

토끼의 혈장콜레스테롤, 간장 Microsome 의 HMG-CoA Reductase 활성과 지방산 조성에 미치는 들깨기름의 영향

식품영양과 김 동 필
조 교 수

I. 서 론

성인병의 원인이 혈액안에 콜레스테롤이 침적되어 일어나는 현상임은 잘 알려진 사실이다. 그래서 혈액안의 콜레스테롤 양을 저하시키려는 연구들이 많이 진행되고 있다.^{1~6)}

3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA)는 혈액내에서의 콜레스테롤 생합성에 관여하는 효소로 알려져 있으므로 이것의 농도를 증가시키는 방법에 관하여 많은 보고가 있다.^{6~8)}

또한 식이의 종류와 첨가 지방의 종류 및 그것들의 지방산 조성이 HMG-CoA reductase의 활성과 microsome의 지방산 조성에 영향을 미친다는 것도 많은 보고가 있다.^{9~12)}

한국에서 많이 생산되는 들깨기름은 α -linolenic acid가 50~70%^{13,14)} 정도 함유되어 있으므로 C_{20:5}, C_{22:6}을 생성시킬 수 있을 것으로 사료되어 liver microsome의 지방산 조성과 HMG-CoA reductase 활성에 주는 영향을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물과 식이

본 실험에 사용한 토끼는 New Zealand 산 숫컷으로서 생후 30일된 것으로 체중이 500~700g인 것만을 골라서, 하나의 실험군을 3마리씩으로 하여 철제 사육장에서 4주간 사육하였다. 이때 사육장의 온도는 25±2°C였고 물은 자유로이 먹을수 있도록 하였다.

실험식은 Table 1 과 같은 식이군에 Table 2와 같은 기본 사료에 일정량의 들깨기름을 첨가하였고, 실험식이 시작되기 전에 7일 동안은 기본식으로 환경에 적응시켰다. 첨가한 들깨기름의 지방산 성분은 Table 3과 같다.

실험식이 끝난 다음에 토끼의 목동맥에서 혈액을 채혈하였고 항응고제로 EDTA를 첨가하여 혈장을 분리하였다.

Table 1. The experimental diet group and additive

Group	Basal diet	Additive (% w/w)
Control	B.D. only	
1	B.D.	10% Perilla oil
2	B.D.	10% P.O. + 1% CHOL

where CHOL: cholesterol

B.D.: basal diet

Table 2. The composition of the basal diet(%)

Food	Protein	Lipid	CHO	Ash	Ca	P
B.D.	56.82	18.47	13.24	10.21	0.72	0.54

where basal diet: corn powder 25%, soybean meal 25%, soybean rind 25%, wheat 25%.

Vitamin complex: The quantity of necessary to prevent the deficiency disease by maker.

Table 3. Composition of fatty acid of perilla oil (%)

C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:4}	C _{20:5}	C _{22:6}
0.4	8.2	1.9	14.5	15.8	58.7	0.5	no	no

2. Liver microsome

실험기간이 끝난후 24 시간 동안 금식시키고 도살하여 간장을 적출하고 간장 1g을 얼음에 넣었다가 0.1M sucrose, 0.01M KCl, 0.04M의 KH₂PO₄ 및 0.03M EDTA를 함유한 pH7.4 완충용액에서 균질화 시킨후 20분 동안 원심분리(10,000g)하고 다시 상층액을 105,000g에서 1시간 동안 원심분리 시켰다. 과립상태의 것은 완충액에서 다시 흔들어 준후 105,000g에서 1시간 동안 원심분리하여 시료로 사용하였다.

3. 화학적 분석

지방산 분석은 GC¹⁵⁾ 로, 인지질은 Baumann¹⁶⁾ 과 Dryer 법¹⁶⁻¹⁾ 으로, 콜레스테롤은

Schonheimer-Sperry법¹⁷⁾으로, HMG-CoA reductase 활성은 Brown과 그의 공동연구자,⁶⁾ Field와 그의 공동연구자⁷⁾ 등의 방법으로 하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 체중

실험식이 기간중에 토끼의 체중변화를 1주일에 한번씩 측정된 결과는 Table 4와 같다. 이것은 3마리의 체중을 평균한 것이다.

Table 4. Body weight in the experimental period(g)

Group	Initial	1	2	3	Final
Control	650 ± 10	750 ± 5	830 ± 5	930 ± 5	1030 ± 10
1	650 ± 10	780 ± 5	880 ± 10	980 ± 10	1080 ± 5
2	600 ± 10	700 ± 5	810 ± 5	910 ± 5	1030 ± 5

2. 혈장콜레스테롤과 지단백질

혈장콜레스테롤과 지단백질을 분석한 결과는 Table 5와 같다.

Table 5. The content of plasma lipoprotein and cholesterol^{a)}

Group	T-CHOL	F-CHOL	LDL	HDL	LDL/HDL
Control	108 ± 12	46 ± 8	72 ± 10	36 ± 15	2.0
1	96 ± 8	37 ± 9	44 ± 7	52 ± 21	0.85
2	498 ± 32	246 ± 35	291 ± 34	207 ± 28	1.41

where a: mean ± SEM, mg/dl

위에서 알수 있는 바와 같이 혈장의 total cholesterol은 대조군이 108mg/dl인데 반하여 들깨기름을 먹인 군은 96mg/dl 이었고, 1% cholesterol을 첨가한 군은 498mg/dl 이었으며, free cholesterol의 경우도 들깨기름을 먹인 군이 37mg/dl 로 가장 낮았다.

한편, LDL과 HDL의 경우는 control이 72와 36mg/dl 이었으나 들깨기름을 먹인 군에 있어서는 44와 52mg/dl로서 콜레스테롤치와 LDL은 정비례하고 HDL은 역비례함을 알 수 있다.

3. 인지질

Liver microsome의 인지질을 Baumann과 Dryer 법으로 분석한 결과는 Table 6 과 같다.

Table 6. Cholesterol and phospholipid in liver microsomes^{a)}

Group	T-CHOL ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Phospholipid (n mole/ mg)	T-CHOL/P.L.
Control	25.5 ± 3	525 ± 25	0.048
1	20.4 ± 2	667 ± 31	0.031
2	45.7 ± 5	552 ± 27	0.083

where a: mean \pm SEM, mg/dl

위에서 알수 있는 바와 같이 microsome의 total cholesterol은 대조군이 $25.5 \mu\text{g}/\text{mg}$ 인데 들깨기름을 먹인 군에 있어서는 $20.4 \mu\text{g}/\text{mg}$, 1% cholesterol 첨가군은 $45.7 \mu\text{g}/\text{mg}$ 이었다.

그런데 인지질의 경우는 대조군이 525인데 반하여 들깨기름 첨가군이 667로 높게 나타나 이는 들깨기름이 조직내에서 지방의 이동에 영향을 주는 것으로 사료된다.

4. HMG-CoA reductase

Brown과 그의 공동연구자, Field와 그의 공동연구자들이 행한 방법으로 Table 7 과 같은 결과를 얻었다.

Table 7. Activity of HMG-CoA reductase and cholesterol in microsomes^{a)}

Group	T-CHOL ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	HMG-CoA activity (p mole/ $\text{mg}/\text{min.}$)
Control	25.5 ± 3	215 ± 45
1	20.4 ± 2	324 ± 29
2	45.7 ± 5	45 ± 15

where a: mean \pm SEM, mg/dl

위 표에서 볼수 있는 바와 같이 HMG-CoA reductase의 활성은 대조군에서 $215 \text{ p mole}/\text{mg}/\text{min.}$ 이었는데 들깨기름을 먹인 군에 있어서는 $325 \text{ p mole}/\text{mg}/\text{min.}$ 이어서 효소의 활성이 대조군 보다 크게 나타났다.

5. 지방산

Liver microsome 의 지방산 조성을 GC 로 조사한 결과는 Table 8 과 같다.

Table 8. Fatty acid content in liver microsomes of Rabbit

Fatty acid	Control	Group 1	Group 2
C _{14:0}	2.2 ± 1	1.5 ± 1	3.2 ± 1
C _{16:0}	14.2 ± 2	12.4 ± 1	10.4 ± 1
C _{18:0}	23.4 ± 2	20.5 ± 2	19.6 ± 2
C _{18:1}	28.5 ± 1	25.1 ± 2	21.4 ± 1
C _{18:2}	27.4 ± 1	7.9 ± 2	11.6 ± 1
C _{18:3}	2.5 ± 1	14.8 ± 2	16.3 ± 2
C _{20:4}	1.8 ± 2	5.6 ± 1	7.6 ± 1
C _{20:5}	ND	3.5 ± 2	3.8 ± 1
C _{22:6}	ND	7.7 ± 2	4.8 ± 2
Others		1.0 ± 1	1.3 ± 1

위에서 볼수 있는 것은 기본식이에 첨가한 들깨기름의 지방산 조성에는 없는 지방산들이 microsome 에서는 나타났다. 특히 C_{20:5}, C_{22:6} 등이 검출되었다는 것은 들깨기름이 cholesterol 의 농도를 감소시킬 수 있을 뿐 아니라 심장관계 질환 예방에도 기여할 수 있으리라 사료된다. 들깨기름에서 이같은 지방산이 생합성 된 것은 체내에서 α -linolenic acid가 다음과 같은 과정을 거쳐서 만들어 진 것으로 생각 된다.

α -Linolenic acid(9, 12, 15 -)

↓ Δ^5 - Desaturase

Octadecatetraenoic acid (6, 9, 12, 15 -)

↓ Elongase

Eicosatetraenoic acid (8, 11, 14, 17 -)

↓ Δ^5 - Desaturase

Eicosapentaenoic acid (5, 8, 11, 14, 17 -)

Elongase ↓ Δ^4 - Desaturase

Docohexaenoic acid (4, 7, 10, 13, 16, 19 -)

IV. 결 론

토끼에 들깨기름을 먹여서 콜레스테롤 농도 저하와 간장 microsomes 의 지방산, 인지질, HMG-CoA reductase 활성을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중 증가는 큰 차이가 없었으나 cholesterol 과 lipoprotein 의 경우는 들깨기름을 첨가한 군에서 낮게 나타났고, HDL 값은 높았으며 LDL 값은 낮았다. 이 결과는 들깨기름이 HDL 을 증가시키는 좋은 기름임을 증명한 것이다.

2. Liver microsomes 의 인지질의 경우는 대조군에 비하여 들깨기름을 첨가한 군이 많이 나타나, 지방산의 세포막 이동에 기여 한다고 생각할 수 있다.

3. Cholesterol 생합성에 관여하는 HMG-CoA reductase 활성은 대조군에 비하여 들깨기름 첨가군이 높게 나타났다.

4. Liver microsomes 의 지방산 조성으로부터 알 수 있는 것은 들깨기름에 들어있는 α -Linolenic acid 가 C_{20:5} 와 C_{22:5} 으로 변화되었다는 것이다.

참 고 문 헌

1. Kinsell, L.W., Partridge, J., Boiling, L. A. and Michaels, G. D. : *J. Clin. Invest.*, 12, 909 (1952).
2. O'Dell, B. I., Morris, E. R. and Regan, W. D. : *J. Nutr.*, 70, 103 (1960).
3. Ockner, R. K., Hubben, F. B. and Issenbacher, K. J. : *J. Clin. Invest.*, 48, (1969).
4. Radcl, L. I., Morris, M. D. and Felts, J. M. : *J. Clin. Invest.*, 51, 2686 (1972).
5. Nam, H. K. : *J. Korean Oil Chemist' Soc.*, 2, 21 (1985).
6. Brown, M. S., Dana, S. E. and Goldstein, J. L. : *J. Biol. Chem.*, 249, 789 (1974).
7. Field, F. J., Erickson, S. K., Shrewsbury, M. A. and Cooper, A. D. : *J. Lipid Res.*, 23, 105 (1982).
8. Stange, E. F., Alavi, M., Schneider, A., Ditschuneit, H. and Poly, J. : *J. Lipid Res.*, 22, 47 (1981).
9. Nam, H. K. : *J. Korean Oil Chemist' Soc.* : 1, 3 (1984).
10. Carroll, K. K. : *Lipids*, 21, 731 (1986).
11. Lee, Y. C., Kwak, T. K. and Lee, Y. K. : *Korean J. Nutri.*, 9, 19 (1976).
12. Kobatake, Y., Kuroda, K., Jinnouchi, H., Hoshida E. and Innaimi, S. : *J. Nutri. Sci. Vitaminol.* 30, 357 (1984).
13. Nam, H. K. : *Korean J. Food and Nutri.*, 12, 122 (1983).
14. Nam, H. K. : *Korean J. Food and Nutri.*, 16, 18 (1987).
15. Field, F. J. and R. G. Salome : *Biochim., Biophys. Acta.* 712, 557 (1982).
16. Baumann, E. J. : *J. Biol. Chem.*, 59, 667 (1924).
- 16-1. Dryer, R. L. and Tommes, A. R. : *J. Biol. Chem.*, 225, 177 (1957).
17. Henry, R. J., *Clinical Chemistry*, Harper and Row Publ., New York, N. Y. (U. S. A.) 841 (1965).

Influence of Perilla Oil on the Activity of HMG-CoA Reductase and Fatty Acid Content in Liver Microsome of the Rabbit

Dong-Pil Kim

Dept. of Food and Nutrition

Kwangju Health Junior College

>Abstract<

The lowering concentration of cholesterol, fatty acid, phospholipid of the liver microsome and the activity of HMG-CoA reductase of the liver microsome by feeding rabbits on perilla oil has been examined. The results are follows :

1. In case of the cholesterol and lipoprotein, the group of rabbits fed on perilla oil showed less than control group. Proportion of HDL was higher than LDL in rabbits fed on perilla oil. So it shows that perilla oil increases HDL.
2. Phospholipid of liver microsome in the group fed on perilla oil was richer than control group. Therefore it is assumed that perilla oil contributes to penetrate through cell-membrane of fatty acid.
3. Activity of HMG-CoA reductase to cholesterol was high in the group fed on perilla oil compared with control group.
4. It is assumed that α -linolenic acid perilla oil can be changed into $C_{20:5}$ and $C_{22:6}$ throughout the fatty acid content of liver microsomes.