

## 다시마섭취가 정상과 당뇨쥐의 비장세포 증식에 미치는 영향\*

조성희 · 양경미 · 배복선 · 임선아 · 유리나\*\*

대구효성가톨릭대학교 가정대학 식품영양학과, 울산대학교 식품영양학과\*\*

### Effect of Sea Tangle Intake on Proliferation of Splenocytes from Normal and Diabetic Mice

Cho, Sung-Hee · Yang, Kyung-Mi · Bae, Bokson · Im, Suna · Yu, Rina\*\*

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung,  
Kyungbuk 712-702, Korea

Department of Food and Nutrition, Ulsan University, Ulsan 680-749, Korea\*\*

#### ABSTRACT

To investigate the effect of sea tangle on immune function in normal and diabetic states, 10-week old ICR mice were fed control(C) and sea tangle(S) diets containing 5%(w/w) cellulose and 13.6%(w/w) dry sea tangle for 4 weeks. After 4 weeks, three quarters of mice(CD and SD) were made diabetic by intramuscular injection of streptozotocin(150mg/kg bw). On the 4th day after diabetes was apparent by urinary glucose, one third of diabetic mice(CDG and SDG) were treated with glipizide(20mg/kg bw) and the other third(CDM and SDM) with metformin (500mg/kg bw) orally. Spleen weights of diabetic mice with no hypoglycemic drug treatment appeared to be higher in the sea tangle group(SD) than in control(CD), but were not different when drugs were administered. Data on splenocyte proliferation stimulated by lipopolysaccharide from *Salmonella abortus equi*(0.1µg/ml) showed that sea tangle increased mitogen response in normal mice(C group vs S group) and appeared to have the same effect in diabetic mice with or without drug treatment. Splenocyte proliferation induced by concanavalin A(0.1µg/ml) also showed similar results, although there were not statistically significant. Concentration of interleukin-2(IL-2) released from splenocytes of the S group seemed higher than from the C group, but the IL-2 concentrations were not different among six diabetic groups. Results of fatty acid compositions of splenocyte phospholipids showed that diabetes reduced arachidonic acid/linoleic acid ratios and that sea tangle intake and glipizide treatments increased contents of polyunsaturated fatty acids. It is concluded that dietary sea tangle has a positive effect on splenocyte proliferation under normal condition and could have the same effect under diabetic conditions. IL-2 appears to be one of factors mediating the effect but involvement of membrane fatty acid changes and other unknown factors needs further investigation. (*Korean J Nutrition* 31(6) : 973~980, 1998)

**KEY WORDS** : sea tangle, diabetes, splenocyte proliferation, IL-2, fatty acid composition.

---

채택일 : 1998년 6월 1일

\*This research was supported by grants(96-0402-0901-3) from Korean Foundation of Science and Technology.

## 서 론

식품의 일차 기능은 영양소의 공급이라고 할 수 있으나 최근에 와서는 식품 성분들의 기존적 영양 역할 외에 여러 생리작용에 다양하게 작용할 수 있다는 연구들이 많이 보고되면서<sup>1)2)</sup> 식품의 기능을 단순히 영양소 공급에서 더 나아가 특정 기능들의 증진효과에 관심이 모아지고 있다.

체내 면역 기능은 생명유지와 건강에 가장 기본적인 작용이며 면역 기능의 장애는 많은 질환의 발생과 관련되어 있다. 우리나라 인구의 2% 이상, 65세 성인의 6.5% 이상의 유병율을 보이는 당뇨병은 원인과 결과가 있어 면역기능의 이상을 수반하고 있다. 제1형 당뇨병의 주요인이 자가 면역이라는 것이 잘 알려져 있으며 제2형도 병의 진전에 따라 면역 체계에 이상이 생겨 제1형과 혼합되는 수가 많다<sup>3)</sup>. 면역이상의 기전으로 인슐린 의존형 당뇨병의 경우, 췌장의 interferon(IFN)- $\gamma$ <sup>4)</sup>, 혈청 interleukin(IL)-2, tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ <sup>5)6)</sup>의 증가가 보고되었고, 비만성 인슐린 비의존성 당뇨병의 경우에는 지방세포에서 TNF- $\alpha$  mRNA와 단백질의 과잉생산<sup>7)</sup>, intraperitoneal macrophage의 활성 증가<sup>8)</sup>가 보고되었다. 한편 streptozotocin(STZ)로 유도된 당뇨쥐에서 delayed type hypersensitivity(DTH), plaque-forming cell(PFC) activity 등의 면역기능이 저하됨을 보고된 바 있으며<sup>9)</sup> 간과 비장에서 IL-1 $\beta$ 이 저하되었다고<sup>10)</sup> 보고한 바 있다. 뿐만 아니라, 당뇨시 혈당강하제로 복용되는 약물들을 장기간 사용하여 면역기능의 약화를 초래할 수 있을 것으로 보인다. 따라서 당뇨에서의 혈당 조절뿐 아니라 면역능의 강화가 매우 중요한 문제다. 혈당조절을 위하여 당뇨식은 주로 열량과 탄수화물 제한하고 있는데 면역능을 강화할 수 있는 식품을 밝혀 식단에 활용하는 것이 필요하다. 해조류는 수용성 섬유소를 많이 함유하고 있으며<sup>11)</sup> 주 섬유소는 alginic acid로<sup>12)</sup> 알려져 있다. 다시마를 섭취시킨 당뇨동물<sup>13)</sup>과 당뇨병 환자<sup>14)15)</sup>에게서 혈당 및 혈청 지질의 저하가 관찰되어 당뇨 환자 관리에 우수한 식품임을 입증한 바 있다. 이러한 효과는 alginic acid와 기타 수용성 섬유소의 bile acid 결합력에 기인하는 것으로 보인다<sup>12)</sup>. 또한 이러한 해조류는 면역능을 강화 한다고 보고된 여러 종류의 carotenoid와 xanthophyll등<sup>16)</sup>이 함유되어 면역 증진 효과가 기대된다. 그러나 해조류를 이용한 당뇨실험은 주로 탄수화물과 지질대사에 국한되어 있고, 면역기능에 대하여는 조사된 바가 적다. 따라서 본 연구에서는 다시마 식이가

STZ로 당뇨가 유발된 쥐(mouse)의 비장세포 증식능을 조사하고 이에 관련된 요인들을 분석하고자 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험식이 및 동물의 사육

다시마는 대구시 신암동 소재 수산업 협동조합을 통해 포항산 75kg을 일괄 구입한 후, 흐르는 물에 몇번 씻어 소금기를 제거하고 일광하에 건조하였다. 이 다시마를 제차 열풍건조하여 분쇄하여 30mesh의 분말을 실험식이 조제에 사용하였다.

실험식은 AIN-76 diet를 기본으로 하여, 섬유소원으로 cellulose를 함유하는 대조식이(control)와 다시마를 첨가하는 실험식이(sea tangle)로 조제하였다. 식이성분인 casein, cellulose, vitamin mix, mineral mix, DL-methionine 및 cholinbitartarate는 미국 Teklad(WI, USA)사 제품을 사용하였고, corn starch는 삼양제넥스사 제품을 사용하였고, sucrose와 corn oil 및 lard는 시중에서 구입하였다. 대조식은 100g 당 cornstarch 15, sucrose 50, casein 20, corn oil 1.7, lard 3.3 cellulose 5, vitamin mix 1, mineral mix 3.5, DL-methionine 0.3, choline bitartarate 0.2g으로 구성되었다. 실험식은 cellulose 5g 대신 다시마분말을 15g 첨가하여 총량을 110g 당으로 하였고 110g 내의 다른 성분의 양은 대조식이 100g 조제시와 같은 양이었다. 다시마분말 15g 첨가는 다시마 건조중량의 1/3이 섬유소임을 고려하여 두 종의 식이의 섬유소 함량을 유사하게 하기 위함이었다. 이렇게 조제된 두 종류의 식이는 체중 35~40g의 숫 ICR mouse(대한실험동물센터)에게 주어 4~6주를 사육하였다.

### 2. 당뇨유도와 혈당강하제 투여

대조식이나 실험식으로 4~6주 사육한 쥐들을 각각 C군, S군으로 명명하고 이들 중에 당뇨를 유도시킨 동물들을 각각 CD, SD군으로 명명하며 당뇨 유발 후 혈당강하제인 glipizid(G, 동아제약)와 metformin(M, 대웅제약)을 투여한 동물들을 CDG, SDG와 CDM, SDM으로 명명하였다. 총 8종류의 실험군의 조건은 Table 1에 요약되어 있으며 각 군에는 8~10마리의 쥐로 구성되었다. 당뇨유발은 streptozotocin(STZ, Sigma Chemical Co. MO, USA)을 0.01M citrate buffer(pH 4.2)에 녹여 쥐에게 150mg/kg BW의 수준으로 대퇴부 근육주사로 유발시켰다. 당뇨 확인은 STZ 투여 후 1~2일에 뇨당 test로 시행하였고 꼬리 혈액의

**Table 1.** Conditions of 8 experimental mouse groups

Experimental Group	Diet	Diabetes induced by streptozotocin	Hypoglycemic drug
C	Control	None	None
S	Sea tangle	None	None
CD	Control	Diabetes	None
SD	Sea tangle	Diabetes	None
CDG	Control	Diabetes	Glipizide
SDG	Sea tangle	Diabetes	Glipizide
CDM	Control	Diabetes	Metformin
SDM	Sea tangle	Diabetes	Metformin

공복시 혈당이 180mg/dl 이상일 경우 당뇨로 간주하여 사용하였다. 혈당강하제 투여는 당뇨를 확인한 후 4일 경과되었을 때, glipizide는 20mg/kg BW, metformin은 500mg/kg BW를 경구로 6일간 투여하였다. 비당뇨군(C, S군)은 일정기간의 식이 후, 모든 당뇨군(CD, SD, CDG, SDG, CDM, SDM군)은 당뇨 유발후 10일 후에 희생시켰으며 비장과 간장을 적출하였다.

### 3. 비장세포 증식능

무균상태에서 적출한 mouse 비장을 glass pestles로 문질러 세포를 유리시킨 다음 sodium bicarbonate(2.2g/L, Sigma Chemical Co.)와 penicilline-streptomycin(100mg~100,000 units/L, Gibco, MD, USA), gentamycin(20mg/L, Gibco)를 포함하는 Eagle's minimum essential medium(EMEM, Gibco)과 함께 cell dissociation sieve를 이용하여 50mesh screen에 통과시켜 debris를 제거하였다. 그 후 즉시 멸균 tube에 옮겨 1500rpm에서 15분간 원심분리하여 세포를 분리한 다음, 적혈구를 제거하기 위해 0.2% NaCl을 1 ml 첨가하여 가볍게 혼합한 후 원심분리하여 다시 비장세포를 모았다. 비장세포를 EMEM으로 3회 세척한 후, 불활성화 시킨 fetal calf serum을 5% 함유하는 EMEM에 분산시켜 0.4% trypan blue로 세포의 viability를 확인하였다. 그 후, 5×10<sup>6</sup> cell/ml의 세포농도로 분산시켜 100µl 씩 96-well microtiter plate에 plating 한 다음 *Salmonella abortus equi* lipopolysaccharide(LPS : 0.1µg/ml, Sigma Chemical Co.), concanavalin A(ConA : 0.1µg/ml, Sigma Chemical Co.)를 함유한 EMEM 100µl를 첨가하여 5% CO<sub>2</sub>와 95% air 상태로 37℃에서 72시간 배양한다. 배양이 끝난 후 1500rpm에서 5분간 원심분리 한 다음 상등액은 interleukin-2(IL-2)를 측정하기 위해 취하고, 남은 세포들을 MTT법으로 정량하였다. 즉, 20µl MTT(5mg/ml PBS buffer)를 각 well에 첨가하여 37℃에서 4~6

시간 동안 배양한 후, 1500rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 버린 다음 0.04 N HCL/isopropanol 100 µl 씩을 넣고 잘 혼합한 후 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4. 비장세포의 IL-2 분비

각 실험군에서 분리한 비장세포를 3항에서와 같이 3일간 배양한 액을 IL-2를 측정 시료로 사용하였다. IL-2는 monoclonal anti-mIL-2로 pre-coating된 96-well microtiter plate를 이용하여 polyclonal antibody sandwich 방법으로 측정하는 Intertest-2X(Genzyme, Cambridge, USA) immunoassay kit를 사용하여 450nm에서 측정하였다.

### 5. 비장세포의 지방산 분석

비장세포를 CHCl<sub>3</sub>/methanol(2/1) 혼합액으로 지질을 추출한 후, thin layer chromatography(petroleum ether/ethyl ether/acetic acid : 90/10/1)로 인지질을 분리하여 CHCl<sub>3</sub>/methanol(1/1)으로 추출하여 지방산 분석 시료로 사용하였다. 시료를 14% BF<sub>3</sub>/methanol로 시료의 지방산을 methylation 한 후<sup>17)</sup>, gas chromatography(Varian Star 3400)로 분석하였다. 이때 사용한 column은 Supelcowax™ 100 fused silica capillary column(60m, 0.32mm ID, 0.25µm film thickness)였고, injection과 detector 온도는 250℃, oven 온도는 초기 150℃에서 1분간 둔 후, 2/min으로 상승하여 190℃에 도달하였을 때 다시 1분간 두고, 4℃/min으로 다시 승온한후 220℃ 도달후 3분간 지속한후 종료하였다. 결과의 peak는 Nu Chek(Nu Chek Prep, Inc. MN, USA) GLC standard #96을 표준품으로 사용하여 동정하였다.

### 6. 통계처리

실험결과는 평균과 표준오차로 표시하였으며 실험군간의 통계적 유의성 검정은 ANOVA와 Student's t-test를 사용하였고 ANOVA의 경우 실험군간의 차이는 Tukey test를 시행하였다.

## 결 과

### 1. 당뇨 유발에 따른 실험군들의 체중 및 혈중 glucose 농도

당뇨를 유발하기 전 4주간 다시마 식이를 섭취한 mouse들은 cellulose를 첨가식이를 섭취한 대조군 사료 섭취량이 거의 같았지만(하루 4.89g과 4.88g) 체중 증가량이 1.53g/day로 대조군의 1.31g/day에 비해 16.

8%나 높아 높은 사료효율을 보였다. Streptozotocin (STZ) 투여한 후 1~3일 사이에 뇨 반응이 나타났으며, 다시마 공급군이 cellulose 공급군에 비해서 뇨 반응이 약하면서도 늦게 나타나고 STZ 처리시 26마리 중에 5마리가 죽어 14%의 치사율을 보인 반면에 섬유소 공급군은 심한 뇨당 반응과 28마리 중에서 9마리가 죽는 24%의 높은 사망율을 보였다. 따라서 cellulose에 비해서 다시마의 성분 중에 당뇨에 대한 저항력을 나타내는 물질이 존재하는것으로 여겨진다. 그러나 Fig. 1에 나타난 바와 같이 당뇨 유발로 모든 실험군의 체중이 감소하였으며 당뇨 4일 쯤부터 10일까지 혈당강화제 glipizide와 metformin을 경구 투여하였는데도 체중도 계속 감소하여 당뇨 10일째에는 5.33~9.91g의 체중 감소가 있었다. 당뇨에 의한 혈당 상승은 Fig. 2에서 보는데로 비당뇨군인 C, S군은 140~160mg/dl를 유지한데 비하여 당뇨군은 300~500mg/dl에 달하였고 혈당강화제 투여로 감소되지 않았다. 이는 STZ에 의한 췌장손상이 지속되는 상태에서 투여하여 효과가 없었던 것으로 추정되며 장기간 당뇨가 진행된 상태에서의 효과에 대하여 다시 조사해 볼 필요가 있다고 사료된다. CDG, SDG로 배정된 동물들에서 혈당상승이 적었는데

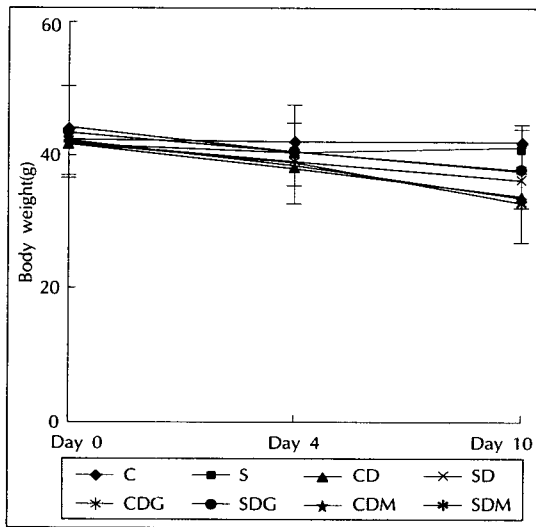


Fig. 1. Body weight changes of experimental groups after streptozotocin injection. Values are means of 9 - 10 mice  $\pm$  SE. Eight experimental groups were categorized according to Table 1. C and S are normal groups with control and sea tangle diets. CD, SD, CDG, SDG, CDM, SDM are diabetic groups with control(C) and setangle(S) diets. Four and ten day are periods after streptozotocin injection(150mg/kg bw) to six groups of mice with 'D' and at 4th day CDG and SDG groups were treated with glipizide (20mg/kg bw) and CDM and SDM with metformin (500mg/kg orally).

이들의 체중 감소도 당뇨군에서 적었던 것으로 보아 당뇨의 심각성이 체중에 영향을 미치는 것으로 보인다.

## 2. 비장 무게와 mitogen에 의한 비장세포 증식능

Table 2에는 각 실험군의 비장 무게와 체중에 대한 비율이 나타나 있다. Table에서 보는 바와 같이 군간에 유의한 차이가 크지는 않았으나 C군은 당뇨로 인하여 (CD군) 비장 중량이 감소하는 경향을 보인 반면 다시마를 섭취한 쥐들은 당뇨유발로(S군 대 SD군) 중량이 감소하지 않았다. Glipizide를 투여한 군들(CDG, SDG

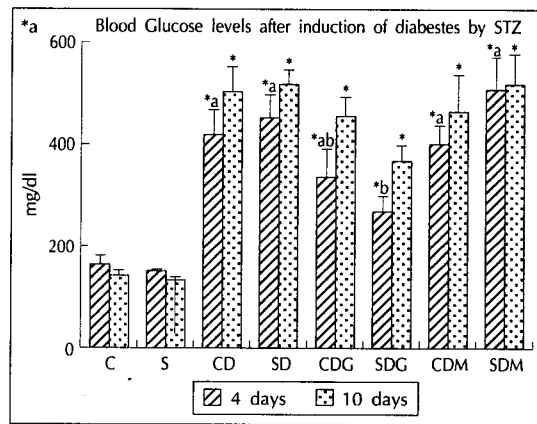


Fig. 2. Blood glucose levels of experimental mice groups after streptozotocin injection and hypoglycemic drug administration. Eight experimental groups were categorized according to Table 1. Four and ten day are periods after streptozotocin injection(150mg/kg bw) to six groups of mice with 'D' and at 4th day CDG and SDG groups treated with glipizide(20mg/kg bw) and CDM and SDM with metformin(500mg/kg bw) orally. Values are means of 9 - 10 mice  $\pm$  SE and those with asterisk(\*) and with different alphabets are significantly different from C and S and within diabetic groups at  $p < 0.05$ .

Table 2. Spleen weights of eight experimental mouse groups

Experimental group <sup>1)</sup>	Spleen wt(g)	g per 100g BW
C	0.143 $\pm$ 0.014 <sup>2a</sup>	0.348 $\pm$ 0.038 <sup>2b</sup>
S	0.145 $\pm$ 0.011 <sup>a</sup>	0.363 $\pm$ 0.029 <sup>2b</sup>
CD	0.109 $\pm$ 0.006 <sup>b</sup>	0.324 $\pm$ 0.022 <sup>b</sup>
SD	0.143 $\pm$ 0.014 <sup>a</sup>	0.401 $\pm$ 0.043 <sup>a</sup>
CDG	0.157 $\pm$ 0.017 <sup>a</sup>	0.415 $\pm$ 0.040 <sup>a</sup>
SDG	0.133 $\pm$ 0.011 <sup>a</sup>	0.341 $\pm$ 0.027 <sup>2b</sup>
CDM	0.105 $\pm$ 0.009 <sup>b</sup>	0.315 $\pm$ 0.019 <sup>b</sup>
SDM	0.119 $\pm$ 0.009 <sup>2b</sup>	0.345 $\pm$ 0.025 <sup>2b</sup>

- 1) Experimental groups were categorized according to Table 1.
- 2) Values are means  $\pm$  SE and those with different superscripts within a column are significantly different each other at  $p < 0.05$ .

군)이 metformin을 투여한 군들(CDM, SDM군) 보다 다소 비장이 큰 경향을 보였다.

Fig. 3은 각 실험군에서 분리한 비장세포를 LPS와 ConA 두종류의 mitogen으로 첨가하여 3일 배양한 후 증식촉진을 관찰한 결과를 나타낸 것이다. 전반적으로 LPS에 의한 증식 촉진이 ConA보다 컸다. 비당뇨인 동물에서 LPS를 mitogen으로 사용한 경우, 다시마식이어서 세포증식 촉진이 잘 나타났다. 당뇨의 경우에, CD군에 비하여 SD군이, CDM군에 비하여 SDM군에서 mitogen response가 약간 촉진되는 경향이었으나 통계적인 유의성은 없었다. LPS가 첨가된 조건에서 당뇨군들을 합하여 세포 증식에 대한 다시마 섭취 효과를 비교하여 t-test를 시행하였을 때,  $p=0.134$ 로 유의성은 없었으나 증식 상승 경향을 보여 준다고 하겠다. 뿐만 아니라, glipizide를 투여한 군이 CD/SD군이나 metformin을 투여한 군(CDM/SDM) 보다 증식촉진이 낮았다. Glipizide투여로 인한 비장의 기능저하가 Table 2의 결과에 나타난 비장중량의 변화를 수반하였는지가 주목된다.

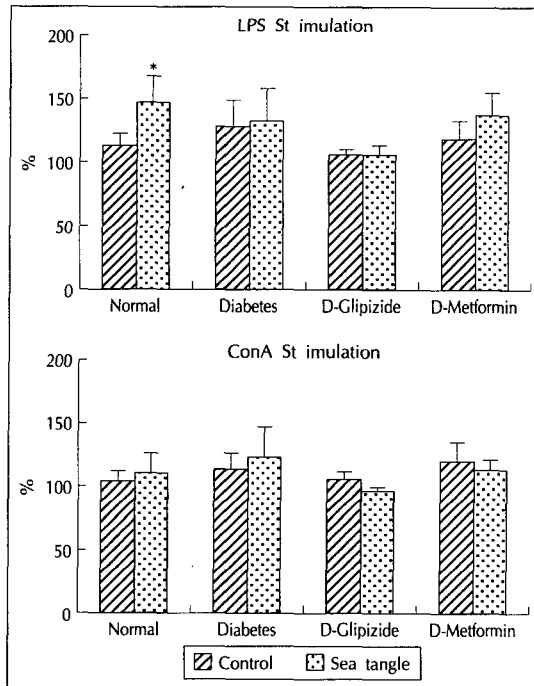


Fig. 3. Effect of sea tangle diet on the proliferation of splenocytes with LPS and ConA. Values are means of 6-8 experiments  $\pm$ SE and \* represents a significant difference from control at  $p < 0.05$ . Diabetes was induced after 4 week of experimental diets by injection of streptozotocin(150mg/kg bw). D-Glipizide and D-Metformin groups were treated with glipizide (20mg/kg bw) and metformin(500mg/kg bw) orally from 6 days after 4 days of diabetic state.

### 3. 비장세포의 IL-2 분비

IL-2는 T-세포를 활성화시킨다고 알려져 있어 그 생성이 비장세포의 증식과 관련이 있으리라고 추정하였다. LPS를 배지에 첨가하여 3일 배양한 비장세포에서 분비된 IL-2의 양이 실험군별로 Table 3에 나타나 있다. 비당뇨군에서 다시마식을 섭취한 S군이 대조군 C에 비하여 IL-2의 분비가 증가되어, S군의 비장세포 증식 증가(Fig. 3)가 IL-2가 관련되고 있다는 것을 보여 주고 있다. 그러나, 당뇨군의 비장세포에서 IL-2 분비는 다시마식이나 약물에 의하여 영향을 받지 않았다. 따라서 당뇨군의 비장세포 증식에서 다시마식에 의하여 약간 증가되는 현상은 이 IL-2가 아닌 외에 다른 요인이 작용하는 것으로 사료된다.

### 4. 비장세포와 간조직의 인지질 지방산 구성

Table 4에는 비장세포에서 분리된 인지질의 지방산 조성을 나타내었다. 약물투여군 중 metformin 투여군의 분석이 잘 이루어지지 않아 비당뇨군에서 C군과 S군, 당뇨/약물 비투여군 CD군과 SD군, glipizide를 투여한 CDG군과 SDG군 등 총 6 실험군의 결과에서 확인된 주요 지방산만을 제시하였다. 지방산 함량에 대한 군간에 차이가 보이는 하였으나 일관성 있게 보이는 결과는 당뇨쥐(군명에 D가 들어간 실험군)들의 arachidonic acid(AA, C20:4n-6)의 함량이 정상쥐(C와 S군)에 비해 대체로 낮은 것과 다시마식으로 총다불포화지방산 함량이 증가되는 경향이였다. Arachidonic acid는 체내에서 전구체인 linoleic acid(LA, C18:2n-6)로부터 elongation-desaturation 과정을 통하여 생성되므로 이들간의 비율 C20:4/C18:2는 당뇨에 의하여 낮아짐을 보여 주고 있다. 당뇨쥐에서 다시마식으로 C20:4/C18:2의 비율의 변화가 전혀 없었으나 glipizide를 투여하였을 때 그 비율이 상승하는 경향을

Table 3. IL-2 production of cultured splenocytes from eight experimental groups

Experimental Group <sup>1)</sup>	IL-2(pg/ml)
C	27.17 $\pm$ 3.73 <sup>2)NS</sup>
S	34.20 $\pm$ 4.69
CD	29.57 $\pm$ 3.80
SD	28.40 $\pm$ 4.07
CDG	28.71 $\pm$ 1.78
SDG	29.60 $\pm$ 2.16
CDM	32.43 $\pm$ 4.01
SDM	27.71 $\pm$ 2.86

1) Experimental groups were categorized according to Table 1. Splenocytes isolated from each group of mice were cultured for three days in EMEM containing 0.1  $\mu$ g/ml LPS.

2) Values are means  $\pm$  SE and are not significantly(NS) different each other.

**Table 4.** Fatty acid compositions of spleen cell phospholipids from six experimental groups

Fatty acid	Groups <sup>1)</sup>					
	C	S	CD	SD	CDG	SDG
16 : 0	18.55±0.44 <sup>2)</sup>	18.63±1.11	20.03±0.74	20.50±2.11	18.44±1.51	20.67±2.05
18 : 0	23.60±1.06	22.47±1.02	22.67±0.42	24.83±1.01	20.93±1.75	21.02±1.16
18 : 1	12.11±0.22 <sup>a</sup>	14.77±1.18 <sup>b</sup>	15.43±1.43 <sup>b</sup>	10.82±1.44 <sup>a</sup>	11.12±0.85 <sup>a</sup>	11.67±0.33 <sup>a</sup>
18 : 2n-6	10.30±0.40 <sup>a</sup>	13.27±0.29 <sup>b</sup>	10.42±0.46 <sup>a</sup>	13.72±0.47 <sup>b</sup>	11.67±0.43 <sup>ab</sup>	11.54±0.63 <sup>ab</sup>
20 : 4n-6	18.55±0.47 <sup>a</sup>	22.13±1.36 <sup>b</sup>	13.83±1.05 <sup>c</sup>	18.01±0.75 <sup>a</sup>	22.41±1.92 <sup>b</sup>	19.67±1.10 <sup>ab</sup>
22 : 6n-3	3.10±0.30 <sup>a</sup>	3.23±0.55 <sup>a</sup>	3.71±0.25 <sup>a</sup>	3.30±0.14 <sup>a</sup>	5.11±0.77 <sup>b</sup>	4.61±0.42 <sup>b</sup>
20 : 4/18 : 2	1.81±0.07 <sup>a</sup>	1.68±0.20 <sup>ab</sup>	1.41±0.05 <sup>bc</sup>	1.30±0.03 <sup>c</sup>	2.07±0.17 <sup>a</sup>	1.52±0.05 <sup>b</sup>
PUFA	31.95±1.09 <sup>a</sup>	38.63±2.05 <sup>b</sup>	27.96±1.61 <sup>c</sup>	35.03±0.91 <sup>b</sup>	39.19±2.82 <sup>b</sup>	35.82±2.60 <sup>b</sup>

1) Experimental groups were categorized according to Table 1.

2) Values are means±SE and those with different superscripts within a column are significantly different each other at  $p < 0.05$ .

볼 수 있었다. 뿐만 아니라, glipizide 투여로 n-3 다불포화지방산(C22 : 6)의 함량이 증가되었다.

## 고 찰

영양과 면역의 관계에서 초기에는 protein-energy malnutrition에 의한 항체생성 감소 등에 의한 면역능 저하가 주요 문제로 대두되었으나, 근래에 들어서는 특정영양성분의 과소 또는 영양소간의 균형, 또는 영양소로 분류되지 않는 식품내의 여러 성분등에 의한 면역능의 변화가 관심을 끌고 있다. 갈조류에 속하는 다시마 (*laminaria japonica*)는 Ca를 다량 함유할 뿐 아니라<sup>18)</sup> Fe, Zn와 같은 미량원소<sup>19)</sup>와 비타민 B군과 C 및 carotenoid<sup>18)</sup>도 상당량 함유되어 있다. 그러나 다시마의 식품영양학적 특성은 건조중량의 30% 이상이 되는 식이섬유의 작용으로 주로 설명되고 있다. 대표적인 다당류 식이섬유 성분인 alginic acid외에도 다시마에는 중성다당류인 laminaran과 함황 산성 다당류인 fucoidan을 포함하고 있다<sup>20)</sup>. 따라서 alginic acid가 소화관 내에서 점성 gel을 형성하여 영양소흡수를 지연하고 담즙산과 결합하여 혈당 및 혈청 지질을 저하시키는 작용 이외에 난소화성당류들의 화학적 특성에 따른 생리효과도 기대할 수 있다. 이러한 측면에서 다시마 섭취가 방사능으로 조사된 쥐의 감염을 예방할 수 있었다는 결과<sup>21)</sup>와 다시마에서 추출한 당단백질이 sarcoma-180을 주사한 쥐에서 암 발생을 낮추었다는 보고<sup>22)</sup>는 흥미롭다. 본 실험에서 다시마식이군들의 mitogen에 대한 비장세포 증식능이 대체로 높았는데 이는 다시마 성분의 기존에 알려진 작용외에 새로운 기능이라고 생각된다. 비장세포 증식에 있어 비당뇨군에서 효과가 뚜렷한 반면 당뇨군들에서는 그 차이가 적었다. 이는 실험적으로 유도된 심한 당뇨 상태로 하나의 원인이라고 생각된다. Mouse에서 streptozotocin으로 당뇨를 유도할 때 한

번에 140mg/kg bw을 투여하는 방법<sup>9)</sup>과 40mg/kg bw의 소량으로 반복 투여하는 방법<sup>23)</sup>이 있는데, 실험적으로 각각 장단점이 있어 본 실험에서는 한번 과량 투여하는 방법을 택하였다. 예비실험에서 140mg/kg bw 투여로 뇨당이 검출되지 않은 동물이 많아 150mg/kg을 투여하였다. 이로 인하여 당뇨의 상태가 심화된 것으로 사료되며 따라서 면역계가 기본적으로 많이 저하되어 식이효과가 적었을 것으로 생각된다. 본 실험에서 규명하고자 하였던 당뇨에서의 식이효과를 조사하기 위하여 차후 경증의 당뇨를 유발하는 방법이나 유전적인 당뇨동물을 사용하여 확인하는 것이 필요하다고 사료된다. Mitogen response가 적었던 것은 본 실험에서 예비실험을 통하여 적당하다고 판단된 0.1µg/ml의 LPS와 ConA의 농도가 타 논문들<sup>24)25)</sup>에서 사용한 0.5~5µg/ml에 비하여 낮은 것도 또 다른 요인일 가능성이 있다. Mitogen 농도와 비장세포 배양기간에 따른 증식능을 재검토할 필요가 있다고 생각된다.

식이성분으로 비장세포의 mitogen response를 증가시킨다고 보고된 것은 tocopherol, tocotrienol 등의 비타민 E로서 in vivo의 식이효과<sup>24)26)27)</sup>와 in vitro 첨가 효과<sup>25)</sup>가 보고되었다. 특히 in vivo에서의 효과는 발암과정의 억제<sup>24)</sup>나 알콜로 저하된 면역능을 회복시키는 관점<sup>27)</sup>에서 많이 이루어졌다. 지방산의 세포증식에 대한 연구에서 기본적으로 n-6와 n-3 다불포화지방산이 세포성장에 필요한 수준으로 존재한다면 포화지방산에 비하여 임파구 증식을 촉진하지만 과량으로 존재하거나 조직에 따라 억제하는 결과를 보인다<sup>28)</sup>. 다시마 성분 중에는 비타민 E와 지방량이 많지 않아 이들의 작용이 비장세포 증식을 촉진했는지 여부는 분명치 않다. 본 실험에서는 당뇨에 의하여 주로, 다시마식이와 glipizide 투여에 의하여도 약간 비장세포 인지질 지방산 구성의 차이를 보였다. 당뇨에 의하여 C20 : 4/C18 : 2 비율이 낮아지는 것으로 insulin 부족에 의한  $\Delta 6$  desa-

turase의 활성강하를 확인할 수 있었다<sup>29)30)</sup>. 또한 혈당 강하제 glipizide가 태반조직의 인지질을 감소시켰다고 보고한 바 있다<sup>31)</sup>. 비장세포막 인지질이 여러 조건에 의하여 arachidonic acid 함량이 변할 때, arachidonic acid로부터 생성되는 PGE<sub>2</sub>와 같은 eicosanoid의 함량에도 영향을 줄 것으로 예상된다. PGE<sub>2</sub>는 cytokine의 생산에 영향을 미쳐 면역기능에 참여하는 것으로 알려져 있다<sup>32)</sup>. 본 실험에서 비장세포막 인지질 지방산 구성 변화로 예상되는 PGE<sub>2</sub> 생성과 비장세포 증식과의 관계가 현재로서는 분명하지 않다. 그러나 다시마식이와 glipizide에 의하여 변화된 비장세포 인지질 지방산 변화와 비장세포의 면역능과의 관계는 조사할 여지가 있다고 사료된다. 한편 체내 흡수도를 측정하지는 못하였으나 다시마에 상당량 들어 있는 베타 캐로틴(576µg/100g dry wt)과 기타 색소 성분이 작용할 가능성은 있다고 생각된다<sup>16)</sup>. 최근 Lim 등<sup>33)</sup>은 식이섬유소에 따라 쥐의 혈청 IgE, IgA, IgG등의 수준에 차이를 관찰하였고, 특히 mesentric lymph node의 임파구내 IgA, IgG, IgM과 INF-γ 농도가 수용성 섬유소 및 chitosan 섭취로 높다고 보고하여 섬유소에 따른 면역기능의 변화를 보여 준 바 있다. 이들의 실험에서 수용성 konjak mannan을 사용하여 타 섬유소군과 비교하였을 때, 효과는 낮으나 pectin과 같은 작용을 보였다. 아직 alginate를 비롯한 다시마 섬유소 섭취에 따른 보고는 별로 찾아 볼 수 없지만 polyuronic acid alginate를 사람의 monocyte 배양에 첨가하였을 때 LPS보다는 훨씬 적지만 tumor necrosis factor 및 IL-6의 생성을 유도하였다<sup>34)</sup>. 따라서 본 실험에서 나타난 splenocyte proliferation에 다시마 섬유소가 어느 정도 작용하였을 것으로 판단된다. 그러나 섬유소는 고분자이므로 흡수될 수 없으므로 장의 면역체계를 자극시켜 이차적으로 비장세포에 작용할 가능성도 있다. 비장세포 증식에 IL-2의 작용이 잘 알려져 있어 이것의 관련성을 조사하였으나 본 실험을 통하여 IL-2의 매개작용외에도 다른 cytokine이나 다시마성분에서의 관련성이 있을 것으로 판단되어 앞으로 조사되어야 하겠다.

### 요약 및 결론

다시마 섭취가 흰쥐의 정상과 당뇨상태에서 면역기능에 미치는 영향을 알아 보기 위하여 ICR mouse에게 섬유소원으로 cellulose를 첨가한 대조식이와 다시마를 첨가한 실험식으로 4주 사육한 후, streptozotocine 투여 유무에 따라 정상과 당뇨군으로 다시 나누고, 당뇨군들은 glipizide, metformin등의 혈당강하제 투여 유

무에 따라 다시 구분하여 총 8군에 대하여 조사하였다.

당뇨유발시 다시마 섭취군들의 치사율은 14%로 대조군 24%에 비하여 낮았으나 혈당상승에는 차이가 없었다. 당뇨군에서 다시마 섭취로 비장의 무게가 증가하는 경향이었으나 약물을 같이 투여하였을 때는 차이가 없었다. 8군의 분리한 비장세포를 LPS와 ConA 첨가하여 증식을 보았을 때, 정상군에서는 다시마의 효과가 확실하였고, 당뇨쥐에서도 대체로 같은 경향이였다. 비장세포에서 분비된 IL-2의 농도는 정상쥐에서 다시마 섭취군이 다소 높은 경향이였으나 당뇨군들에서는 군간의 차이가 없었다. 비장세포 인지질의 지방산 구성에서 당뇨에 의하여 arachidonic acid/linoleic acid의 비율이 저하됨을 볼 수 있었고, 다시마 섭취로 총다불포화지방산 함량, glipizide 투여로 n-3 다불포화지방산이 증가되는 경향을 보였다.

이상의 결과로서 다시마가 흰쥐의 세포성 면역능을 증진시키는 효과가 있는 것으로 보이지만 심한 당뇨 상태나 약물이 복합적으로 작용할 때는 효과가 적은 것으로 보인다. 다시마의 효과는 IL-2 뿐 아니라 본 연구에서 밝히지 못한 인자도 관련되는 것으로 사료된다. 본 연구를 보완하기 위하여 경증이나 제2형의 당뇨를 사용하여 타인자들과 지질관련성에서 대하여 연구가 더 필요하다.

### Literature cited

- 1) Goldberg I. *Functional Foods, Designer Foods, Phamafoods, Nutraceuticals*. Chapman & New York, 1994
- 2) Arai S. *Studies on functional foods in Japan-state of art. Biosci Biotechnol Biochem* 60 : 9-15, 1996
- 3) 민현기 편저. *임상내분비학, 내분비 체장 : 당뇨병*, 225-273, 고려의학, 1990
- 4) Huang XJ, Yuan J, Goddard A, Foulis A, James RFL, Lermark A, Pujolborrel R, Rabinovitch A, Somoza N, Stewart TA. Interferon expression in the pancreases of patients with type I diabetes. *Diabetes* 44 : 658-664, 1995
- 5) Vial T, Descotes J. Immune-mediated side effects of cytokines in humans. *Toxicology* 105 : 31-57, 1995
- 6) Hussain MJ, Peakman M, Gallati H, Vergani D. Elevated serum levels of macrophage-derived cytokines precedes and accompany the onset of IDDM. *Diabetologia* 39 : 60-69, 1996
- 7) Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor -alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95 : 2409-2415, 1995
- 8) Kobayashi S, Luo B, Okabe M, Kimura I, Kimura M. The

- diabetic state increases the activity but not the number of peritoneal macrophage in the G rat promoting the tube formation of cultured endothelial cells in rat aorta. *Biol Pharm Bulletin* 19 : 199-202, 1996
- 9) Ishibashi T, Kitahara Y, Harada Y, Harada S, Takamoto M, Ishibashi Y. Immunologic features of mice with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes* 29 : 516-523, 1980
  - 10) Bistar MS, Desouza EB. Insulin-dependent reduction in hepatic and splenic contents of interleukin-1 beta in experimental diabetes. *Hormone and Metabolic Res* 27 : 306-309, 1995
  - 11) Kim E-H, Maeng Y-S, Woo S-J. Dietary fiber contents in Some Vegetables and Seaweeds. *Korean J Nutrion* 26 : 196-201, 1993
  - 12) You B-J, Im Y-S, Jeong I-H, Lee K-H. Effect of extraction conditions on bile acid binding capacity *in vitro* of alginate extracted from sea tangle(Laminara spp.). *J Korean Fish Soc* 30 : 31-38, 1997
  - 13) Lee H-S, Choi M-S, Lee Y-K, Park S-H, Kim Y-J. A study on the development of high fiber supplements for the diabetic patients(II). *Korean J Nutrion* 29 : 296-306, 1996
  - 14) Lee Y-K, Lee H-S, Kim B-W. Effect of short-term feeding of dietary fiber supplements on glucose metabloism in subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 15 : 846-854, 1996
  - 15) Lee Y-K, Lee H-S, Kim B-W. Effect of short-term feeding of dietary fiber supplements on lipid metabloism in subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 19 : 80-91, 1995
  - 16) Bendich A. Carotenoids and the immune response. *J Nutr* 119 : 112-115, 1989
  - 17) Lee SH-C, Clandinin MT. Effect of dietary fat on the utilization of fatty acids by myocardial tissue in rat. *J Nutr* 116 : 2096-2105, 1986
  - 18) National Rural Living Science Institute, R.D.A. Food Composition Table, 5th revision, 1996
  - 19) Lee J-H, Sung N-J. The content of meneral in algae. *J Korean Soc Food & Nutr* 9 : 51-58, 1980
  - 20) Koo J-G, J K-S, Do J-R, Woo S-J. Isolation and purification of fucoidans from Laminara religiosa and Undaria pinnatifida in Korea. *J Korean Fish Soc* 28 : 227-236, 1995
  - 21) Kuzneetova Ta, Krylova NV, Besednova NN, Vasil'eva VN, Zviagintseva TN, Krashevski SV, Eliakova LA. The effect of translam on the natural resistance indices of the irradiated organism. *Radiats Biol Radioecol* 34 : 236-239, 1994
  - 22) Ryu B-H, Kim D-S, Cho K-J, Sin D-B. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korean Food Sci Technol* 5 : 595-600, 1989
  - 23) Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis : New model of diabetes mellitus. *Science* 193 : 415-417, 1976
  - 24) Ong FB, Wan Ngah WZ, Marzuki A, Kadir KA, Abdullah N, Md Top AG, Shamaan NA. Effect of viamin E supplementation on the immune response during chemically induced hepatocarcinogenesis in the rat. *J Clin Biochem Nutr* 17 : 161-169, 1994
  - 25) Oonishi K, Moriguchi S, Kishino Y. The role of macrophage in increased mitogen response of rat splenic lymphocytes following *in vitro* incubation with vitamin E. *J Nutr Sci vitaminol* 41 : 445-452, 1995
  - 26) Wang Y, Huang DS, Wood S, Watson RR. Modulation of immune function and cytokine production by various levels of vitamin E supplementation during murine AIDS. *Immunopahrmacology* 29 : 225-233, 1995
  - 27) Wang Y, Huang DS, Watson RR. Dietary vitamin E modulation of cytokine production by splenocytes and thymocytes from alcohol-fed mice. *Alcohol Clin Exp Res* 18 : 355-362, 1994
  - 28) Kim W-K. the effect of dietary fat on immune response and cytokine production. *J Korean Soc Food & Nutr* 352-366, 1996
  - 29) Poisson J-P. Comparative *in vivo* and *in vitro* study of the influence of experimental diabetes on rat liver linoleic acid 6- and 5-desaturation. *Enzyme* 34 : 1-14, 1985
  - 30) Kanazawa A, Ito M, Fujimoto K. effects of dietary n-3 and n-6 fatty acids on liver and erythrocyte lipids in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 39 : 567-579, 1993
  - 31) Desoye G, Barnes ER, Shurz-Swirsky R. Increase in insulin binding and inhibition of the decrease in the phospholipid content of human term placental homogenates in culture by the sulfonylurea glipizide. *Biochem Pharmacol* 46 : 1585-1590, 1993
  - 32) Goodwin JS, Ceuppens A. Regulation of the immune response by prostaglandin. *J Clin Immunol* 3 : 295-315, 1985
  - 33) Lim BO, Yamada K, Nonaka M, Kuramoto Y, Hung P, Sugano M. Dietary fibers modulate indices of intestinal immune function in rats. *J Nutr* 127 : 663-667, 1997
  - 34) Espevik T, Otterlei M, Skjak BG, Ryan L, Wright SD, Sundan A. The involvement of CD14 in stimulation of cytokine production by uronic acid polymers. *Eur J Immunol* 23 : 255-261, 1993