리씩 넣어 3일간 대사실험을 하였다. 체중은 17일째부터 매일 측정하였다. 실험동물 사육실 환경은 온도 22±2°C, 상대습도 65±5%로 유지하였으며, 명암은 12시간 주기(light : 6 : 00 a.m.~18 : 00 p.m.)로 조절하였다.

2. 실험 식이

생후 17일째부터 급여한 식이는 흰쥐의 어미 젖(rat's milk)의 조성¹¹⁾을 참고로 하여 영양소 함량을 정하였다(Table 1). 단백질 수준은 어미젖의 단백질 함량(9g/100ml)과 단백질의 에너지 비(23%)를 중(medium)수준으로 정하고, 중수준의 $\frac{1}{2}$ 을 저(low)수준으로, 중수준의 2배를 고(high)수준으로 정하였다. 즉, 식이조성은 Table 1에 제시한 것과 같이 수분 함량을 고려하여 식이 중 단백질을 low 8%, medium 16%, high 32% 함유하도록 하였다. 단백질 급원으로는 casein : whey 비율을 80 : 20(rat's & cow's milk basis)과 20 : 80(human milk basis)으로 배합하였다. 유즙에서 지방이 차

Table 1. Composition of experimental diets

Groups(casein/whey)	Protein levels		Medium		High	
	LC ¹⁾ (80/20)	LW(20/80)	MC(80/20)	MW(20/80)	HC(80/20)	HW(20/80)
Ingredients						
Protein	8		16		32	
Casein	6.4	1.6	12.8	3.2	25.6	6.4
Whey	1.6	6.4	3.2	12.8	6.4	25.6
Lipid	18		18		18	
Butter	9	9	9	9	9	9
Soy oil	9	9	9	9	9	9
Starch	29	29	21	21	5	5
Vit. mix. ²⁾	1	1	1	1	1	1
Min. mix. ²⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline-chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cellulose	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
Agar	1	1	1	1	1	1
Distilled-water	37	37	37	37	37	37

1) LC : Low Protein-Casein,

LW : Low Protein-Whey,

MC : Medium Protein-Casein

MW : Medium Protein-Whey,

HC : High Protein-Casein,

HW : High Protein-Whey

2) Vit. mix. & Min. mix. : AIN-76

지하는 비율이 높은 것을 고려하여 지방은 총 에너지의 50% 이상이 되도록 하였다. 지방 급원으로는 무염 butter(no salt : 매일유업(주))와 soybean oil을 1:1의 비율로 배합하였다. 식이 내 linoleate(n-6)와 linolenate(n-3) 수준을 달리하여 흰쥐에게 금여시킨 실험을 통해 뇌의 발달시기에 권장할 만한 이들 지방산의 최적 비율이 6:1이라고 한 보고¹²⁾에 근거하여 실험식이에 사용한 soybean oil은 n-6/n-3비율이 약 7:1이고 butter는 약 4:1이므로 적당하다고 보았다. 또한, 불포화도가 낮은 동물성 지방인 butter(p/s ratio=8)와 불포화도가 높은 식물성 지방인 soybean oil(p/s ratio=4.3)을 혼합하여 식이를 급여한 선행연구¹⁰⁾의 실험결과를 참고로 하였다. 비타민과 미네랄의 조성은 AIN-76 pattern¹³⁾을 따랐다. 각 실험식이의 총 에너지는 310 kcal/100g wet wt.(492 kcal/100g dry wt.)으로 일정하게 하였다. 갑작스런 식이 형태의 변화를 막기 위하여 Agar 1%를 물과 함께 끓여서 고형분과 혼합하여 반고형식(gel) 형태로 매일 만들어 급여하였다. 배합한 고형식은 냉동고(-20°C)에 보관하면서 급여하였으며, 실험기간동안 식이의 섭취는 자유급여법으로 하였다.

3. 시료수집 및 분석방법

1) 시료 수집

희생전 10시간을 절식시키고 1시간 30분 동안 식이를 섭취시킨 후 30분 후부터 sodium pentobarbital(Pitman-Moore, Inc., USA)을 체중 100g당 5mg씩 복강내 주입으로 마취하여 시료를 수집하였다. 경동맥에서 채취한 혈액은 24시간 냉장 방치 후, 3000rpm에서 20

분간 원심분리(Sorvall, GLC-2B)하여 혈청을 얻었고, 분석 때까지 -20°C에서 냉동보관하였다. 간과 신장은 적출하여 장기에 부착되어 있는 지방을 깨끗이 제거한 후, 생리식염수(0.9% NaCl)로 씻어 혈액을 제거한 다음 여과자로 물기를 닦고 생조직의 무게를 측정하였다. 뇌 조직은 꺼낸 즉시 무게를 재고 냉동보관하였다. 모든 장기시료는 분석 전에 냉동건조시켜, 건조 무게를 재고 분쇄하여 분석에 이용하였다. 뼈는 양쪽 대퇴골을 적출한 후 부착되어 있는 근육을 따로 수집하고, 붙어있는 부착물을 깨끗이 제거한 후 뼈의 무게와 길이를 측정하여 근육과 함께 냉동보관하였다. 실험 종료 전 3일간 대사케이지에 2마리씩 넣어 일정한 시간에 분을 수집하였으며, 냉동건조시켜 총 건조량을 측정한 뒤 분쇄하여 분석 때까지 냉동보관하였다. 뇨는 분과 동일한 기간동안 채취하고, 시료의 변질을 막기 위해 수집 전에 소량의 thymol을 넣어서 수집한 후 부피를 측정하고 냉동보관하였다.

2) 시료분석

혈청중 total protein 측정은 Doumas 등(1971)과 Gustafsson(1976)의 방법, Creatinine 함량은 Jaffe reaction(Bonsnes et al. 1945), urea nitrogen은 diacetylmono-oxime method(Bauer, 1974)을 각각 이용한 Kit(영동제약(주))로 측정하였다. α-amino N은 혈청을 5% TCA로 희석하고 30분 이상 냉장방치한 후 3,000rpm에서 30분간 원심분리하여 제단백 후, 그 상층액에서 ninhydrin법¹⁴⁾으로 측정하였다. 냉동건조시켜 분쇄한 간, 신장, 뇌, 근육 조직에서 우선 nucleic

acid와 protein을 추출한 후 DNA는 Diphenylamine 법¹⁵⁾, RNA는 Orcinol법¹⁶⁾, protein은 Lowry법¹⁷⁾으로 비색정량하였다. 대퇴골의 강도(breaking force)는 Instron(Instron Universal Testing Instrument, Model 1000)을 이용하여 측정하였으며, 사용한 추는 500 g이고 scale range는 10/2였다. 수집한 분과 뇌의 총 질소 함량은 Micro-Kjeldhal법(AOAC, 1992)을 이용한 질소자동분석기(스위스, Büchi社)를 이용하였다. 뇌중 creatinine 함량과 urea-N 함량은 혈청과 동일한 방법으로 분석하였다. 뇌중 hydroxyproline 함량은 Bergman과 Loxley¹⁸⁾의 방법에 의해 비색정량하였다.

3) 통제분석

실험 식이의 처리에 의한 각 분석치는 mean±SE로 제시하였다. 각 처리별, 단백질 수준(Low, Medium, High)과 단백질 조성비(Casein/Whey)에 따른 분석항

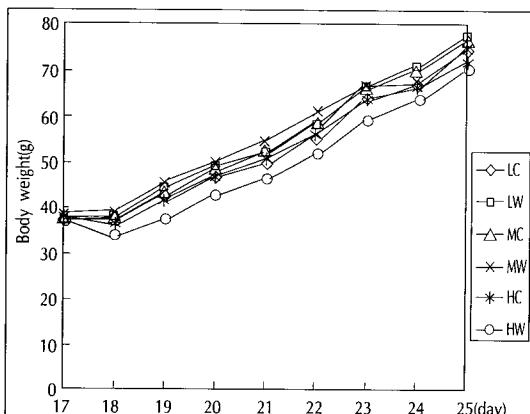


Fig. 1. Body weight changes during postnatal growth of the rats fed the experimental diets.

Table 2. The weight, DNA, RNA and protein contents of brain in early weaned rats fed the experimental diets

	Wet wt(g)	DNA(mg) ¹⁾	RNA(mg)	Protein(mg)	RNA/DNA	Protein/DNA
LC	1.45±0.02 ^{2c}	1.50±0.11 ^{c3)}	3.09±0.13 ^b	77.21±4.92 ^d	1.99±0.07 ^a	53.57±2.07 ^a
LW	1.50±0.01 ^{bc}	1.68±0.09 ^{bc}	2.85±0.14 ^b	87.52±2.79 ^c	1.81±0.04 ^{ab}	52.48±1.69 ^{ab}
MC	1.49±0.02 ^{bc}	2.17±0.07 ^a	3.71±0.12 ^a	100.42±3.84 ^a	1.77±0.07 ^{ab}	47.26±1.09 ^b
MW	1.51±0.02 ^{ab}	1.69±0.06 ^{bc}	3.09±0.06 ^b	83.84±2.27 ^{cd}	1.80±0.09 ^{ab}	49.10±2.76 ^{ab}
HC	1.56±0.02 ^a	1.88±0.05 ^b	3.56±0.10 ^a	97.29±2.09 ^{ab}	1.90±0.05 ^a	49.62±1.46 ^{ab}
HW	1.52±0.01 ^{ab}	1.82±0.05 ^b	3.05±0.08 ^b	89.93±1.78 ^{bc}	1.62±0.06 ^b	47.90±1.27 ^b
Protein Levels						
Low	1.48±0.01 ^b	1.59±0.07 ^b	2.97±0.10 ^b	82.36±3.07 ^b	1.90±0.05 ^{NS}	53.02±1.29 ^a
Medium	1.50±0.01 ^b	1.93±0.08 ^a	3.40±0.11 ^a	92.13±3.14 ^a	1.79±0.06	48.18±1.45 ^b
High	1.54±0.01 ^a	1.85±0.04 ^a	3.31±0.09 ^a	93.61±1.67 ^a	1.76±0.05	48.76±0.96 ^b
Protein Sources						
Casein	1.50±0.03 ^{NS4)}	1.85±0.19 ^{NS}	3.45±0.19 ^a	91.64±7.27 ^{NS}	1.89±0.06 ^a	50.15±1.84 ^{NS}
Whey	1.51±0.01	1.73±0.05	3.00±0.07 ^b	87.10±1.53	1.74±0.06 ^b	49.83±1.37

1) DNA, RNA and protein contents were expressed per total organ weight basis

2) Values are mean±SE of 8 rats per group

3) Superscripts with different alphabets in columns are significantly different at p<0.05

4) NS : not significantly different

특별 유의성 검증은 ANOVA test 후 p<0.05에서 Duncan's multiple range test로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 체중의 변화

Fig. 1에서 보는 바와 같이 실험기간 동안의 성장을 보면 실험군 간의 현저한 차이는 보이지 않았으나, 다른 군에 비해 고단백 식이군(특히 HW군)의 성장이 저조한 것으로 나타났다. 일반적으로 단백자가 높은 whey protein의 경우 체내 요구량이 낮기 때문에 고 수준일 때에는 오히려 식이 섭취량이 감소되어 성장률이 낮아졌을 것으로 사료된다. 성인쥐를 대상으로 한 지금까지의 많은 연구에서도 단백질 수준이 정상수준 이상으로 높아지면 오히려 증체량이 감소하는 경향을 보였다. 한편, 이 유기 동안 모유영양이나 인공영양시 단백질 수준에 따른 신체성장의 차이는 없었으며⁷⁾. 단백질 수준과 급원에 따른 모유영양아와 인공영양아의 신체계측치에서는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다고 보고하였다¹⁹⁾. 영아를 대상으로 한 이를 연구보고들과는 직접 비교하기는 어렵지만, 본 동물실험 결과에서 HW식이군의 성장이 비교적 낮긴 했지만 조기이유시에도 단백질 수준과 급원이 체중 증가에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

2. 뇌(brain)의 성장

DNA는 핵 안에만 존재하고, 핵분열을 마친 핵을 가진 종(species)은 세포 당 DNA 함량(6.2pg/cell)은 일정한 것으로 알려져 왔다¹⁰⁾. 따라서 DNA 함량은 세포의 수로 간주되고, 무게/DNA, protein/DNA, RNA/DNA 혹은 lipid/DNA 비율이 각각 세포의 무게, 세포의 단

백질 함량, RNA 함량, 혹은 세포의 지방함량 등 세포의 크기를 나타낸다고 보고되어 왔다¹¹. 특히 Munro¹¹는 세포, 조직, 기관의 성장 및 단백질 대사를 평가하기 위하여 DNA를 하나의 parameter로 이용하기를 권장하였다. 본 실험의 결과 뇌의 중량과 뇌의 총 DNA, RNA 및 단백질 함량이 저단백 식이군에서 유의적으로 낮았고 ($p<0.05$), RNA/DNA 및 protein/DNA의 비율은 저단백식이군에서 높았다(Table 2). 따라서, 저단백 식이를 섭취 했을 경우에 뇌 세포수가 유의적으로 감소함을 볼 수 있었다. 본 연구 결과에서 RNA/DNA와 protein/DNA비율이 저단백 식이군에서 높은 것은 RNA와 단백질 함량에 의해 상대적으로 DNA함량이 유의적으로 낮았기 때문이다. 단백질 급원에 따른 DNA, RNA 및 단백질 함량은 카제인 군에서 약간 높은 경향을 보였으나 RNA/DNA와 protein/DNA의 차이는 거의 없었다. McCance와 Widdowson²⁰의 실험 결과에서도 성장 기간 중 영양불량이 되면 세포의 증식에서 세포분열 속도가 늦어져서 세포수가 결국 감소한다고 보고하였다. 변 등²¹의 연구에서도 수유기에 어미쥐의 식이를 제한시켰을 때 생후 2주부터 새끼쥐의 뇌에서 DNA와 protein함량이 유의적으로 감소함을 볼 수 있었다. 따라서 뇌 세포의 증식기에 있어서는 단백질의 섭취량이 세포크기 보다는 세포수에 더 크게 영향을 미친다고 할 수 있다. 흰쥐에서 뇌의 DNA함량이 생후 19일에 plateau에 달한다는 보고²²에 비추어 볼 때, 본 실험에서와 같이 생후 17일은 뇌의 성장 및 뇌 세포수가 영양소 섭취에 따라 특히, 저단백 식이에 의해 크게 영향을 받는 시기라고 볼 수 있다. 본문 중에 결과는 제시하지 않았지만 본 연구에서 조기이유군에 대한 대조군으로서 생후 25일까지

어미쥐의 젖을 먹은 후 정상이유한 흰쥐에서 조기이유군과 동일한 방법으로 시료를 채취하여 분석을 한 결과, 뇌의 DNA, RNA함량은 정상이유군에서 더 높았고 protein함량은 약간 낮았다. 이런 결과로 보아 조기이유시 정상이유보다 뇌의 세포수가 약간 감소하는 것으로 사료된다.

3. 간(liver)의 성장

간의 중량은 LW군이 다른 군에 비해 높았으며, 수준별로 볼 때 저단백 식이군에서 유의적으로 높았다(Table 3). 단백질 급원별로는 whey군이 더 높았다. DNA 함량은 LW군이 유의적으로 낮았으며 정상군에 비해 저단백 식이군 및 고단백 식이군에서 유의적으로 낮았다 ($p<0.05$). 반면에 RNA함량은 저단백 식이군에서 유의적으로 높았고 protein함량은 정상군보다 저단백 식이군과 고단백 식이군에서 유의적으로 낮았으며, RNA/DNA, protein/DNA비율은 고단백 식이군에서 유의적으로 낮았다. 그러나, 단백질 급원에 따른 차이는 거의 없었다. 본 실험결과에 의하면 저단백 또는 고단백식이에 의해서는 간의 세포수가 감소하고 세포 크기(wt/DNA 및 RNA/DNA)는 오히려 증가하는 것으로 나타났다. 15일에 조기 이유시킨 흰쥐를 대상으로 한 Buts 등²³의 실험결과에서도 저단백 식이군(8%)이 정상단백식이군(27%)보다 간의 DNA함량이 유의적으로 감소했다. 흰쥐의 총 간 DNA합성은 생후 40일까지 꾸준히 증가하고 RNA/DNA비율은 출생 전에는 낮다가 생후 15일경에 증가하여 40일까지 계속 높은 수준을 유지하며, 간의 protein합성은 출생후 초기에는 매우 낮지만 이유기에 현저히 증가한다고 한다¹¹.

Table 3. The weight, DNA, RNA and protein contents of liver in early weaned rats fed the experimental diets

	Wet wt.(g)	DNA(mg) ¹¹	RNA(mg)	Protein(mg)	RNA/DNA	Protein/DNA
LC	2.91±0.16 ^{2b}	8.00±0.67 ^{bc}	21.73±1.52 ^a	349.13±23.52 ^{bc}	2.76±0.16 ^b	40.93±1.43 ^{cd}
LW	3.53±0.08 ^{a3)}	7.47±0.27 ^c	22.17±0.70 ^a	382.98± 9.71 ^{ab}	3.11±0.09 ^a	51.90±1.10 ^a
MC	2.99±0.09 ^b	9.84±0.28 ^a	17.72±0.60 ^b	406.92±16.01 ^a	1.81±0.06 ^d	41.99±1.48 ^c
MW	2.95±0.07 ^b	8.94±0.27 ^{ab}	16.82±0.68 ^b	404.69±13.70 ^a	1.87±0.03 ^d	46.25±1.60 ^b
HC	2.95±0.06 ^b	8.12±0.18 ^{bc}	17.47±0.51 ^b	333.83±10.61 ^c	2.15±0.00 ^c	41.14±1.02 ^{cd}
HW	3.00±0.06 ^b	9.02±0.20 ^{ab}	17.94±0.30 ^b	341.70± 6.26 ^{bc}	2.02±0.00 ^{cd}	37.95±0.79 ^d
Protein Levels						
Low	3.22±0.12 ^a	7.74±0.35 ^c	21.95±0.80 ^a	366.05±13.10 ^b	2.94±0.10 ^a	46.42±1.75 ^a
Medium	2.97±0.05 ^b	9.36±0.22 ^a	17.27±0.45 ^b	405.80±10.13 ^a	1.84±0.03 ^c	44.12±1.20 ^a
High	2.97±0.04 ^b	8.57±0.18 ^b	17.71±0.29 ^b	337.76± 6.02 ^b	2.08±0.03 ^b	39.55±0.76 ^b
Protein Sources						
Casein	2.95±0.02 ^b	8.65±0.59 ^{NS4)}	18.97±1.38 ^{NS}	363.29±22.26 ^{NS}	2.24±0.28 ^{NS}	41.35±0.32 ^b
Whey	3.16±0.19 ^a	8.48±0.50	18.98±1.63	376.46±18.47	2.33±0.39	45.37±4.05 ^a

1) DNA, RNA and protein contents were expressed per total organ weight basis

2) Values are mean±SE of 8 rats per group

3) Superscripts with different alphabets in columns are significantly different at $p<0.05$

4) NS : not significantly different

Table 4. The weight, DNA, RNA and protein contents of kidney in early weaned rats fed the experimental diets

	Wet wt.(g)	DNA(mg) ¹⁾	RNA(mg)	Protein(mg)	RNA/DNA	Protein/DNA
LC	0.69±0.03 ^{2d}	4.73±0.15 ^{bC}	3.86±0.18 ^d	72.82±2.79 ^{cd}	0.81±0.02 ^c	15.45±0.56 ^b
LW	0.74±0.02 ^{d3)}	4.51±0.24 ^c	3.79±0.24 ^d	66.43±2.12 ^d	0.84±0.02 ^{bc}	14.99±0.81 ^{bc}
MC	0.86±0.02 ^c	5.21±0.08 ^b	4.67±0.08 ^c	82.10±0.79 ^{bc}	0.90±0.02 ^b	15.79±0.29 ^b
MW	0.84±0.03 ^c	6.36±0.21 ^a	6.43±0.25 ^a	87.67±2.68 ^b	1.01±0.02 ^a	13.65±0.17 ^c
HC	1.00±0.03 ^b	6.35±0.15 ^a	5.54±0.14 ^b	114.74±3.62 ^a	0.87±0.02 ^{bc}	18.07±0.42 ^a
HW	1.09±0.02 ^a	4.37±0.35 ^c	3.86±0.34 ^d	80.55±5.03 ^{bc}	0.88±0.04 ^{bc}	18.65±0.49 ^a
Protein Levels						
Low	0.72±0.02 ^c	4.62±0.14 ^b	3.83±0.14 ^c	69.63±1.88 ^c	0.83±0.01 ^c	15.22±0.48 ^b
Medium	0.85±0.02 ^b	5.78±0.18 ^a	5.55±0.26 ^a	84.88±1.53 ^b	0.95±0.02 ^a	14.72±0.32 ^b
High	1.04±0.02 ^a	5.36±0.32 ^a	4.70±0.28 ^b	97.64±5.33 ^a	0.88±0.21 ^b	18.36±0.32 ^a
Protein Sources						
Casein	0.85±0.09 ^{NS4)}	5.43±0.48 ^{NS}	4.69±0.49 ^{NS}	89.89±12.71 ^a	0.86±0.33 ^b	16.44±0.82 ^{NS}
Whey	0.89±0.10	5.08±0.64	4.69±0.87	78.22±6.24 ^b	0.91±0.05 ^a	15.76±1.49

1) DNA and protein contents were expressed per total organ weight basis

2) Values are mean±SE of 8 rats per group

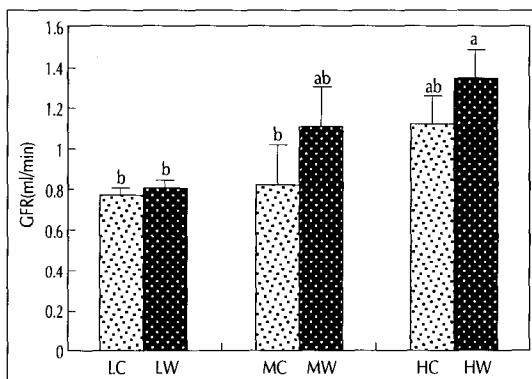
3) Superscripts with different alphabets in columns are significantly different at $p<0.05$

4) NS : not significantly different

4. 신장(kidney)의 성장

신장의 중량은 단백질 수준에 따라 큰 차이를 보였는데 저단백식이군에서 유의적으로 낮았고, 고단백식이군에서 유의적으로 높았다(Table 4). DNA, RNA, protein 함량은 저단백식이군에서 유의적으로 낮았고, 단백질 급원별로는 casein군에서 protein 함량이 더 높았다. protein/DNA 비율은 고단백식이군에서 유의적으로 높았으며, 단백질 급원에 따라서는 RNA/DNA비율이 whey군이 더 높았다. 신장의 총 DNA함량은 생후 40~50일까지 일정하게 증가하는 반면, organ weight/DNA, protein/DNA는 출생후 17일까지는 비교적 일정하다가 그후 50일까지 빠르게 증가한다고 한다¹⁾. 따라서 이 시기가 신장세포가 hyperplasia 단계에서 hypertrophy 단계로 전환되는 시기라고 할 수 있다. Lalich 등²⁾의 연구에 의하면 식이 단백질의 수준과 급원은 신장의 기능과 형태를 변화시킨다고 보고하였으며, protein-nephropathy의 정도는 단백질의 급원에 따라 차이가 있다고 보고하였다. 본 연구의 결과에 의하면 조기이유시 저단백식이가 신장의 세포수와 크기를 유의적으로 감소시키는 것으로 보인다.

신장의 기능을 나타내는 하나의 index로서 산출한 사구체 여과율(GFR)은 단백질 수준이 증가할수록 현저하게 증가하였다(Fig. 2). 단백질 급원에 따라서는 casein군보다 whey군이 유의적으로 높게 나타났다. 사구체 여과율은 식이 단백질의 수준과 전해질에 의해 영향을 받는데, 단백질의 섭취가 부족하면 사구체 여과율과 신혈류량이 감소되어 신기능이 저하되고, 과다한 식이 단백질의 섭취는 신장에 부담을 주어 신장 사구체와 세뇨관의 퇴화를 일으킨다고 한다²⁴⁾. 대부분의 연구^{24~25)}에서 고단백식이를 섭취할 경우 신장의 중량, DNA함량, 사

**Fig. 2.** Effects of milk protein levels and sources on GFR in early weaned rats.

구체 여과율이 증가했다는 것은 본 실험의 결과와도 일치하였다. 출생시 신장계(renal system)는 정상적인 기능을 수행하지만 농축능력은 부족하다²⁾. 그리고 신장의 glomerular 형성은 출생후 계속해서 발달하는데, 이유기에 그 성장이 완성이 된다¹⁾. 따라서 조기 이유시 신장의 기능이 완전히 성숙되지 않은 상태에서 고단백식이를 섭취할 경우 정상이유보다 신장기능에 더 큰 손상을 받을 것으로 사료된다. 생후 25일에 정상이유한 흰쥐의 결과(미발표)와 비교해보면, 조기이유군에서 RNA/DNA와 protein/DNA비율이 훨씬 높아서 조기이유시 신장세포의 크기가 증가하는 것으로 사료된다.

5. 근육(muscle)의 성장

근육의 DNA, protein 함량은 고단백식이군에서 다소 높았고, 단백질 급원에 따른 차이는 없었다(Table 5). Protein/DNA비율은 저단백식이군에서 더 낮았고, 단

Table 5. DNA, RNA and protein contents of muscle in early weaned rats fed the experimental diets

	DNA(mg/g tissue) ¹⁾	RNA(mg/g tissue)	Protein(mg/g tissue)	RNA/DNA	Protein/DNA
LC	3.96±0.23 ^{2)abc}	11.56±0.49 ^{ab}	387.55±17.19 ^b	2.78±0.10 ^{bc}	93.51± 4.86 ^b
LW	3.58±0.26 ^{bc}	9.73±0.88 ^b	361.44±21.34 ^b	2.72±0.21 ^c	102.16± 4.14 ^b
MC	3.32±0.10 ^{c3)}	10.09±0.47 ^b	409.56±17.24 ^b	3.28±0.10 ^a	135.25±10.00 ^a
MW	4.15±0.16 ^{ab}	10.81±0.44 ^{ab}	386.39± 7.85 ^b	2.61±0.05 ^c	93.89± 3.81 ^b
HC	4.28±0.20 ^a	10.64±0.69 ^{ab}	462.47±18.90 ^a	2.40±0.19 ^c	108.46± 1.78 ^b
HW	3.90±0.24 ^{abc}	12.30±0.88 ^a	372.50±13.59 ^b	3.17±0.16 ^{ab}	97.08± 4.89 ^b
Protein Levels					
Low	3.74±0.18 ^{NS4)}	10.64±0.55 ^{NS}	374.50±13.65 ^b	2.75±0.11 ^{NS}	97.83± 3.29 ^b
Medium	3.80±0.16	10.45±0.33	397.98± 9.65 ^{ab}	2.94±0.11	114.57± 7.70 ^a
High	4.09±0.16	11.47±0.58	417.49±16.75 ^a	2.79±0.16	102.78± 2.96 ^b
Protein Sources					
Casein	3.90±0.14 ^{NS}	10.81±0.39 ^{NS}	404.69±29.68 ^a	2.82±0.25 ^{NS}	107.40± 7.73 ^a
Whey	3.88±0.13	11.09±0.75	375.43± 9.04 ^b	2.84±0.169	97.46± 2.61 ^b

1) DNA, RNA and protein contents were expressed per g tissue

2) Values are mean±SE of 8 rats per group

3) Superscripts with different alphabets in columns are significantly different at p<0.05

4) NS : not significantly different

백질 급원별로는 casein군이 유의적으로 높았다. Hyperplasia 동안에 영양불량이 생기면 골격 근육에서의 DNA 합성 속도가 느려진다²⁶⁾. 그리고 어린 쥐에게 열량과 단백질이 부족한 식이를 섭취시켰을 때 근육 DNA 함량과 protein/DNA 비율이 상당히 감소되었다는 보고들²¹⁾²⁶⁾이 있다. 흰쥐에서 근육의 DNA 함량은 90~95일까지 계속 증가하다가 일정하게 유지되나 근육무게와 단백질은 140일까지 증가하며, 6~8주 동안에 DNA 축적 속도가 가장 급격해진다²⁶⁾. 본 연구의 실험기간보다 장기간의 실험을 수행할 경우 근육세포의 성장에 대한 단백질 섭취수준의 영향이 더욱 현저하게 나타날 것으로 예상된다.

6. 뼈(bone)의 성장

뼈의 무게, 길이, 강도(breaking force)를 측정한 결과, 무게와 강도는 군간에 차이가 거의 없었고 뼈의 길이가 LC군에서 약간 짧았다(Table 6). 뼈의 성장은 성장을 통해 계속적으로 일어나므로 식이에 의한 뼈의 성장을 보기에는 본 실험의 기간이 짧았다고 사료된다.

7. 혈액과 뇌의 질소 성분

혈청의 총 단백질 함량은 LW군에서 유의적으로 낮았고, 단백질 수준별로 볼 때 저단백식이군에서 유의적으로 낮았다(Table 7). 혈청과 뇌중 urea-N은 저단백식이군에서는 유의적으로 낮았고, 고단백식이군에서는 유의적으로 높았다. 혈청의 α-amino N과 뇌중 creatinine 배설량도 고단백식이군에서 유의적으로 높게 나타났다. 이유기 영아를 대상으로 한 Axelsson 등⁷⁾의 연구에서는 고단백식이가 혈청 알부민이나 전해질에는 영향을 미치지 않았으나, serum urea, urine nitrogen, cr-

Table 6. The weight, length and breaking force of femur in early weaned rats fed the experimental diets

	Wet weight (g)	Length (cm)	Breaking force(kg/g)
LC	0.25±0.01 ^{NS}	1.93±0.03 ^{b2)}	6.01±0.14 ^{NS}
LW	0.25±0.00 ¹⁾	2.01±0.03	5.96±0.11
MC	0.26±0.01	2.04±0.03	5.90±0.25
MW	0.26±0.00	2.00±0.03 ^a	5.82±0.08
HC	0.26±0.01	2.00±0.00 ^a	5.95±0.14
HW	0.26±0.01	2.01±0.01 ^a	5.79±0.15
Protein Levels			
Low	0.25±0.00 ^{NS3)}	1.97±0.02 ^b	5.99±0.09 ^{NS}
Medium	0.26±0.01	2.02±0.02 ^a	5.86±0.13
High	0.26±0.00	2.01±0.01 ^{ab}	5.87±0.10
Protein Sources			
Casein	0.26±0.00 ^{NS}	1.99±0.03 ^{NS}	5.95±0.03 ^{NS}
Whey	0.26±0.00	2.01±0.00	5.86±0.05

1) Values are mean±SE of 8 rats per group

2) Superscripts with different alphabets in columns are significantly different at p<0.05

3) NS : not significantly different

eatinine, plasma amino acid 수준을 크게 증가시키는 것으로 나타났다. Serum urea 농도는 식이단백질 섭취수준과 급원에 따른 성장과 간 기능의 성숙에 대한 단백질의 이용성을 반영한다⁷⁾. 따라서 고단백식이군에서 높은 urea수치는 성장을 위한 이용능력을 초과했음을 반영한다. 또한 성장·발달 중인 영아에서 혈장 아미노산의 비정상적인 수준은 호르몬 균형에 영향을 주어 뇌의 수송계에 손상을 줄 위험성이 있다⁸⁾고 하였다. 본 연구의 결과에서 혈청과 뇌의 질소성분이 고단백식이군에서 유의적으로 증가한 것은 이러한 연구결과와 일치하였다. 뇌로 배설되는 creatinine은 주로 근육에 존재하-

10 / 조기이유시 유단백질의 섭취수준과 조성비의 영향

Table 7. Total protein, urea-N and hydroxyproline in serum and urine in early weaned rats fed the experimental diets

	Serum			Urine		
	Total Protein (g/dl)	α -amino N ($\mu\text{mol}/\text{ml}$)	Urea-N (mg/dl)	Urea-N (mg/day)	Creatinine (mg/day)	Hydroxyproline ($\mu\text{g}/\text{day}$)
LC	5.32 \pm 0.31 ^{1)a}	6.39 \pm 0.52 ^c	4.19 \pm 0.86 ^c	5.53 \pm 0.50 ^d	7.32 \pm 1.27 ^b	299.68 \pm 24.21 ^a
LW	3.99 \pm 0.10 ^{b2)j}	7.79 \pm 0.13 ^b	8.8 \pm 0.18 ^c	8.28 \pm 0.60 ^d	7.12 \pm 0.73 ^b	168.50 \pm 21.48 ^{bc}
MC	5.25 \pm 0.11 ^a	8.64 \pm 0.26 ^b	18.67 \pm 0.73 ^b	135.53 \pm 6.02 ^c	6.39 \pm 0.90 ^b	230.89 \pm 28.91 ^b
MW	5.83 \pm 0.36 ^a	10.71 \pm 0.52 ^a	18.52 \pm 1.97 ^b	135.62 \pm 20.21 ^c	7.62 \pm 2.06 ^b	105.86 \pm 17.53 ^a
HC	5.11 \pm 0.32 ^a	11.91 \pm 0.48 ^a	30.22 \pm 5.00 ^a	465.65 \pm 30.65 ^b	12.56 \pm 1.21 ^a	143.09 \pm 11.49 ^{cd}
HW	5.29 \pm 0.14 ^a	11.66 \pm 0.67 ^a	29.48 \pm 1.79 ^a	535.94 \pm 14.28 ^a	13.02 \pm 1.09 ^a	184.03 \pm 10.09 ^{bc}
Protein Levels						
Low	4.66 \pm 0.29 ^b	7.09 \pm 0.36 ^c	6.54 \pm 0.97 ^c	6.91 \pm 0.63 ^c	7.22 \pm 0.68 ^b	234.09 \pm 28.96 ^a
Medium	5.54 \pm 0.21 ^a	9.68 \pm 0.47 ^b	18.60 \pm 0.97 ^b	135.58 \pm 9.76 ^b	7.01 \pm 1.07 ^b	161.35 \pm 28.34 ^b
High	5.20 \pm 0.17 ^a	11.79 \pm 0.39 ^a	29.85 \pm 2.46 ^a	500.80 \pm 20.53 ^a	12.79 \pm 0.76 ^a	163.56 \pm 10.49 ^b
Protein Sources						
Casein	5.23 \pm 0.06 ^{NS3)}	8.98 \pm 1.60 ^b	17.69 \pm 7.53 ^{NS}	202.24 \pm 136.95 ^{NS}	8.76 \pm 1.01 ^{NS}	224.55 \pm 45.31 ^a
Whey	5.04 \pm 0.55	10.05 \pm 1.16 ^a	18.96 \pm 5.95	226.61 \pm 158.97	9.25 \pm 1.09	148.11 \pm 28.51 ^b

1) Values are mean \pm SE of 8 rats per group

2) Superscripts with different alphabets in columns are significantly different at $p < 0.05$

3) NS : not significantly different

는 creatine phosphate의 대사로 생성되므로 근육대사를 반영하고, hydroxyproline은 collagen에 존재하는 아미노산으로, 뇨로 배설되는 hydroxyproline은 collagen의 대사산물로 여겨진다. Collagen은 약 40%가 뼈에 존재하고 나머지는 지지조직에 존재한다. Hydroxyproline의 배설은 collagen이나 gelatin의 섭취, 성별, 나이, 질환상태 등의 여러가지 외부 인자들의 영향을 받는데, 뇨 hydroxyproline 배설의 증가는 류마티스 관절염, 흡수부전증, 류마티스열과 같은 collagen 대사장해와 관련된 질환상태에서도 일어난다²⁷⁾고 한다. 본 실험에서 뇨중 hydroxyproline이 저단백식이군과 casein군에서 유의적으로 높게 나타났다. 이는 저단백식이와 casein 식이가 골격대사율을 증진시키는 것으로 사료된다.

요약 및 결론

조기 이유시 유단백질 수준과 조성비가 기관성장과 단백질 대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 생후 17일에 조기 이유시킨 흰쥐에게 단백질 수준(low, medium, high)과 단백질 조성비(casein/whey ratio)를 달리 한 반고형식 식이를 8일간 급여시킨 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 실험기간 동안 체중의 증가는 고단백식이군에서 약간 낮았으나 실험군 간에 유의적인 차이는 보이지 않았다.

2) 저단백식이군에서는 뇌, 간, 신장, 근육 등 측정한 모든 조직의 세포수(DNA함량)가 감소하였다.

3) 고단백식이 섭취군에서는 신장의 중량, 세포크기 (protein/DNA)와 사구체 여과율이 유의적으로 증가하였으며, 혈액과 뇨중 합질소 성분들이 유의적으로 증가하였다.

4) 실험기간 동안 뼈의 길이성장은 저단백식이군에서 감소하였으나, 중량과 강도는 식이의 영향을 받지 않았다.

5) 카제인과 유청단백질의 조성비에 따른 영향을 보면, 세포수에는 영향을 미치지 않았으나 카제인 섭취에 의해 근육과 신장의 단백질 함량이 유의적으로 높았고, 뇨중 hydroxyproline 배설량이 증가하였다.

이상과 같은 실험 결과로, 어린 흰쥐를 조기이유시켰을 때 식이 조성 중 부적절한 단백질 수준은 체중에는 크게 영향을 미치지 않는다해도, 기관과 세포성장, 혈액과 뇨의 질소성분, 신장의 기능 등에 상당한 영향을 미쳤음을 알 수 있다. 즉, 조기이유시 식이내 단백질 함량의 과잉 또는 부족이 영아기의 기관과 세포성장 및 단백질 대사에 있어서 하나의 위험 인자가 될 수 있음을 시사하였다.

■ 감사의 글

본 연구는 파스퇴르유업(주)의 연구비지원에 의해서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

Literature cited

- Miller SA. Protein metabolism during growth and development. In : Munro HN, ed. Mammalian protein meta-

- bolism. Vol III. pp183-233, Academic press, New York and London, 1969
- 2) Hendricks KM, Badruddin SH. Weaning recommendations : The scientific basis. *Nutr Rev* 50(5) : 125-133, 1992
 - 3) Wharton, B. Weaning and child health. *Ann Rev Nutr* 9 : 377-394, 1989
 - 4) 권은경 · 채범석 · 한정호. 일부 서울 시내 아파트 지역과 농촌 지역의 모유수유 실태와 사회경제적 요인에 관한 연구. *한국보건협회지* 11(2) : 17-27, 1985
 - 5) 이연숙 · 황계순. 서울지역 여성의 영아영양법에 관한 실태조사 연구. *한국식생활문화학회지* 7(1) : 97-103, 1992
 - 6) Walker AF. The contribution of weaning foods to protein-energy malnutrition. *Nutr Res Rev* 3 : 25-47, 1990
 - 7) Axelsson I, Borulf S, Righard L, Räihä N. Protein and energy intake during weaning : II. Metabolic responses. *Acta Paediatr Scand* 76 : 457-462, 1987
 - 8) Räihä NCR. Milk protein quantity and quality in term infant : intakes and metabolic effects during the first six months. *Acta Paediatr Scand Suppl* 351 : 24-28, 1989
 - 9) O'Brien BC, McMurray DN, Reiser R. The influence of premature weaning and the nature of the fat in the diet during development on adult plasma lipids and adipose cellularity in pair-fed rats. *J Nutr* 113 : 602-609, 1983
 - 10) 김지연 · 박양자 · 이연숙. 식이지방의 수준과 종류가 조기 이유한 훈취의 체내 지질대사와 세포성장에 미치는 영향. *한국농촌생활과학회지* 5(2) : 125-134, 1994
 - 11) Dymsha HA, Czajka DM, Miller SA. Influence of artificial diet on weight gain and body composition of the neonatal rat. *J Nutr* 84 : 100-106, 1964
 - 12) Bourre JM, Durand G, Pascal G, Youyou A. Brain cell and tissue recovery in rats made deficient in n-3 fatty acids by alteration of dietary fat. *J Nutr* 119 : 15-22, 1989
 - 13) Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutrition studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
 - 14) Rosen HA. Modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch Biochem Biophys* 67 : 10-15, 1957
 - 15) Burton K. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem J* 62 : 315-323, 1956
 - 16) Schmidt G, Thannhauser SJ. A method for the determination of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissue. *J Biol Chem* 161 : 83, 1945
 - 17) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 18) Bergman IB, Loxley R. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal Chem* 35(12) : 1961-1965, 1963
 - 19) Järvenpää AL, Räihä NCR, Rassin DK, Gaull GE. Milk protein quantity and quality in the term infant I. Metabolic responses and effects on growth. *Pediatrics* 70 : 214-220, 1982
 - 20) McCance RA, Widdowson EM. Nutrition and growth. *Proc Roy Soc Lond* 156 : 326, 1962
 - 21) 변기원 · 최혜미. 뇌발달과 뇌의 Phospholipid 및 Cholesterol의 변화. *한국생화학회지* 15(3) : 261-269, 1982
 - 22) Winick M, Noble A. Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Develop Biol* 12 : 451, 1965
 - 23) Buts JP, Nyakabasa M. Role of Dietary protein adaptation at weaning in the development of the rat gastrointestinal tract. *Pediatr Res* 19 : 857-862, 1985
 - 24) Lalich JJ, Faith GC, Harding GE. Protein overload nephropathy. *Arch Path* 89 : 548-559, 1970
 - 25) 이현숙 · 김화영. 식이내 단백질 수준이 성장기 훈취의 신장 기능에 미치는 영향. *한국영양학회지* 23 : 401-407, 1990
 - 26) Millward DJ, Garlick PJ, Stewart RJC, Nnanyelugo DO, Waterlow JC. Skeletal muscle growth and protein turnover. *Biochem J* 150 : 235, 1975
 - 27) Gibson RS. Assessment of protein status In : Gibson RS, ed. Principles of nutritional assessment, pp324-325, Oxford Univ Press, New York, 1990