

## 토끼의 콜레스테롤과 인지질에 미치는 Thyroid 호르몬의 영향

치과기공과 수 남 현 근

### I. 서 론

동물 세포의 세포막은 단백질과 지방질로 되어 있으며, 지방질의 종류와 아미노산의 종류에 따라서 세포막의 특성이 달라진다. 여기 지질의 중요성분은 콜레스테롤과 인지질들이며, 이들의 함량비가 세포막의 특성을 좌우한다는 보고가 있다.<sup>1~5)</sup> 또한 세포막의 유동성 효소의 활성 및 회합에 관여하고 있다는 보고도 있다.<sup>6~10)</sup> 그리고 생체세포막의 특성을 좌우하는 인자들에는 콜레스테롤과 인지질의 몰비, 인지질들의 종류와 함량, 불포화 지방산의 불포화도, 지질과 단백질의 비가 포함되고 있다.<sup>6~10)</sup>

Thyroid 호르몬에 의한 효소의 활성영향은 세포막과의 회합특성에 기인하며 주로 세포막의 유동성에 영향을 주고 다른 대사에 미치는 영향은 2차적인 현상인 것 같다.<sup>11)</sup>

이에 필자는 토끼를 Hyperthyroid화 시켜 간장의 미토콘드리아에서 인지질과 콜레스테롤의 함량과 몰비를 조사하였다.

### II. 실험재료 및 방법

#### 1. 실험동물

생후 30일 된 Newzeland산 토끼를 표준사료로 환경에 적응시켜서 10일간 사육시켰다. 물은 자유로 먹을 수 있도록 하였다. 실험동물에 3,3',5-L-Triiodothyronine을 (30g $\mu$ /100g 체중) 0.9% 생리식염수와 Propylene glycol을 (40:60, v/v) 사용하여 용해시켜서 2일간격으로 5회 복강내에 주사하였다. 10일 후에 혈액을 채취하였고, 죽여서 간장을 취하고 미토콘드리아와 마이크로솜을 얻었고, 단백질은 Lowry 방법으로 분석하였다.<sup>12)</sup>

#### 2. HPLC에 의한 콜레스테롤, 인지질, 지방산의 분석

콜레스테롤, 인지질, 지방산들을 HPLC로 분석하였는데 분석조건은 다음과 같다.

**Table 1. Conditions for HPLC analysis of cholesterol**

Instrument:	Waters Model 440
Column	: Bonda Pack (3.0×3.9mm)
Eluent	: 2-Propanol/acetonitrile (58:50, v/v)
Flow rate	: 1 ml/min.
Detector	: RI-16X

**Table 2. Conditions for HPLC analysis of fatty acid and phospholipid**

Instrument:	Waters Model 440
Column	: Altex Ultrasil-Si(4.6×250mm)
Eluent	: A, Hexane/2-propanol(6:8, v/v) B, Hexane/2-propanol/water (6:8:1.4, v/v/v)
Flow rate	: 2 ml/min.
Detector	: RI-16X

실험식이 끝난 다음 목동맥에서 채혈하여 응고시켜 혈청분석용으로 하였으며, 도살하고 해부하여 간장을 적출하였다. 1.1% KCl 용액에 10% Homogenate를 만들고, 1분 정도 8,250×g로 하여 주었다가 덩이는 버리고 48,000×g에서 5분간 원심분리하고 상층액은 보관한다.

미토콘드리아나 마이크로솜은 alc.KOH로 45℃에서 60분간 검화시킨다. 그리고 Hexane으로 추출하고 추출물을 증발시켜 생기는 잔사는 2-Propanol에 녹이고 상층을 column에 주입시킨다.

또 Total lipid는 미토콘드리아나 마이크로솜에서 Chloroform/methanol(1:1, v/v)로 추출하여 정량하였고, 이것의 일부는 인지질을 분석하는데 사용하였다.

인지질은 Altex Utrasil-Si column(4.6×250mm)에 의하여 분리하였고, 5% KOH로 90℃에서 40분간 검화시킨다. 산성화시킨 후 Chloroform으로 추출하고, 건조시킨 후 n-Methoxy phenacyl bromide로 에스테르화 시켜 준다.

### III. 결과 및 고찰

토끼의 미토콘드리아, 마이크로솜의 인지질, 콜레스테롤과 지방산 조성에 미치는 Triiodothyronine에 의한 Hyperthyroidism의 영향을 조사한 결과가 Table 3에 나타나 있다.

**Table 3. Effect of triiodothyronine on cholesterol and phospholipid in rabbit**

	Cholesterol <sup>a</sup>			Phospholipid <sup>a</sup>		
	Serum	Mito. <sup>b</sup>	Micro. <sup>b</sup>	Serum	Mito. <sup>b</sup>	Micro. <sup>b</sup>
Contol	96.6±3	12.2±5	45.4±7	102.6±2	145.6±30	468.8±25
HYP	98.5±3	10.6±4 <sup>c</sup>	32.8±6 <sup>c</sup>	115.4±5	159.3±15 <sup>c</sup>	359.3±20 <sup>c</sup>

Unit: cholesterol and phospholipid, mg/100ml.

HYP: Hyperthyroid, Mito; Mitochondria, Micr: Microsomes

a. Each value represents the mean obtained for 6 experimental group each±S.D.

b. Values are expressed as nmol/mg. protein.

c. p<0.01 vs normal (control)

위에서 알 수 있는 것은 대조군에 비하여 Triiodothyronine을 주사하여 성장과 콜레스테롤, 인지질을 나타낸 것인데, 큰 차이는 없고 다소 증가하는 경향을 혈청에서 보였다. 그러나 미토콘드리아나 마이크로솜에 있어서는 다소 감소되는 경향을 보였다. 그리고 Cholesterol/phospholipid의 비는 미토콘드리아/마이크로솜에 있어서 0.08~0.09를 보였다. Ruggier<sup>13)</sup>와 공동연구자들은 쥐에서 Cholesterol/phospholipid의 비가 0.06~0.11을 보여 잘 일치됨을 알았다.

인지질을 분석한 결과는 Table 4와 같다.

Table 4. Phospholipids in rabbit mitochondria and microsomes by HPLC

Phospholipid	Mitochondria <sup>a</sup>		Microsomes <sup>a</sup>	
	Control	HYP	Control	HYP
PC	52.45±1.2	49.72±2.5 <sup>b</sup>	57.65±2	56.25±1.8
PE	29.45±1.6	33.47±1.3 <sup>b</sup>	24.24±0.5	26.48±1.2 <sup>b</sup>
PS	3.85±0.5	3.53±0.3	4.43±0.7	4.12±0.8
PI	9.57±1.2	9.41±0.8	10.37±1.3	10.23±0.9
SPH	4.68±0.2	3.87±0.5	3.31±0.5	2.92±0.6

Unit: mol%, SPH: Sphingomyelin, PS: Phosphatidylserine, PI: Phosphatidylinositol, HYP: Hyperthyroid, PC: Phosphatidylcholine, PE: Phosphatidylethanolamine

a. Each value represents the mean obtained for 6 experimental group each±S.D.

b.  $p < 0.01$  vs normal (control)

위에서 알 수 있는 바와 같이 간장의 미토콘드리아의 조성은 Hyperthyroid group과 대조군 사이에는 유의한 차이가 있으며, Phosphatidylcholine (PC)과 Phosphatidylethanolamine (PE)의 양은 유의차가 현저하였다. 즉 PC의 경우는 대조군이 52.45와 57.65를 각각 보였는데 Hyperthyroid에 있어서는 49.7과 56.25로 감소되었으며, PE의 경우는 29.45와 24.24에서 33.47과 26.48로 각각 증가됨을 보였다. 그리고 PS, PI과 SPH도 모두 대조군의 값보다는 Hyperthyroid에 있어서 감소되었음을 보여 주었다. 한편 Hoch<sup>14)</sup>와 그의 공동연구자들은 Thyroid hormone이 지방질 성분의 지방산의 변화에 의하여 세포막의 유동성에 영향을 주도록 관여된다고 보고하였으며, Huebert<sup>8)</sup>는 Thyroid hormone이 세포막의 지방산 불포화도에 의하여 막의 유동성이 영향을 받는다고 하였으며, Faas<sup>15)</sup>와 Clejan<sup>16)</sup> 등은 Membrane-associated enzyme의 활성도에 영향을 받는다고 보고하였다.

한편, 토끼의 미토콘드리아와 마이크로솜에 있어서 Total phospholipid와 Phosphatidylcholine(PC)과 Phosphatidylethanolamine(PE)에 포함되어 있는 지방산을 분석한 결과는 다음 Table 5, 6에 나타나 있다.

Table 5. Fatty acid of total and single phospholipid in mitochondria by HPLC

FA	Total		Fatty acid (mol %) <sup>a</sup>			
	phospholipid		PC		PE	
	Control	HYP	Control	HYP	Control	HYP
16:0	18.5±1.2	17.6±1.7	25.3±0.9	25.7±0.7	17.8±1.0	16.8±0.7
16:1	3.9±0.5	5.4±0.4 <sup>c</sup>	2.5±0.5	2.8±0.3	7.5±0.7	8.2±0.2
18:0	17.8±0.7	17.2±1.0	15.4±0.4	18.4±0.6	17.2±0.2	20.7±0.3 <sup>c</sup>
18:1	9.5±0.8	10.4±0.6	9.9±0.7	10.7±0.3	13.5±0.6	7.5±0.9 <sup>c</sup>
18:2	16.3±0.3	12.5±0.2 <sup>c</sup>	15.4±0.9	9.5±0.7 <sup>c</sup>	7.2±0.3	4.7±0.6 <sup>c</sup>
20:3	4.5±0.2	2.1±1.0 <sup>c</sup>	2.5±0.2	1.1±0.3 <sup>c</sup>	3.7±0.9	1.8±0.2 <sup>b</sup>
20:4	27.4±1.0	32.4±0.3	26.5±0.7	28.7±0.5	30.5±0.3	37.2±0.7
22:6	2.1±0.1	2.4±0.09	2.5±0.2	3.1±0.1	2.6±0.1	3.4±0.1

a. Each value represents the mean obtained for 6 experimental group each±S.D.

b.  $p < 0.001$  vs control

c.  $p < 0.01$  vs control

HYP: Hyperthyroid, PC: Phosphatidylcholine, PE: Phosphatidylethanolamine

Table 6. Fatty acid of total and single phospholipid in microsome by HPLC

FA	Total		Fatty acid (mol %) <sup>a</sup>			
	phospholipid		PC		PE	
	Control	HYP	Control	HYP	Control	HYP
16:0	19.2±1.0	18.5±1.2	25.7±0.7	24.5±1.2	18.4±1.0	18.1±1.2
16:1	4.5±0.2	3.7±0.3	2.8±0.5	2.5±0.3	6.8±0.5	6.5±0.3
18:0	15.4±0.3	16.7±0.5	13.7±0.2	15.3±0.7	17.9±0.2	19.2±0.5 <sup>b</sup>
18:1	13.7±0.5	14.2±0.2	14.5±0.7	12.7±0.5 <sup>b</sup>	13.4±0.7	12.5±0.3
18:2	15.3±0.3	12.4±0.7	14.2±0.3	16.8±0.3	6.5±0.3	5.9±0.7
20:3	2.1±0.1	1.9±0.2 <sup>b</sup>	2.1±0.2	2.7±0.2	5.2±0.5	4.8±0.5
20:4	28.4±0.3	30.2±0.5	24.7±0.5	23.4±0.7	28.5±0.2	29.2±0.3
22:6	1.5±0.1	2.5±0.1	2.3±0.2	2.1±0.1	3.5±0.2	3.8±0.5

a. Each values represent the mean obtained for 6 experimental group each±S.D.

b.  $p < 0.01$  vs control (normal)

HYP: Hyperthyroid, PC: Phosphatidylcholine, PE: Phosphatidylethanolamine

위에서 알 수 있는 바와 같이 8종의 지방산이 분석되었으며 불포화지방산이 포화지방산보다 더 함량이 많았다.

미토콘드리아와 마이크로솜에 있어서 지방산의 불포화도를 좌우하는 것은 18:2와 20:4임을 알 수 있으며, Linoleic acid는 Hyperthyroid에 있어서 감소되었지만 Arachidonic acid는 증가함을 보여 주었다. 이는 체내에서 Linoleic acid가 Arachidonic acid로 전환되는데 작용

을 하기 때문이라 사료된다. 그러므로 Hyperthyroidism에서는 인지질이나 지방산의 체내 합성이 자극을 받으며 혈청 콜레스테롤을 증가시키는 작용이 있는 것으로 생각되어 진다.

#### IV. 결 론

토끼에 Triiodothyronine을 주사하여 Hyperthyroid 상태의 토끼에서 콜레스테롤과 인지질의 변화에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중과 간장의 무게에는 별 영향이 없었다.
2. 콜레스테롤의 경우는 혈청에서는 다소 증가하였으나 미토콘드리아와 마이크로솜에 있어서는 감소되었다( $p < 0.01$ ).
3. 인지질의 경우에 있어서는 혈청에 있어서 증가하였고, 미토콘드리아에 있어서는 증가하였으나 마이크로솜에 있어서는 감소하였다( $p < 0.01$ ).
4. 지방산의 경우는 미토콘드리아에 있어서는 Linoleic acid는 감소되었으나 Arachidonic acid는 증가하였고, 마이크로솜에 있어서는 그렇지 못했다.
5. Linoleic acid가 감소되고 Arachidonic acid의 증가는 세포내에서 Arachidonic acid로 전환되는 것으로 생각된다.

이상의 결과로 Hyperthyroid에서는 세포막의 유동성이 증가되어 혈청 콜레스테롤의 증가를 초래하는 것 같다.

#### 참 고 문 헌

1. Van deenen, L.L.M., *In progress in chemistry of fats and other lipids*, vol. 8: pp.1~27 Pergamon Press, Oxford, England (1965).
2. McMurchie, E.J., and Raison, J. K., *Biochim. Biophys. Acta* **554**: 364~374 (1979).
3. Feo, F., Canuts, R.A., Garcea, R. and Gabriel, L., *Biochim. Biophys. Acta* **413**: 116~134 (1975).
4. Borochoy, H., Zahler, P., Wilbrandt, W. and Shinitzky, M., *Biochim. Biophys. Acta* **470**: 382~388 (1977).
5. Shiga, T., Maeda, N., Suda, T., Konk, K. and Sekiya, M., *Biochim. Biophys. Acta* **553**: 84~95 (1979).
6. Babior, B.M., Creagan, S., Ingbar, S.H. and Kipnes, R.S., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **70**: 98~102 (1973).
7. Hulbert, J., Augée, M.L. and Raison, J.K., *Biochim. Biophys. Acta* **455**: 597~601, (1976).
8. Hulbert, J., *J. Theor. Biol.* **73**: 81~100 (1978).
9. Landriscina, C., Gnoni, G.V. and Quagliariella, E., *Eur. J. Biochem.*, **71**: 135~143 (1976).

10. Booth, F.W., and Holloszy, J.O., *Arch. Biochem. Biophys.*, **167**: 674~677 (1975).
11. Gnoni, G.V., Landrisciana, C. and Quagliarriella, E., *FEBS Lett.* **94**: 179~182 (1978).
12. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., *J. Biol. Chem.*, **193**: 265~275 (1951).
13. Ruggiero, F.M., Lanrisciscina, C., Gnoni, G.V. and Quagliareillea, E., *Lipids* **19**: 171~178 (1984).
14. Hoch, F.L., Depierre, J.W. and Ernster, L., *Eur. J. Biochem.*, **109**: 301~306 (1980).
15. Faas, F.H. and Carter, W.J., *Biochem. J.*, **193**: 845~852 (1981).
16. Clejan, S., Collipp, P.J. and Maddaiah, V.T. *Arch. Biochem. Biophys.* **203**: 744~752 (1980).

## The Effect of thyroid Hormone on the Cholesterol and Phospholipid Concentration

Hyun-keun Nam, Ph.D.

*Dept. of Dental Lab-technology*

*Kwangju Health Junior College*

### >Abstract<

The effect of triiodotyronine-induced alteration of the cholesterol and phospholipids has been investigated. The results are follows:

1. There is no special influence to the body weight and liver weight changes.
2. In case of cholesterol, there is some increased serum cholesterol level in hyperthyroid state rabbit, cholesterol in mitochondria and microsome appeared lowering effect. ( $p < 0.01$ )
3. In case of phospholipids, there is some increased serum phospholipids and phospholipids in mitochondria, but there is lowering effect in microsomes. ( $p < 0.01$ )
4. In case of fatty acids, linoleic acid is decreased but arachidonic acid is increased in mitochondria and microsomes. In the biological cell, the linoleic acid is converted to arachidonic acid.

It is, therefore, investigated that serum cholesterol level is increased by the cell membrane fluidity increasing for hyperthyroidism.