

고지방 식이를 섭취한 흰쥐에 있어서 Xylooligo당이 간의 HMG-CoA Reductase 활성 및 간조직의 형태학적 변화에 미치는 영향

손 효 현 · 이 순 재

대구가톨릭대학교 식품영양학과

Effects of Dietary Xylooligosaccharides on Hepatic HMG-CoA Reductase Activity and Morphological Exchange of liver in Rats Fed High Fat Diets

Son, Hyo-Hyun · Rhee, Soon-Jae

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Kyungbuk 712-702, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to examine the effects of dietary xylooligosaccharides on hepatic HMG-CoA reductase activity and morphological exchange of liver in rats fed high fat diet. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly divided into four groups, two normal diets and two high fat diets containing 1% cholesterol and 10% lard. Two normal diets were classified into a basal diet (normal group) and 10% xylooligosaccharide diet (NX group). The high fat diet groups were classified into a HF group without xylooligosaccharides diet and HFX group supplemented 10% xylooligosacchride diet. Experimental diets were fed *ad libidum* to the rats for 4 weeks and then they were sacrificed. The body weight of high fat diet (HF group) was increased more than that of normal group, but it was significantly decreased by xylooligosacchrides supplementation. The food intake was not significantly different among the all groups. The weight of liver, small intestine and cecum of all xylooligosaccharide supplemented groups were significantly heavier than those of normal and HF groups. The activity of hepatic HMG-CoA reductase, a rate limiting enzyme of cholesterol biosynthesis, in xylooligosaccharide supplemented groups was higher than that of HF group. Light micrographs revealed that the structures of hepatocytes in xylooligosaccharide supplemented groups were preserved well, compared to HF group. The xylooligosaccharide supplementation exerted a lipid-lowering action by decreasing cholesterol and triglycerides contents in hepatic tissue. In conclusion, the activity of hepatic HMG-CoA reductase and damage of liver in rats fed high fat diets were improved by dietary xylooligosaccharides. (*Korean J Nutrition* 35(10) : 1015~1022, 2002)

KEY WORDS: high fat diet, xylooligosaccharides, HMG-CoA reductase, light micrograph.

서 론

식생활의 다양화 및 서구화로 인해 고칼로리 음식, 동물성식품의 섭취가 증가됨에 따라 비만, 뇌졸중, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병 등의 각종 성인병이 늘어나고, 특히 심장순환계 질환의 발병율은 지난 수십년간 계속 증가하고 있다.^{1,3)}

심장순환계 질환에서는 혈중 콜레스테롤이나, 중성지방의 증가 및 HDL-C/LDL-C 비의 변화와 같은 지질대사의 비정상화가 주요 요인이 되고 있다.^{4,6)} 지질대사의 변화는 식습관을 비롯한 생활습관과 밀접한 관계가 있는 것으로⁷⁾ 현

재 지방량이 계속 증가 추세에 있다. 지방섭취 종류별로 볼 때 식물성 지방의 섭취 비율은 감소되고 동물성 지방의 섭취 비율은 현저하게 증가되었다. 이에 포만감을 주면서 저칼로리 식품을 섭취하려는 욕구가 높아져 섬유소나 올리고당을 함유한 저칼로리 식품 혹은 고지혈증을 예방할수 있는 기능성 식품개발에 많은 관심을 갖게 되었다.^{8,9)}

기능성 식품으로서의 올리고당은 비소화성 다당류로 2~10개의 단당이 글리코사이드 결합으로 탈수 축합된 것으로 감미를 가진 수용성의 결정성의 물질이다. 현재 국내에서 생산, 시판되고 있는 올리고당으로는 galactooligo당, fructooligo당, isomaltoligo당, maltoligo당 및 soyoligo당 등이 있으며 이들 물질은 설탕과 이화학적 특성이 매우 유사하고 감미도에서도 비교적 흡사하기 때문에 설탕 대체 물질로 사용되고 있으나 생리적 특성이 다르고 특히 건강 지

접수일: 2002년 9월 11일

채택일: 2002년 11월 5일

⁵⁾To whom correspondence should be addressed.

향적인 점이 입증되어 식품에의 응용성이 증가되고 있다. 기능성 올리고당은 대사에너지를 효율이 낮고, 소장내에서 소화되지 않으며 단당류로도 분해되지 않아 췌장 insulin 분비에 영향을 주지 않으며, 충치발생을 억제하고, 장내에 생리적으로 번식하는 bifidus균에 대한 선택적 증식 활동을 가지는 기능을 가지고 있어 장내 균의 생육 환경을 개선시켜 병원균을 발육, 증식을 막는데 효과적이다.¹⁰⁻¹²⁾

이러한 oligo당 중에서 xylooligo당은 자연계에 널리 존재하는 목재, 볏짚 및 보리짚 등에 포함되어 있는 헤미셀룰로오스인 xylan을 효소적 가수분해시 생성되는 2~7개의 xylose oligomer 구조를 가진다. Xylan은 xylopyranose가 β -(1,4) 결합으로 중합된 주쇄를 공통적으로 가지고 있지만 식물의 종에 따라 다양한 구조를 가지고 있다. Xylooligo당은 난소화성 올리고당으로 유익한 장내세균으로 알려진 bifidus 균의 선택적 증식촉진, 부패균의 증식억제 등의 기능이 다른 올리고당보다 우수하다고 한다.¹³⁾ 따라서 대장균 환경을 개선하여 변비를 방지하고 대장내 유해산물의 생산을 억제함으로써 건강에 기여할 수 있다. 또한 xylooligo당은 다른 올리고당보다 열이나 산에 대해 더욱 안정하고 가수 분해 활성저하 효과를 가지고 있어서 식품의 부패방지 및 보존효과를 가지고 있으므로 여러 가지 식품의 가공에 널리 이용될 수 있는 기능성 올리고당이다.

이와같이 올리고당에 대한 연구는 주로 올리고당 섭취가 장내균총을 변화시켜 장기능을 개선시키므로서 지질대사를 개선시키는 효과나 장질환의 예방적인 측면의 연구가 주를 이루고 있다. 또한 xylooligo당의 지질대사와의 관련 연구로는 선행연구¹⁴⁾에서 고콜레스테롤식이 흰쥐에 xylooligo당을 섭취시켰을 때 체내 콜레스테롤의 감소와 장기능의 개선을 보고한바 있으나 고지방식에서 이러한 연구들은 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 고지방식에 xylooligo당을 보강한 식이로 일정기간 사육한 후 간조직의 HMG-CoA reductase 활성과 간세포 소기관들의 병리조직학적 변화를 관찰코져 하였다.

재료 및 방법

1. Xylooligo당의 제조

원료인 신갈나무 (*Quercus mongolica*)에서 xylan 100 g을 500 mM sodium phosphate buffer (pH 6.0) 1 l에 현탁한 후 미리 준비한 *Streptomyces thermocyanoviolaceus* M049가 생산하는 xylanase를 염석 및 투석한 효소액을 최종농도 10 unit/ml 되게 첨가한 후 60°C shaking water bath (Monotech사, 영국)에서 100 strokes/min의 속

도로 진탕하면서 12시간 반응하였다. 반응종료 후 60°C에서 가열 하면서 회전진공농축기 (evaporator)로 최대한 농축하고 그 농축액을 60°C에서 열풍 건조하여 80 g 정도의 (80% 수율) 조제한 xylooligo당을 본 실험에 사용하였다.

2. 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 100 g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 대전화학연구소에서 구입하여 실험에 이용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료 (삼양사 Co.)로 일주일 예비사육후 난괴법 (randomized complete block design)에 의해 Table 1과 같이 정상식을 한 정상군과 실험군으로 나누고 실험군은 다시 정상식에 10% xylooligo당을 보충시킨 군 (NX group)과 10% lard와 1% cholesterol를 함유한 고지방식이군 (HF group), HF군에 10% xylooligo당을 보충시킨 식이군 (HFX group)으로 각 10마리씩 4군으로 나누어 4주간 사육하였다. 실험식의 조성은 Table 1과 같다. 실험기간중 식이는 4°C에서 보

Table 1. Composition experimental diet

Diet groups	Normal	NX	HF	HFX
Ingredients				
Casein ¹⁾	18	18	18	18
Salt mixture ²⁾	4	4	4	4
Vitamin mixture ³⁾	1	1	1	1
Cellulose ⁴⁾	5	5	5	5
Corn oil ⁵⁾	5	5	5	5
Sucrose ⁶⁾	5	5	5	5
Starch ⁷⁾	62	52	50.75	40.75
Sodium cholate ⁸⁾	-	-	0.25	0.25
Cholesterol ⁹⁾	-	-	1	1
Lard ¹⁰⁾	-	-	10	10
Xylooligosaccharide ¹¹⁾	-	10	-	10
Total (%)	100	100	100	100

- 1) Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wellington, N. Z.
- 2) AIN-76 likeness (g/kg mixture): CaCO₃, 30.0 g; CaHPO₄, 7.5 g; K₂HPO₄, 32.2 g; NaCl, 16.7 g; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2 g; ferric citrate, 2.75 g; MnSO₄, 0.51 g; KI, 70 mg; CuCl₂ · 5H₂O, 35 mg; ZnCl₂, 25 mg; CoCl₂ · 5H₂O, 5 mg; (NH₄)₆Mo7O₂₄ · 4H₂O, 5 mg
- 3) AIN-76 likeness (mg/kg mixture): contained thiamin · HCl, 0.2 g; riboflavin 0.2 g; pyridoxin, 0.2 g; nicotinic acid, 0.9 g; d-calcium pantothenate, 0.6 g; folic acid, 0.1 g; biotin, 10 mg; menadione, 0.45 g; retinylacetate, 20,000 IU; cholecalciferol, 10,000 IU; dl- α -Tocopheryl acetate, 0.4 g; choline, 15 g; Inositol, 1 g; vitamin C, 0.34 g; p-aminobenzoic acid
- 4) CMC (Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
- 5) Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea
- 6) Sam Yang Co., Seoul, Korea
- 7) Pung Jin Chem. Co., Seoul, Korea.
- 8) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
- 9) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
- 10) Sam Yang Co., Seoul, Korea
- 11) Manufactured xylooligosaccharide from *Quercus mongolica*

관하였고 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취케 했다. 이때 사육실의 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 였고, 습도는 $50 \pm 10\%$ 이었다. 실험동물은 24시간 절식 후 희생하여 본 실험에 사용하였다.

3. 장기채취

간조직과 신장을 적출하여 차가운 생리 식염수로 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정된 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C 에 보관하였다. 또한 장을 소장과 맹장으로 구분하여 채취하여 내용물을 제거한 후 소장과 맹장의 무게를 측정하였다.

4. 체중증가, 식이섭취 및 식이 효율

체중 및 식이 섭취량은 전 실험기간 동안 매일 일정시간에 측정하였다. 식이효율 (Food Efficiency Ratio, FER)은 전 체중증가량을 같은 기간동안의 식이섭취량으로 나누어줌으로써 계산하였다.

5. 간조직의 microsomal HMG-CoA reductase 활성 측정

간조직으로부터 우선 microsome을 분리한 다음 Hulcher 등¹⁵⁾의 방법을 수정 보완하여 사용하였다. 즉 $150 \mu\text{mole}$ HMG-CoA와 2 mM NADPH를 $500 \mu\text{g}$ microsome protein과 잘 섞은 후 0.1 M triethanolamine, 0.02 M EDTA (pH 7.4) 완충용액으로 1 ml 를 채우고 37°C 에서 30분간 반응시켰다. 그 다음 0.01 M sodium arsenite $20 \mu\text{l}$ 를 넣고 상온에서 1분이상 반응시킨 후 $100 \mu\text{l}$ 의 2 M citrate (pH 3.5), 3% Na-tungstate 완충용액을 넣고 37°C 에서 10분간 반응시켰다. 반응물을 $25,000 \times \text{g}$ 에서 10분간 4°C 에서 원심분리한 다음 상층액 1 ml 을 새로운 tube에 옮겼다. 여기에 $200 \mu\text{l}$ 의 2 M Tris (pH 10.6)와 $100 \mu\text{l}$ 2 M Tris (pH 8.0)를 섞어 실온에서 3~4분간 반응시킨 후 분광광도계용 cubette에 옮겼다. 마지막으로 $20 \mu\text{l}$ 의 3 mM 5,5-dithiobis 2-nitrobenzoic acid DTNB), 0.1 M triethanolamine, 0.2 M EDTA (pH 7.4) 완충용액을 넣고 잘 섞은 후 412 nm 에서 4분간 흡광도를 측정하였다. 효소 활성도는 $\text{nmole}/\text{min}/\text{mg}$ 으로 환산하여 나타내었다.

6. 간조직의 중성지방, 콜레스테롤 및 인지질 함량 측정

간조직의 지질은 Folch 등¹⁶⁾의 방법에 의해 C.M. mixture (chloroform : methanol = 2 : 1)로 추출하여 중성지방과 콜레스테롤 함량을 혈청에서와 같은 방법으로 분석하였다. 간조직의 지질 정량에서는 Sale 등¹⁷⁾의 수정된 방법으로 중성지방과 콜레스테롤 측정용 효소시액에 유화제로서 0.5% Triton X-100와 3 mM sodium cholate를 혼합

하여 발색시 일어나는 탁도 (turbidity)를 제거하여 간조직의 중성지방과 콜레스테롤 농도를 550 nm 와 500 nm 에서 각각 흡광도를 측정하였다. 조직중의 인지질은 Takayama 등¹⁸⁾의 방법을 이용하여 정량하였다. Folch법¹⁶⁾으로 추출한 간조직중의 지질에 BD 용액(butanol : diisopropyl ether, 40 : 60, v/v)을 가하고 실온에서 1시간 30분 방치후, $1,600 \times \text{g}$ 에서 2분간 원심분리하여 상층액을 취하여 질소가스로 말린다. 여기에 CHCl_3 0.4 ml , chloromogen용액 0.1 ml 을 가하여 2분간 가열하여 발색시킨후, 실온에서 식혀 H_2O 0.5 ml , heptane 2 ml 을 넣고 $1,500 \times \text{g}$ 에서 5분간 원심분리하여 상층액을 채취하여 710 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

7. 간조직의 광학현미경적 관찰

간의 조직을 관찰하기 위하여 개복 즉시 간장의 중엽에서 일부 간장 조직을 절취하고 10% neutral formalin 용액에 고정된 다음 수세, 탈수과정을 거친후 xylol/hard paraffin (2 : 1), xylol/hard paraffin (1 : 2) 및 hard paraffin용액으로 3시간 처리한 후 paraffin block은 $4 \sim 5 \mu\text{m}$ 두께로 박절하여 hematoxylineosin으로 염색하고 200배율로 광학현미경으로 관찰하였다.

8. 통계처리

모든 실험 결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석 (ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석의 결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's-HSD test에 의해 분석하였다. 각 parameter간의 상관관계는 SAS package program을 이용하여 correlation coefficient를 구하여 분석하였다.

결 과

1. 실험동물의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율

실험기간 동안 체중증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은

Table 2. Effects of dietary xylooligosaccharide on food intake, body weight gain and food efficiency ratio (FER) in rats fed diets

Group	Body weight gain (g/28 days)	Food intake (g/day)	FER
Normal	210.51 ± 11.22^a	23.10 ± 0.54^{NS}	0.29 ± 0.01^a
NX	185.12 ± 9.26^a	24.22 ± 0.42	0.26 ± 0.02^a
HF	240.52 ± 10.12^b	23.90 ± 0.67	0.35 ± 0.02^b
HFX	205.12 ± 11.10^a	24.10 ± 0.44	0.29 ± 0.02^a

All values are mean \pm SE (n = 10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

The experimental conditions are same as Table 1.

Table 3. Effects of dietary xylooligosaccharide on organ weights in rats fed diets (g/100g body weight)

Groups	Liver	Kidney	Intestine	Cecum
Normal	2.79 ± 0.22 ^a	0.61 ± 0.02 ^{NS}	2.05 ± 0.05 ^a	0.60 ± 0.03 ^a
NX	3.10 ± 0.21 ^a	0.66 ± 0.05	2.38 ± 0.06 ^b	1.95 ± 0.16 ^b
HF	5.91 ± 0.40 ^b	0.67 ± 0.03	2.06 ± 0.03 ^a	0.89 ± 0.24 ^a
HFX	4.21 ± 0.32 ^c	0.63 ± 0.02	2.86 ± 0.12 ^c	2.91 ± 0.21 ^c

All values are mean ± SE (n = 10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test.

The experimental conditions and same as Table 1.

Table 2와 같다. 체중증가량은 NX와 HFX군은 정상군과 차이가 없었으나 고지방식을 공급한 HF군에서 14% (p < 0.05)으로 증가되었다. 식이 섭취량은 xylooligo당을 공급한 군에서 증가하는 경향이었으나 유의적인 차이는 없었다. 식이 효율은 정상군에 비해 HF 군은 6.3% 증가되었으나 다른 실험군은 차이가 없었다.

2. 장기무게

간장, 신장, 소장 및 맹장의 무게를 체중 100 g당 무게로 나타낸 결과는 Table 3과 같다. 간장의 무게는 정상군에 비해 고지방식이군인 HF군과 HFX군에서 증가되었으나 HF군에 비해서 xylooligo당을 첨가한 HFX군은 29% (p < 0.05)으로 감소되었다. 신장의 무게는 정상군에 비해 모든 실험군에서 유의적인 차이가 없었다.

소장의 무게는 정상군에 비해 HF군간에는 차이가 없었으나 xylooligo당 공급군인 NX와 HFX군에서 유의적으로 (p < 0.05) 증가되었다. 맹장의 무게는 HFX군은 정상군과 HF군에 비해 4.9배, 3.3배 씩 각각 증가되었다.

3. 간조직의 microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase)의 활성

콜레스테롤 생합성의 조절 효소로 알려진 간조직중의 HMG-CoA reductase의 활성도 측정 결과는 Fig. 1과 같다. 정상군과 NX군 및 HFX군은 유의적인 차이가 없었지만 HF군은 정상군에 비해 32% 감소되었다. 고지방식이에 xylooligo당을 공급한 HFX군은 HF군에 비해 25% 증가되었다.

4. 간조직의 중성지방, 콜레스테롤 및 인지질 함량

간조직의 중성지방, 콜레스테롤 및 인지질 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 간조직 중성지방 함량을 관찰한 결과 정상군에 비해 고지방식이 HF군은 약 5배 증가되었으며, 고지방식이에 xylooligo당을 첨가한 HFX군은 HF군에 비해 33% 유의적 (p < 0.05)으로 감소되었다.

또한 간조직의 콜레스테롤 함량도 고지방식을 섭취한 HF군은 정상군에 비해 현저하게 증가되었으며 HFX군은

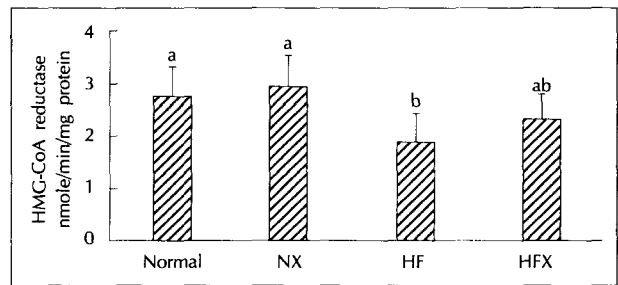


Fig. 1. Effects of dietary xylooligosaccharide on hepatic HMG-CoA reductase activity in rats fed diets. All values are mean ± SE (n = 10). Bars within different letters are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test. The experimental conditions are same as Table 1.

Table 4. Effects of dietary xylooligosaccharide on levels of hepatic phospholipid (A), triglyceride (B) and cholesterol (C) in rats fed diets (mg/g)

Groups	Triglyceride	Cholesterol	Phospholipid
Normal	18.13 ± 0.15 ^a	2.26 ± 0.19 ^a	38.0 ± 1.13 ^{NS}
NX	16.85 ± 1.82 ^a	2.31 ± 0.17 ^a	39.7 ± 1.01
HF	92.5 ± 2.73 ^b	41.37 ± 3.08 ^b	40.0 ± 1.18
HFX	61.91 ± 2.89 ^c	30.22 ± 1.72 ^c	42.6 ± 1.96

All values are mean ± SE (n = 10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test.

The experimental conditions and same as Table 1.

HF군에 비해 27% 유의적으로 (p < 0.05) 감소되었다. 간조직중의 인지질 함량은 정상군과 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

5. 간조직의 광학현미경적 관찰

실험식이를 4주간 사육한 쥐의 간세포 조직을 hematoxylin-eosin으로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 광학현미경으로 볼 때 전처리한 간조직은 정상군에서 적갈색이었으며 그 표면은 윤기가 있었으며 탄력성도 있었으나 고지방식이 공급군에서는 간조직 표면이 하얗게 매우 심한 지방침착으로 윤기와 탄력성이 정상군에 비해 현저하게 떨어져 보였다. 정상군은 간세포가 잘 배열되어 있으며 문맥에도 염증 세포의 침윤현상은 없었다. 간세포의 핵은 중심에 위치하여 있고 세포질은 연분홍색을

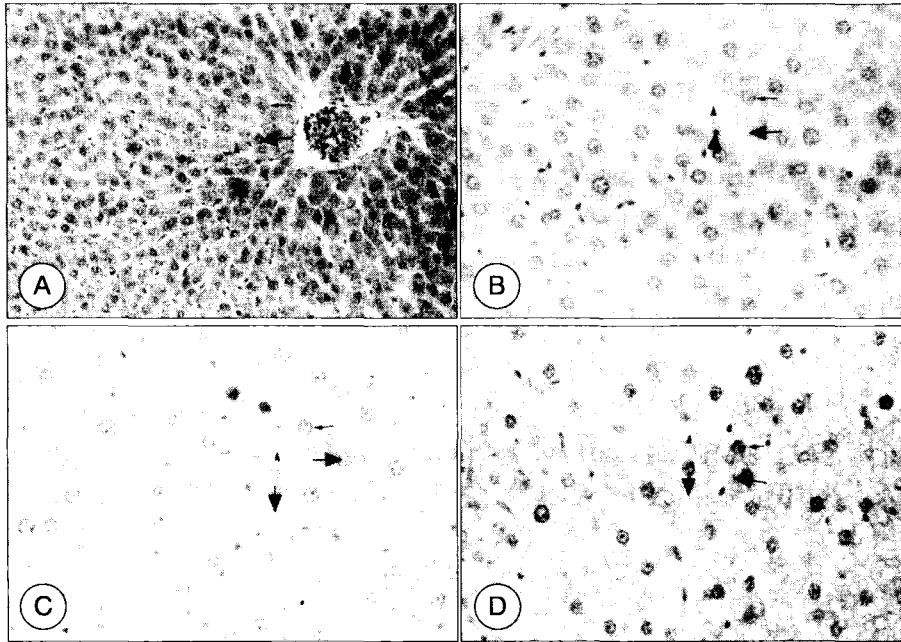


Fig. 2. Light micrograph of hepatocytes of rats fed diet without or with xylooligosaccharide supplementation. Arrow (→) indicates nucleus in liver cell. Arrowhead (▶) indicates intracytoplasmic fat (X200). (A) Hepatocytes in normal group. The nucleus arrangement of hepatocytes to central vein is regular. (B) Hepatocytes in NX group fed 10% xylooligosaccharide diet. The nucleus arrangement of hepatocytes to central vein is regular. There is no fatty change. (C) Hepatocytes in HF group fed high fat diet. Hepatocytes are vacuolated by fatty change. Some are looking clear due to large amount of intracytoplasmic fat. (D) Hepatocytes in HFX group fed high fat diet with 10% xylooligosaccharide. Fatty change is quite diminished compare with high fat diet without xylooligosaccharide diet.

떠고 있으며 대체적으로 균질하게 보였다. 고지방식이군은 간조직의 지방 입자가 지방구를 형성하여 심한 지방 침착을 보여 지방간을 나타내었다. 고지방식이에 10% xylooligo당을 공급한 군에서도 지방간이 보였으나 간세포의 배열이상이나 염증은 없었으며 고지방식이군에 비해 세포질내의 지방구의 크기와 숫자가 줄어든 것을 볼 수 있었다.

고 찰

본 연구는 식이 xylooligo당이 고지방식이 흰쥐 간조직에서 지질개선 효과를 규명하고자 간조직의 HMG-CoA reductase 활성과 간세포의 형태학적 변화를 관찰하였다.

체중증가량은 정상군에 비해 고지방식이에 현저하게 증가되었으며 xylooligo당을 첨가함으로써 유의적인 감소를 보였다. 이같은 결과는 Park 등¹⁹⁾에서 보고된 것과 같이 고지방식이에 식이섬유소가 다량 함유한 갈래곰보 분말을 첨가한 군에서는 고지방식이를 섭취한 군에 비해 유의적으로 감소하였다는 결과와 일치한다. 이러한 결과를 볼 때 xylooligo당이 난소화성으로 식이섬유소와 같이 장의 개선기능 및 지질 배설작용을 통하여 체중감소를 보인 것으로 사료된다.

식이섭취량은 xylooligo당을 공급한 군이 정상군에 비해 증

가하는 경향이었으나 유의적인 차이가 없었다. 식이효율은 정상군에 비해 고지방식이군 (HF)에서 유의적 ($p < 0.05$)으로 증가되었으며, xylooligo당을 첨가한 HFX식이군에서는 정상군 수준이었다. 이는 Firdaliso 등²⁰⁾의 연구에서는 프락토올리고당을 섭취한 쥐들의 식이 섭취량이 설탕을 섭취한 쥐들에 비해 유의적인 차이는 없었으나 더 많이 먹는 경향을 나타내었다는 보고와 일치한다. 이러한 식이섬유의 체중감소 효과와 유사하게 xylooligo당은 체중감소의 효과를 나타낸 것으로 보여진다.

장기무게 관찰에서 간조직은 정상군에 비해 고지방식이군에서 유의적으로 증가되었으나 xylooligo당을 공급한 HFX군은 유의적으로 감소되었다. 이러한 결과는 고지방 식이의 급여가 간장의 내부에 지방 축적을 유도하여 간의 무게가 증가되었으나 xylooligo당에 의해 간의 지방 축적이 감소된 것으로 본다. Kim 등²¹⁾의 고지방식으로 증가된 간 무게가 섬유소의 공급으로 감소된 결과와 Oh 등²²⁾이 콜레스테롤 식이에 올리고당을 보충했을 때 비공급군에 비해 간 무게가 유의적으로 감소되었다고 보고된 것과 일치하였다.

소장과 맹장의 무게는 정상군과 고지방식이군에 비해 xylooligo당을 첨가한 NX군과 HFX군에서 유의적인 증가를 하였다. 이러한 결과는 Kim 등¹⁴⁾ 실험에서 정상군과 고콜레스테롤 식이에 비해 10% xylooligo당 공급군에서 유의

적 증가를 보고한 것과 유사하고, Kim²¹⁾의 연구에서 수용성이나 불용성의 식이섬유의 섭취에 따른 소장무게의 증가된 결과와도 일치한다. 맹장무게도 소장무게와 같이 정상군에 비해 xylooligo당 공급군에서 유의적 증가를 보였다. Howard 등²³⁾은 3% fructooligo당과 xylooligo당을 공급한 결과 xylooligo당 공급군의 맹장조직이 증식되었다고 하였다. 또한 Campbell 등²⁴⁾은 5% cellulose 공급군에 비해 fructooligo당과 xylooligo당 공급군에서 맹장의 무게가 증가되었다고 보고한 결과와 유사하였다. 따라서 소장의 길이와 무게의 증가뿐 아니라 맹장의 크기와 무게 증가는 식이 중의 난소화성 물질의 공급으로 실험동물의 소화기관과 그 기능에 영향을 끼쳐 일어나는 생리적인 적응 현상으로 사료된다.

간조직의 중성지방 함량은 정상군에 비해 고지방 식이를 공급한 군에서 높았으며 고지방 식이에 10% xylooligo당을 공급한 군은 고지방 식이군에 비해 33% 감소되었다. 또한 간조직 콜레스테롤 함량은 중성지방과 마찬가지로 정상군에 비해 고지방 식이군은 크게 증가되었으며 고지방 식이에 10% xylooligo당을 첨가한 HFX군은 HF군에 비해 27% 유의적 ($p < 0.05$)으로 감소되었고, 정상군에서 10% xylooligo당을 공급한 군은 정상수준이었다. 이러한 올리고당의 지질개선 효과에 대해 Fiordaliso 등²⁰⁾은 올리고당이 가용성 식이섬유소와 유사하게 간의 지질대사에 영향을 주어 간의 중성지방 함량이 감소되고 혈청의 VLDL의 감소를 나타내었다고 한다. Choi 등²⁵⁾은 식이 5% 수준으로 soyoligo당, branched oligo당, fructooligo당을 4주간 공급한 결과 혈액 중의 총지방량, 중성지방 함량은 감소되었으나 간조직내 총지방량, 콜레스테롤, 중성지방 함량이 혈액과 달리 올리고당의 유의적 효과는 없었다고 보고하였다. 그러나 Imaizumi 등²⁶⁾의 보고에 의하면 당뇨쥐에 식이 xylooligo당을 공급한 결과 혈청 중성지방, 콜레스테롤 수준 및 간조직중의 중성지방 수준 개선에 효과적이었다고 보고하여 본 실험결과와 유사하였다. 또한 Kim 등¹⁴⁾의 연구에서 고콜레스테롤을 공급한 군에서 간조직의 중성지방과 콜레스테롤 함량이 정상군에 비해 크게 증가되었으며 xylooligo당을 공급함으로써 이들의 수준이 유의적으로 감소되었는데 고지방 식이에서도 유사한 결과를 나타내었다.

조직중의 지질정상 개선에 대한 대사적 기전을 규명하기 위한 일환으로 내인성 콜레스테롤의 합성 조절효소인 간의 HMG-CoA reductase 활성을 관찰하였다. Nishina와 Fredland²⁷⁾는 섭취하는 섬유소에 따른 콜레스테롤 대사와 관련된 효소의 활성을 관찰한 결과 HMG-CoA reductase

활성은 무섬유소 식이군에 비해 식이 섬유소 공급군에 증가하는 경향이 있었으며 특히 펙틴 공급군에서 유의적으로 증가하였다고 보고하였다. Kang 등²⁸⁾은 10% sodium alginate와 cellulose 첨가로 4주간 사육한 결과 HMG-CoA reductase 활성은 식이군간에 유의적 차이가 없었다고 보고한 반면 Song 등²⁹⁾은 콜레스테롤을 공급한 흰쥐에서 10% sodium alginate와 cellulose 첨가 식이로 사육한 결과 간에서의 HMG-CoA reductase 활성은 무섬유소 식이군에 비해 유의적으로 높았다고 보고하였다.

본 연구에서도 HMG-CoA reductase 활성을 관찰한 결과, 정상군에 비해 고지방 식이군인 HF군은 32% 감소되었고, 정상 식이에 10% xylooligo당을 첨가한 NX군은 정상군 수준이었으며 고지방 식이에 10% xylooligo당을 공급한 HFX군은 HF군에 비해 25% 증가되어 Kim 등¹⁴⁾의 선행연구에서 고콜레스테롤 식이때와 비슷하였다. 이러한 결과는 xylooligo당의 공급군에서의 간의 HMG-CoA reductase 활성 증가로 인해 간에서의 담즙합성 촉진과 콜레스테롤 소장내 흡수 지연 및 분변중 콜레스테롤과 담즙산 배설 증가로 체내의 콜레스테롤의 소모가 증가하여 HMG-CoA reductase 활성이 증가되는 생체의 항상성 기작으로 사료되어진다.

이러한 간조직중의 지방조성 변화를 뒷받침해 줄 수 있는 근거로 간조직의 광학현미경 관찰에서 고지방 식이를 섭취한 HF군은 세포질내에서의 지질의 침착이 매우 심하게 관찰되었고, xylooligo당을 공급한 군에서는 HF군에 비해 지방구의 크기와 숫자의 감소를 보였다. 이와 같이 식이 xylooligo당 공급이 고지방 식이로 인한 간세포의 콜레스테롤 침착으로 인한 지방간을 완화 시킬수 있다고 사료된다.

이상을 종합해보면 xylooligo당은 고지방 식이에서 체중 증가와 식이효율의 저하로 감미를 지닌 저열량 기능성 식품으로 개발 및 응용이 가능하다. 또한 간조직의 HMG-CoA reductase 활성을 조절하므로 xylooligo당은 고지방 식이로 인한 고지혈증이나 고콜레스테롤증을 개선시키는 우수한 기능성 식품으로 생리적 및 영양학적 효용이 클 것으로 기대된다.

요약 및 결론

본 연구는 xylooligo당이 고지방 식이를 섭취한 흰쥐에서 간조직의 HMG-CoA reductase 활성과 간세포 변화에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다. 실험 동물은 100 ± 10 g의 Sprague-Dawley종 흰쥐를 이용하여 정상 식이군과 정상군 식이에 10% xylooligo당을 첨가한 NX군 그리고 1%

콜레스테롤과 10% 라드를 함유한 고지방식이 HF군 및 고지방식이군에 10% xylooligo당을 첨가한 HFX군으로 나누어 4주간 자유섭식시킨후 지질 대사를 관찰하였다. 체중 변화는 정상군에 비해 고지방식이 HF군은 유의적으로 증가되었으며 xylooligo당이 공급된 군은 모두 정상군 수준이었다. 식이섭취량은 정상군과 실험군간에 유의적 ($p < 0.05$) 차이는 없었다. 식이효율은 정상군에 비해 HF군이 유의적으로 ($p < 0.05$) 증가되었으며 xylooligo당 공급군은 정상군 수준이었다. 간조직 무게는 정상군에 비해 고지방식이 HF군에서 유의적으로 증가되었으며 xylooligo당을 첨가한 HFX에서는 현저하게 감소되었다. 신장은 정상군과 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 소장파 맹장은 정상군에 비해 xylooligo당을 첨가한 군에서 유의적으로 ($p < 0.05$) 증가되었다. 간조직의 HMG-CoA reductase 활성은 정상군에 비해 HF군은 32% 감소 되었으나, 고지방에 xylooligo당을 공급한 HFX군은 HF군에 비해 25% 증가되어 정상군 수준이었다. 간조직중의 중성지방과 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 HF군이 각각 5.1배, 18.3배씩 증가되었으며 HF군에 비해 고지방식이에 xylooligo당을 첨가한 군에서는 현저하게 감소되었다. 간조직중의 인지질 함량은 정상군과 실험군간의 유의적 차이는 없었다. 간조직의 광학현미경적 관찰에서 HF군은 지방간이 나타났으며 xylooligo 당 공급군에서는 이러한 현상이 완화되었으며, 지방구의 크기와 숫자가 감소됨이 관찰되었다.

결론적으로 식이 xylooligo당의 공급으로 고지방식이 흰쥐 간조직의 HMG-CoA reductase 활성이 조절되고 간조직의 지질 침착을 억제시키므로서 지방간을 완화시키는 효과가 현저함이 규명되었다.

Literature cited

- 1) Huh KB. The present status of nutrition-related diseased and its countermeasures. *Korean J Nutrition* 23(3): 197-207, 1990
- 2) Moon SJ. Nutritional problems of Koeran. *Korean J Nutrition* 29(4): 371-380, 1996
- 3) Lee HK. Korean disease pattern and nutrition. *Korean J Nutrition* 29(4): 381-383, 1996
- 4) Manninen V, Tenkanen L, Kostinen P, Huttunen T, Manttari M, Heinonen O, Frick H. Joint effects of serum triglyceride LDL-cholesterol and HDL-cholesterol concentration on coronary heart disease risk in the helsinki heart study. *Circulation* 85: 37, 1992
- 5) Al Muhtaseb N, Hayat N, Al M. Lipoproteins and apoproteins in young nale survivors of myocardial infaction. *Atherosclerosis* 77: 131, 1989
- 6) Rifkind BM. Diet, plasma cholesterol and coronary heart disease. *J Nutr* 116: 1578-1580, 1986

- 7) Kim SH, Lee JM, Kim HY, Kim MK. The composition of health status with age by fat intake patten. *KSF report*, 1993
- 8) Oku T. Special physiological functions of newly developed mono and oligosaccarides. In "Functional Foods" Goldberg. I.(ed.), Chapman & Hall, New York And Landon P.202, 1994
- 9) Van Itallie TB. Dietary fiber and obesity. *Am J Clin Nutr* 31: S43-S51, 1978
- 10) Oku T. Oigosaccarides with beneficial health effect: A Japanese Perspective. *Nutr Rev* 54(11): S59-S66, 1996
- 11) Tokunaga T, Oku T, Hosoya N. Influence of chronic intake of new sweenener furctooligosaccarides (Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 111-121, 1986
- 12) Tsunehiro J, Matsukubo T, Shiota M, Takaesu Y. Effects of a hydrogenated isomaltooligosaccaride mixture on glucan synrthesis and on caries development inrats. *Biosci Biotechnol Biochem* 61 (12): 2015-2018, 1997
- 13) Kohomoto T, Fukui F, Takaku H, Machida Y, Mitsuoka T. Dose-responce of isomaltooligosaccride for increasing fecal bifidobacteria. *Agric Biol Chem* 55: 2157-2164, 1991
- 14) Kim SO, Rhee SJ, Rhee IK, Joo GJ and Ha HP. Effects of dietary xylooligosaccaride on lipid levels of serum in rats fed high cholesterol deit. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 27: 945-951, 1998
- 15) Hulcher FH, Oleson WH. Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl Co A reductase by measurement of coenzyme A. *J Lipid Res* 14: 625-631, 1973
- 16) Folch JM, Lees m, Stanley, G.S.H. A simple method for the isolation and prrification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957
- 17) Sale FD, Marchesini S, Fishman PH, Berra B. A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. Academic Press Inc, pp.347-350, 1984
- 18) Takayama M, Itoch S, Nagaski T. A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids. *Clin Chem Acta* 79: 93-98, 1977
- 19) Park HY, Yoon HD, Oh EG. Effect of Meristotheca Papulosa on Lipid Concentration of Serum and Liver. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 30(1): 107-111, 2001
- 20) Fiordaliso M, Kok N, Desager KP, Goethals F, Deboysier D, Roberfroid M, and Delzenne NO. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very density lipoproteins of rats. *Lipid* 30: 163-167, 1995
- 21) Kim MJ, Lee SS. The Effect of Dietary Fiber on the Lipid Level and Bowel Function in Rat. *Kor J Nutr* 28(1): 23-32, 1995
- 22) Oh SJ, Kim WK, Kim YH, Kim HY, Choi EH and Kim SH. Effects of fructooligosaccaride on lipid metabolism in hypercholesterol rat. *Kor J Nutr* 32(2): 129-136, 1999
- 23) Howard MD, Gordon DT, Garleb KA, Kerley MS. Dietary fructooligosaccaride, Xylooligosaccaride and epithelial cell prdiferation in mice and rats. *J Nutr* 125: 2604-2609, 1995
- 24) Campbell JM, Joy MC, George CF, Bryan WW. Selectde indigestible oligosaccride effect large bowel mass, cell and fecal short-chain fatty acid, pH and microflora in rats. *J Nutr* 127: 130-136, 1997
- 25) Choi EH, Kim HY, Kim YH, Kim WK, Oh SJ and Kim SH. Effects of selected oligosaccarides on fecal microflora and lipid constitution in rats. *Korean J Nutrition* 32: 221-229, 1999
- 26) Imaizumi K, Nakatsu Y, Sato M, Sedamawati Y and Kim SH. Effects of xylooligosaccaride on blood glucose, serum and liv-

1022 / Xylooligo당이 HMG-CoA Reductase 활성에 미치는 영향

- er lipid and cecum short-chain fatty acids in diabetic rats. *Agric Biol Chem* 55: 199-205, 1991
- 27) Nishina PM, Freedland RA. The effect of dietary fiber feeding on cholesterol metabolism in rats. *J Nutr* 120(7): 800-805, 1990
- 28) Kang HJ, Suh MJ, Kim EH, Song YS. Effects of sodium alginate and cellulose on fasting plasma lipoprotein composition and cholesterol metabolism in rats (I). *J Kor Soc Food Nutr* 23(6): 879-886, 1994
- 29) Song YS, Yang JL, Suh MJ. Originals: Effects of Sodium Alginate and Cellulose on Gastrointestinal Physiology in rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 25: 551-559, 1996