

랫드에서 식물성스테롤 유도체(LPSS)의 혈중 콜레스테롤 저하효과에 관한 연구

제정환¹ · 정대원² · 노승권³ · 이영순¹ · 박재학^{4*}

¹서울대학교 수의과대학 공중보건학교실, ²수원대학교 고분자공학과,
³(주)유진사이언스, ⁴실험동물학교실,

Serum Cholesterol Lowering Effects of the Phytosterol Derivative (LPSS) in Rats

Jeong-Hwan Che¹, Dae-Won Chung², Seung-Kwon Noh³,
Yong-Soon Lee¹ and Jae-Hak Park^{4*}

¹Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744; ²Department of Polymer Engineering, The University of Suwon,

Suwon 445-743; ³Eugene Science Co. Ltd., Seoul 137-070 and

⁴Laboratory Animal Science, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

(Received August 1, 1998)

(Accepted September 28, 1998)

ABSTRACT : The present study was designed to investigate the serum cholesterol lowering effect of the phytosterol derivative (LPSS) on high cholesterol (HC) diet-induced hypercholesterolemia in male weaning Sprague-Dawley (SD) rats. Rats were fed with HC diet containing 1% cholesterol and 0.5% cholic acid for 1 week. After 1 week, the LPSS oil suspension (0.32 g/kg B.W.) was orally administered to the rats fed with either basal diet or HC diet groups for 7 days. In addition, the LPSS powder (0.14%) mixed with basal diet or HC diet was fed to the rats for 7 days. Serum total cholesterol and LDL-cholesterol contents were not altered by administration of the LPSS oil suspension with basal diet. However, they were significantly decreased by administration of the LPSS oil suspension with HC diet at day 14. Also, they were significantly decreased by the LPSS powder mixed with basal diet or HC diet at day 9, 11, 14. HDL-cholesterol contents were not altered by the LPSS oil suspension or LPSS powder. These results indicated that the phytosterol derivative(LPSS) might decrease serum total cholesterol and LDL-cholesterol contents in rats.

Key Words : Phytosterol derivative (LPSS), Sprague-Dawley rats, Cholesterol

I. 서 론

과콜레스테롤혈증은 심맥관질환의 병인과 밀접한 관련이 있고(Ross 등, 1986), 혈장 내에서 특히 low density lipoprotein(LDL) 콜레스테롤의 증가는 동맥경화와 관상동맥 심장질환의 위험성을 증가시키는 것과 밀접한 관련이 있다. 따라서, 총콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤의 감소는 관상동맥경화증을 경감시킨다고 보고되었다(Dale 등, 1990).

본 연구에서는 국내에서 개발된 식물성스테롤의 유도체인 LPSS에 대해 랫드를 이용하여 과콜레스테롤혈증을 유발시킨 후 과콜레스테롤혈증에 대한 저하효과가 나타나는지를 평가하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 고콜레스테롤 식이(HC diet)에 감수성이 있는 이유 직후의 수컷 Sprague-Dawley(SD) 랫드 3주령(서울대학교 실험동물사육장) 40마리(각군당 10마리)를 사용하였으며, 사육환경은 온도 24±3°C, 상대습

*To whom correspondence should be addressed
Laboratory Animal Science,
College of Veterinary Medicine
Seoul Nat'l University, Suwon, Korea
pjhak@plaza.snu.ac.kr

도 $55 \pm 10\%$, 환기회수 10~12회/hr, 조도 150~200 Lux의 환경에서 사육하였다. 모든 실험동물은 건강한 상태의 개체만을 사용하였다.

2. 시험물질 및 투여방법

시험물질은 (주)유진사이언스에서 개발된 식물성스테롤 유도체 LPSS(특허출원 제 7535호)를 유지성분에 용해시킨 물질과 고형물질로 공급받아 유지성분에 용해시킨 물질은 37°C에서 차광보관하고 고형물질은 실온에 보관하며 사용하였다. 시험물질 투여전 혈중내 콜레스테롤치를 상승시키기 위해서 모든 실험동물에게 cholesterol(Sigma)과 cholic acid(Fluka)를 각각 1%와 0.5%로 사료에 균질하게 혼합(HC diet)하여 1주일간 급여하고 혈중 총콜레스테롤치의 상승을 확인한 후 시험물질을 1주일간 투여하였다. 시험군은 유지성분에 용해시킨 물질 투여군(Group I)과 고형물질 투여군(Group II)으로 나누었다. 투여방법은 유지성분에 용해시킨 물질은 임상용량의 2배인 0.32 g/kg의 용량으로 랫드용 존데를 이용하여 경구로 투여하였으며, 고형물질은 정상식이와 HC diet에 0.14%로 균질하게 혼합한 후 1일 평균 개체당 0.16 g/kg를 급여하였으며, 대조군은 정상 식이와 HC diet만을 급여하였다(Fig. 1).

3. 측정항목 및 방법

투여기간 중 모든 동물의 임상증상은 매일 실시하였으며, 체중은 투여개시전, 7일째, 14일째 총 3회 측정하였다. 혈액은 시험개시 후 7일, 9일, 11일째에는 안와정맥총에서 capillary tube를 이용하여 채혈하고, 부검시에는 복대정맥에서 채혈한 후 혈액의 일부를 4°C에서 30분간 방치하여 응고시킨후 원심분리(3000 rpm, 10분)하여 얻은 혈청에 대해서 total cholesterol, HDL-cholesterol치를 auto dry chemistry analyzer(SPOTCHEM, Japan)를 이용하여 측정하였으며, LDL-cholesterol치는

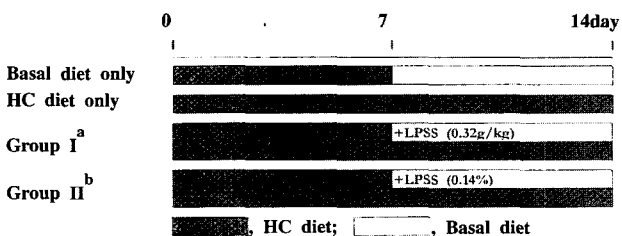


Fig. 1. Experimental schedule for cholesterol lowering effects of the phytosterol derivative (LPSS). ^aThe LPSS oil suspension 0.32 g/kg B.W. was orally administered (n=10). ^bThe LPSS powder (0.14%) mixed with basal or HC diet were fed (n=10).

total cholesterol수치와 HDL-cholesterol치의 차로 계산하였다.

4. 통계학적 방법

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 등분산 검정 후 one-way ANOVA에서 유의한 F값이 관찰되는 항목에 대하여 정상식이 및 HC diet 섭취군과 각 시험군 사이에 유의수준 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 로 Dunnet's t-test를 이용하여 비교하였다.

III. 결 과

1. 임상증상 및 체중변화

전 동물에서 시험물질 투여 후 특이한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 투여기간 중 체중의 유의성 있는 변화도 관찰되지 않았다(Table 1).

2. 혈중 내 total cholesterol에 대한 효과

HC diet를 7일간 급여 후 혈중 내 total cholesterol 수치는 $184.60 \pm 45.72 \sim 241.80 \pm 39.49$ mg/dl로 정상범위보다 2배 이상으로 높게 관찰되었다. 시험개시 7일째부터 LPSS를 유지성분에 용해시킨 물질(group I) 및 고형물질(group II)을 투여한 결과, group I과 정상식을 함께 투여한 군에서는 정상식이만을 섭취시킨 군에 비해 유의성 있는 감소가 관찰되지 않았다. 그러나, HC diet(1% cholesterol+0.5% cholic acid)와 LPSS를 함께 투여한 군에서는 HC diet만을 섭취시킨 군에 비해 9일째와 11일째에는 약간의 감소가 관찰되었으나 14일째에는 유의성 있는 감소(HC diet only : $136.30 \pm$

Table 1. Effects of the phytosterol derivative (LPSS) on body weight changes in rats

Group	Body weight (g)		
	Initial body weight	Final body weight	
Control	Basal diet only	65.44 ± 6.37^a	173.03 ± 11.70
	HC diet only	67.38 ± 8.91	161.51 ± 14.99
Group I ^b	Basal diet+LPSS	67.94 ± 4.90	175.83 ± 9.21
	HC diet+LPSS	68.87 ± 6.33	169.37 ± 12.67
Group II ^c	Basal diet+LPSS	64.69 ± 5.78	163.93 ± 13.69
	HC diet+LPSS	62.59 ± 7.02	150.37 ± 21.66

^aValues are mean \pm S.D.

^bThe LPSS oil suspension 0.32 g/kg B.W. was orally administered.

^cThe LPSS powder (0.14%) mixed with basal or HC diet were fed.

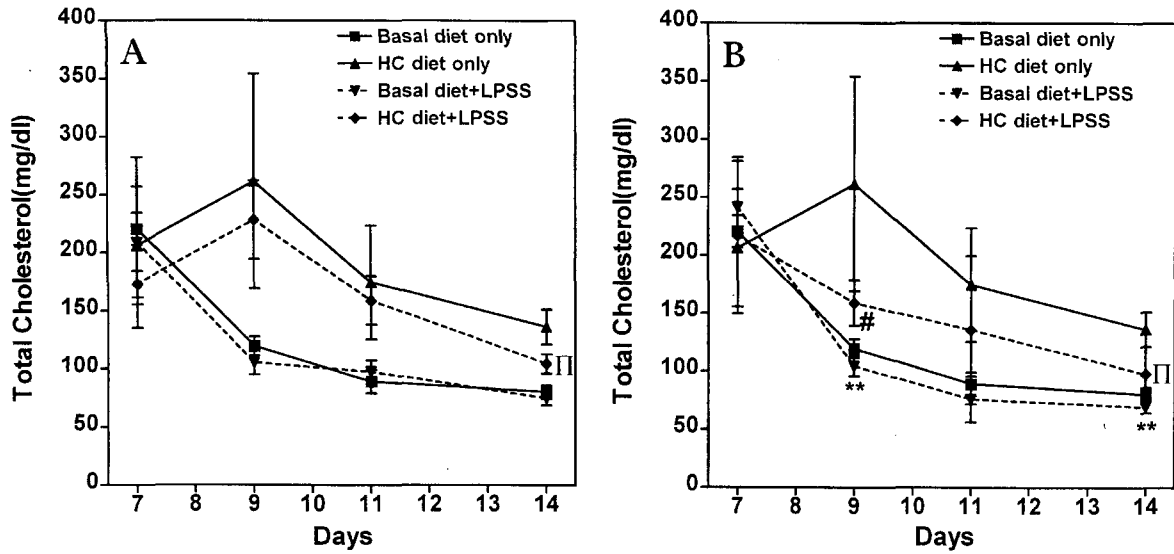


Fig. 2. Effects of the LPSS on total cholesterol contents in rats fed with LPSS oil suspension (0.32 g/kg B.W., group I, n=10) (A), the LPSS powder (0.14% mixed diet, group II, n=10) (B). Values are mean \pm S.D. #, $p < 0.05$ vs HC diet only; π , $p < 0.01$ vs HC diet only; **, $p < 0.01$ vs basal diet only.

15.00 mg/dl vs HC diet+LPSS : 104.60 ± 8.26 mg/dl) 가 관찰되었다. Group II에서는 정상식이와 LPSS를 함께 투여한 군에서 정상식이만을 섭취시킨 군(9일 : 261.90 ± 92.60 mg/dl, 14일 : 159.00 ± 19.54 mg/dl)에 비해 9일째와 14일째 각각 104.40 ± 8.85 , 69.20 ± 5.36 mg/dl으로 유의성 있는 감소가 관찰되었고, 또한 HC diet와 LPSS를 함께 투여한 군에서도 9일째부터 HC diet만을 섭취시킨 군에 비해 유의성 있는 감소가 관찰되었으며(HC diet only : 261.90 ± 92.60 mg/dl vs HC diet+LPSS : 159.00 ± 19.54 mg/dl), 14일째까지도 유의

성 있게 감소하였다(HC diet only : 136.30 ± 15.00 mg/dl vs HC diet+LPSS : 93.60 ± 22.46 mg/dl)(Fig. 2).

3. 혈중 내 HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol에 대한 효과

Group I에서는 14일째 LDL-cholesterol치가 HC diet만을 섭취시킨 군(110.90 ± 23.58 mg/dl)에 비해 HC diet와 LPSS를 함께 투여한 군(78.80 ± 11.82 mg/dl)에서 유의성 있는 감소가 인정되었다.

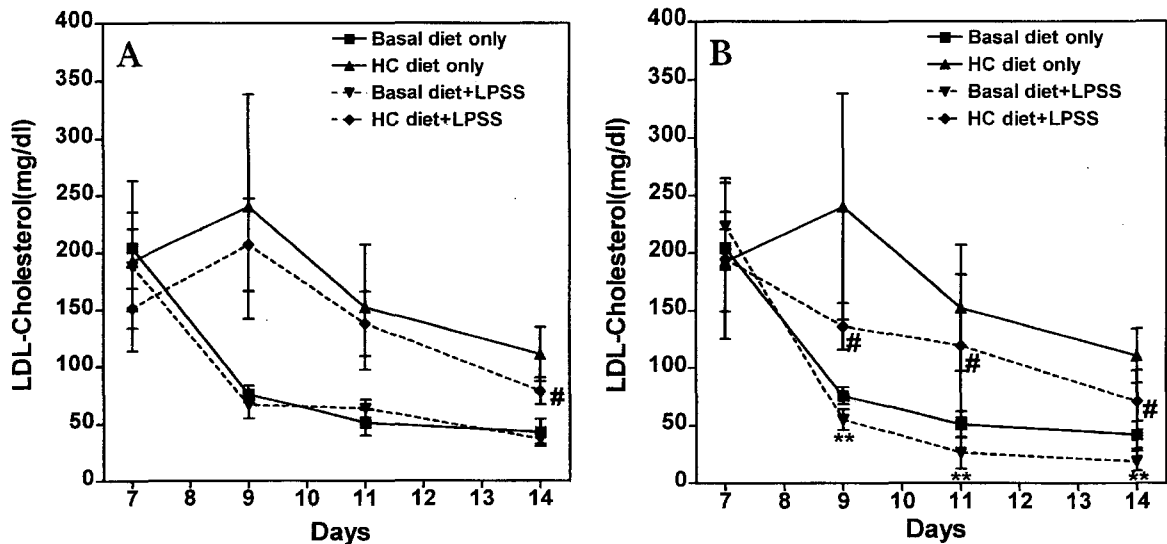


Fig. 3. Effects of the LPSS on LDL-cholesterol contents in rats fed with LPSS oil suspension (0.32 g/kg B.W., group I, n=10)(A), the LPSS powder (0.14% mixed diet, group II, n=10) (B). Values are mean \pm S.D. #, $p < 0.05$ vs HC diet only; **, $p < 0.01$ vs basal diet only.

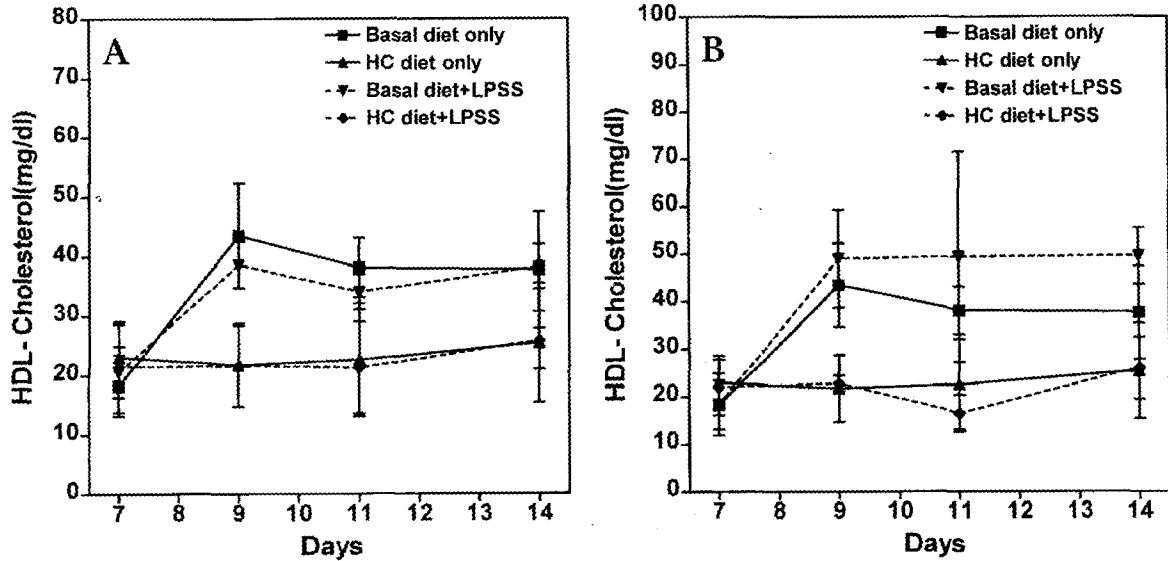


Fig. 4. Effects of the LPSS on HDL-cholesterol contents in rats fed with LPSS oil suspension (0.32 g/kg B.W., group I, n=10)(A), the LPSS powder(0.14% mixed diet, group II, n=10) (B). Values are mean±S.D.

Group II에서는 LDL-cholesterol치가 정상식이 만을 섭취시킨 군에 비해 정상식이와 LPSS을 혼합하여 섭취시킨 군(9일 : 76.20±7.38 mg/dl, 11일 : 51.00±11.17 mg/dl, 14일 : 42.40±11.86 mg/dl)에서 9일째, 11일째, 14일째 각각 55.40±8.96, 26.60±13.63, 19.60±8.53 mg/dl로 유의성있는 감소가 인정되었고, HC diet만을 섭취시킨 군에 비해 HC diet와 LPSS을 혼합하여 섭취시킨 군에서는 9일째(HC diet only : 240.20±98.10 mg/dl vs HC diet+LPSS : 93.60±22.46 mg/dl)부터 유의성 있는 감소를 보이기 시작하여 14일(HC diet only : 110.90±23.58 mg/dl vs HC diet+LPSS : 71.60±26.53 mg/dl)째까지 낮은 수치를 유지하였다(Fig. 3).

그러나, HDL-cholesterol치의 유의성 있는 변화는 모든 군에서 관찰되지 않았다(Fig. 4).

IV. 고 찰

콜레스테롤은 담즙과 식이의 두가지 주요 경로를 통해 장관내로 유입되며, 사람에서는 식이와 담즙에서의 콜레스테롤 총량이 1일 750 mg에서 3000 mg 사이라고 한다. 그리고, 콜레스테롤은 20%에서 70%가 bile salts, monoglycerides, diglycerides을 함유한 교질입자(micelles)에 혼합되어 용해된 후 흡수된다고 한다. 따라서, bile salts 또는 pancreas lipase의 결핍, 교질입자의 파괴 등은 콜레스테롤의 흡수를 감소시키고 혈청 내 콜레스테롤 수치도 감소시킬수 있다고 보고되었다(Heinemann 등, 1991). 한편, 식물성스테롤은 구조적으로 콜레스테롤

과 관련이 있으나, nuclear 또는 side chain configuration, polar group이 다른 것으로 보고되어 있다(Michihiro 등, 1977; Rejio 등, 1986; Heinemann 등, 1991). 이들은 혈중콜레스테롤 농도를 장관 내 흡수를 억제함으로써 감소시킬 수 있다고 한다.

1956년 Peterson은 처음으로 닭에서 콜레스테롤 섭취에 의해 상승된 콜레스테롤치를 1% soybean sterols을 함유한 식이를 투여한 결과 콜레스테롤의 수치를 억제시켰다고 보고하였고, 이외에 실험동물 및 사람에게서 식물성스테롤(특히 sitosterol)이 혈중 내 콜레스테롤을 저하시키는 효과를 나타낸다고 보고하였다(Jones 등, 1997; Ling 등, 1995; Miettinen 등, 1995; Malini 등, 1990). 또한, 식물성스테롤의 일종인 β-sitosterol을 과콜레스테롤 혈증을 보이는 환자에게 투여하였을 때 저콜레스테롤 활성을 유도하며 그에 의한 부작용은 없는 것으로 알려졌다(Michihiro 등, 1977).

본 실험에서의 목적은 새로운 공법으로 개발한 식물성스테롤 유도체인 LPSS의 혈중 내 콜레스테롤에 대한 저하효과를 관찰하기 위한 것이다. 3주령의 수컷 SD 랫드를 이용하여 HC diet(1% cholesterol+0.5% cholic acid)를 7일간 급이한 결과, 3주령 수컷 랫드의 총콜레스테롤 정상 평균치인 75 mg/dl 보다 2배 이상이 증가하였다. 이와 같은 결과는 이유직후의 SD 랫드가 HC diet에 민감하다는 다른 연구자의 결과와 일치하는 것이며(Dale 등, 1990), 이러한 동물이 과콜레스테롤 동물모델로서 이용될 수 있다고 판단되었다. 본 실험에서 확립한 동물모델에 대하여 7일째부터 1주일

간 LPSS를 유지성분에 용해시킨 물질 0.32 g/kg을 경구로 투여하고 고형물질은 사료에 0.14%로 균질하게 혼합하여 개체당 1일 평균 0.16 g/kg을 섭취시켜 LPSS의 혈중 내 콜레스테롤 저하효과를 관찰하였다.

본 실험에서 식물성스테롤 유도체인 LPSS를 유지성분에 용해시킨 물질과 HC diet를 함께 투여한 군에서는 14일째에 혈중 콜레스테롤이 유의성있게 감소하였으나, 고형물질을 투여한 군에서는 정상식이와 함께 투여한 군이나 HC diet를 함께 투여한 군에서 모두 9일째와 14일째 혈중콜레스테롤 수치가 유의하게 감소하였다. 이러한 결과로부터 사료에 LPSS 분말을 혼합하여 투여한 경우 유지성분에 용해시킨 물질보다 저하효과가 많은 것을 알 수 있는데 이는 정상식이 및 HC diet 내의 콜레스테롤이 장관내에서 흡수가 저해되어 일어난 결과라 사료된다. Jones 등(1997)은 사람에게 식물성스테롤을 섭취시켰을 때 혈장내 총콜레스테롤치와 LDL-cholesterol치를 감소시키고, 반면에 HDL-cholesterol의 수치에는 영향이 없거나, 부분적으로 상승시키는 작용이 있고 이것은 화학적으로 구조가 유사한 식물성스테롤의 장관내 흡수억제로 인한 결과라 보고하였는데, 본 실험에서 투여한 식물성스테롤 유도체인 LPSS의 역할과 부분적으로 일치하는 결과를 얻었다.

이상의 결과를 종합하면, 식물성스테롤 유도체인 LPSS은 혈중 내 HDL-cholesterol수치의 변화에는 영향이 없지만 여러 가지 심맥관질환의 원인이 되는 총콜레스테롤수치와 LDL-cholesterol치는 감소시키는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 서울대학교 수의과학연구소의 지원으로 이루어진 결과로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

Becker, M., Staab, D. and Von Bergman, K. (1992): Long-term treatment of severe familial hypercholesterolemia in children: effect of sitosterol and bezafibrate. *Pediatrics*. **89(1)**, 138-142.

Becker, M., Staab, D. and Von Bergman, K. (1993): Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *J pediatr*. **122(2)**, 292-296.

Dale, A.S., Jack, T.S., Douglas, M.A. and Frederick,

N.M. (1990): Progressive microcirculatory changes caused by hypercholesterolemia. *Am. J. Physiol*. **258**, H1464-H1469.

Heinemann, T., Kullak-Ublick, G.A., Pietruck, B. and von Bergmann, K. (1991): Mechanisms of action of plant sterols on inhibition of cholesterol absorption. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 40 (suppl 1), S49-S63.

Jones, P.J., MacDougall, D.E., Ntanios, F. and Vanstone, C.A. (1997): Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can J. Physiol Pharmacol.* **75(3)**, 217-227.

Ling, W.H. and Jones, P.J. (1995): Enhanced efficacy of sitostanol-containing versus sitostanol-free phytosterol mixtures in altering lipoprotein cholesterol levels and synthesis in rats. *Atherosclerosis*. **118(2)**, 319-331.

Malini, T. and Vanithakumari, G. (1990): Rat toxicity studies with beta-sitosterol. *J. Ethnopharmacol.* **28(2)**, 221-234.

Michihiro, S., Hidekazu, M. and Ikuo, I. (1977): A comparison of hypocholesterolemic activity of β -sitosterol and β -sitostanol in rats. *J. Nutr.* **107**, 2011-2019.

Miettinen, T.A., Puska, P., Gylling, H., Vanhanen, H. and Vartiainen, E. (1995): Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N. Engl J. Med.* **333(20)**, 1308-1312.

Miettinen, T.A. and Vanhanen, H. (1994): Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis*. **105(2)**, 217-226.

Peterson, D.W., Nichols, C.W., Peek, N.F. and Chaikoff, I.L. (1956): Depression of cholesterol in human subjects consuming butter containing soy sterols. *Fed. Proc.* **15**, 569.

Rejio, S.T. and Tatu, A.M. (1986): Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. *J. Clin. Nutr.* **43**, 92-97.

Ross, R. (1986): The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* **314**, 488-500.

Unsitupa, M.I., Miettinen, T.A., Sarkkinen, E.S., Ruuskanen, E., Kervinen, K. and Kesaniemi, Y.A. (1997): Lathosterol and other non-cholesterol sterols during treatment of hypercholesterolemia with beta-glucan-rich oat bran. *Eur J. Clin Nutr.* **51(9)**, 607-611.

정대원, 노승권(1998). 콜레스테롤 저하효과를 갖는 기능성 오일 조성물 및 그의 제조방법. 특허출원 제 7535호.