

랫트의 실험적 동맥경화증에 대한 β -Glucan의 예방 효과

정의배 · 이영순

서울대학교 수의과대학

Preventive Effect of β -Glucan on the Experimental Atherosclerosis in Rats

Eui-Bae Jung and Young-Soon Lee

College of Veterinary Medicine, Seoul National University Suwon 170, Korea

ABSTRACT-The present studies were undertaken in attempt to investigate the preventive effect of β -glucan from barley and diltiazem on cholesterol and vitamin D₂ induced-atherosclerotic rat. The results obtained were summarized as follows.

1. The group, fed only the mixture of cholesterol and vitamin D₂, showed significant increase of calcium, inorganic phosphorus, total cholesterol, lipid LDL-cholesterol and phospholipid in serum, and total lipid in the liver ($p < 0.05$) as comparing with normal group. The aorta showed severe damage of disorganization, necrosis and lipid deposition in the elastic membrane.

2. The group fed mixture of cholesterol and vitamin D₂ plus diltiazem simultaneously, showed significant increase of total cholesterol, total lipid and phospholipid in serum, and total lipid and triglyceride in the liver ($p < 0.05$) as comparing with normal group, but the significant decrease of calcium and inorganic phosphorus in serum ($p < 0.05$) as comparing with the atherogenic control group. The aorta showed slight damage of elastic membrane and lipid deposition as comparing with the atherogenic control group.

3. The group, fed mixture of cholesterol and vitamin D₂ plus β -glucan simultaneously, showed significant decrease of total cholesterol, LDL and VLDL-cholesterol, total lipid, phospholipid and triglyceride in serum, and total lipid in the liver as comparing with the atherogenic control group ($p < 0.05$), but the significant increase of calcium in serum as comparing with the normal group ($p < 0.05$). The aorta showed no changes in elastic fiber and no lipid deposition in comparing with the atherogenic control group.

Keywords □ Preventive effect, m-glucan, Barley, Diltiazem, Cholesterol, Vitamin D₂, Atherosclerosis

우리나라는 최근 급격한 경제성장에 따라 식생활 패턴이 바뀜에 따라 동물성 식품 섭취가 많아지게 되면서 순환기 질환이 늘어나게 되어 사회의학

적으로 문제가 되고 있다.

이들 심맥관계질환중 동맥경화증이 발생하는 기전은 Anitschkow 와 Chalатов(1913)가 최초로 식이에 콜레스테롤을 첨가했을 때 토끼의 동맥에 아테롬병변을 유발시킨 이래 여러가지 실험동물을 이용한 실험에 의해 밝혀지고 있는데, Ross와 Glomset(1976)의 총설에 의하면 atheromatous

Received for publication; 14 October 1986 ; accepted 7 November 1986

Reprint requests; Dr. Y.S. Lee at the above address

plaque를 이루는 과정은 lipoprotein과 같은 거대분자의 투과성 증대, 평활근세포의 유주와 분열 증식, 증식된 평활근세포에서의 과량의 collagen, elastin, glycosaminoglycan 분비, 내피세포에 의한 lipoprotein 또는 지질침착작용으로 인하여 일어난다고 한다. 또한 칼슘대사의 부조화는 동맥경화증의 위험 요소로 여겨지고 있는데 (Ham과 Protuondo, 1933; Einstein과 Groff, 1957; Gillman과 Gilbert, 1957; Gillman 등, 1960), arteriosclerotic damage를 일으키는데 있어서 콜레스테롤 축적이 중요한 만큼 칼슘의 過負荷도 동맥벽의 mineralization을 초래함으로써 중요하다는 것이 밝혀졌다(Taura 등, 1979, Kunitomo 등, 1983).

이런 동맥경화증 병인론과 많은 항동맥경화증 약제시험을 하기 위한 실험동물로서 사용된 동물은 토끼(Virag 등, 1979; Gotoh, 1983), 비둘기(Clarkson 등, 1959; Santerre 등, 1972; Cornhill, 1980), 돼지(Fuster와 Bowie, 1978), 원숭이(Kritchevsky 등, 1977), 메추리(Shi 등, 1983), 랫트(Bajwa 등, 1971; Okawa 등, 1980; Okawa 등, 1982; Doi 등, 1983; Isegawa 등, 1984), 기니픽(Kunitomo 등, 1983) 등이 이용되었다. 그런데 랫트의 경우 원래 콜레스테롤 저항성의 동물로 여겨져 왔으나 최근 연구에서 고단위 비타민 D₂와 고콜레스테롤 식이를 함께함으로써 Mockberg type의 동맥경화증을 일으킬 수 있다는 것이 밝혀졌다(Okawa 등, 1980; Yasoshima 등, 1982; Okawa 등, 1982; Doi 등, 1983; Isegawa 등, 1984).

최근에는 동맥경화증 질환의 발생과 진전이 lipoprotein의 조성과의 관계가 깊다는 관점에서 연구되고 있다(Tyroler, 1984; Goldstein과 Brown, 1977), Miller 등(1969)은 HDL치가 증가하면 LDL과 동맥의 fibroblast와 결합이 감소한다고 하였으며, 여러 역학조사에서도 동맥경화증과 LDL과는 상관관계가 있다는 것이 밝혀졌다(Tyroler, 1984).

따라서, LDL을 감소시키고 HDL을 증가시키는 식이법 및 약제개발에 초점을 맞추고 있다(Goldstein과 Brown, 1977; Wissler 등, 1979; Mahley, 1982; Rifkind, 1984).

한편, 랫트를 이용하여 혈중 콜레스테롤치를 낮추어주는 실험을 한 결과 쌀보다 보리를 식이로 한 랫트에서 혈중콜레스테롤치와 간의 지질치가 낮아지며(高瀬 등, 1969; 이와 이, 1984), 보리의 oil 성분과 oil 이외의 나머지 성분을 비교 시험했을 때 oil을 제거한 보리성분이 혈중 콜레스테롤치와 간지질치를 유의성 있게 낮추어 주었다고 하였다(高瀬 등, 1969). 한편, 귀리의 경우 껍질쪽이 귀리의 전분 또는 oil 성분보다 콜레스테롤치를 저하시켜주는 효과가 있음이 보고됨으로써(Fisher 등, 1967) 보리나 귀리의 껍질쪽의 oil 성분 이외의 성분에 콜레스테롤 저하물질이 있음이 제시되었으며, 이런 콜레스테롤 저하물질은 보리나 귀리에 공통적으로 다량 포함된 β -glucan일 것으로 주장되었다(Quereshi 등, 1980).

보리의 β -glucan은 보리의 배유내의 물 둘러싸는 세포벽 구성성분의 하나로써 화학적으로 glucose polymer 형태로 4-8%가 포함되어 있으며, β 1, 4-glucopyranosyl과 β 1, 3-glucopyranosyl이 약 7:3으로 함유되어 있다(Prentice 등, 1980). 이 β -glucan은 수용성부분과 비수용성부분이 공존하며 물에서 colloid 형태를 취해 점액성 성질을 띠게 된다(Kay, 1982). β -glucan은 식이성 섬유질의 하나인데 식이성 섬유는 비영양성 다당류란 명칭으로서 동물의 소화관내에서 흡수되지 않는 물질이며, 소화관내에서 생리적 기능이 밝혀져 식이섬유의 섭취량은 동맥경화증, 심장병, 대장암 등과 밀접한 관계가 있으며(Trowell, 1976; Kay, 1982), 식이섬유중 pectin은 혈중콜레스테롤 농도를 저하시키는 효과가 있는 것으로 알려졌다(Palmer와 Dixon, 1966; Bock와 Ranhotra, 1984). Kay(1982)는 cellulose를 많이 섭취하면 콜레스테롤 농도를 저하시켜준다고 하나, 다른 식이섬유에 비해서는 콜레스테롤 저하 효과가 미약한 것으로 생각되어지고 있다.

식이성섬유에 의한 혈중 콜레스테롤 저하 기전에 대해서는 일치된 견해는 없으나 식이성콜레스테롤이 식이성섬유와 결합하여 배설이 증가됨으로 이루어지는 것으로 생각 되어지고 있다(Kay, 1982; Anderson과 Chen, 1979).

따라서 랫트를 실험동물로 하여 Doi 등(1983)

의 방법을 수정한 실험적 동맥경화증 랫트를 이용해서 보리에서 추출된 β-glucan과 칼슘길항제인 diltiazem을 비교 실험함으로써 β-glucan에 항동맥경화증 성질이 있는지를 밝히고자 이 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물—이 실험에서는 서울대학교 실험동물사육장에서 분양받은 웅성랫트(Sprague-Dawley) 40마리를 사용하였다. 2 주 동안 예비사육으로 실험실에서 완전히 적응시킨 후 67일령 일때 실험에 이용하였으며 실험중 마우스사료(삼양사제)와 식수를 자유로이 공급하였으며 20±2°C의 실내온도를 유지하였고 자연채광하에 랫트용케이지(polycarbonate, 25×40×17cm, 명진기계제작)에 3 마리씩 넣어서 사육하였다.

약물투여—67일령이 된 랫트를 각 군 10마리씩 체중이 고르게 4 군으로 나누어 배치하였으며 정상군과 세군의 처치군으로 나누어 약물을 투여하였다. 처치군은 동맥경화증 대조군, diltiazem 처치군 및 β-glucan 처치군으로 구분하였다. 정상군은 무처치군이며, 동맥경화증 대조군은 하루당, 체중 kg 당 비타민 D₂(Wako chemical CO., Japan) 240,000 IU와 콜레스테롤(Junsei CO., Japan) 40mg을 용매인 올리브유(Osaka chemical CO., Japan) 0.5ml에 혼합시킨 용액을 처음 투여일을 1 일로 잡고 4 일간 연속으로 랫트용 콘테를 이용하여 경구투여하였다. Diltiazem 처치군은 초기 4 일간은 동맥경화증 대조군 처치방법과 동일한 방법으로 비타민 D₂와 콜레스테롤을 경구

투여한 후 diltiazem(동경대학교 농학부 약리학교실에서 분양받음)을 하루당, 체중 kg 당 60mg을 증류수 0.5ml에 녹여서 투여했으며 나머지 3 일간은 diltiazem만 단독투여하였다. β-glucan 처치군도 초기 4 일간은 동맥경화대조군과 같은 처치를 함과 동시에 β-glucan(Sigma Co., U.S.A.) 하루당, 체중 kg 당 0.135g을 증류수 0.5ml에 혼합시켜 투여했으며, 나머지 3 일간은 β-glucan만 단독투여하였다. 또한 동맥경화대조군은 나머지 3 일간 회석용매인 증류수를 투여하였다(Fig. 1). 실험 8 일째되는 날에 모든 군의 동물을 부검하였다.

혈액 및 장기의 처리방법—실험종료 12시간 전에 모근 군의 동물을 절식시킨 후 에테르마취하에 심장천자법으로 혈액을 채취하였고 간, 심장, 신장, 갑상선, 간장, 대동맥(대동맥궁~복구대동맥)과 장간막동맥을 적출하였다. 적출한 장기는 화학천칭을 이용하여 중량을 측정하였으며 일부는 광학현미경적 관찰을 위해 10% 중성포르말린에 고정시켰다. 정확한 장기중량을 측정하기 위해 각 장기는 생리식염수로 씻어내고, 지방을 제거한 후 측정하였다.

채취한 혈액은 혈중생화학치분석을 위하여 4°C에서 24시간 보관한 후, 15분간 1500 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 콜레스테롤과 HDL-cholesterol은 혈청분리후 즉시 측정하였다. 나머지는 -20°C 냉동실에 보관하면서 필요할 때마다 분석에 이용하였다.

간지질치분석을 위하여 간장은 생리식염수로 잘 씻어서 혈액을 제거하고 여분의 물기를 제거한 후, 간의 무게를 1g 달아 glass homogenizer로 마쇄시킨 균질액을 분리용 funnel에 넣고, 2:1 chloroform-methanol(V/V)을 이 균질액의 20배가 되게 넣은후 물과의 접촉으로 비지방조직층이 분리되어 두층이 맑아지면 하층의 지방층을 분석에 이용하였다(Folch, 1957).

혈중 및 간 지질치의 분석방법—혈청의 생화학적 분석중 칼슘 농도는 Ortho-cresolphthaleine complexane 법(亞山 정량 set, 日本), 무기인농도는 Molybdenum-blue 법(亞山 정량 set, 日本), 총 콜레스테롤은 OPA 법(榮研 콜레스테롤 정량 set, 日本), 총지방은 Sulfo-phosphovanillin 법(國際

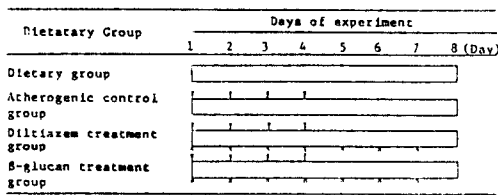


Fig.1. Experimental Design.

◆ : Mixture of vitamin D₂ (240,000 IU/kg) and cholesterol (40mg/kg), ◇ : Diltiazem (60mg/kg), ◊ : β-glucan (0.135g/kg).

Table 1. Comparison of the Organ and Body Weight in Each Group.

(Mean \pm SD)

Dietary Group	Organ weight (g)					Body weight (g)	
	Liver	Adrenal gland	Kidney	Stomach	Spleen	Initial	Final
Normal group	3.67 ± 0.23	0.023 ± 0.005	0.94 ± 0.11	0.59 ± 0.84	0.19 ± 0.40	316.15 ± 15.2	322.70 ± 12.4
Atherogenic control group	3.08 [*] ± 0.26	0.022 ± 0.007	0.98 ± 0.11	0.64 ± 0.93	0.21 ± 0.24	316.29 ± 17.4	288.26 ⁺ ± 17.6
Diltiazem treatment group	2.99 ⁺⁺ ± 0.48	0.031 [*] ± 0.006	0.91 ± 0.16	0.54 ± 0.94	0.21 ± 0.38	317.23 ± 18.2	292.65 ⁺ ± 15.2
β -glucan treatment group	3.04 [*] ± 0.19	0.038 ⁺⁺ ± 0.003	0.89 ± 0.86	0.54 ± 0.10	0.20 ± 0.23	318.21 ± 16.4	282.40 ⁺ ± 14.3

⁺: $p < 0.05$, ⁺⁺: $p < 0.01$ compared with normal group.

^{*}: $p < 0.05$ compared with atherogenic control group.

총지질 정량 set, 日本), HDL-cholesterol 은 효소법(國際 HDL-cholesterol 정량 set, 日本), 인지질은 효소법(國際인지질 정량 set, 日本), 중성지방은 효소법(榮研 중성지방 정량 set, 日本)으로 측정하였으며, LDL and VLDL(Low density lipoprotein and very low-density lipoprotein)-cholesterol 은 총콜레스테롤치에서 HDL-cholesterol 치를 뺀 것으로 계산하였다.

간조직 생화학적 성분중 총지방은 Sulfo-phosphovanillin 법(國際총지질 정량 set, 日本), 중성지방은 효소법(榮研중성지방 정량 set, 日本)으로 측정하였다.

광학현미경적 표본제작—조직학적 검사를 위한 대동맥, 간장, 폐장, 부신, 소장을 10% 중성포르말린에 고정하여 장기를 세절하여 하루동안 새로운 10% 중성포르말린에서 재고정시킨 후, 흐르는 물에서 수세후 통상방법에 따라 자동조직처리기(Fisher CO., Model 166A, U.S.A.)를 거쳐 microtome(American Optical, Model AO810, U.S.A.)으로 3 μ m의 두께로 파라핀 절편을 만들어 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 하였으며, 생체에서 떼어낸 동맥부위는 동맥내 지질침착여부를 관찰하기 위하여 Cryocut(American Optical, U.S.A.)로 10 μ m의 두께로 동결절편을 만들어 Oil-red-O 염색을 하여 관찰하였다(Luna, 1968).

통계학적 유의성 검정—처치군과 정상군 사이의

유의성, diltiazem 처치군과 동맥경화대조군 사이의 유의성 및 β -glucan 처치군과 동맥경화증 대조군사이의 유의성 검정은 각각 t 검정으로 판단하였다.

결 과

체중 및 장기무게의 비교—정상군에 비해 동맥경화대조군과 m-glucan 처치군에서 간의 무게가 유의성있게 낮아졌다($p < 0.01$). diltiazem 처치군에서는 간의 무게가 정상군에 비해 현저히 감소하였으며($p < 0.01$), 동맥경화대조군에 비해서는 유의성 있게 감소하였다($p < 0.05$). 부신의 무게는 동맥경화대조군에 비해 Diltiazem 처치군과 β -glucan 처치군에서 유의성 있게 증가하였으며, 정상군에 비해 β -glucan 처치군에서 유의성 있게 증가하였다($p < 0.05$). 신장, 위, 비장에서는 유의성은 인정되지 않으나 다소 증감을 나타내었다. 초기의 체중은 각군 모두 거의 비슷하였으나, 최종체중은 정상군에 비해 모든 처치군의 체중이 유의성있게 감소함을 알 수 있었다($p < 0.05$)(Table 1).

혈청의 무기물(칼슘, 인)성분의 변화—혈청중의 칼슘치는 동맥경화대조군이 정상군에 비해 유의성 있게 증가하였으며($p < 0.05$), 동맥경화대조군에 비해 diltiazem 처치군은 유의성있게 낮아졌으나

Table 2. Effects of Treatments on the Inorganic Chemicals of the Serum in Rats.

(Mean \pm SD)

Dietary group	Serum (mg/100ml)	
	Calcium	Phosphorus
Marmal group	9.90 \pm 0.56	5.48 \pm 0.79
Atherogenic control group	11.08 \pm 1.66 ⁺	6.90 \pm 1.34 ⁺
Diltiazem treatment group	9.94 \pm 0.90*	5.83 \pm 0.30*
β -glucan treatment group	12.16 \pm 1.72 ⁺	6.56 \pm 0.82

+: $p < 0.05$ compared with normal group.
 *: $p < 0.05$ compared with atherogenic control group.

β -glucan 처치군은 유의성있게 증가하였다 ($p < 0.05$).

혈청중의 인량도 동맥경화대조군은 정상군에 비해 유의성있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), 동맥경화증 대조군에 비해 diltiazem 처치군은 유의성 있게 낮아졌으나 β -glucan 처치군은 유의성 있게 증가하였다 ($p < 0.05$). (Table 2).

혈청지질성분의 변화—혈청 총 콜레스테롤치는 정상군에 비해 동맥경화증 대조군이 유의성 있게 증

가하였으며 ($p < 0.05$), diltiazem 처치군도 정상군에 비해 유의성 있게 증가하였으나 ($p < 0.05$), β -glucan 처치군은 유의성 있게 감소하였다 ($p < 0.05$).

HDL-cholesterol 치는 정상군에 비해 동맥경화증 대조군, diltiazem 처치군, β -glucan 처치군 모두 증가하였으나 유의성은 인정되지 않았다.

LDL and VLDL-cholesterol 치는 정상군에 비해 동맥경화대조군에서 유의성있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), diltiazem 처치군은 유의성은 인정되지 않으나 증가하였고, β -glucan 처치군은 동맥경화대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다 ($p < 0.05$).

총 지질치와 인지질치는 동맥경화증 대조군과 diltiazem 처치군에서 정상군에 비해 유의성있게 증가하였으나 ($p < 0.05$), β -glucan 처치군은 유의성 있게 감소하였다 ($p < 0.05$).

중성지방량은 동맥경화증 대조군에서 정상군에 비해 유의성 있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), diltiazem 처치군에서는 유의성은 인정되지 않으나 증가하였고, β -glucan 처치군 동맥경화대조군에 비해 유의성있게 감소하였다 ($p < 0.05$). (Table 3).

간지질치의 변화—간지질치의 변화로서 총지질치가 동맥경화대조군에서 정상군에 비해 유의성있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), diltiazem 처치군에서

Table 3. Effects of Treatments on the Various Lipids of the Serum in Rats.

(Mean \pm SD)

Dietary group	Serum (mg/100ml)					
	Total CHL	HDL-CHL	LDL & VLDL-CHL	Total lipid	Phospho-lipid	Triglyceride
Normal group	58.77 \pm 5.40	39.54 \pm 2.58	19.23 \pm 3.33	251.7 \pm 25.66	77.08 \pm 13.57	38.86 \pm 7.05
Atherogenic control group	74.34 ⁺ \pm 12.23	46.06 \pm 9.01	28.28 ⁺ \pm 7.54	291.5 ⁺ \pm 28.87	84.81 ⁺ \pm 10.68	46.04 ⁺ \pm 18.01
Diltiazem treatment	75.11 ⁺ \pm 13.32	44.07 \pm 6.52	26.98 \pm 8.60	286.4 ⁺ \pm 72.15	82.73 ⁺ \pm 13.17	42.86 \pm 16.57
β -glucan treatment group	65.69* \pm 13.03	43.97 \pm 11.74	20.23* \pm 3.33	255.6* \pm 72.15	70.76* \pm 11.57	38.65* \pm 9.48

+: $p < 0.05$ compared with normal group.
 *: $p < 0.05$ compared with atherogenic control group.

CHL: Cholesterol.

HDL-CHL: High density-lipoprotein cholesterol.

LDL & VLDL-CHL: Low density and very low density-lipoprotein cholesterol.

Table 4. Effects of Treatments on the Various Lipids of the Liver in Rats.

Dietary group	Liver (mg/g)	
	Total lipid	Triglyceride
Normal group	49.20 ± 15.38	15.36 ± 10.10
Atherogenic control group	59.27 ± 10.26 ⁺	18.97 ± 7.30
Diltiazem treatment group	60.58 ± 9.86 ⁺	27.81 ± 12.65 ⁺
β -glucan treatment group	49.08 ± 14.54 [*]	15.17 ± 4.071

+ : $p < 0.05$ compared with normal group.

* : $p < 0.05$ compared with atherogenic control group.

동맥경화증 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였으나 ($p < 0.05$), β -glucan 처치군에서는 동맥경화증 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다 ($p < 0.05$).

중성지질치는 β -glucan 처치군만이 같은 수치를 나타내었으며, 동맥경화증 대조군은 유의성은 없었으나 ($p > 0.05$), diltiazem 처치군은 유의성 있게 증가함을 나타내었다 ($p < 0.05$). (Table 4).

Atheromatous Index의 분석—Atheromatous index의 분석은 Table 5에서 보는 바와 마찬가지로 HDL-CHL/T-CHL 비는 정상군에 가깝게 β -glucan 처치군에서 증가하였으나, diltiazem 처치군에서는 감소하였다. 그러나 모든 처치군에서 유의성은 인정되지 않았다. LDL과 VLDL

-CHL/T-CHL 비는 β -glucan 처치군이 낮아졌으나, 동맥경화대조군과 diltiazem 처치군에서는 정상군보다 높은 수치를 나타내었다. 그러나, 모든 처치군에서 유의성은 인정되지 않았다. 또한, LDL and VLDL-CHL/HDL-CHL 비는 동맥경화대조군에서는 정상군에 비해 유의성 있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), diltiazem 처치군에서는 정상군에 비해 증가하였으나 유의성은 인정되지 않았고, β -glucan 처치군에서는 정상군에 비해 유의성 있게 감소하면서 더 낮은 수치를 나타내었다 ($p < 0.05$). (Table 5).

동맥의 병리조직학적 관찰—정상군의 대동맥중막에서는 고른 탄성막의 배열과 괴사된 병변을 관찰할 수 없었고 내막·외막도 거의 정상상태의 동맥 벽소견이었으며 (Fig. 2), Oil-red-O 염색으로 지방 침착을 관찰할 수 없었다 (Fig. 6). 동맥경화증 대조군에서 대동맥 및 복부대동맥은 병변이 뚜렷했는데, 대동맥의 중막에서 심한 석회화와 괴사소견을 나타내었으며 내피세포가 분리된 소견, 탄성막이 고르게 배열되지 않고 굴곡되거나 소실 및 해리된 소견을 나타내었으며 (Fig. 3), 괴사된 중막부위에 Oil-red-O 염색이 뚜렷하여 지방침착된 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 7), diltiazem 처치군에서는 동맥경화대조군에 비해서 심한 병변은 아니나 약간의 탄성막에서 해리된 소견을 나타내었으나 거의 정상군에 가까운 동맥벽의 상태였으며 (Fig. 4), Oil-red-O 염색으로 지질이 내막부에 약간 침착된 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 8). β -glucan 처치군에

Table 5. Effects of Treatments on the Atheromatous Index in Rats.

(Mean ± SD)

Dietary group	Atheromatous Index (ratio)		
	HDL-CHL/T-CHL	LDL & VLDL-CHL/T-CHL	LDL & VLDL-CHL/HDL-CHL
Normal group	0.67 ± 0.29	0.32 ± 0.29	0.48 ± 0.65
Atherogenic control group	0.62 ± 0.76	0.38 ± 0.77	0.67 ± 0.17 ⁺
Diltiazem treatment group	0.64 ± 0.79	0.35 ± 0.79	0.58 ± 0.20
β -D-glucan treatment group	0.66 ± 0.29	0.30 ± 0.95	0.43 ± 0.22 [*]

+ : $p < 0.05$ compared with normal group.

* : $p < 0.05$ compared with atherogenic control group.

HDL-CHL: High density-lipoprotein cholesterol.

T-CHL: Total cholesterol.

LDL & VLDL-CHL: Low density and very low density-lipoprotein cholesterol.



Fig.2. Aorta of a rat from normal group.

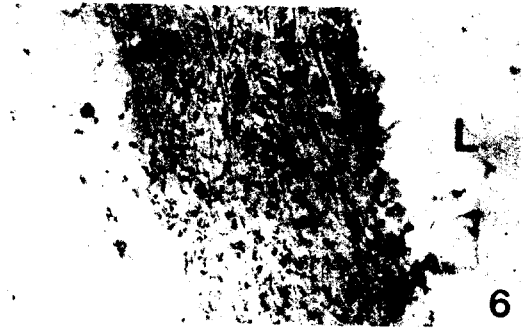


Fig.6. Aorta of a rat from normal group.

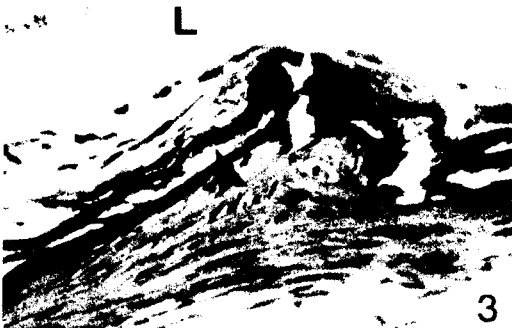


Fig.3. Aorta of a rat from atherogenic control group.

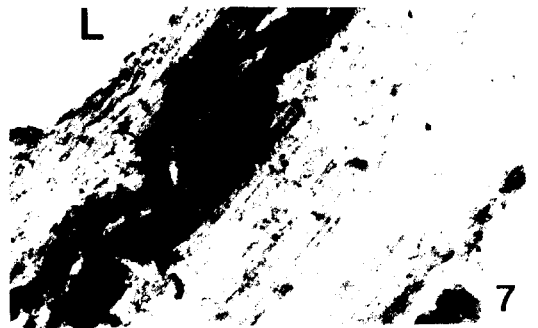


Fig.7. Aorta of a rat from atherogenic control group.



Fig.4. Aorta of a rat from diltiazem treatment group.



Fig.8. Aorta of a rat from diltiazem treatment group.

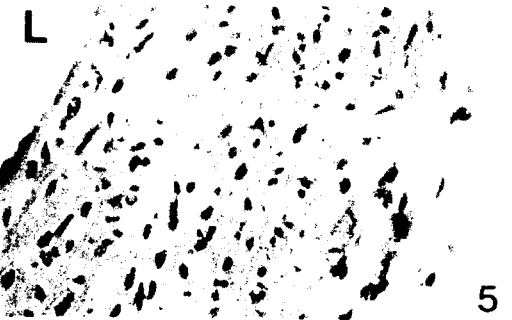


Fig.5. Aorta of a rat from m-glucan treatment group.

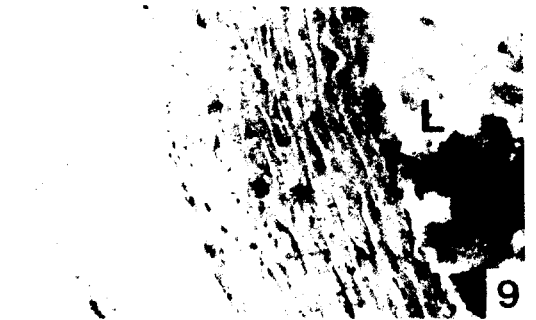


Fig.9. Aorta of a rat from m-glucan treatment group.

서는 거의 정상에 가까운 동맥벽의 소견을 나타내어 병변을 관찰할 수 없었으며(Fig.5), Oil-red-O 염색으로 지질침착을 관찰할 수 없었다(Fig.9).

고 찰

체중의 변화는 유의성있게 모든 처치군이 정상군에 비해 감소하였는데 Kunitomo 등(1983)은 기니픽에 비타민 D₂와 콜레스테롤 투여로 체중의 감소가 있었다고 하였으며, Gillman 등(1960)은 비타민 D₂ 투여후 10일까지 체중감소가 있었으나 그후 증가하여 체중감소는 사료섭취량에 비례한다고 보고하였고, Iwasaki 등(1984)은 SHR 랫트에 diltiazem 투여시 사료 섭취량에 비례하여 체중감소가 있었다고 보고함으로써 모근 처치군에서 체중의 감소는 약물처치로 식욕감퇴를 일으켜 사료섭취가 감소함으로써 일어난 것으로 사료된다.

Diltiazem 및 β -glucan 투여로 인한 장기무게에 대한 영향은 보고된 바 없으며, 간과 부신의 무게가 diltiazem 처치군과 β -glucan 처치군 및 동맥경화대조군에 감소되거나 증가됨을 알 수 있었는데 절대무게치에 영향이 있는 것으로 미루어 지질합성에 관련된다고 사료된다.

혈청 무기물의 변화는 비타민 D₂에 의해서 장에서 칼슘 흡수를 촉진시키므로 혈청 칼슘치가 증가되며 뇨의 배설이 증가되고 보상적으로 혈청 무기인의 증가를 일으킨다고 한 보고(Einstein 과 Groff, 1957)와 이 실험의 동맥경화대조군에서 비타민 D₂와 콜레스테롤 복합투여로 혈청 칼슘과 무기인치가 증가한 것은 일치하는 것이었다. 한편, diltiazem 투여 시험군에서는 SHR 랫트에 고콜레스테롤 식이와 비타민 D₂ 투여후 diltiazem을 60mg/kg 투여시 혈청 칼슘치가 저하되었다고 한 Iwasaki 등(1984)의 성적과 일치한 결과를 보였다. β -glucan 이 hypocalcemic 한 성질을 나타내지 않은 것은 칼슘길항제의 작용이 없기 때문인 것으로 사료된다.

혈청 콜레스테롤 양은 주로 간에서 콜레스테롤 합성과 분해속도, 소장에서 식이성 콜레스테롤의 흡수에 의해 조절되는 것으로서(Goldstein 과 Brown, 1977), Iwasaki 등(1984)은 랫트에 비타민 D₂와 콜레스테롤을 복합투여한후 7 일에 혈

청 콜레스테롤치가 유의성 있게 증가한다고 보고하였다.

기니픽의 경우도 콜레스테롤과 비타민 D₂ 복합식이군에서 혈청 콜레스테롤이 유의성 있게 증가한다고 보고하였다(Kunitomo 등, 1983). Parke 등(1978)도 콜레스테롤 또는 비타민 D₂ 단독투여보다 복합투여시 혈청 콜레스테롤치가 증가한다고 함으로써 비타민 D₂와 콜레스테롤의 복합투여가 단독투여보다 더욱 혈청 콜레스테롤치 증가에 효과적임을 제시하였다. Starnge 등(1981)의 보고에 의하면 토끼에 식이성콜레스테롤급여시 간에서 콜레스테롤 합성의 rate limiting enzyme 인 3-hydroxy 3-methylglutaryl CoA reductase 활성을 억제하였다고 보고하였으며, 새로 흡수된 콜레스테롤은 간에서 콜레스테롤 합성을 억압하여 체내 일정수준이 되도록 feed back mechanism 이 있지만, 과량 투여하면 식이성 콜레스테롤에 대한 3-hydroxy 3-methylglutaryl CoA reductase 의 작용은 미약하여 결과적으로 혈청 콜레스테롤치가 높아진 것으로 사료된다. Iwasaki 등(1984)은 비타민 D₂와 콜레스테롤식이시 diltiazem 투여로 혈청 콜레스테롤치에는 별 영향을 주지 못하였다고 보고하였으며, Kramsch 과 Chan(1978)은 항칼슘제인 lanthanum 을 콜레스테롤 식이군에 투여시 혈청 콜레스테롤치는 별 영향을 주지 못하였다고 보고하여 이 실험에서와 일치하였으며, 칼슘길항제인 diltiazem 은 다른 여러가지 지질치에 미치는 영향보다 혈청 칼슘치에 관여하는 것으로 사료된다.

이와 이(1985)는 쌀과 보리의 영양학적 비교시험에서 보리를 식이로 할 때 혈중콜레스테롤치와 간의 지질치를 낮추어준다고 보고하였으며, Quereshi 등(1980)은 닭에서 보리를 식이로 할 때 간의 β -hydroxy β -methylglutaryl CoA reductase 의 활성이 옥수수를 식이로한 군에 비해 79% 감소를 일으키고 다른 경로로 지방산의 합성을 유도하였다고 보고하여 보리에 다량함유된 β -glucan 이 간에서 콜레스테롤 합성을 억압하였을 것으로 추정하였다. 이런 사실을 뒷받침하는 것으로 혈중콜레스테롤치 저하는 담즙산 또는 식이성 콜레스테롤이 식이성 섬유와 결합하여 분변

으로 배설되기 때문에 식이성 콜레스테롤의 흡수를 방해하여 혈액 콜레스테롤농도를 저하시킨다고 하였으며(Kay, 1982), Kritchevsky와 Story (1974)는 섬유의 종류에 따라 담즙산과의 결합능에 차이가 있다고 하였다(cellulose 0%, bran 9%, lignin 29.9%, cholestyramin 31.3%). β -glucan 투여시 혈액 콜레스테롤농도가 저하되는 것도 이와 같이 β -glucan과 담즙산이 결합하여 분변으로 배설되기 때문인 것으로 추측된다.

Virag 등(1979)이 토끼에 실험한 콜레스테롤 첨가 식이군에서 중성지질치가 증가하였다고 한 보고는 이 실험결과와 일치하였는데, 이는 콜레스테롤 투여로 증가되니 혈중콜레스테롤을 운반하기 위해 더욱 많은 중성지방이 혈중으로 유리된 것으로 사료된다. β -glucan의 중성지방 및 인지질치에 미치는 영향에 대해서는 보고된 바 없으나, Anderson과 Chen(1979)이 식이성 섬유에 의해서 간의 지질치와 혈액 중성지방의 감소를 유도한 것으로 사료된다.

Isegawa 등(1984)의 보고에 의하면 SHR 랫트에서 정상군에 비해 동맥경화식을 4 주동안 투여시 HDL-cholesterol은 별 영향이 없으나 β -lipoprotein치가 유의성있게 증가하여 hyper β -lipoproteinemia를 일으켰다고 하여, 본 실험에서도 동맥경화대조군이 HDL-cholesterol치에는 제한적이거나 LDL and VLDL-cholesterol치에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

Kay(1982)는 식물성 섬유에 의해서는 LDL(Low density-lipoprotein)치에 대한 영향보다 HDL-cholesterol치는 높여 주거나, 변화가 없다고 보고하였다. 그런데, chylomicron의 크기에 영향을 미쳐 콜레스테롤, 중성지방, 인지질에 대한 콜레스테롤 에스테르 비율에 변화를 주어 HDL, LDL의 조성에 영향을 미친다고 하였는데 이 실험에서는 HDL-cholesterol치에 대해서는 제한적이지만, LDL and VLDL cholesterol치에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

동맥의 병변은 비타민 D₂와 콜레스테롤 복합투여로 중막부위에서 심한 피사와 피사된 부위에 지질침착이 있고, 탄성막의 분리와 굴절이 있었는데 이런 결과는 Isegawa 등(1984)과 Okawa 등(1982)의 보고와 일치된 결과였다. 그런데

lipoprotein을 매개로 콜레스테롤이 내피손상 및 지방축적에 관여하는 것은 밝혀졌으나 비타민 D₂에 의한 혈관상해작용은 명확하지 않다. Geeting와 Sorensen(1970)은 비타민 D에 의한 랫트에 대동맥, 관상동맥에서 맥관계의 변화는 보체억제제인 Zymosan 투여로 없어졌다고 보고하였으며, 최근 Pang과 Minta(1980)의 보고에 의하면 혈청 칼슘치의 상승이 동맥벽의 국소적인 보체활성을 일으킴으로 내피손상을 일으켜 혈관 투과성을 향진시킨다고 하였다. 따라서, 비타민 D₂를 과잉 투여하면 혈청 칼슘이 증가되고 이로 인해 여러효소의 활성이 증가되어 세포손상을 일으키는 것으로 사료된다. diltiazem은 고칼슘 혈중으로 인한 동맥벽의 손상에 방어적인 기능이 있는 것으로 사료되는데, Ginsberg 등(1983)에 의하면 2% 콜레스테롤식이와 diltiazem 투여군에서는 2% 콜레스테롤식이군에 비해 지질침착동물수가 반감되었다고 하였다. Iwasaki 등(1984)도 diltiazem이 SHR 랫트에서 동맥손상 및 출혈을 예방하는 효과가 있었다고 하였다. β -glucan은 LDL and VLDL-cholesterol치를 낮추어 줌으로써 LDL에 대한 저해효과로 동맥의 지질침착을 방지하고 동맥의 구조적 변형 및 병변을 예방할 수 있었던 것으로 사료된다.

이상과 같이 동맥경화증을 유발하기 위해 콜레스테롤 40mg/kg과 비타민 D₂, 24만 IU/kg 투여한 랫트에서 diltiazem은 혈청 칼슘치를 저하시킴으로써 동맥의 병변을 억제하였으며, β -glucan은 LDL and VLDL-cholesterol치를 저하시킴으로써 동맥병변을 억제한 것으로 사료된다.

결론

콜레스테롤과 비타민 D₂로 유발된 동맥경화증 랫트에 대한 보리로부터 추출된 β -glucan과 diltiazem의 예방적 효과를 조사할 목적으로 다음과 같이 네개 군으로 나누었는데, 첫째군은 정상군으로, 둘째군은 동맥경화대조군으로 콜레스테롤(40mg/kg)과 비타민 D₂(240,000 IU/kg)을 연속적으로 실험개시 1일부터 4일간 투여한 군으로, 셋째군은 동맥경화증 처치방법외에 diltiazem(60mg/kg)을 7일간 투여한 군으로, 넷째군은 동맥경화대조군치치 방법외에 β -glucan(0.135g/kg)

을 7 일간 투여한 군으로 나누어 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 콜레스테롤과 비타민 D₂ 단독으로 투여한 군에서는 정상군에 비해 혈청 총콜레스테롤, 중성지방, 칼슘·인, 총지방, LDL-cholesterol, 인지질치와 간 총지방치가 유의성 있게 증가하였고 ($p < 0.05$), 동맥은 심한 손상을 받아 탄성막의 굴절, 괴사와 지방침착을 동반하였다.

2. diltiazem 처리군에서는 정상군에 비해 혈청 총콜레스테롤, 총지방, 인지질과 간의 총지방, 중성지방치가 유의성 있게 증가하였으나 ($p < 0.05$), 동맥은 약간의 탄성막 변화 및 지방침착을 관찰할 수 있었다.

3. β -glucan 처리군은 동맥경화대조군에 비해 혈청 총콜레스테롤, LDL and VLDL-cholesterol, 총지방, 인지질, 중성지방치와 간의 총지방치가 유의성 있게 감소하였으나 ($p < 0.05$), 정상군에 비해 혈청 칼슘치는 유의성 있게 증가하였으며 ($p < 0.05$), 동맥에서는 어떠한 변화도 관찰할 수 없었다.

이상의 결과를 종합할 때 콜레스테롤과 비타민 D₂에 의한 동맥의 손상은 diltiazem의 항칼슘길항제 효과와 β -glucan의 LDL과 VLDL cholesterol의 저하효과로 방지된다고 생각된다.

참고문헌

- Anderson, J.W. and Chen, W.L.: Plant fiber, carbohydrate and lipid metabolism. *Am. Clin. Nutr.*, **32** 346-363, (1979).
- Anistchow, N. and Chalatow, S.: Ueber experimentelle cholester-insetase und die Bedeutung für die Entstehung einiger pathogischer Prozesse. *Zebtrable. Allg. Pathol.*, **24** 1-9, (1913).
- Bajwa, G.S., Morrison, L.M. and Ershoff, B.H.: Induction of aortic and coronary athero-arteriosclerosis in rats fed a hypervitaminosis D, cholesterol-containing diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 138-982, (1971).
- Bock, M.A. and Ranhotra, G.S.: Effects of dietary pectin, and calcium on selected lipid parameters in the rat. *Cereal Chem.*, **61** 514-518, (1984).
- Clarkson, T.B., Prichard, R.W., Netsky, M.G. and Lofland, H.B. and Winston-salen, N.C.: Atherosclerosis in pigeons. *Arch. Pathol.*, **68** 143-147, (1959).
- Doi, K., Yasoshima, A., Kitamura, K., Okawa, H. and Okaniwa, A.: Electron microscopic findings of experimental atheromatous lesions in rats. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **45**, 339-346, (1983).
- Einstein, R. and Groff, W.A.: Experimental hypervitaminosis D: Hypercalcemia, hypermucoproteinemia, and metastatic calcification, *Proc. Soc. Exp. Biol., Med.*, **94**, 441-444, (1957).
- Fisher, H. and Grimiger, P.: Cholesterol-lowering effects of pectin grains and of oat fraction in the chick. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **126**, 108-111, (1967).
- Folch, J., M. and Stanley, G.H.S.: A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **26**, 497-509, (1957).
- Fuster, V. and Bowie, E.J.W.: The von willebrand pig as a model for atherosclerosis research. *Thrombos. Haemostas (Stutta)*, **39** 322-327, (1978).
- Geetinger, R. and Sorensen, H.: Complement as a factor in arteriosclerosis. *Acta Path. Microbiol. Scand. Section A*, **78**, 284-288, (1970).
- Ginsberg, R., Davis, K., Bristow, M.R., McKennel, K., Kodsi, S.R., Billingham, M.E. and Schroeder, J.S.: Calcium antagonists suppress atherogenesis in aorta but not in the intramural coronary arteries of cholesterol fed rabbits. *Lab Invest.*, **49**, 154-159, (1983).
- Gillman, J. and Gilbert, C.: Periarthritis and other forms of necrotising angeitis produced by vitamin D in thyroxinised rats with an assessment of the aetiology of those vascular lesions. *Br. J. Exp. Pathol.*, **37**, 584-596, (1956).
- Gillman, T., Grant, R.A. and Hathorn,

- M.: Histochemical and chemical studies of calciferol induced vascular injuries. *Br. J. Exp. Pathol.*, **19**, 1-19, (1960).
15. Goldstein, J.L. and Brown, M.S.: The low density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem.*, **46**, 897-930, (1977).
 16. Gotoh, H.: Effect of trapidil on experimental hyperlipemia and atherosclerosis induced by cholesterol diet in SPE Japanese white rabbit. *Folia Pharmacol. Japon.*, **82** 303-319, (1983).
 17. Ham, A. and Portuondo, B.C.: Relation of serum calcium to pathologic calcifications of hypervitaminosis D. *Arch. Pathol.*, **16**, 1-14, (1933).
 18. Isegawa, N., Doi, K., Mizutani, T., Ozaki, A., Owada, T. and Mitsuoka, T.: Production of experimental arteriosclerosis in spontaneously hypertensive rats, SHR/NCrj. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **46**, 443-451, (1984).
 19. H.O., Kitamura, K., Doi, K. and Okaniwa, A.: Vitamin D₂-induced arteriosclerosis in spontaneously hypertensive rats and protection by diltiazem, a calcium antagonist. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **46**, 323-330, (1984).
 20. Kay, R.M.: Dietary fiber. *J. Lipid Res.*, **23**, 221-241, (1982).
 21. Kramsch, D.M. and Chan, C.T.: The effect of agents interfering with soft tissue calcification and cell proliferation on calcific fibrous-fatty plaques in rabbit. *Cir. Res.*, **42**, 562-571, (1978).
 22. Kritchevsky, D. and Story, J.A.: Binding of bile salts in vitro by nonnutritive fiber. *J. Nutr.*, **104**, 462, (1974).
 23. Kritchevsky, D., Davison, L.M., Kim, H. K., and Krendel, D.A.: Influence of semipurified diets on atherosclerosis in african green monkeys. *Exp. Mol. Pathol.*, **28**, 28-51, (1977).
 24. Kunitomo, M., Takaoka, K., Matsumoto, J., Iwai, H. and Bando, Y.: Experimental induction of atherosclerosis in guinea pigs fed a cholesterol, vitamin D-rich diet. *Folia Pharmacol. Japonica*, **81**, 275-283, (1983).
 25. Luna, L.G.: Manual of histologic staining technique of the armed forces institute of pathology, 3rd ed. McGraw-Hill Co., New York, pp.140-142, (1968).
 26. Mahley, R.W.: Atherogenic hyperlipoproteinemia the cellular and molecular biology fo plasma lipoproteins altered by dietary fat and cholesterol. *Med. Clin. North Am.*, **66**(22), 375-399, (1982).
 27. Miller, W.E., Weinstein, T.E., Kochinsky, C.T. and Steinberg, D.: Interaction between high density and low density lipoproteins between high density lipoproteins during uptake and degradation by cultured human fibroblast. *J. Clin. Invest.*, **60**, 78, (1977).
 28. Okawa, H., Doi, K., Fujita, T. and Okaniwa, A.: Pathology of experimental atherosclerosis: arterial lesions of chronic phase in rats loaded with vitamin D₂ and cholesterol. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **44**, 241-248, (1982).
 29. Okawa, H., Doi, K., Yasoshima, A., Fujita, T. and Okaniwa, A.: Pathology of experimental atherosclerosis: changes of acute phase in rats loaded with vitamin D₂ and cholesterol. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **42** (6), 623-633, (1980).
 30. Palmer, G.H. and Dixon, D.G.: Effect of pectin does on serum cholesterol levels. *Am. J. Clin. Nutr.*, **18**, 437-442, (1966).
 31. Pang, A.S.D. and Minta, J.O.: Inhibition of vitamin D₂-induced arteriosclerosis in rats by depletion of complement with cobra venom factor. *Artery*, **7**, 109-122, (1980).
 32. Parke, D.W., Sacra, P.J. and Thornton, P.C.: Experimental atherosclerosis in the wister rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **63**, 346-347, (1978).
 33. Prentice, N., Babler, S. and Faber, S.: Enzymatic analysis of Beta-D-glucans in cereal grains. *Cereal Chem.*, **57**, 198-202,

- (1980).
34. Quereshi, A., Burger, W.C., Prentice, N., Bird, H.R. and Sunde, M.L.: Regulation of lipid metabolism in chick liver by dietary cereals. *J. Nutr.*, **110**, 388-393, (1980).
 35. Ross, R. and Glomset, J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.*, **295**, 369-377, (1976).
 36. Rifkind, B.M.: Lipid research clinics coronary primary prevention trial: results and implications. *Am. J. Cardiol.*, **54**, 30C-34 C, (1984).
 37. Santerre, R.F., Wight, T.N. Simth, S.C. and Brannigan, D.: Spontaneous atherosclerosis in pigeons. *Am. J. Pathol.*, **67**, 1-22, (1972).
 38. Shih, J.C., Pullman, E.P. and Kao, K.J.: Genetic selection, general characterization, and history of atherosclerosis-susceptible and resistant japanese quail. *Atherosclerosis*, **49**, 41-43, (1983).
 39. Stange, E.F., Alavi, M., Schneider, A., Ditschuneit, H. and Poley, J.R.: Influence of dietary cholesterol, saturated and unsaturated lipid on 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase activity in rabbit intestine and liver. *J. Lipid Res.*, **22**, 47-56, (1981).
 40. Story, J.A.: Dietary carbohydrate and atherosclerosis. *Fed. Proc.*, **41**, 2797-2800, 56, (1982).
 41. Taura, S., Taura, M., Kamio, A. and Kummerow, F.A.: Vitamin D-induced coronary atherosclerosis in normolipemic swine: comparison with human disease. *Tohkyo J. Exp. Med.*, **129**, 9-16, (1977).
foundation of the preventive effect. *Prev.*
 42. Trowell, H.: Definition of dietary fiber and hypothesis that it is protective factor in certain disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, **29**, 417-429, (1976).
 43. Tyroler, H.A.: Cholesterol and cardiovascular disease- an over view of lipid research clinics epidemiologic studied as background for the LRC coronary primary prevention trial. *Am. J. Cardiol.*, **54**, 14C-19C, (1984).
 44. Virag, S., Sebestyen, G., Kovacs, M. and Kapp, P.: Effect of CH-123 on vascular cholesterol deposition in experimental atherosclerosis of rabbit. *Acta Morphol. Acad. Scien. Hung.*, **27**, 37-52, (1979).
 45. Wissler, R.W. Vesselinovitch: The complementary interaction of epidemiological and experimental animal studies -A key *Med.*, **12**, 84-99, (1983).
 46. Wissler, R.W., Kritchevsky, D., Armstrong, M., Mahley, R.W., Bilheimer, D., Minick, R., Hayes, K., Hill, P., Rudel, L. L., Jackson, R. and Swith, E.: Conference on the health effects of blood lipids: Optimal distributions for populations. *Prev. Med.*, **8**, 715-732, (1979).
 47. Yasoshima, A., Okawa, H., Doi, K. and Okaniwa, A.: Early ultrastructural changes of aorta in rats loaded with vitamin D₂ and cholesterol. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **44**, 903-908, (1982).
 48. 高瀬幸子, 栗原長代, 道喜美代: 穀類, 特こ大麥 血漿 ユ레스テロールに及ぼす影響, 營養と食糧. **23**, 426-429, (1969).
 49. 이영순, 이문환: 고콜레스테롤 투여 랫트에 있어서의 보리의 혈장 콜레스테롤 저하효과, 수의대 논문집. **9**, 63-68, (1984).