

콜레스테롤 및 타우린 첨가식이가 흰쥐 혈장과 간의 지질과산화물 농도와 항산화효소 활성에 미치는 영향

정은정* · 엄영숙** · 남혜원*** · 박태선†

연세대학교 식품영양학과, *강남대학교 교양학부,
연세대학교 식품영양과학연구소, *수원여자대학 식품과학부

Changes in Lipid Peroxidation Level and Antioxidant Enzyme Activities of Rats Supplemented with Dietary Cholesterol and/or Taurine

Eung-Jung Chung*, Young-Sook Um**, Hae-Won Nam*** and Taesun Park†

Dept. of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

*General Education, Kangnam University, Gyeonggi 449-702, Korea

**Research Institute of Food and Nutritional Sciences, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

***Dept. of Food Science, Suwon Women's College, Gyeonggi 445-895, Korea

Abstract

Effects of dietary cholesterol and/or taurine supplementation on plasma and hepatic lipid peroxidation status and antioxidant enzyme activities were evaluated in rats fed one of the following semisynthetic diets for 5 weeks: control diet (CD, cholesterol-free and taurine-free diet); high cholesterol diet (HCD, CD+1.5% cholesterol); high taurine diet (HTD, CD+1.5% taurine); high cholesterol and high taurine diet (HCHTD, HCD+1.5% taurine). Plasma malondialdehyde (MDA) level was not influenced by dietary cholesterol or taurine supplementation, while hepatic MDA level was 70% higher in rats fed HCD compared to the value for CD rats ($p < 0.05$). Our observation that taurine supplementation significantly decreased the hepatic MDA level of rats fed HCD, but failed to decrease lipid peroxidation of rats fed CD indicates that the protective effect of taurine in the liver against lipid peroxidation is manifested only under the hypercholesterolemic environment. Plasma and hepatic glutathione peroxidase (GSH-Px) activities were not affected by dietary supplementation of cholesterol or taurine. However, hepatic superoxide dismutase (SOD) activity was significantly reduced by dietary taurine supplementation ($p < 0.05$), and thus significantly lower in rats fed HTD compared to the value for CD ($p < 0.05$). Plasma total cholesterol concentration was positively correlated with hepatic cholesterol concentration as expected ($r = 0.712$, $p < 0.001$). Plasma ($r = 0.399$, $p < 0.05$) and hepatic cholesterol levels ($r = 0.429$, $p < 0.05$) showed a significantly positive correlation with hepatic MDA concentration, respectively. Plasma taurine concentration was negatively correlated with hepatic SOD activity ($r = -0.481$, $p < 0.01$), and tended to be negatively correlated with hepatic GSH-Px activity without showing statistical significance ($r = -0.188$, $p < 0.05$). These results indicate an antioxidative effect of taurine in rats with elevated level of lipid peroxidation due to high intake of dietary cholesterol. Future application of taurine as a safe candidate for a hypolipidemic agent without adversely affecting body's antioxidant defense system is speculated.

Key words: taurine, cholesterol, malondialdehyde, antioxidant enzyme activities, rats

서 론

생명체에 필수적인 산소는 대사과정에서 생성되는 수소와 결합하여 H₂O를 생성하는 한편, 부분 환원되거나 전자의 재배치가 일어나면서 반응성이 큰 중간 산소화합물(reactive oxygen species, ROS)을 생성하기도 한다. ROS는 모든 살아있는 유기체에서 끊임없이 생성되며, 특히 세포가 노화되거나 환경오염에 노출이 증가되는 환경에서 그 생성속도가 빨라진다. 화학물질, 농약, 오존, NO₂ 등의 산화촉진제에

노출되면 신체는 조직의 손상과 함께 염증반응을 일으키게 되는데, 타우린은 이와 같은 조직의 산화적 손상에 대하여 보호효과를 나타냄이 보고되고 있다(1-4). 아울러 당뇨병과 같이 산화스트레스가 증가하는 만성질환에서 타우린의 예방 및 치료효능에 대한 연구가 보고된 바 있으며(5-8), 특히 당뇨 쥐에서 타우린이 사구체 간질세포의 지질과산화물을 억제하여 당뇨병 신장질환을 감소시키는 효과가 있음이 보고되었다(7).

최근 저자 등은 선행연구(9,10)에서 식이내 타우린보강이

†Corresponding author. E-mail: tspark@yonsei.ac.kr
Phone: 82-2-2123-3123, Fax: 82-2-312-5229

혈장과 간의 콜레스테롤 및 중성지방 농도를 유의하게 저하시키는 효과가 있음을 고콜레스테롤식이뿐 아니라 무콜레스테롤식을 섭취하는 흰쥐를 대상으로 관찰한 바 있다. 지난 10여 년간 한국인의 식생활 패턴이 서구화되면서 뇌혈관 질환 및 고혈압성 질환을 포함하는 순환기계 질환은 한국인 사망원인의 30% 이상을 차지하며, 이들 질병의 주요 위험인자인 고지혈증 역시 빠른 속도로 증가하고 있다(11). 고콜레스테롤혈증은 순환기계 질환의 주요 위험요인일 뿐 아니라, 체내에서 산화를 촉진시켜 만성질환의 유병율을 증가시키는 결과를 초래할 수 있다(12-14). 일부 고지혈증 치료제는 체내에서 peroxisome 효소의 활성을 변화시키고 산화적 스트레스를 증가시키는 것으로 알려져 있다(15). Ciriolo 등(16)은 다양한 혈중 지질저해제가 항산화효소 활성 및 지질과산화에 미치는 효과에 대한 연구발표에서 fibrate 유도체는 항산화효소 활성을 감소시키고 지질과산화를 증가시키는 등의 역효과를 나타내는 반면, 타우린 유도체는 효소활성이나 지질과산화 수준에 유의한 영향을 미치지 않았음을 제시하면서 지질저해제의 특성을 검토할 때 반드시 산화적 손상에 대한 측면이 함께 고려되어야 함을 지적한 바 있다.

본 저자 등은 건강한 성인여성을 대상으로 타우린보강이 혈중 항산화효소 활성과 지질과산화물농도에 미치는 영향을 평가한 바 있다(17). 그동안 다양한 화학물질, 영양 및 오존 등의 산화촉진제에 노출된 동물모델을 대상으로 타우린의 항산화활성을 보고한 연구는 다수 있었으나, 고지혈증 상황에서 타우린의 항산화기능은 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구는 혈중 지질저하 효능을 지닌 타우린이 고콜레스테롤식이뿐 아니라 무콜레스테롤식을 섭취하는 흰쥐의 혈장과 간조직의 항산화 체계에 미치는 영향을 평가하고, 동시에 체내 콜레스테롤 및 타우린농도와 항산화체계와의 상관관계를 밝히고자 시도되었다.

재료 및 방법

실험식이 및 실험동물의 사육

체중이 110~130 g인 Sprague-Dawley 계통의 수컷 흰쥐를 1주일간 환경에 적응시킨 후, 난피법에 의해 8마리씩 4군으로 분류하여 각기 대조식이(control diet, CD), 고타우린식이(high-*taurine* diet, HTD), 고콜레스테롤식이(high-*cholesterol* diet, HCD), 그리고 고콜레스테롤 및 고타우린식이(high-*cholesterol* and high-*taurine* diet, HCHTD)로 5주간 사육하였다. CD는 무콜레스테롤식이로서 지방급원으로 10%의 옥수수유를, 그리고 단백질급원으로는 18%의 카제인(Murray Gluburn Cooperative Co., Mel Bourne, Australia)을 사용하였다. 기타 실험식은 CD와 동일하되, HCD에는 1.5%의 콜레스테롤을, HTD에는 1.5%의 타우린을, 그리고 HCHTD에는 1.5%의 콜레스테롤과 함께 1.5%의 타우린을 각기 첨가시켰다. HCD, HTD 및 HCHTD의 총 중량은 첨가

된 콜레스테롤과 타우린의 양만큼 당질의 양에서 제하여 일정하게 조절하였으며, 실험식이의 자세한 조성은 Table 1에 제시된 바와 같다.

실험기간 동안 사육실의 온도는 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였고 광주기와 암주기를 12시간으로 조절하였으며, 물과 식이는 자유로이 섭취시켰다. 동물은 스텐레스 사육장에서 네 마리씩 분리 사육하였고, 실험기간동안 매주 2회 체중을 측정하였다.

시료의 채취 및 준비

5주간의 사육이 끝난 후 공복상태의 흰쥐를 에테르 마취하에 개복하고, 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취한 후 간을 적출하였다. 혈액은 heparin으로 처리된 튜브에 채취한 후, 4°C , $2,000 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리하고, -70°C 에 냉동 보관하였다. 간은 떼어낸 즉시 차가운 식염수로 세척하고 Kimwipes로 닦아낸 후 무게를 측정하였고, 액체질소에서 순간 냉동시킨 후 -70°C 에 보관하였다.

Malondialdehyde 농도 분석

간조직과 혈장의 지질과산화물농도는 Buckingham(18)의 방법을 이용하여 malondialdehyde(MDA)농도를 측정하여 평가하였다. 간조직의 3배에 해당하는 0.1 M Na_2PO_4 완충용액(pH 7.4)을 가하고, tissue homogenizer를 이용하여 3분간 균질화시킨 후, 균질액 1.5 mL에 33 mM FeSO_4 50 μL 와 0.33 mM butylated hydroxytoluene 50 μL , 그리고 33 mM L-ascorbic acid 50 μL 를 가하여 잘 섞었다. 37°C 온수조에

Table 1. Composition of experimental diets (%)

	CD ¹⁾	HTD ¹⁾	HCD ¹⁾	HCHTD ¹⁾
Carbohydrate ²⁾	65	63.5	63.5	62
Casein	18	18	18	18
Corn oil	10	10	10	10
Mineral mixture ³⁾	4	4	4	4
Vitamin mixture ⁴⁾	1	1	1	1
CMC ⁵⁾	2	2	2	2
Cholesterol	-	-	1.5	1.5
Taurine	-	1.5	-	1.5
Total	100	100	100	100

¹⁾CD: Control diet, cholesterol-free and taurine-free diet.

HTD: High taurine diet, CD+1.5% taurine.

HCD: High cholesterol diet, CD+1.5% cholesterol.

HCHTD: High cholesterol and high taurine diet, HCD+1.5% taurine.

²⁾Starch : Sucrose = 80 : 20.

³⁾Mineral mixture contained (g/100 g) CaCO_3 29.29; $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.43; KH_2PO_4 34.31; NaCl 25.06; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 9.98; $\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.623; $\text{CuSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.156; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.121; ZnCl_2 0.02; KI 0.0005; $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.0015; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.0025.

⁴⁾Vitamin mixture contained (mg/kg diet) thiamin $\cdot \text{HCl}$ 5; riboflavin 5; nicotinamide 25; calcium-d-pantothenic acid 20; pyridoxine $\cdot \text{HCl}$ 5; folic acid 0.5; biotin 0.2; vitamin B_{12} 0.03; dl- α -tocopherylacetate 100; retinylpalmitate (in IU) 4000; cholecalciferol (in IU) 400; choline chloride 2000; ascorbic acid 50; menadione 0.5; inositol 100.

⁵⁾Carboxymethyl cellulose sodium salt.

서 30분간 항온배양시킨 후 10% trichloroacetic acid 1.5 mL을 가하고, 3,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액 2 mL에 1% thiobarbituric acid 용액을 첨가하여 잘 섞은 후 마개로 막고, 90~95°C에서 20분간 항온 배양하였다. 이를 냉각시킨 후 n-butanol을 가하여 잘 섞어준 다음 17,400×g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 취하여 luminescence spectrophotometer(Aminco Bowman Series 2, #FA255, Aminco, USA)를 이용하여 발양(excitation) 파장, 500 nm, 그리고 방출(emission) 파장, 553 nm에서 형광강도를 각기 측정하였다. 이때 표준물질로는 1,1,3,3-tetramethoxy propane (Sigma Co., USA)을 사용하였다.

혈장의 MDA 농도를 측정하기 위하여 혈장 50 µL에 0.083 N H₂SO₄ 4 mL과 10% phospho-tungstic acid 0.5 mL를 가하여 혼합한 후, 실온에서 5분간 방치하였다. 17,400×g에서 10분간 원심분리한 후, 침전물을 0.083 N H₂SO₄ 2 mL와 phosphotungstic acid 0.3 mL에 현탁시키고 17,400×g에서 10분간 원심분리하였다. 침전물에 증류수 5 mL와 1% thiobarbituric acid 용액 2 mL을 가한 후 90~95°C에서 20분간 항온배양시켰으며, 냉각시킨 이후의 과정은 간조직에서와 동일하게 실시하였다.

항산화효소 활성 측정

간조직의 총 superoxide dismutase(SOD) 활성은 Marklund와 Marklund(19) 및 Sheri 등(20)의 방법을 수정하여 pyrogallol의 autooxidation 억제 정도를 측정하여 평가하였다. 간조직에 0.25 M sucrose를 가하여 균질화한 후 2,000×g에서 30분간 원심분리하였다. 상층액 20 µL에 Tris buffer 3 mL과 pyrogallol 20 µL를 순서대로 가하여 잘 섞은 후 420 nm에서 5분 동안 흡광도가 증가되는 정도를 측정하였다. SOD효소 1 unit는 1분 동안 pyrogallol의 autooxidation을 50% 방해하는데 필요한 효소의 양으로서 산출하였고, specific activity는 1 mg protein에 해당하는 enzyme unit로 환산하였다.

간조직의 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성은 Paglia와 Valentine(21)과 Deagen 등(22)의 방법을 수정하여 측정하였다. 간조직에 0.25 M sucrose를 함유한 0.1 M ice-cold phosphate buffer(pH 7.0)를 가하여 균질화시키고, 23,700×g에서 1시간 동안 원심분리하였다. 상층액 1 µL에 0.8 mL 반응혼합물(4.5 mM EDTA, 4.7 mM sodium azide를 포함한 0.125 M phosphate buffer, pH 7.0, 2.8 nM NADPH, 49.9 nM reduced glutathione, 0.67 units glutathione reductase)과 0.1 mL의 0.25 mM H₂O₂를 가하여 반응을 일으킨 즉시, 산화형 glutathione(GSSG)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도가 감소되는 속도를 341 nm에서 3분 동안 측정하였다. 즉, GSH-Px의 존재 하에 H₂O₂를 첨가시키면 산화형 glutathione(GSSG)이 생성되고, 반응액내에 존재하는 glutathione reductase와 NADPH에 의해 GSSG가 다시 GSH로 환원되는 속도를 관찰함으로써 GSH-Px의 활성을 산출하

였다. 효소 1 unit은 혈청 1 mL당 1분 동안 산화된 NADPH의 nmole 수로 나타내었고, specific activity는 1 mg 단백질에 해당하는 효소 unit으로 환산하였다.

혈장의 GSH-Px 활성을 측정하기 위하여는, 혈장 20 µL에 증류수를 가하여 100 µL로 채운 후, 0.8 mL 반응혼합물과 0.1 mL의 0.25 mM H₂O₂를 가하여 반응을 일으킨 즉시, 간조직에서와 동일한 방법으로 흡광도의 변화를 측정하여 효소 활성을 산출하였다.

시료의 단백질함량은 Lowry 등(23)의 방법에 의해 정량하였으며, 단백질 표준물질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

타우린 및 콜레스테롤 농도 측정

혈장시료 100 µL를 1.5 mL microependorf tube에 취하고 10% sulfosalicylic acid 용액 25 µL를 가하여 섞은 뒤 4°C에서 1시간 동안 방치하였다. 12,000×g에서 10분간 원심분리하여 단백질을 제거시킨 후 상층액을 깨끗한 튜브에 옮기고, 아미노산분석기에 주입시키기 직전에 0.2 µL filter (PVDF Aerodisc, Gelman Sciences, USA)를 사용하여 여과하였다. 전처리된 시료의 타우린 농도는 ion-exchange chromatography(24)에 입각한 아미노산 전용분석기(Biochrom 20, Pharmacia LKB Biotech, Cambridge, England)를 사용하여 측정하였다. 즉, 여과된 시료 20 µL를 sample loading capsule을 통해 lithium high performance column(90×4.6 mm, Pharmacia LKB Biotech)에 주입하였으며, mobile phase로는 0.20 M lithium citrate buffer, pH 2.80(34°C, 2분)과 0.30 M lithium citrate buffer, pH 3.00(34°C, 12분)을 25 mL/h의 유속에서 단계적으로 사용하였다. Column을 통해 분리된 아미노산을 ninhydrin 시약으로 발색시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 각 시료의 타우린함량은 아미노산 표준용액에서 얻어진 타우린 peak의 면적과 비교함으로써 계산하였다.

간조직의 콜레스테롤함량을 측정하기 위하여 우선 Folch 등(25)의 방법에 따라 약 1~2 g의 냉동 보관된 간조직을 chloroform-methanol 용액(2:1, v/v)에서 균질화한 후 지질을 추출하였다. 지질 추출액에 함유된 콜레스테롤농도는 Zak(26)의 방법에 준하여 ferric chloride 시약으로 발색시켜 560 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였다. 혈장의 콜레스테롤농도는 효소비색법(27)을 이용한 상업용 kit(Eiken Chemical Co., Japan)를 사용하여 측정하였다.

통계처리

모든 분석수치는 mean±SE로 표시하였다. 타우린 및 콜레스테롤 첨가식이 체내 항산화체계에 미치는 효과는 two-way ANOVA(analysis of variance) 테스트에 의해 p < 0.05 또는 p < 0.01 수준에서 유의성 여부를 검증하였으며, 유의성이 나타날 경우 실험군간의 평균값의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 검증하였다. 혈장과 간

조직의 항산화체계와 콜레스테롤 또는 타우린농도와의 상관관계는 Pearson correlation test로 분석하였다. 모든 수치의 통계분석은 SAS(SAS/STAT Version 6, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA)를 이용하여 실시하였다.

결과 및 고찰

체중 및 간 무게

일일 식이섭취량에는 실험군간에 유의적인 차이가 없었으며, 실험동물의 체중, 절대적인 간 무게 및 체중에 대한 간 무게의 비율은 Table 2에 제시된 바와 같다. 절대적인 간 무게와 체중에 대한 간 무게의 비율 모두 식이내 콜레스테롤 첨가에 의해 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), 타우린 첨가에 의해서는 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). HCD군의 간 무게는 CD군에 비해 유의적으로 증가하였으나, HCD에 타우

린을 첨가해 준 결과 대조군과 비슷한 수준으로 감소하여 콜레스테롤 첨가에 의한 간 무게의 증가 현상이 타우린에 의해 상쇄되어짐을 알 수 있었다.

지질과산화물 농도 및 항산화효소 활성화

식이내 타우린 또는 콜레스테롤 첨가가 혈중 타우린농도, 그리고 혈액 및 간조직의 지질과산화물 농도와 항산화효소 활성화에 미치는 영향이 Table 3에 제시되어 있다. 혈장 타우린농도는 식이내 타우린 첨가(1.5%) 시 타우린을 첨가하지 않은 군의 5.6~6.6배로 유의하게 증가하였다. 혈장의 MDA 농도는 콜레스테롤 또는 타우린 첨가에 의해 유의한 영향을 받지 않았다. 한편, 간조직의 MDA 농도는 HCD군에서 CD군에 비해 70% 유의하게 증가한 것으로 나타나($p < 0.05$), 콜레스테롤의 과잉 섭취가 간조직의 지질과산화를 촉진시켰음을 알 수 있다. 여기서 흥미로운 점은 고콜레스테롤식이에

Table 2. Body weight gain, and absolute and relative liver weights of rats fed experimental diets for 5 weeks

	Experimental diets ¹⁾				ANOVA ²⁾		
	CD	HTD	HCD	HCHTD	T	C	T×C
Body wt gain (g/4 wks)	168±8.2 ³⁾	184±6.3	169±21	150±27	NS ⁵⁾	NS	NS
Body wt (kg)	0.32±0.01	0.33±0.01	0.31±0.01	0.31±0.01	NS	NS	NS
Liver wt (g)	9.4±0.3 ^{b4)}	8.8±0.4 ^{bc}	11.1±0.4 ^a	9.6±0.6 ^b	*	*	NS
Liver wt (g)/Body wt (kg)	30.2±0.9 ^b	26.8±0.7 ^c	35.5±0.9 ^a	31.3±1.1 ^b	*	*	NS

¹⁾CD: Control diet, cholesterol-free and taurine-free diet.

HTD: High taurine diet, CD+1.5% taurine.

HCD: High cholesterol diet, CD+1.5% cholesterol.

HCHTD: High cholesterol and high taurine diet, HCD+1.5% taurine.

²⁾T: Taurine effect, C: Cholesterol effect, T×C: Taurine and cholesterol interaction.

³⁾Values are mean±SE of 8 rats.

⁴⁾Values with different alphabets in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

⁵⁾NS: not significant.

*Significantly different by 2×2 factorial ANOVA test at $p < 0.05$.

Table 3. Taurine and malondialdehyde (MDA) concentrations and antioxidant enzyme activities in plasma and liver of rats fed experimental diets for 5 weeks

	Experimental diets ¹⁾				ANOVA ²⁾		
	CD	HTD	HCD	HCHTD	T	C	T×C
Plasma							
Taurine (μmol/L)	60.3±7.9 ^{3)b4)}	337±54.3 ^a	56.0±3.9 ^b	370±26.1 ^a	***	NS ⁵⁾	NS
MDA (nmol/mL)	1.09±0.02	1.01±0.01	1.03±0.02	1.06±0.02	NS	NS	NS
GSH-Px (nmol NADPH oxidized · min ⁻¹ · mg protein ⁻¹)	289±19.3	282±14.7	303±25.5	331±42.9	NS	NS	NS
Liver							
MDA (nmol/g liver)	37.9±6.25 ^b	45.0±6.77 ^b	64.9±6.57 ^a	41.3±10.82 ^b	NS	*	NS
GSH-Px (umol NADPH oxidized · min ⁻¹ · mg protein ⁻¹)	5.37±0.51	5.22±0.31	5.15±0.48	5.60±0.50	NS	NS	NS
Total SOD (unit · min ⁻¹ · mg protein ⁻¹)	14.1±1.17 ^a	11.9±1.05 ^b	13.2±0.60 ^{ab}	12.2±0.88 ^b	*	NS	NS

¹⁾CD: Control diet, cholesterol-free and taurine-free diet.

HTD: High taurine diet, CD+1.5% taurine.

HCD: High cholesterol diet, CD+1.5% cholesterol.

HCHTD: High cholesterol and high taurine diet, HCD+1.5% taurine.

²⁾T: Taurine effect, C: Cholesterol effect, T×C: Taurine and cholesterol interaction.

³⁾Values are mean±SE of 8 rats.

⁴⁾Values with different alphabets in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

⁵⁾NS: Not significant.

***Significantly different by 2×2 factorial ANOVA test at * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$, respectively.

타우린을 첨가해 준 결과 간조직의 지질과산화물 농도가 HCD군에 비해 유의하게 감소한 반면($p < 0.05$), 콜레스테롤을 섭취하지 않는 상태에서 타우린을 첨가한 HTD군의 경우에는 간조직 MDA 농도가 대조군(CD)과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이와 같은 본 연구의 결과로 미루어 볼 때 식이내 타우린 첨가가 간의 지질과산화물 농도에 미치는 영향은 콜레스테롤 섭취수준에 의해 그 결과가 상이하게 나타남을 알 수 있다.

콜레스테롤 섭취와 체내 항산화체계와의 상관관계를 평가한 선행 연구결과들을 살펴보면, 흰쥐와 guinea pig를 대상으로 1~1.5%의 콜레스테롤이 함유된 식이를 4~12주간 섭취시킨 결과 간조직의 microsome 분획내 지질과산화물농도가 증가하였음이 보고되었다(13). 아울러 Uysal 등(14)도 흰쥐를 대상으로 2% 콜레스테롤이 함유된 식이로 3개월 동안 사육한 결과 대조군에 비해 간조직의 지질과산화물 수준이 유의하게 증가하였음을 관찰하여 본 연구의 결과와 일치하고 있다. 한편, 최근 Joseph 등(12)은 적정 농도범위에서 콜레스테롤은 산화스트레스로부터 뇌신경을 보호해 주는 효과가 있고, 따라서 콜레스테롤 농도가 정상 수준 이하일 경우 고콜레스테롤혈증 상황에서와 마찬가지로 체내에 산화스트레스가 증가할 수 있음을 제시한 바 있다. 이와 같이 항산화체계에 있어서 콜레스테롤이 갖는 '양면성'은 혈중 콜레스테롤농도가 지나치게 낮은 경우 고콜레스테롤혈증인 사람에 비해 심혈관계질병에 의한 사망률은 더 낮게 나타나는 한편, 정상인에 비해 항산화기능이 저하되어 암, 호흡기 및 소화기질환 등에 의한 사망률은 더 높게 나타날 수 있다는 연구결과(28)에서도 제시된 바 있다. 아울러 적혈구에서 콜레스테롤이 항산화 기능을 나타낼 수 있음이 in vivo와 in vitro에서 보고된 바 있다(29).

혈중 콜레스테롤농도가 정상 범위에 있는 경우에는 타우린의 항산화기능이 발현되지 않았으나, 고콜레스테롤혈증 상황에서 타우린의 지질과산화 억제효과가 유의적으로 나타난 본 연구의 결과는 흰쥐를 대상으로 한 선행 연구결과들을 지지하는 것이다. 즉, 정상 흰쥐에게 타우린을 복용시킨 결과 간조직의 MDA 수준에 유의한 영향을 미치지 못하였으나(5), 당뇨를 유발시킨 동물을 대상으로 식수에 타우린(5%)을 공급한 실험에서는 간과 췌장조직의 MDA 농도가 유의하게 감소한 것으로 보고되었다(6). 또한 Giri와 Wang(3)의 연구에서도 bleomycin으로 폐섬유증을 유도시킨 햄스터에게 타우린과 나이아신이 동시에 함유된 식이를 섭취시킨 결과 약물처리 대조군에 비해 폐조직의 MDA 농도가 유의적으로 감소한 반면, 정상 햄스터의 경우에는 타우린과 나이아신의 복합 투여가 폐조직의 MDA 농도에 유의적인 변화를 초래하지 못하였다. 같은 맥락에서 저자 등(17)은 혈중 콜레스테롤 농도가 정상 범위에 속하는 성인여성을 대상으로 일일 6g의 타우린을 2~4주간 경구복용시킨 결과 혈장 지질과산화물 농도 및 GSH-Px 활성에 유의한 변화가 나타나지 않았음을

관찰한 바 있다.

본 연구의 결과 혈장 및 간조직의 GSH-Px 활성은 식이내 콜레스테롤 및 타우린 첨가에 의해 유의한 영향을 받지 않았다(Table 3). Yuan 등(30)은 다가불포화지방산이 풍부한 생선유 또는 콩기름을 지질 급원으로 섭취하는 흰쥐에게 콜레스테롤(0.5%)을 식이내 보충해 준 결과, 콜레스테롤을 보충하지 않은 대조군과 비교시 적혈구의 GSH-Px 활성에 변화가 없었음을 관찰하였다. 이와는 반대로 고콜레스테롤식을 섭취하는 흰쥐에서 간조직의 GSH-Px 활성이 대조군보다 감소되었음이 보고된 바 있다(13,14). 한편, 실험동물을 대상으로 타우린 첨가가 항산화효소 활성에 미치는 영향을 평가한 연구결과에 의하면 NIDDM(non-insulin dependent diabetes mellitus) 및 IDDM(insulin dependent diabetes mellitus) 당뇨모델 쥐를 대상으로 타우린(5%)을 식수에 첨가하여 7일간 공급시킨 결과, 간조직의 GSH-Px 및 GSH-S-transferase 활성에 유의한 변화가 없었다(6). 또한, Lim 등(5)의 연구에서도 일반식을 섭취하는 흰쥐에게 타우린을 보충해 준 결과, 간과 췌장의 GSH-Px 활성에 유의한 영향을 미치지 못하여 본 연구와 유사한 결과를 보여주고 있다.

본 연구에서 간조직의 총 SOD 활성은 HTD군에서 CD군에 비해 유의하게 감소하였고($p < 0.05$), HCHTD군의 경우에는 HCD군에 비해 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 감소하는 경향을 보였다. 이와 같이 타우린 보충섭취에 의해 간조직의 SOD 활성이 감소한 본 연구의 결과는 식이에 비타민 E 또는 셀레늄이 풍부할수록 체내 항산화효소의 활성이 감소된다는 선행 연구결과(31)를 고려할 때 타우린 또한 다른 항산화영양소와 마찬가지로 체내에서 SOD 효소를 절약해 주는 효과가 있음을 시사하는 것으로 사료된다.

타우린이 다양한 체내 조직의 산화적 손상에 대하여 보호 효과를 나타내는 작용 기전에 관하여 아직 명확하지는 않으나, 다음과 같은 세 가지 의견들이 제기되고 있다. 첫 번째로 타우린의 hypochlorite(HOCl) 제거능을 들 수 있다. 즉, 다양한 산화촉진제에 신체가 노출되면 염증관련 세포(다형핵호중구, 대식세포, 단핵구 등)가 활성화되고, 염증매개물질의 생성 및 분비가 증가되어 결과적으로 염증반응에 의한 조직 손상이 초래된다. 이 과정에서 산소라디칼이 형성되는데 후자는 H_2O_2 로 전환되고, 이는 다시 myeloperoxidase(MPO)의 촉매 하에 Cl^- 및 H^+ 이온과 결합하여 세포독성이 매우 강한 HOCl(hypochlorite)을 형성하여 세포를 파괴시키게 된다. 조직 손상시 생성이 증가된 HOCl은 체내에서 일차아민과 반응하여 클로라민을 형성하는데, 이때 주로 사용되는 것이 타우린이다. 즉, 타우린이 HOCl과 반응하여 타우린클로라민을 형성함으로써 일차적으로 독성이 강한 HOCl을 제거하고 세포를 보호하게 된다는 것이다(32). 두 번째로 타우린클로라민과 타우린은 염증시 과다하게 분비되는 염증매개물질인 산소라디칼, NO 및 TNF- α 의 생성을 억제함으로써 이차적으로 조직이 손상되는 것으로부터 보호해 준다(33,34). 마치

Table 4. Correlations among antioxidant enzyme activities, malondialdehyde concentration, cholesterol and taurine concentrations in the plasma and liver of rats

	Plasma chol	Plasma taurine	Plasma MDA	Plasma GSH-Px	Liver chol	Liver MDA	Liver GSH-Px	Liver SOD
Plasma chol	1.000	-0.293	-0.136	-0.040	0.712***	0.399*	-0.059	0.148
Plasma taurine		1.000	-0.099	-0.050	0.200	-0.101	-0.188	-0.481**
Plasma MDA			1.000	-0.262	-0.319	-0.170	-0.088	-0.350
Plasma GSH-Px				1.000	-0.136	0.220	-0.110	0.265
Liver chol					1.000	0.429*	0.046	0.064
Liver MDA						1.000	0.001	0.204
Liver GSH-Px							1.000	0.554***
Liver SOD								1.000

***Significantly correlated by the Pearson correlation test at * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, respectively.

MDA: Malondialdehyde, GSH-Px: Glutathione peroxidase, Chol: Cholesterol, SOD: Superoxide dismutase.

막으로 타우린은 세포막의 지질과산화를 억제하고, 막을 안정화시키는 효과가 있음이 밝혀졌다(35,36). 즉, 산화촉진제에 의해 세포내에서 생성된 HOCl은 다시 자유산소라디칼과 결합하여 지질과산화의 주범이 되는 hydroxy radical(OH·)을 형성하고 ($\text{HOCl} + \text{O}_2 \cdot \rightarrow \text{OH} \cdot$), 후자는 DNA 손상과 함께 세포막 과산화지질의 생성을 증가시켜 세포의 괴사를 유발하는데, 이때 타우린이 HOCl을 제거하므로써 세포막 지질과산화를 억제한다는 이론이다. 이에 대한 구체적 실험자료로서 타우린은 망막세포막의 지질과산화를 방어하여 빛에 의한 망막세포막의 변형을 억제하였음이 보고되었고(37, 38), 토끼를 대상으로 한 실험에서 타우린 처리시 정충세포의 지질과산화가 억제되고 운동성이 손실되는 것으로부터 방어하는 효과가 있었음이 제시된 바 있다(39).

항산화 관련 변인과 콜레스테롤 및 타우린 농도와의 상관관계

CD, HTD, HCD 및 HCHTD군에서 얻어진 자료를 취합하여 혈장 및 간조직의 지질과산화물농도, 항산화효소 활성화, 콜레스테롤 및 타우린농도와의 상관관계를 평가한 결과가 Table 4에 제시되어 있다. 혈장 총 콜레스테롤농도는 간조직의 콜레스테롤농도와 매우 유의한 양의 상관관계를 보였다($r=0.712, p < 0.001$). 혈장 총 콜레스테롤농도는 혈장 MDA 농도와 유의한 상관성을 나타내지 않은 반면($-0.136, p > 0.05$), 간조직의 MDA농도와는 유의한 양의 상관관계($r=0.399, p < 0.05$)를 나타냈다. 아울러 간조직의 콜레스테롤농도 역시 간조직의 MDA농도와 유의한 양의 상관관계($r=0.429, p < 0.05$)를 나타냈으며, 이와 같은 결과는 고콜레스테롤혈증 상황에서 조직의 지질과산화가 촉진될 수 있음을 시사하는 것이다. 혈장 타우린농도는 간조직의 콜레스테롤농도와 양의 상관성을 보였으나, 이 경우 통계적인 유의성은 관찰되지 않았으며($r=0.200, p > 0.05$), 아울러 혈장 타우린농도와 혈장 또는 간조직의 MDA 농도 간에는 유의적인 상관관계가 관찰되지 않았다. 혈장 타우린농도는 간조직의 GSH-Px 활성화와는 유의하지는 않지만 음의 상관관계($r=-0.188, p > 0.05$)를, 그리고 간조직의 SOD 활성화와는 유의적인 음의 상관관계($r=-0.481, p < 0.01$)를 나타냈다. 한편, 간조직의 총 SOD 활성화

간조직의 GSH-Px 활성화와 유의한 양의 상관관계($r=0.554, p < 0.001$)를 나타내 두가지 항산화 효소의 활성이 서로 밀접하게 연관되어 있음을 제시해 준다.

본 연구결과에 의하면 같은 항산화효소이면서도 타우린 보충에 의해 간조직의 총 SOD 활성화는 유의적으로 감소한 반면, GSH-Px 활성화에는 유의한 차이가 나타나지 않았는데 (Table 3과 4), 이는 체내 항산화 방어체계에 있어서 위의 두 가지 효소가 작용하는 단계가 서로 다르기 때문인 것으로 풀이된다. Extracellular SOD, Mn-SOD와 Cu,Zn-SOD의 세가지 형태로 존재하는 SOD는 항산화방어체계의 첫 번째 단계에서 작용하는 효소로서 독성이 강한 자유산소라디칼을 H_2O_2 로 전환시키는 과정을 촉매하고, 후자는 다시 glutathione peroxidase 또는 catalase의 촉매작용에 의해 독성이 없는 물과 산소로 분해된다(40). Yuan 등(30)의 실험에서도 기능적으로 짝을 이룬 SOD와 catalase, 그리고 GSH-Px와 glutathione reductase 효소들이 식이지방에 의해 서로 다르게 조절되는 것으로 보고되어 본 연구의 결과와 일치하고 있다. 이상에서와 같이 식이내 타우린첨가가 간조직의 SOD 활성을 감소시키고 특히 고콜레스테롤식이 섭취시 간조직의 MDA 수준을 유의하게 감소시킨 본 연구의 결과로 미루어 볼 때, 산화적 손상을 초래하지 않는 안전한 혈중 지질저해제로서 타우린의 이용 가능성을 전망해 볼 수 있겠다.

요 약

본 논문은 타우린 및 콜레스테롤이 체내 항산화체계 및 지질과산화물농도에 미치는 영향을 평가하기 위해 흰쥐를 대상으로 콜레스테롤(1.5%) 및 타우린(1.5%)이 첨가된 식이로 5주간 사육하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다. 첫 번째로 혈장의 MDA 농도는 콜레스테롤 또는 타우린 첨가에 의해 유의한 영향을 받지 않은 반면, 간조직의 MDA 농도는 HCD군에서 CD군에 비해 70% 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 고콜레스테롤식이에 타우린을 첨가해 준 결과 간조직의 지질과산화물 농도가 HCD군에 비해 유의하게 감소한 반면($p < 0.05$), 콜레스테롤을 섭취하지 않는 상태에서 타우린을 첨가한 HTD군의 경우에는 간조직 MDA 농도가 대조

군(CD)과 유의적인 차이를 나타내지 않아 식이내 타우린 첨가가 간의 지질과산화물 농도에 미치는 영향은 콜레스테롤 섭취수준에 의해 그 결과가 상이하게 나타남을 알 수 있었다. 두 번째, 혈장 및 간조직의 GSH-Px 활성은 식이내 콜레스테롤 및 타우린 첨가에 의해 유의한 영향을 받지 않았다. 간조직의 총SOD 활성은 타우린 첨가에 의해 감소되었으며 ($p < 0.05$), HTD군에서 CD군에 비해 유의하게 감소하였고 ($p < 0.05$), HCHTD군의 경우에는 HCD군에 비해 감소하는 경향을 보였으나, 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 세 번째, 혈장 및 간조직의 지질과산화물농도, 항산화효소 활성, 콜레스테롤 및 타우린농도와 상관을 평가한 결과, 혈장 총콜레스테롤농도는 간조직의 콜레스테롤농도와 매우 유의한 양의 상관관계를 보였다($r=0.712$, $p < 0.001$). 혈장($r=0.399$, $p < 0.05$) 또는 간조직의 콜레스테롤농도($r=0.429$, $p < 0.05$)는 간조직의 MDA농도와 유의한 양의 상관관계를 나타냈다. 혈장 타우린농도는 간조직의 GSH-Px 활성과는 유의하지는 않지만 음의 상관관계($r=-0.188$, $p > 0.05$)를, 그리고 간조직의 SOD 활성과는 유의적인 음의 상관관계($r=-0.481$, $p < 0.01$)를 나타냈다. 한편, 간조직의 총 SOD 활성은 간조직의 GSH-Px 활성과 유의한 양의 상관관계($r=0.554$, $p < 0.001$)를 나타내, 두가지 항산화효소의 활성이 서로 밀접하게 연관되어 있음을 알 수 있었다. 콜레스테롤이 산화촉진제로 작용하여 조직의 지질과산화가 촉진된 상황에서 타우린의 보충 섭취가 간조직의 SOD 활성을 감소시키고 MDA 수준을 유의하게 감소시킨 본 연구의 결과로 미루어 볼 때, 산화적 손상을 초래하지 않는 안전한 혈중 지질저하제로서 타우린의 이용 가능성이 전망된다.

문 헌

- Messina SA, Dawson R Jr. 2000. Attenuation of oxidative damage to DNA by taurine and taurine analogs. *Adv Exp Med Biol* 483: 355-367.
- Schuller-Levis G, Gordon RE, Wright C, Park E. 2003. Taurine reduces lung inflammation and fibrosis caused by bleomycin. *Adv Exp Med Biol* 526: 395-402.
- Giri SN, Wang Q. 1992. Taurine and niacin offer a novel therapeutic modality in prevention of chemically-induced pulmonary fibrosis in hamsters. In *Taurine*. Lombardini JB, ed. Plenum Press, New York. p 329-340.
- Gurujeyalakshmi G, Wang Y, Giri SN. 2000. Taurine and niacin block lung injury and fibrosis by down-regulating bleomycin-induced activation of transcription nuclear factor- κ B in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 293: 82-90.
- Lim E, Park S, Kim H. 1998. Effect of taurine supplementation on the lipid peroxide formation and the activities of glutathione-related enzymes in the liver and islet of type I and II diabetic model mice. *Adv Exp Med Biol* 442: 99-103.
- You JS, Chang KJ. 1998. Effects of taurine supplementation on lipid peroxidation, blood glucose and blood lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Adv Exp Med Biol* 442: 163-168.
- Trachtman H, Futterweit S, Maesaka J, Ma C, Valderrama E, Fuchs A, Tarectecan AA, Rao PS, Sturman JA, Boles TH. 1995. Taurine ameliorates chronic streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *Am J Physiol* 269 (3 Pt 2): F429-438.
- Tenner TE Jr, Zhang XJ, Lombardini JB. 2003. Hypoglycemic effects of taurine in the alloxan-treated rabbit: a model for type 1 diabetes. *Adv Exp Med Biol* 526: 97-104.
- Park TS, Lee KS. 1997. Effects of dietary taurine supplementation on plasma and liver lipid levels in rats fed a cholesterol-free diet. *Korean J Nutr* 30: 1132-1139.
- Park T, Lee KS, Um YS. 1998. Dietary taurine supplementation reduces plasma and liver cholesterol and triglyceride concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *Nutr Res* 18: 1559-1571.
- Byun JH. 1995. The goals and strategy for health promotion. Korean Institute for Health and Social Affairs.
- Joseph JA, Villalobos-Molinars R, Denisova NA, Erat S, Strain J. 1997. Cholesterol: a two-edged sword in brain aging. *Free Radic Biol Med* 22: 455-462.
- Tsai AC, Thie GM, Lin CR. 1997. Effect of cholesterol feeding on tissue lipid peroxidation, glutathione peroxidase activity and liver microsomal functions in rats and guinea pigs. *J Nutr* 107: 310-319.
- Uysal M, Kutalp G, Seckin S. 1988. The effect of cholesterol feeding on lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in the liver of rats. *Int J Vitam Nutr Res* 58: 339-342.
- Rivero A, Monreal JI, Gil MJ. 1994. Peroxisome enzyme modification and oxidative stress in rats by hypolipidemic and antiinflammatory drugs. *Rev Esp Fisiol* 50: 259-268.
- Ciriolo MR, Rossi L, Mavelli I, Rotilio G, Borzatta V, Cristofori M, Barbanti M. 1984. The effects of hypolipidemic agents derived from procetofenic acid on the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase and on malonyldialdehyde production of rat liver. *Arzneimittelforschung* 34: 465-457.29.
- Chung EJ, Um YS, Oh JY, Park TS. 2000. Effects of oral taurine supplementation on antioxidant systems in healthy female adults. *Korean J Nutr* 33: 745-754.
- Buckingham KW. 1985. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115: 1425-1435.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Sheri ZC, Keen CL, Hurley LS. 1983. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat: developmental correlations affected by manganese deficiency. *J Nutr* 113: 2498-2504.
- Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med* 70: 158-169.
- Deagen JT, Butler JA, Beilstein MA, Wharver PD. 1987. Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethionine on selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities and on selenium levels in rat tissues. *J Nutr* 117: 91-98.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RS. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 93: 265-275.
- Moore S, Stein WH. 1963. Chromatographic determination of amino acids by the use of automatic recording equipment. In *Methods in Enzymology*. Colowick SP, Kaplan NO, eds. Academic Press, New York. Vol 6, p 819-831.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple meth-

- od for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 2: 497-509.
26. Zak B. 1957. Simple rapid microtechnique for serum total cholesterol. *Am J Clin Pathol* 27: 683-688.
 27. Allian CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 20: 470-465.
 28. Muldoon MF, Kritchevsky SB, Evans RW, Kagan VE. 1996. Serum total antioxidant activity in relative hypo- and hypercholesterolemia. *Free Radic Res* 25: 239-245.
 29. Bereza UL, Brewer GJ, Hill GM. 1985. Effect of dietary cholesterol on erythrocyte peroxidant stress *in vitro* and *in vivo*. *Biochim Biophys Acta* 835: 434-440.
 30. Yuan YV, Kitts DD, Godin DV. 1998. Variations in dietary fat and cholesterol intakes modify antioxidant status of SHR and WKY rats. *J Nutr* 128: 1620-1630.
 31. Lee SK, Chung EJ, Kim SY, Lee JH, Lee YC. 1996. Relationships between dietary $\omega 6/\omega 3$ fatty acid compositions, vitamin E, minerals and antioxidant enzymes. *Korean J Lipidol* 6: 1-11.
 32. Kim CK, Park EK, Quinn MR, Schuller-Levis G. 1996. The production of superoxide anion and nitric oxide by cultured murine leukocytes and the accumulation of TNF- α in the conditioned media is inhibited by taurine chloramine. *Immunopharmacol* 34: 89-95.
 33. Murakami M, Asagoe K, Dekigai H, Kusaka S, Saita H, Kita T. 1995. Products of neutrophil metabolism increase ammonia-induced gastric mucosal damage. *Dig Dis Sci* 40: 268-273.
 34. Son MW, Kim HK, Kim WB, Yang JI, Kim BK. 1996. Protective effect of taurine on indomethacin-induced gastric mucosal injury. *Arch Pharmacol Res* 19: 85-90.
 35. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. 1988. The antioxidant action of taurine, hypotaurine and their metabolic precursors. *Biochem J* 256: 251-255.
 36. Green TR, Fellman JH, Eicher AL, Pratt KL. 1991. Antioxidant role and subcellular location of hypotaurine and taurine in human neutrophils. *Biochim Biophys Acta* 1073: 91-97.
 37. Pasantes-Morales H, Cruz C. 1984. Protective effect of taurine and zinc on peroxidation-induced damage in photoreceptor outer segments. *J Neurosci Res* 11: 303-311.
 38. Pasantes-Morales H, Cruz C. 1985. Taurine and hypotaurine inhibit light-induced lipid peroxidation and protect rod outer segment structure. *Brain Res* 330: 154-157.
 39. Alvarez JG, Storey BT. 1983. Taurine and hypotaurine inhibit light-induced lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biol Reprod* 29: 548-555.
 40. Lippman RD. 1989. Free radical-induced lipoperoxidation and aging. In *Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*. CRC Press, New York. p 187-197.

(2003년 7월 1일 접수; 2003년 9월 23일 채택)