

# 다이옥신 처리에 대한 키토산이 지질대사에 미치는 효과

황석연 · 양진배<sup>1</sup> · 장철수<sup>2</sup> · 김태업<sup>3</sup> · 이형철<sup>4\*</sup>

충북대학교병원 임상병리과, 1: 대전대학교 한의과대학, 2: 김천대학 임상병리과, 3: 원광대학교 한의과대학 병리학교실

## Effect of Chitosan on the Lipid Metabolism in Treated 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in Rats

Seock Yeon Hwang, Jin Bae Yang<sup>1</sup>, Cheoul Soo Chang<sup>2</sup>, Tae Up Kim<sup>3</sup>, Hyung Chul Lee<sup>3\*</sup>

Department of Clinical Pathology, Chungbuk National University Hospital, 1: College of Oriental Medicine, Taejon University, 2: Department of Clinical Pathology, Kimcheon Health Sciences College, 3: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

This study was carried out to investigate the protective effect of chitosan on lipid peroxidation and key lipid parameters in Sprague-Dawley rat (SD rat) acutely exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). Male SD rats received single intraperitoneal (ip) injection of TCDD (40  $\mu$ g/kg), and were given diet containing 3 or 5% chitosan for 4 weeks from 1 week before TCDD treatment. The gain in body weight was less in group treated with TCDD than in CON group, while that of Ch/H+TCDD group (5% chitosan diet) increased. The decrease in liver and testis weight caused by TCDD was prevented by high dietary intake of chitosan (5% chitosan). Serum (total cholesterol, triglyceride, HDL-C, and LDL-C) and liver lipid parameters (total lipid, total cholesterol, and triglyceride) were significantly elevated in TCDD-induced rats, but these parameters excluding HDL-C were significantly reduced in high dietary intake of chitosan (5% chitosan). These findings suggest that chitosan is believed to be a possible protective effect against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in rat.

Key words : chitosan, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD), Sprague-Dawley rat, lipid metabolism

### 서 론

다이옥신계 화합물은 최근 환경호르몬(environmental hormone) 혹은 내분비 교란물질(endocrine disrupter)이라 불려지며 세계적으로 문제시되고 있다. 환경호르몬이란 생체의 호르몬 분비기능에 변화를 주는 외인성 내분비 교란물질로서, 세포의 호르몬 수용체 (hormone receptor)와 결합하여 호르몬과 같은 역할을 하거나 정상적인 호르몬과 수용체의 결합을 방해하는 것으로 알려져 있다<sup>1)</sup>. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)는 이들 환경 호르몬 중에서 가장 독성이 강한 동시에 인간이 합성한 물질 중 가장 독성이 강한 화합물로서<sup>2)</sup> 에스트로젠과 유사한 작용을 하므로 내분비계를 혼란시키며, 그 결과 체중 감소, 생식기 기형 및 기능 저하, 간 독성, 암 발생, 정신 지체 및 행동 장애, 발생이상 등과 같은 독성작용이 유발된다<sup>3,4,5)</sup>. 그 외에도 내분비 교란물질에 의한 산화적 손상은 각종 염증, 류마티스관절염, 퇴

행성 뇌질환과 같은 다양한 만성질환과도 관련이 있는 것으로 생각된다<sup>6,7)</sup>. TCDD에 의해 야기되는 지질대사이상으로는 식욕 감퇴 및 체중저하<sup>8)</sup>, 고지혈증<sup>9)</sup>, 고콜레스테롤혈증<sup>10)</sup>, 지질과산화<sup>11)</sup>, 탄수화물대사 이상<sup>12)</sup> 등을 들 수 있다. 지질대사이상은 독성 증상으로 고지혈증, 고콜레스테롤혈증, 간 및 장 상피세포의 지방축적 등을 초래한다. 이와 같이 TCDD는 체내 각종대사에 이상을 초래하고, 면역기능을 저하시키는 등 신체의 모든 기능에 치명적인 영향을 주는 물질이라 볼 수 있다. 이에 대하여 각별한 예방 및 치료대책이 필요하며 그 일환으로써 화학약품이 아닌 자연식품 성분을 고려해 볼 때 요즈음 건강식품으로 각광 받고 있는 키토산 화합물을 들 수 있겠다. 키토산(chitin)은 염기성 다당류(poly- $\beta$ -1,4-acetyl-D-glucosamine)로 새우나 게 등의 갑각류 껍질이나 곤충류의 표피, 연체동물의 뼈, 균류 및 버섯의 세포벽 등에 분포되어 있는 천연 고분자 물질로 각종 유기용매, 약산 및 알칼리에 용해되지 않는 흰색의 결정 혹은 무정형으로 분자량이 약 100만 이상인 물질이다. 키토산 및 키토산 올리고머는 지방 결합능력(fat-binding capacity)이 우수하여 지방의 장내 흡수를 저해하고, 배설을 증가시켜 혈중 콜레스테롤 수준이 저하되어

\* 교신저자 : 이형철, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학  
E-mail: leehc4@hanmail.net Tel: 063-850-6835  
· 접수: 2002/06/13 · 수정: 2001/07/20 · 채택 : 2002/08/06

고콜레스테롤 혈증 및 동맥경화증의 예방과 치료에 효과가 있다고 보고되고 있다<sup>13,14,15</sup>). 또한 키토산의 glucosamine 구조가 용해되면 약한 basic anionic exchanger로 작용하여 hydrophobic anion인 bile acid와 결합하여 bile acid의 재흡수를 저하시키고, 이로 인해 간에서 bile acid 합성이 증가됨으로써 혈청 콜레스테롤을 저하시키는 것으로 알려져 있다<sup>16</sup>). 한편, 내분비교란물질(endocrine disrupting chemicals)은 플라스틱류, 비닐류 등의 생활용품 및 농,공산품 그리고 농약류 등에 함유되어 있으며, 공기, 물, 흙 등의 환경 속에 광범위하게 존재한다<sup>17</sup>). 이러한 내분비교란물질은 인간의 경우 주로 먹이를 통해 유입되며<sup>18</sup>) 생체내에 축적된 다이옥신은 통상 반감기가 약 7년이 소요되는 것으로 알려져 있다<sup>19</sup>). 따라서 내분비교란물질의 독성으로부터 벗어나기 위해서는 유해물질에 노출되지 않거나 독성작용을 경감시키는 물질을 복용하는 방법일 것이다. 최근 TCDD의 해독 혹은 독성완화와 관련된 연구가 진행되고 있는데, 홍삼이나 비타민이 TCDD의 독성을 경감시킨다는 보고가 있으나 이에 대한 연구는 활발히 진행되고 있지 않은 실정이다<sup>20,21</sup>). 현재까지 TCDD의 독성 및 그 작용 메커니즘을 연구하기 위한 시도와 키토산의 생리 효과를 규명하기 위한 연구는 무수히 많았으나 TCDD에 의해 야기된 지질대사이상 및 지질과산화에 키토산의 보호효과에 대한 연구는 국내외를 통해 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 키토산이 TCDD에 의해 유발된 지질대사이상에 미치는 효과를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 키토산의 조제 및 투여

키토산은 정상적인 사료에 첨가하여 제조된 먹이로 공급하였다. 즉, 정상 대조군 및 TCDD 단독 투여군은 정상적인 사료조성으로 매일 충분히 공급하였으며, 저농도(3% 키토산)의 키토산 및 TCDD 병용 투여군과 고농도(5% 키토산)의 키토산 및 TCDD 병용 투여군에 있어서는 정상 사료조성에 키토산(Chitolife, Korea)을 3% 혹은 5%의 농도로 제조하여 4주간 섭취시켰다.

### 2. TCDD 조제

TCDD는 AccuStandard Inc.(New Haven, CT, USA)로부터 순도 99.1% 이상의 화합물을 구입하여 사용하였다. TCDD는 극소량의 DMSO 및 아세톤에 녹인 다음 corn oil로 희석하여 최종 농도가 20 µg/ml이 되도록 조제하여 사용하였다.

### 3. 실험동물의 사육조건

실험동물은 180±10g의 수컷 Sprague-Dawley rat을 한국 샘타코로부터 구입하여 본 동물사육실에 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 실험동물의 사육은 온도 23±1℃, 습도 40~60%, 환기는 1시간당 12~15회로 하였다. 1일 중 12시간은 200~300 Lux로 조명하고 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 먹이는 삼양사의 사료로 매일 충분히 공급하였으며, 식수는 정제된 물로 제한 없이 공급하였다.

### 4. 실험군

실험군은 총 40마리의 동물을 각 군 10마리씩, 4개 군으로 구성하였다. 즉, 실험군은 정상적인 먹이 공급 및 vehicle만을 배양투여한 정상 대조군(CON), 정상적인 먹이 공급 및 40 µg/kg의 TCDD를 단회 복강 투여한 TCDD 단독 투여군(TCDD), 3% 키토산 함유 식이 및 TCDD 복강 투여군(Ch/L+TCDD), 5% 키토산 함유 식이 및 TCDD 복강 투여군(Ch/H+TCDD)으로 구분하였다. 키토산 함유 식이 투여군들은 TCDD 노출 1주일 전부터 투여하였으며, TCDD 복강투여 후 3주간 실험하였다.

### 5. 체중측정 및 장기적출

체중은 매일 측정하였으며, 시험종료 후 실험동물은 20% urethane으로 마취하고 심장천자로 채혈하였다. 장기의 적출은 해부한 다음 간, 폐, 신장, 비장 및 정소를 적출하여 무게를 측정하였다.

### 6. 혈액의 생화학적 분석

분리한 혈청은 생화학자동 분석기 Hitachi-747(Hitachi Medical Co., LTD Japan)를 사용하여 콜레스테롤, triglyceride, HDL-C 및 LDL-C의 함량을 측정하였다.

### 7. 간조직의 균질액 제조

흰쥐로부터 적출한 간은 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)로 glass teflon homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 이 균질액은 4℃에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하였으며, 얻어진 상층액을 실험에 사용하였다.

### 8. 지질함량 측정

간조직의 총 지질 함량 측정은 Folch 등<sup>22</sup>)의 방법을 일부 변형하여 수행하였으며, 중성지질 함량 측정은 Biggs 등<sup>23</sup>)의 방법으로, 콜레스테롤 함량은 Zlatkis와 Zak 등<sup>24</sup>)의 방법을 이용하여 측정하였다.

### 9. HMG-CoA reductase 활성도 측정

HMG-CoA reductase 활성도 측정은 Kleinsek 등<sup>25</sup>)의 방법에 준하여 수행하였다. 즉, 300 mM KCl, 6 mM EDTA 및 15 mM dithiothreitol이 포함된 240 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 2 mM NADPH, 1 mM HMG-CoA 효소액을 첨가하여 37℃에서 420 nm로 흡광도의 변화를 측정하였다. 흡광계수는 6.22 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>로 환산하였으며, 효소의 활성단위는 1분당 1 mg의 단백질이 분해하는 NADPH의 양을 pmole로 표시하였다.

### 10. 지질과산화 측정

간조직의 지질과산화는 Buege와 Aust의 방법<sup>26</sup>)에 준하여 측정하였다. 즉, 간 균질액에 thiobarbituric acid(TBA) 용액을 첨가하여 30초 동안 vortex mixer로 혼합시킨 후 100℃ 물에서 15분간 중탕시켜 반응시킨 후 실온에서 냉각시킨 다음 3,000 rpm에

서 10분 동안 원심분리하여 그 상층액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

11. 통계처리

실험결과는 평균±표준편차(mean±SD)로 표기하였으며, 통계학적 분석은 Student's t-test를 사용하여 정상 대조군(CON) 혹은 TCDD 단독 투여군(TCDD) 대비 키토산 식이군간의 유의 차이가 P<0.05 혹은 P<0.01 이하의 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

현대 사회는 급격한 산업화에 따라 환경호르몬 물질의 배출량이 증가하여 대기, 토양, 물 등의 자연 환경에 다량 축적되며, 이들이 이차 오염원인 육류, 어패류, 채소, 과일 등과 같은 먹이 사슬을 통하여 인체로 유입되는 기회 및 빈도가 급증하고 있다. 그 결과 모유 및 유아에서도 환경호르몬이 검출되고 있는 실정이므로<sup>27)</sup> 환경호르몬에 의한 지질대사 이상이 공중 영양학적인 문제로 야기될 수 있다고 하겠다. 따라서 내분비장애물질에 의한 피해를 최소화하기 위해서는 내분비장애물질의 노출을 최소화하는 동시에 독성을 완화시킬 수 물질을 찾아내는 것도 절실히 요구된다. 본 연구에서 TCDD 실험군의 체중 증가는 TCDD 노출 후 5일째부터 서서히 둔화되기 시작하여 TCDD 투여 후 1주부터는 정상 대조군에 비해 유의하게 감소하기 시작하여, 시험 종료시기인 TCDD 투여 후 3주 때에는 정상 대조군 체중의 약 68%에 불과하였다. TCDD의 유도 독성은 동물의 종에 따른 큰 차이를 보이는 종 특이성이 있으며 투여농도 및 방법에 따라 차이를 보이고 있으나, 대부분의 동물에서 체중이 저하되는 것으로 보고되고 있는데<sup>20,28)</sup>, 이러한 결과와 일치하였다. 실험동물의 체중변화 및 장기무게는 외형적으로 독성에 의한 식이 억제정도나 발육 저하 등을 쉽게 알 수 있는 지표이다. 본 연구에서 5% 키토산 함유 식이군(Ch/H+TCDD 실험군)의 경우 정상 대조군(CON)에 비해 TCDD 노출로 인한 체중의 증가 정도가 억제되었지만 체중 감소율을 TCDD 단독 투여군과 비교해 볼 때 현저히 낮아 고농도(5%)의 키토산 식이한 경우 유의성(p<0.01) 있게 증가하는 것으로 관찰되었다. 그러나 저농도(3%)의 키토산 식이군(Ch/L+TCDD)에서는 TCDD 실험군에 비해 체중 증가 경향을 나타내지만 TCDD로 인한 체중 감소에 대하여 유의적으로 방어효과를 나타내지는 못하는 것으로 관찰되었다(Fig. 1). 채혈한 후 장기를 적출하여 장기의 무게를 측정 한 결과 폐, 신장 그리고 비장의 무게 변화에서는 정상 대조군인 CON 실험군에 비해 TCDD 단독 투여군, 그리고 키토산 식이군들(Ch/L+TCDD, Ch/H+TCDD)에 있어서 유의한 변화가 관찰되지 않은 반면, 간과 정소의 무게 변화에서는 정상 대조군(CON)에 비해 TCDD 단독 투여군(TCDD)에서 약 92%의 유의한 감소현상을 나타내었으나(p<0.05), 키토산 식이군들에서는 모두 TCDD에 비해 약간 높았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table 1).

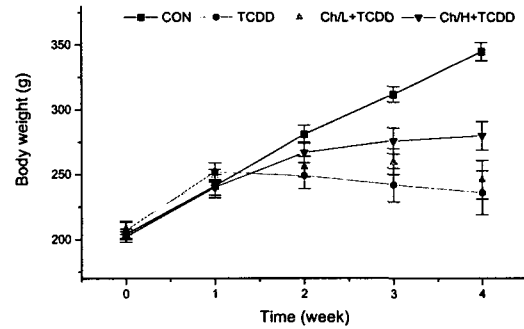


Fig. 1. Effect of chitosan on body weight in TCDD-exposed rats. Data were obtained from 10 animals for each group and expressed in mean±SD. Diet was made from chitosan in different content (3 or 5% chitosan). Abbreviations are as follows: CON, treatment of normal diet and vehicle; TCDD, treatment of normal diet and TCDD (40µg/kg); Ch/L+TCDD, treatment of 3% chitosan diet and TCDD; Ch/H+TCDD, treatment of 5% chitosan diet and TCDD.

Table 1. Effect of chitosan on organ weight in TCDD-exposed rats

Group	Organ weight (g)				
	Liver	Lung	Kidney	Spleen	Testis
CON	9.3±0.7	1.9±0.1	2.2±0.1	0.9±0.1	3.7±0.2
TCDD	8.4±1.5 <sup>†</sup>	2.1±0.3	2.1±0.3	0.8±0.2	3.4±0.3 <sup>†</sup>
Ch/L+TCDD	8.7±1.2	1.8±0.2	2.0±0.1	0.8±0.1	3.5±0.2
Ch/H+TCDD	8.9±1.1	1.9±0.3	2.0±0.2	0.9±0.1	3.5±0.4

Data were obtained from 10 animals for each group and expressed in mean±SD. Data were analyzed using by student's t-test. Symbol (†) indicate p<0.05 when compared with CON group, respectively. Diet was made from chitosan in different content (3 or 5% chitosan). Notes on group designation are the same as Fig. 1.

본 연구에서 사용한 다이옥신계 화합물의 대표적인 TCDD는 짧은 시간에 고지혈증 및 고 콜레스테롤 혈증 등을 야기하는 독성이 매우 강한 물질로 알려져 왔다<sup>8,9,10,11,12)</sup>. Walden과 Schiller<sup>29)</sup>는 Charles River/Fisher rat에 TCDD 45 µg/kg의 농도로 1회 투여시킨 결과, 1주 후에 고 콜레스테롤 혈증과 고지혈증이 유발되었다고 보고하였다. 또한 SD rat이나 mouse에서도 TCDD를 급성 농도로 투여한 경우에는 혈장 총 콜레스테롤의 농도가 현저히 상승되었는데<sup>10,30,31)</sup>, 본 연구에서도 TCDD를 투여한 경우에는 정상 대조군(CON)에 비해 약 141%의 유의한 증가를 보여 위의 여러 연구 보고들과 일치하였다(Table 2). 이러한 TCDD의 투여로 인한 총 콜레스테롤이 증가하는 기전은 adipose tissue 손실에 의한 cholesterol mobilization 증가와 hepatocyte plasma membrane의 LDL receptor의 down regulation에 의해 야기된다는 보고가 현재로서는 가장 설득력을 얻고 있다<sup>32)</sup>. 키토산은 지방 결합능력(fat-binding capacity)이 우수하여 지방의 장내 흡수를 저해하고, 배설을 증가시켜 혈중 콜레스테롤 수준의 저하로 고 콜레스테롤 혈증 및 동맥경화증의 예방과 치료에 효과가 있다고 보고하였으며<sup>13,14,15)</sup>, 또한 키토산의 glucosamine 구조가 용해되면 약한 basic anionic exchanger로 작용하여 hydrophobic anion인 bile acid와 결합하여 bile acid의 재흡수를 저하시키고, 이로 인해 간에서 bile acid 합성이 증가됨으로써 혈청 cholesterol을 저하시키는 것으로 알려져 있다<sup>16)</sup>. 본 연구에서도 키토산이 혈중 콜레스테롤 함량을 낮추어 주었는데, TCDD에 의하여 유도된 고 콜레스테롤 혈증이 키토산 5% 식이군(Ch/H+TCDD)에서는 약 18%의 유의한

감소가 확인되었으나 3%의 식이군(Ch/L+TCDD)에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다(Table 3). Chapman과 Schiller<sup>31)</sup> 및 Christian 등<sup>33)</sup>의 보고에 의하면 급성농도의 TCDD를 투여한 경우 혈청 중 중성지질의 농도가 유의한 증가현상이 보인 후 감소된다고 하였는데, 본 실험에서는 총 콜레스테롤 함량과 마찬가지로 TCDD 투여가 정상 대조군에 비해 16%로 유의하게 증가시켰다(Table 3). 간조직의 총 지질, 콜레스테롤 및 중성지질의 측정결과는 혈청에서 얻어진 양상과 마찬가지로 TCDD 투여시 증가되었으며 고농도의 키토산을 식이한 경우에만 유의적으로 감소되는 경향을 보여주었다(Table 4). 혈청중의 HDL-C과 LDL-C에서는 TCDD 투여시 정상 대조군에 비해 각각 151% 및 187%의 수준으로 유의하게 증가시켰다(Table 3). 이는 TCDD에 노출이 HDL-C과 LDL-C을 유의하게 동반 상승시킨다는 Gwynne와 Hess<sup>34)</sup>의 연구결과와 일치한다고 하겠다.

Table 2. Effect of chitosan on serum lipid metabolism in TCDD-exposed rats

Group	T. Cho(mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)
CON	72±13.5	45±9.4	38.7±6.5	25.6±8.5
TCDD	101±22.3 <sup>†</sup>	78±14.7 <sup>†</sup>	58.4±9.4 <sup>†</sup>	47.8±9.8 <sup>†</sup>
Ch/L+TCDD	92±17.7	64±15.2	41.3±8.5	36.5±5.8
Ch/H+TCDD	83±19.5 <sup>*</sup>	58±14.3 <sup>*</sup>	55.1±9.4	31.3±5.8 <sup>*</sup>

Data were obtained from 10 animals for each group and expressed in mean±SD. Data were analyzed using by student's t-test. <sup>†</sup> and <sup>\*</sup> indicate p<0.05 and p<0.01 when compared with CON group, respectively. Symbol (\*) indicate p<0.05 when compared with TCDD group. Diet was made from chitosan in different content (3 or 5% chitosan). Abbreviations are as follows: T. Cho, total cholesterol; TG, triglyceride; HDL-C, high density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol. Notes on group designation are the same as Fig. 1.

Table 3. Effect of chitosan on liver lipid metabolism in TCDD-exposed rats

Group	Total lipid (mg/dry wt.g)	TG (mg/dry wt.g)	T. Cho (mg/dry wt.g)
CON	175.3±10.4	59.4±5.6	34.7±2.9
TCDD	258.7±34 <sup>†</sup>	105.1±32.4 <sup>†</sup>	66.4±5.1 <sup>†</sup>
Ch/L+TCDD	237.4±25	91.3±18.2	55.3±6.1
Ch/H+TCDD	210.3±19.5 <sup>*</sup>	78.1±16.3 <sup>*</sup>	43.5±7.6 <sup>*</sup>

Data were obtained from 10 animals for each group and expressed in mean±SD. Data were analyzed using by student's t-test. Symbol (<sup>†</sup>) indicate p<0.01 when compared with CON group. Symbol (\*) indicate p<0.05 when compared with TCDD group. Diet was made from chitosan in different content (3 or 5% chitosan). Notes on group designation are the same as Fig. 1 and Table 3.

본 연구결과에서 고농도의 키토산 식이는 LDL-C 만이 TCDD 실험군의 35% 수준으로 유의하게 억제되는 경향을 보여 주어 고농도의 키토산 함유 식이는 총 콜레스테롤 및 중성지질과 같이 TCDD에 의하여 야기된 지질대사 이상을 개선시킨다고 할 수 있겠다. 이러한 식이섭유가 지질대사에 영향을 주는 가장 큰 요인으로는 식이섭유의 수분보유력, 점도 및 흡착능 등이 좌우한다고 알려져 있는데, 키토산의 경우 이러한 기능을 크게 좌우하는 요인으로는 탈아세틸화를 포함하여<sup>36)</sup> 현재까지 제기된 지질 대사 기전을 보면 첫째로 키토산에 의한 위십이지장 내용물의 증가를 들 수 있으며<sup>37)</sup>, 둘째로는 침전된 키토산이 회장에서 mixed micelle을 격리시킨다는 설명이다<sup>38)</sup>. 셋째로는 키토산의 담즙산 결합능력을 들 수 있으며<sup>39)</sup>, 넷째로는 키토산이 간의 LDL receptor를 유도하여 LDL 콜레스테롤의 수준을 저하시킨다는 것이다<sup>40)</sup>. 최근에 제시된 것으로는 *in vitro* 실험에서 키토산이

췌장에서 유래된 lipase의 활성을 저해한다는 연구결과가 나와서 주목받고 있는데<sup>41)</sup>, 본 연구결과에서도 키토산은 TCDD에 의해 유도된 고 콜레스테롤 혈증 및 간의 지방축적 증상 등을 키토산에 의한 지질대사 개선으로 다소 완화시켜준다는 사실을 확인할 수 있었다. 콜레스테롤 합성 과정에서 촉매효소로 작용하는 황면소포체의 막 단백질인 HMG-CoA reductase가 TCDD 및 키토산이 콜레스테롤의 합성과정에서 어떤 영향을 주는지를 알기 보기 위하여 간 조직 중 HMG-CoA reductase의 활성도를 측정된 결과(Table 4), TCDD 단독 투여군은 정상 대조군에 비해 유의한 증가를 보였으나 키토산의 식이군들 모두에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 따라서 현재의 결과로서는 단언할 수 없으나 키토산이 지질대사 과정에서 HMG-CoA reductase에 의한 콜레스테롤 및 지질합량 등에 영향을 미치는 것은 아닌 것으로 사료된다. TCDD는 활성산소종의 생성 증가, 지질과산화 및 DNA의 손상 등을 유도하여 oxidative damage 및 다양한 질병이 유발된다는 사실은 밝혀져 있다<sup>42)</sup>. 본 연구에서도 TCDD에 의한 지질과산화 유도 및 키토산의 지질과산화 억제효과를 간조직의 MDA 함량 측정으로 확인하였다. TCDD 단독 투여군은 정상 대조군에 비해 MDA 함량이 약 1.2배의 증가되어 지질과산화가 유도되었음을 알 수 있었으며, 고농도의 키토산 식이만이 유의하게 지질과산화를 억제하였다(Fig. 2).

Table 4. Effect of chitosan on the HMG-CoA reductase activity liver in TCDD-exposed rats

Group	Activity (pmol/min/mg protein)
CON	234±12.4
TCDD	256±19.1 <sup>†</sup>
Ch/L+TCDD	245±10.1
Ch/H+TCDD	241±17.4

Data were obtained from 10 animals for each group and expressed in mean±SD. Data were analyzed using by student's t-test. Symbol (<sup>†</sup>) indicate p<0.05 when compared with CON group. Diet was made from chitosan in different content (3 or 5% chitosan). Notes on group designation are the same as Fig. 1.

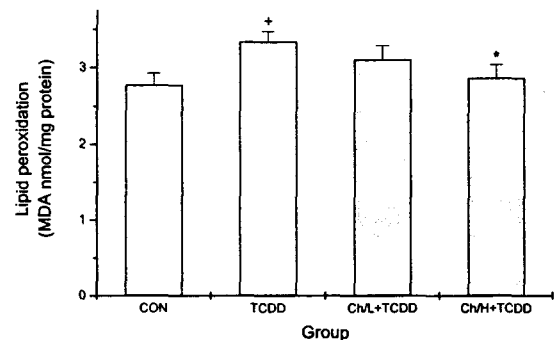


Fig. 2. Effect of chitosan on the lipid peroxidation in liver in TCDD-exposed rats. Data were obtained from 10 animals for each group and expressed in mean±SD. Data were analyzed using by student's t-test. Symbol (<sup>†</sup>) indicate p<0.05 when compared with CON group. Symbol (\*) indicate p<0.05 when compared with TCDD group. Diet was made from chitosan in different content (3 or 5% chitosan). Notes on group designation are the same as Fig. 1.

이상의 결과를 종합해 볼 때 TCDD는 고 콜레스테롤 혈증 및 간의 지방 축적 등 지질대사에 이상을 초래하며, 5%의 키토

산 함유 식이는 TCDD에 의해 유도된 지질대사 이상 및 지질과산화를 다소 억제해 주는 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구에서는 dioxin(TCDD)에 노출된 흰쥐(Sprague-Dawley rat)에서 지질과산화 및 지질대사관련 지표들에 대한 키토산의 보호효과를 조사하였다. 흰쥐에 TCDD 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도로 단회 복강투여하였으며, 키토산은 TCDD 투여 1주일 전부터 4주 동안 3% 혹은 5%의 키토산이 포함된 사료를 공급하였다. 체중의 증가는 정상 대조군(CON 실험군)에 비해 TCDD 단독 투여한 경우 감소된 반면, TCDD에 의해 감소된 체중은 고농도(5% chitosan)의 키토산을 식이한 경우 회복되었다. 혈청(콜레스테롤, 중성지질, HDL-C 및 LDL-C) 및 간조직의 지질대사 관련 지표들(지질, 콜레스테롤 및 중성지질)이 TCDD를 투여한 실험동물에서 유의적으로 증가하였으며, HDL-C를 제외한 이들 지표들은 5% 키토산이 포함된 먹이를 공급한 경우 유의적으로 회복되었다. 이러한 결과는 키토산이 다이옥신(TCDD)에 대한 보호작용을 할 수 있을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Matsumura, F. Mechanism of action of dioxin-type chemicals, pesticides, and other xenobiotics affecting nutritional indexes. *Am. J. Clin. Nutr.* 61, 695S-701S, 1995.
2. Schwetz, B.A., Sparchu, G.L., Row, V.K., Gehring, P.J., and Emerson, J.L. Toxicology of chlorinated dibenzo-*p*-dioxin. *Environ. Health Perspect* 5, 87-99, 1973.
3. Poland, A., and Knuston J. C. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 22, 517-554, 1982.
4. Kociba, R.J., Keeler, P.A., Park, C.N., and Gehring, P.J. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD): results of a 13-week oral toxicity study in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 35, 553-574, 1976.
5. Theobald, H.M., and Peterson, R.E. In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin: effects on development of the male and female reproductive system of the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 145, 124-135, 1997.
6. Fahn, S., and Cohen, G. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. *Ann. Neurol.* 32, 804-812, 1992.
7. Halliwell, B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 344, 721-724, 1994.
8. Harris, M.W., Moore, J.A., Vos, J.G., Gupta, B.N. General biological effects of TCDD in laboratory animals. *Environ. Health Perspect* 5, 101-109, 1973.
9. Swift, L.L., Gasiewicz, T.A., Dunn, D., Soule, P.D., and Neal, R.A. Characterization of the hyperlipidemia in guinea pigs induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59, 489-499, 1981.
10. Dibartolomeis, M.J., Moore, R.W., Peterson, R.E., and Jefcoate, C.R. Hypercholesterolemia and the regulation of Adrenal steroidogenesis in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-treated rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 85, 213-323, 1986.
11. Shertzer, H.G., Nebert, D.W., Puga, A., Ary, M., Sonntag, D., Dixon, K., Robinson, L.J., Cianciolo, E., and Dalton, T.P. Dioxin causes a sustained oxidative stress response in the mouse. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 253, 44-48, 1998.
12. Enan, E., Liu, P.C.C., and Matsumura, F. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin causes reduction of glucose transporting activities in the plasma membrane of adipose tissue and pancreas from the guinea pig. *J Biol Chem* 267, 19785-19791, 1992.
13. Vahouny, G.V., Satchithanandam, S., Cassidy, M.M., Lightfoot, F.B., and Furda, I. Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. *Am. J. Clin. Nutr.* 38, 278-284, 1983.
14. Lee, J.M., and Son, B.K. Effects of chitosan of different molecular weights on lipid metabolism in rats. *Kor. J. Nutr.* 31, 143-152, 1998.
15. Razdan, A., Pettersson, D., Pettersson, J. Broiler chicken body weights, feed intakes, plasma lipid and small-intestinal bile acid concentrations in response to feeding of chitosan and pectin. *Br. J. Nutr.* 78, 283-291, 1997.
16. Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukuda, N., and Hasegawa, Y. A novel use of chitosanas a hypocholesteromic agent in rats. *Am J Clin Nutr* 33, 787-793, 1980.
17. Safe, S.H. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Crit. Rev. Toxicol.* 24, 87-149, 1994.
18. Parefall, W. Risk assessment of dioxin contamination in human food. *Food Chem. Toxicol.* 40, 1185-1189.
19. Poiger, A., and Schlatter, C. Pharmacokinetics of 2,3,7,8-TCDD in man. *Chemosphere* 15, 1489-1494, 1986.
20. 황석연, 김시관, 김신희, 광이성, 정영진. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin 투여로 급성독성을 유도한 음성 기니피에 있어 임상화학지수에 미치는 홍삼의 효과. *한국 식품영양과학회지*, 28, 1349-1354, 1999.
21. Lind, P.M., Larsson, S., Johansson, Melhus, H., Wikstrom, M., Lindhe, O., and Orberg. Bone tissue composition, dimensions and strength in female rats given an increased dietary level of vitamin A or exposed to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) alone or in combination

- with vitamin C. *Toxicol.* 151, 11-23, 2000.
22. Folch, J., Less, M., and Stanely, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 226, 497-502, 1957.
  23. Biggs, H.G., Erikson, M.J., and Wells, R.M. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin. Chem.* 21, 437-441, 1975.
  24. Zlatkis, A., and Zak, B. Study of a new cholesterol reagent. *Anal. Botchier.* 29, 143-146, 1969.
  25. Kleinsek, D.A., Dugan, R.E., Baker, T.A., and Porter, J.W. 3-Hydroxy-3-ethylglutaryl CoA reductase from rat liver. *Methods Enzymol.* 71, 462-479, 1981.
  26. Buege, J.A., and Aust, S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52, 302-310, 1978.
  27. Paumgartten, F.J.R., Cruz, C.M., Chahoud, I., Palavinskas, R., and Mathar, W. PCDDs, PCDFs, PCBs, and other organochlorine compounds in human milk from Rio de Janeiro, Brazil. *Environ. Res. (section A)* 83, 293-297, 2000.
  28. Poland, A., and Knuston J. C. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 22, 517-554, 1982.
  29. Walden, R., and Schiller, C.M. Comparative toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in four (sub) strains of adult male rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 77, 490-495, 1985.
  30. Poli, A., Franceschini, G., Puglisi, Sirtori, C.R. Increased total and high density lipoprotein cholesterol with apoprotein changes resembling streptozotocin diabetes in trachlodibenzodioxin (TCDD) treated rats. *Botchier Pharmacol.* 29, 835-838, 1980.
  31. Chapman, D.E., and Schiller, C.M. Dose related effects 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 78, 147-157, 1985.
  32. Bombick, D.W., Matsumura, F., and Madhukar, B.V. TCDD causes reduction in the low density lipoprotein(LDL) receptor activities in the hepatic plasma membrane of the guinea pig and rat. *Bidchem. Biophys. Res. Commun.* 118, 548-554, 1984.
  33. Christian, B.J., Menahan, L.A., and Perterson, R.E. Intrermediary metabolism of the mature rat following 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin treatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 83, 360-378, 1986.
  34. Gwynne, J.T., and Hess, B. The role of high density lipoproteins in rat adrenal cholesterol metabolism and steroidogenesis. *J. Biol. Chem.* 255, 10875-10883, 1980.
  35. Knorr, D. Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development. *Food Technol.* 23, 85-97, 1984.
  36. Deuchi, K., Kanauchi, O., Imasato, Y., Kobayashi, E. Decreasing effect of chitosan on the apparent digestibility by rats fed a high diet. *Biosci. Biotech. Botcher.* 58, 1613-1616, 1994.
  37. Furda, I. Aminopolysaccharides-their potential as dietary fiber. Furda I, eds. *Unconventional Sources of Dietary Fiber ACS Symposium Series 214*, 105-122, 1983.
  38. Razdan, A., Pettersson, D., and Pettersson, J. Broier chicken body weight, feed intake, plasma lipid and small-intestinal bile acid concentration in response to feeding chitosan and pectin. *Br. J. Nutr.* 78, 283-291, 1997.
  39. Chiang, M.T., Yao, H.T., and Chen, H.C. Effect of dietary chitosans with different viscosity on plasma lipid and lipid peroxidation in rats fed on a diet enriched with cholesterol. *Biosci. Biotech. Botcher.* 64, 965-971, 2000.
  40. Han, L.K., Kimura, Y., and Okuda, H. Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. *Int. J. Obes.* 23, 174-179, 1999.
  41. Stohs, S.J., Hassan, M.Q., and Muurray, W.J. Induction of lipid peroxidation and inhibition of glutathion peroxidase by TCDD. *Banbury Report #18*, Banbury Center, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. pp. 241-253, 1984.
  42. Stohs, S.J. Oxidative stress induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Free Rad. Biol. Med.* 9, 79-90, 1990.