

Orotic acid 투여가 흰쥐의 혈청, 肝臟 및 腎臟 지질 농도에 미치는 영향

조영수^{1*} · 김석환² · 車載英³

¹동아대학교 농화학과, ²식품영양학과, ³日本佐賀大學應用生物科學科

초록 : Orotic acid의 과잉 섭취는 지질대사의 이상으로 인한 간 장애를 야기시키는 것이 알려져있다. 특히 지방간 생성에 대하여 관심을 가지게 되어서 본 연구는 orotic acid에 의한 혈청, 腎臟 및 肝臟의 지질 농도에 미치는 영향에 대하여 검토하였다. 시판 분말 chow 식이에 orotic acid 1% 첨가, 무첨가한 식이를 21일간 90g 전후의 성장기 Sprague-Dawley 系 웅성 쥐에 급여하였다. 그 결과 orotic acid 1% 첨가 식이에서 혈청cholesterol, triglyceride 및 phospholipid 농도는 각각 5% 수준에서 유의하게 저하 하였다. 肝臟의 triglyceride 농도는 5% 수준에서 유의하게 저하 하였다. Orotic acid 첨가 식이에서 肝臟중량은 증가한 반면 腎臟중량은 저하하였다. Orotic acid 1% 첨가한 군에서 肝臟 및 腎臟의 phospholipid조성에의 영향은 인정되지 않았으나, 腎臟의 lysophosphatidylcholine은 높은 증가율을 보였다. 肝臟 phospholipid와 비교하여 腎臟에서는 sphingomyeline phosphatidylethanolamine은 유의하게 높은 분포를 나타냈다. 腎臟 phospholipid의 지방산 조성중에서 linoleic acid(18:2)가 상승하고 arachidonic acid(20:4)가 감소하였다.(1996년 2월 14일 접수, 1996년 4월 26일 수리)

서 론

Orotic acid는 pyrimidine nucleotide 생합성의 중간 생성물로서 미생물 및 흰쥐의 성장을 촉진시키는 것으로 알려져 있으며, 우유 핵산중의 70%를 차지하고 있으며, 다량 섭취에 의하여 nucleotide와의 평형때문에 肝臟障害 특히 脂肪肝을 야기시키는 것이 알려져 있다.¹⁾ 그리고, orotic acid는 rat의 지방산 합성의 장애 및 cholesterol 合成亢進作用도 보고 되어져 있다.²⁾ 한편 Moorhead 등³⁾은 脂質代謝異常이 慢性進行性腎障害에 영향을 미친다는 보고 이후, 腎疾患의 進展 因子로서 주목 되어 지고 있다. Orotic acid의 과잉 섭취에 의해 肝臟에서는 triglyceride 蓄積, lipoprotein의 生合成 감소가 나타나고, 肝臟에서 全身臟器에 지질을 供給하는 lipoprotein의 合成 分泌도 저해되어진다.⁴⁾ 이러한 肝臟의 脂質代謝異常은 lipoprotein을 개입시켜 肝外組織, 腎臟에 있어서도 細胞膜脂質과 인지질 등의 지질대사에 반영되어진다. 세포막 콜레스테롤/인지질 比의 상승과 함께 구성 지방산의 異常은 膜流動性低下의 結果, 酵素活性和 膜機能에 심각한 영향을 미친다.⁵⁾ 이와 같이 orotic acid에 의해 유발된 脂肪肝의 지질농도 變化, 혈청지질 농도 및 肝外組織, 특히 腎臟脂質組成에 미치는 영향에 대하여 檢討 하였다. 본 실험은 orotic acid 투여에 의한 지방간 유발을 확인함과 동시에 차기 실험으로서 지방간 유발간에 대한 식이 지방산(n-3系)의 영향에 대하여 기초적인 자료를 얻고자 실시 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 실험식이

실험동물로서는 체중 약 90g의 성장기 Sprague-Dawley 系 웅성 쥐를 日本 SLC株(Hamamastu)로부터 구입 하여, 9마리씩 2개군으로 나누었다. 각군의 체중이 거의 균일하게 분배하여 스테인레스 網製의 개별 케이지를 사용하여, 사육온도 22±2°C, 습도 50±5%의 동물 사육실에서 사육하였으며 명암은 12시간 주기로서 07:00시부터 19:00시까지는 明期, 19:00시부터 07:00시까지는 暗期로 하였다. 09:00~10:00시 사이에 식이와 음료를 급여하였으며 이 시기에 식이섭취량 및 체중 증가량 등의 작업을 행하였다. 실험에 사용한 식이는 분말시판용(CE-2)으로서 日本 clea(大阪)로부터 구입하였다. Chow 식이의 조성은 수분 8.7%, 조단백질 24.8%, 조지방 4.4%, 조섬유 3.5%, 조회분 7.0%, 비질소태화합물 51.6%로 구성하고 있다. 분말 chow 식이에 orotic acid 1% 첨가, 무첨가의 2종류로서 rat 실험군을 2군으로 실험식이를 3주간 자유급여 시켰다.

분석시료의 조제 및 분석

Rat를 3주간 사육 시킨후 실험 최종일에 15시간 절식 시킨후 에텔 마취시켜 개복하고, 심장에서 채혈한 후 臟器를 摘出하였고, 생리적 식염수로 충분히 관류하고 분석때 까지 -70°C의 냉동고에 보관 하였다. 채혈한 혈액은 3000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리

찾는말 : Orotic acid, serum, liver, kidney, cholesterol, phospholipid.

*연락처자

혈청 지질 분석에 사용하였다.

(1) 腎臟總脂質추출

腎臟總脂質은 Folch 등의 방법⁶⁾으로 추출 하였다. 즉 腎臟 1g을 15 ml의 chloroform과 7.5 ml의 methanol과 함께 homogenization 시킨후, 37°C에서 30분간 가온 추출하였다. 그후 chloroform:methanol 혼합액(2:1)으로 25 ml로 하여 여과하고, 여액에 4.5 ml의 증류수를 가하여 혼합 시킨후, 3000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 chloroform 층을 회수하였다. 회수한 chloroform층을 질소 가스 하에서 농축응고하여 5 ml의 석유에텔로 다시 용해 시켰다.

(2) Triglyceride 量 정량

Triglyceride 量은 Fletcher의 방법⁷⁾에 준하여 정량하였다. 지질 추출액의 일부를 질소 가스 하에서 건고시킨 후 10 ml의 isopropanol:증류수(9:1) 및 0.2 g의 silica-gel을 첨가후 잘 혼합하여 3000 rpm에서 5분간 원심 분리시켜, 상정액 2 ml에 1M의 KOH 0.6 ml를 가하여 60~70°C의 water bath에서 15분간 가온 시킨후, 3 mM의 m-과요오드산나트륨 1 ml, 아세틸아세톤액 0.5 ml를 가하여 충분히 혼화시켜, 50°C의 water bath에서 30분간 발색 시킨후 방냉하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) Phospholipid 농도 분석

Phospholipid 농도의 분석은 Bartlett 등의 방법⁸⁾에 의했다. 지질 추출액의 일부를 질소 가스 하에서 건고 하여, 0.4 ml의 70% 과염소산을 가하고 160~180°C에서 약 30분간 가열한후, 증류수 4 ml, 5% 몰리브덴산암모늄 0.2 ml 아미돌 시약, 0.2 ml순으로 가하여 끓는물에서 7 분간 반응시킨후 820 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(4) Total-cholesterol 농도

Total-cholesterol 농도는 Sperry and Webb의 방법⁹⁾으로 정량하였다. 지질 추출액의 일부(100 μ)를 질소 가스 하에서 건고후 0.5 ml의 ethanol:acetone(1:1) 냉각후 0.1 % phenolphthalene을 한방울 가하고, 10% 초산용액으로 중화시켰다. 중화후, 10% 초산 1 방울을 가하고, 0.2 ml의 digitonin 용액을 가하여 유리병으로 잘 혼합하였다. 혼합 시키면서 30분 정도 방치하여 유리병을 ethanol:acetone (1:1)으로 세정 시킨후, 암소에서 하루밤 보존했다. 이것을 3000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상정액을 제거시킨후 digitonin 침전물은 에탄올로서 1~2회 세정하였다. 다시 같은 조건 하에서 원심분리하여 에탄올층을 제거시킨후 digitonin침전물을 dry oven에서 건고(110°C, 30分)시켰다. 뜨거울때 0.5 ml의 빙초산을 가하고, 격하게 혼합시켜 침전을 용해시켰다. 다음으로 1 ml의 무수초산:농황산(20:1)혼합액을 가하여 25°C의 수조중에서 가온 발색시켜 정확히 30분 후 620 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(5) Phospholipid 組成量 분석

Phospholipid 組成量 분석은 Skipski의 방법¹⁰⁾으로 분석하였다. 일정량의 腎臟抽出液(무기인으로서 15 μg함유)를 Thin-layer chromatography(alkalic성 silica gel H plate)에 spot하여 전개액 acetone:ether(1:3)로 미리 증성지

질을 충분히 상층까지 전개시켰다. 질소가스 하에서 건고시킨후 다시 chloroform:methanol:acetic acid:D.W (25:15:4:2)으로 같은 방향으로 전개시켰다. 질소 가스하에서 용매를 제거시킨 후 plate 상의 지질을 요오드로 발색시켰다. 각 인지질 분획을 시험관에 옮겨모아 1 ml의 70% 가염소산을 가하고, 160~180°C에서 약 30 분간 가열하였다. 7 ml의 증류수를 가하고, 1 ml의 2.5% 몰리브덴산암모늄, 1 ml의 10% ascorbic acid순으로 가하고 끓는 water bath에서 7분간 반응시켰다. 방냉후 3000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상정액의 흡광도를 820 nm에서 측정하였다.

(6) 혈청지질 분석

혈청 total cholesterol 측정은 cholesterol-G-test wako (Wako Junyaku, Osaka Japan)를 이용하여 cholesterol-oxidase-phenol법에 의하여 측정하였고, 혈청 triglyceride농도는 triglyceride E-test wako(Wako Junyaku, Osaka Japan)를 이용 GPO-DAS법에 의하여 측정하였으며, 혈청 phospholipid는 Pyerdase nissui(Nissui Saiyaku, Osaka Japan)를 이용하여 효소법으로 측정 하였다.

지방산 분석

각 지질분획의 지방산 분석은 Thin-Layer Chromatography(TLC)로서 분리후, 각각의 지질분획을 옮겨모아 sphingomyelin은 염산:methanol(1:5)로서 80°C에서 14 시간 methylation시켰으며¹¹⁾ 다른 phospholipid는 3시간 methylation시켰다. 이렇게 하여 얻어진 지방산 methylester는 GC-14A gas chromatography(Shimadzu, Kyoto Japan)를 사용하여 capillary column(omega wax 320, Supelco, 30 m×0.25 μ)로서 carrier gas는 He gas, Column 온도:180°C, 기화실 온도:250°C, 검출기 온도:260°C에서 행하였다. 비교군간의 유의차 검정은 Duncan's multiple range test를 사용하였다.¹²⁾

결과 및 고찰

Orotic acid 1% 첨가에 의한 rat의 체중증가량, 식이 섭취량, 肝臟과 腎臟의 무게를 Table 1에 나타내었다. 체중증가량 및 사료 섭취량은 차가 인정되지 않았다. 肝臟重量 및 상대 중량은 orotic acid 첨가에 의하여 현저하게 증가(25%)하였다. 그러나 腎臟重量 및 상대

Table 1. Effect of orotic acid on food intake, body weight gain, liver and kidney weight in rats^a

Group	control	orotic acid
Food intake (g/21 days)	275.1 ± 1.7	270.0 ± 2.1
Body weight gain (g/21 days)	85.5 ± 1.4	86.6 ± 1.2
Liver weight (g/100g Body weight)	5.76 ± 0.04	7.20 ± 0.02
Kidney weight (g/100g Body weight)	1.93 ± 0.03	1.69 ± 0.03

^aRats were fed chow diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 21days. These values are the mean ± standard deviations of three independent experiments.

Table 2. Effect of orotic acid on the concentration of lipids in rats^a.

Group	Control	Orotic acid	Change (%of the control)
Serum lipids (mg/dl)			
Total cholesterol	69.32± 1.52	54.84± 1.75	-21
Triglyceride	83.03± 8.90	54.09± 10.10	-35
Phospholipid	45.06± 2.54	28.18± 2.27	-37
Liver lipid (mg/g liver)			
Total cholesterol	2.16± 0.10	1.96± 0.12	-9
Triglyceride	17.45± 1.32	13.83± 0.42	-21
Phospholipid	31.44± 1.06	37.17± 0.61	+18
Kidney lipids (mg/g kidney)			
Total cholesterol	2.34± 0.02	2.30± 0.03	-2
Triglyceride	6.56± 0.27	7.31± 0.85	+11
Phospholipid	25.99± 0.65	28.91± 0.11	+11

^aRats were fed chow diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 21 days. These values are the mean ± standard deviations of three independent experiments.

Table 3. Effect of orotic on the composition of tissues phospholipid in rats^a

(% of total phospholipids).

Group	Liver		Kidney	
	Control	Orotic acid	Control	Orotic acid
Lysophosphatidylcholine	1.15± 0.10	1.52± 0.08	2.86± 0.15	3.20± 0.24
Sphingomyelin	3.70± 0.28	4.56± 0.33	16.08± 0.33	16.25± 0.34
Phosphatidylcholine	52.60± 0.62	52.80± 0.86	43.46± 0.51	41.18± 0.18
Phosphatidyl inositol/serin	12.40± 0.33	12.40± 0.31	4.95± 0.77	4.00± 0.33
Phosphatidylethanolamine	25.50± 0.34	26.30± 0.33	31.01± 0.24	33.42± 0.49
Phosphatidic acid	4.84± 0.07	4.88± 0.33	1.63± 0.09	2.13± 0.05

^aRats were fed chow diets containing with or without orotic acid at the 1% level for 21 days. These values are the mean ± standard deviations of three independent experiments.

중량은 현저하게 감소(12%)되었다. 이러한 결과로부터 기본식이에 orotic acid 1% 첨가에 따라 肝臟과 腎臟에 생리적인 대사 장애를 가져 와서 肝臟이 비대해지고 腎臟이 대조區보다 작아진 것으로 생각되어진다. Table 2에는 orotic acid 1% 첨가에 의한 혈청 및 臟器의 脂質濃度變化를 나타내었다. 혈청지질 농도는 orotic acid 1% 첨가에 의하여 감소하였다. Total-cholesterol, triglyceride, phospholipid 농도에서 5% 수준에서 유의적으로 감소하는 경향이 나타났다. Orotic acid 1% 첨가시 肝臟의 total cholesterol 및 triglyceride 농도는 각각 9, 21%씩 감소하였으나, phospholipid 농도는 18% 증가를 보였다. Orotic acid 첨가에 의한 肝臟肥大에 따라서, 전체 肝臟 무게당 triglyceride, cholesterol 및 phospholipid 量은 각각 33%, 52%, 20% 증가하였다. 腎臟에서는 phospholipid 양이 有意하게(p<0.05)증가 하였지만, 전체 腎臟 무게당 phospholipid 量은 12% 감소하였다. Orotic acid는 pyrimidine nucleotide 생합성의 중간 물질이며, 과잉섭취에 의한 脂肪肝을 유발시킨다는 것이 알려져 있다.¹⁾ Phyllis 등¹³⁾은 高 sucrose 식이에 1% orotic acid 첨가에 의하여 8日째 대조구와 비교하여 肝臟의 triglyceride 농도가 9배, 16日째는 약 20배 정도 증가함을 보고하였다. 이러한 결과에 의하여 혈청 triglyceride 농

도가 저하된 것을 보고하였다. Tokmakjian 등²⁾도 orotic acid 첨가에 의하여 초기에 triglyceride 농도가 감소하였으나 8日째에는 triglyceride 농도가 8배 증가하고, orotic acid 첨가에 의하여 지방간이 유발된 것을 보고 하고 있다. Orotic acid 유발 지방간의 기작의 일부에는 triglyceride 합성효소의 항진에 관여하여 triglyceride 합성의 증가가 관여하고 있는 것이 강하게 시사되었다. 본 연구에서는 orotic acid 첨가에 의한 脂肪肝 誘發이 영양 조건에 의한 영향을 받을 것인가를 검토하기 위하여 sucrose 무첨가의 chow 식이에 1% orotic acid 첨가하여 rat를 사용하여 21일간 실험을 행하였다. 본 실험에 있어서 肝臟 g당의 triglyceride 농도는 21日째 21% 감소하였다. 따라서 이러한 결과는 본 실험과의 식이 조성 차이에서 오는 생리적 변화로 생각되어지며 orotic acid 첨가에 의한 지방간 誘發에는 高 sucrose 첨가등의 영양 조건에 의하여 영향을 받는다는 것이 강하게 시사되어진다. 비교적 단기간의 orotic acid 섭취에 의하여 체중 증가량 및 식이 섭취량에는 차가 인정되지 않았지만, 肝臟, 腎臟重量은 현저한 변화가 인정되었다. 저자들은 최근 1% orotic acid 첨가식으로 사육한 rat 肝臟重量이 전부 증가하는 것을 확인하였다. 이러한 변화에 있어서 肝臟의 기능장애의 하나로서, 肝臟에서의 lipoprotein,

Table 4. Effect of orotic acid on the fatty acid composition of lysophosphatidylcholine(LPC), phosphatidylcholine(PC) and phosphatidylethanolamine(PE) in rats^a

Fatty Acid	LPC		PC		PE	
	Control	Orotic Acid	Control	Orotic Acid	Control	Orotic Acid
16:0	24.9±0.3	15.0±4.4*	33.3±1.0	36.5±0.6*	14.1±0.5	11.7±1.7
18:0	40.2±0.6	46.5±1.1*	14.7±0.4	17.6±0.2*	20.9±0.5	22.6±1.1
18:1 n-9	4.8±0.2	5.6±1.4	7.0±0.3	6.9±0.4	6.3±0.1	7.7±0.1
18:1 n-7	0.8±0.1	1.3±0.8	2.2±0.1	1.8±0.0	1.1±0.4	1.4±0.0
18:2	3.8±0.4	3.7±0.2	9.7±0.4	10.3±0.4	4.5±0.1	6.0±0.5
20:4	19.9±0.8	24.0±1.1*	23.7±1.4	20.7±0.3*	38.3±0.6	36.9±2.5
22:5 n-6	0.6±0.2	0.3±0.3	0.4±0.0	trace	2.0±0.0	0.7±0.3*
22:6	0.1±0.1	trace	1.7±0.1	0.8±0.4	1.0±0.1	1.3±0.7
SFA ¹	65.1	61.5	48.0	54.1	35.0	34.3
MUFA ²	5.6	6.9	9.2	8.7	7.4	9.1
PUFA ³	24.4	28.0	35.5	31.8	45.8	44.9

All values are given as percentages of total fatty acid(Means±SD, n=3). Other minor fatty acids are omitted from the table. *Differs significantly from the control at p<0.05. ^aRat were fed chow diets with or without 1% orotic acid for 21 days. ¹SFA: Saturated fatty acid, ²MUFA: Monounsaturated fatty acid, ³PUFA: Polyunsaturated fatty acid.

Table 5 Effect of orotic acid on the fatty acid composition of kidney sphingomyelin(SPM), phosphatidylinositol plus phosphatidylserine(PI/PS) and phosphatidic acid(PA) in rats^a

Fatty Acid	SPM		PI/PS		PA	
	Control	Orotic Acid	Control	Orotic Acid	Control	Orotic Acid
14:0	0.1±0.0	1.0±0.6	0.1±0.0	2.5±1.6*	0.7±0.2	2.7±0.7
16:0	33.5±2.1	28.9±2.6*	8.3±0.6	23.1±4.7*	12.0±0.1	16.4±2.3*
16:1	0.1±0.0	0.4±0.3	0.1±0.0	4.9±4.3	0.3±0.0	1.6±0.3*
18:0	10.4±0.7	13.3±1.9	37.3±0.1	20.5±0.5*	14.7±0.4	18.2±5.9
18:1 n-9	1.0±0.7	2.0±1.0	2.7±0.3	9.1±0.9*	5.4±0.1	9.7±2.6*
18:1 n-7	0.2±0.0	0.4±0.2	0.7±0.1	3.5±1.5*	2.8±1.1	6.2±3.9*
18:2	0.7±0.1	1.4±0.2*	2.8±0.3	10.3±1.0*	9.4±0.6	23.8±1.0*
20:0	1.6±0.1	1.6±0.2	0.1±0.0	1.2±1.2	0.5±0.2	0.2±0.2
20:3	0.1±0.0	0.6±0.5	1.5±0.1	0.1±0.0	1.1±0.5	0.4±0.2
20:4	4.5±0.2	7.7±0.5*	41.2±1.1	26.6±2.5*	23.7±0.5	11.7±4.6
22:0	4.5±0.2	4.3±0.6	trace	trace	trace	trace
22:5 n-6	2.0±0.2	1.4±0.3	trace	trace	1.1±0.1	0.5±0.3
24:0	24.8±1.6	22.1±1.1	trace	trace	trace	trace
24:1	8.8±0.3	6.1±0.4	trace	trace	trace	trace
26:0	2.7±0.3	2.1±0.0	trace	trace	trace	trace
SFA ¹	78.3	73.3	45.7	44.7	27.9	37.5
MUFA ²	10.1	8.9	3.5	17.4	8.5	17.5
PUFA ³	7.3	11.0	47.3	36.9	39.3	40.4

All values are given as percentages of total fatty acid(Means±SD, n=3). Other minor fatty acids are omitted from the table. *Differs significantly from the control at p<0.05. ^aRats were fed chow diets with or without 1% orotic acid for 21 days. ¹SFA: Saturated fatty acid, ²MUFA: Monounsaturated fatty acid, ³PUFA: Polyunsaturated fatty acid.

특히 very low density lipoprotein(VLDL)의 생합성 혹은 그 분비를 저해하는 것이 알려져 있다.¹⁴⁾ 이러한 肝臟의 지질대사 異常은 lipoprotein을 개입시킨 肝外組織의 세포막 지질과 phospholipid 등의 지질대사에 반영되어진다. 따라서 과잉의 orotic acid를 장기간 사용함에 의해 肝臟만이 아니고 다른 臟器에도 장해를 일으킬 것으로 생각되어져 신장에서의 지질도 분석하였다. 이 腎臟重量變化에 있어서 원인의 하나로서 orotic acid에 의한

인지질이 현저한 변화를 받았기 때문에 인지질 조성의 변화를 검토하였다. Phospholipid 조성에 미치는 orotic acid 첨가는 Table 3에 나타내었다. Orotic acid 첨가군은 대조군에 비하여 肝臟에서의 lysophosphatidylcholine 및 sphingomyelin의 비율이 有意的으로 증가하는 것이 확인되었다. 肝臟의 각 phospholipid 구성성분의 농도는 orotic acid 첨가군에서 거의 같거나 약간의 증가 추세를 보였다. 腎臟에서는 lysophosphatidylcholine, phosphatid-

Table 6. Effect of orotic acid on the proportion of 18:2, 20:3 and 20:4, and the ratio of 20:3+20:4/18:2 of kidney phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in rats^a

Group	Control	Orotic acid
Phosphatidylcholine (%)		
18:2	9.7±0.4	10.3±0.4
20:3	0.8±0.1	1.1±0.1
20:4	23.7±1.4	20.7±0.3
Desaturation index ^b	2.44	2.00
Phosphatidylethanolamine (%)		
18:2	4.5±0.1	6.0±0.5
20:3	0.4±0.0	0.6±0.1
20:4	38.3±0.6	36.9±2.5
Desaturation index ^b	8.51	6.15

^aRats were fed chow diets with or without 1% orotic acid for 21 days. All values are given as percentages of three experiments (Mean ± SD). ^bDesaturation index=[20:3 (n-6)+20:4 (n-6)]/18:2 (n-6).

ylethanolamine 및 phosphatidic acid는 5% 수준에서 유의적으로 증가하였고, phosphatidylcholine 및 phosphatidyl inositol/serine 군은 감소하였고, 肝臟 인지질과 비교할때 腎臟에서 sphingomyelin은 약 4배, phosphatidylethanolamine은 22% 높고, phosphatidylcholine은 17%, phosphatidic acid는 66% 저하를 나타내었다. 생체내의 인지질은 cholesterol과 같이 단백질에 결합하여 생체내의 막구조를 형성한다. 그리고 대사 물질 세포내외로의 수송, 막효소의 합성 발현에 관여하여, lipoprotein 중에서 단백질과 지질과의 가교의 역할을 하고 있는 중요한 성분이다. 肝臟組織에 있어서 인지질은 phosphatidylcholine과 phosphatidylethanolamine이 주요 성분이며, 총인지질의 거의 80%를 점유하고 있다. 腎臟의 주요 인지질은 phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine 및 sphingomyelin으로 총인지질의 90% 이상을 점유하고 있다. 최근, 腎臟의 세포를 이용한 실험에서 sphingomyelin은 성장,¹⁵⁾ 분화,¹⁶⁾ 이온수송,¹⁷⁾ extracellular matrix와 interaction(상호작용)¹⁸⁾ 등의 signal event에 중요한 역할을 하고 있는 것이 보고 되었다. 腎臟의 sphingomyelin은 肝臟보다 4배 정도 많은 것이 특징적이다. 이와 같이 조직의 차이에 의한 인지질 조성의 차이는 인지질분자, 특히 sphingomyelin이 腎臟機能에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 생각되어진다. Creasey 등¹⁹⁾은 orotic acid 투여 1일후 부터 肝臟의 phosphatidylcholine 및 phosphatidylethanolamine 량이 증가하는 것을 보고 하고 있다. 본 실험에서도 orotic acid 첨가군에서 肝臟의 phosphatidylcholine 및 phosphatidylethanolamine의 비율이 적지만 증가하고, 腎臟의 phosphatidylethanolamine도 증가하는 것이 입증되었다. 따라서, 腎臟 인지질 성분에 orotic acid가 어떠한 영향을 미치며, 그 지방산 조성을 조사하여 Table 4와 5에 나타내었다. Orotic acid 첨가에 의한 腎臟의 인지질 조성에 미치는 영향은 인정되지 않았고, 腎臟總脂質에 있어서 인지질이 70% 이상 차지

하고 있기 때문에 구성 지방산에 대해서도 검토 하였다. 인지질의 주요 지방산은 16:0, 18:0, 18:1, 18:2 및 20:4이고 orotic acid 첨가에 의한 영향은 인정되지 않았다. 兩群에서 phosphatidylethanolamine과 phosphatidyl inositol+phosphatidyl serine의 주요지방산 18:0, 20:4가 전지방산의 60%, phosphatidylcholine에는 16:0, 24:0가 약 57%, sphingomyelin에는 16:0, 24:0가 약 58%를 나타내고 있다. 腎臟의 脂肪酸組成은 포화지방산인 16:0, 18:0와 불포화지방산 18:2, 20:4의 비율이 비교적 높았다. 이러한 지방산은 orotic acid 첨가에 의하여 현저한 변동을 나타내었다. Phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidyl inositol+phosphatidylserine, phosphatidic acid에서는 18:2의 비율이 증가하였고 20:4의 비율은 감소하였다. phosphatic acid 및 phosphatidylethanolamine의 20:3+20:4/18:2의 비의 변동을 Table 6에 나타내었다. 20:3+20:4/18:2의 비는 orotic acid 첨가에 의하여 낮은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 orotic acid 1% 첨가에 의한 linoleic acid(18:2)로부터 arachidonic acid로의 鎖長延長反應 혹은 불포화 반응이 억제 되었을 가능성이 시사되었다. 앞으로 triglyceride 합성 효소 및 지방산 합성 효소의 변동과 인지질 합성 효소 활성의 변동을 검토할 예정이다.

감사의 글

본 논문은 1995년도 동아대학교 연구 기초 자료비 지원에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Pottenger, L. A. and G. S. Getz (1971) Serum lipoprotein accumulation in the livers of orotic acid-fed rats. *J. Lipid Res.*, **12**, 450-459.
- Tokmakjian, S. D. and D. S. M. Haines (1985) Early effects of orotic acid upon liver lipid synthesis and bile cholesterol secretion in rat. *J. Lipid Res.*, **26**, 478-486.
- Moorhead, J. F., M. K. Chan and M. El-Nahas (1982) Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulointerstitial diseases. *Lancet*, **2**, 1309-1312.
- Seidel, D. (1987) Lipoproteins in liver diseases. *J. Clin. Chem. Biochem.*, **25**, 541-552.
- Owen, J. S. (1990) Extrahepatic cell membrane lipid abnormalities and cellular dysfunction in liver diseases. *Drug*, **40**, 73-80.
- Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloaner Stanley (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 494-509.
- Fletcher, M. J. (1968) A colorimetric method for estimating serum triglyceride. *Clin. Chem. Acta*, **22**, 393-397.
- Bartlett, G. R. (1958) Colorimetric assay methods for free and phosphorylated glyceric acids. *J. Biol. Chem.* **234**, 446-

- 469.
- Sperry, W. M. and M. Webb (1950) Aversion of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.* **187**, 97-106.
10. Skipski, V. P. (1964) Quantitative analysis of phospholipids by thin-layer chromatography. *Biochem. J.* **90**, 374-378.
11. Philbrick, D. J., V. G Mahadevappa, R. G Ackman and B. J. Holub (1982) Ingestion of fish oil or a derived n-3 fatty acid concentration containing eicosapentaenoic acid(EPA) affects fatty acid compositions of individual phospholipids of rat brain, sciatic nerve and retina. *J of Nutr.* **117**, 1163-1172.
12. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie (1980) Principles and Procedures of Statistics. ; A Biomedical approach. McGraw-Hill Publishing Co., New York.
13. Phyllis, M., M. S. Novikoff, S. Paul, M. D. Roheim, B. Alex, P. H. Novikoff and E. B. S.Diani (1974) Production and Prevention of fatty liver in rats fed Clofibrate and orotic acid diet containing sucrose. *Lab. Inves.* **30**, 732-742.
14. Pottenger, L. A. and G. S. Getz (1971) Serum lipoprotein accumulation in the livers of orotic acid fed rats. *J. Lipid Res.* **12**, 450-549.
15. Hakomori, S. (1990) Bifunction role of glycosphingolipids. Modulator for transmembrane signaling and mediators for cellular interactions. *J. Biol. Chem.* **265**, 18713-18716.
16. Sariola, H., E. Auferheide, H. Bernhard, S. Henke-Fahle, W. Dippold and P. Ekblom (1988) Antibodies to cell surface ganglioside GD3 perturb inductive epithelial-mesenchymal interactions. *Cell.* **54**, 235-245.
17. Cheresch, D. A., M. M Pierschbacher, M. A. Herzig and M. J. Kim (1986) Disialogangliosides GD2 and GD3 are involved in the attachment of human melanoma and neuroblastoma cells to extracellular matrix proteins. *J. Cell Biol.* **102**, 688-696.
18. Spiegel, S., J. Handler and P. H. Fishman (1986) Gangliosides modulate sodium transport in cultured toad kidney epithelia. *J. Cell Biol.* **261**, 15755-15760.
19. Creasy, W. A., L. Hankin and R. E. Hand schumacher (1961) Fatty livers induced by orotic acid, 1. Accumulation and metabolism of lipids. *J. Biol. Chem.* **236**, 2064-2070.

Effect of Ingested Orotic Acid on Serum, Liver and Kidney Lipid Concentration in Rats

Young-Su Cho^{1*}, Seok-Hwan Kim² and Jae-Young Cha³ (¹Dept. of Agricultural Chemistry; ²Dep. of Food & Nutrition, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea; ³Dep. of Applied Biological Science, Saga University, Saga 840, Japan)

Abstract: It was generally known that over-ingestion of dietary orotic acid caused hepatic disorder by the lesion of fatty acid and cholesterol synthesis in rats. The present study was carried out to investigate the effects of dietary orotic acid on the lipid composition of serum, liver and kidney of rats. For the experiments, rats were fed with commercialized chow powder diet in the presence or absence of 1% orotic acid. The prepared diets were fed to male rats (Sprague-Dawley strain, 90~100 g of body weight) for 21 days. According to the results, orotic acid treated group showed that each concentration of serum cholesterol, triglyceride and phospholipid was significantly decreased ($p < 0.05$). The concentration of liver triglyceride was significantly decreased ($p < 0.05$). In the presence of 1% orotic acid, the weight of liver increased while that of kidney decreased. The treatment of orotic acid seemed to have no effects on the phospholipid composition in liver and kidney, except the kidney lysophosphatidylcholine. In the comparison of the phospholipid composition between liver and kidney, the levels of sphingomyeline and phosphatidylethanolamine in the kidney were higher than those in the liver. Among the composition of fatty acid in kidney, the concentration of linoleic acid (18:2) was increased, and the concentration of arachidonic acid (20:4) was decreased with the addition of the orotic acid.

*Corresponding author