

## Triton WR-1339 주사에 의한 고지혈증 유발 생쥐 신장에 미치는 참홀파래 추출물의 지방축적 억제 영향

박인식 · 안상현 · 최난희 · 김진택

東國大學校 韓醫科大學 解剖學敎室

**【초록】** 본 실험은 참홀파래 추출물의 항고지혈증 효과의 조사를 위해 시행된 것으로 ICR 생쥐에 Triton WR-1339(TX) 복강주사로 고지혈증을 유발시킨 후 참홀파래 추출물(30mg/kg)를 복강주사하여 시간의 경과에 따른 신장조직의 일반적인 형태변화와 콜레스테롤을 비롯한 지방입자 축적양상 변화를 관찰하였다. TX 주사 후 신장조직에서 나타나는 일반적인 형태변화는 콩팥소체의 혈관극과 요세관극 모두에서 단층편평상피인 보우만주머니의 외벽이 비후되어 단층입방상피의 형태로 바뀌었으며 요세관 공간도 확장되었다. 지방입자는 사구체 전지역, 근위곱슬세관, 원위곱슬세관 그리고 헨레고리에서 침착이 증가된 것으로 나타났으며, 지방입자의 크기도 증가하였다. 또한 콜레스테롤 입자도 전 지역에서 월등하게 증가한 분포양상을 보였다. 그러나 TX 주사 후 참홀파래 추출물 처리군에서는 보우만주머니 외벽세포의 비후와 요세관공간의 확장을 일부 콩팥소체에서만 관찰할 수 있었으며, 대부분은 정상적인 신장형태를 유지하고 있는 것으로 나타났다. 한편 지방입자는 TX 주사군에 비해 그 분포와 크기가 감소한 것 나타났으며, 또한 콜레스테롤입자도 일부 지역에서 나타나 그 분포가 감소된 것으로 나타났다. 이상의 결과로 볼 때 참홀파래 추출물은 TX 주사로 고지혈증이 유발된 생쥐에 대해 콜레스테롤을 비롯한 지방축적을 억제하는 항고지혈증 효과를 하는 것으로 사료된다.

**중심단말 :** 고지혈증, Triton WR-1339, 신장, 지방, 콜레스테롤, 항고지혈증 효과

### I. 서론

최근 생활의 변화로 정상적인 지질단백의 대사가 균형을 잃어버린 결과로 나타나는 고지혈증(hyperlipidemia)의 가장 현저한 변화는 저밀도 지질단백(LDL : low-density lipoprotein) 농도의 상승으로 나타난다고 Myant (1991)와 Robbins 들(1989)은 보고하였다. 이는 간의 LDL receptor의 결핍(Karen 들, 1994), apolipoprotein 과잉생성(Hornick 들, 1983), 그리고

triglyceride가 풍부한 chylomicron과 초저밀도 지질단백(VLDL : very low-density lipoprotein)의 증가(Lottenberg 들 1992)가 주요 원인인 것으로 알려졌다. 최(1992), 최와 양(1993), 그리고 Keith(1991)의 보고에 의하면 이러한 고지혈증에 대한 관심이 집중되는 이유는 임상적으로 동맥경화(atherosclerosis)의 가장 뚜렷한 위험인자이기 때문이며, 고지혈증의 치료제의 개발은 동맥경화를 예방할 수 있다는 점에서 그 중요성이 인식된다.

이런 이유로 인해 고지혈증 치료제 개발을 위한 연구는 빈번하게 시행되고 있는 실정이다. 고지혈증 실험을 위해 인위적으로 고지혈증을 유발시키는 방법중의 하나는 Triton WR-1339 (TX)를 복강주사하는 것으로, 주사 결과 세포의 lipase활성은 억제되고 혈액 내 triglyceride와 LDL를 증가된다고 Hayashi 들(1982), Lottenberg 들(1992) 그리고 Zeniya와 Reuben (1988)에 의해 보고되었다. 또한 Dominique 들(1991)은 TX은 세포내 lipase활성 억제에도 관여하여 세포내 triglyceride의 축적이 증가된다고 보고하였다. TX 주사 후 나타나는 형태학적 변화로는 간조직의 경우 김 들(1997)에 의하면 TX에 의한 지방대사 저해의 결과 간세포내에서 콜레스테롤을 비롯한 지방입자의 축적이 증가된다는 것이다. 신장조직의 TX로 인한 형태학적 변화에 관한 보고는 아직까지는 없는 실정이다.

특유의 향기로 인해 고급식품으로도 애용되었던 해조류인 참홀파래는 옆편이 얇고 부드러운 특징을 가지고 있다. 또한 조(1995)의 연구에 의하면 참홀파래는 단백질, 비타민 등 영양가가 높은 것으로 알려졌으며, 현재 양식품종으로 개발중에 있다고 조(1996)가 보고하였다. Abe와 Kaneda(1973a;1973b)는 in vitro 연구를 통해 참홀파래에 존재하는 beta-homobetaine이 쥐의 인위적인 고콜레스테롤증을 강하시키는 효과에 대해서는 검증되었지만, 조직내에서 콜레스테롤의 감소는 확인하지 못했다. 한편 Ren 들(1994)은 참홀파래 및 그 glucuronoxylorhamna이 항고지혈증에 대한 효과가 있다고 보고하였다.

본 실험은 참홀파래 추출물의 항고지혈증(antihyperlipidemia)효과를 조사하기 위한 것으로 triton WR-1339을 처리한 생쥐에 참홀파래 추출물을 복강주사한 후 신장 조직 내에서 일어난 형태학적인 변화를 관찰하였다. 신장 조직내의 지방의 분포변화를 관찰하기 위해서 Sudan black B 염색을 행하였고, 콜레스테롤의 분포변화는 Perchloric acid-napthoquinone 염색한 후 조사하였다. 본 실험 후 유의한 결과를

얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물

생명공학연구소에서 분양받은 태령 4주된 ICR계 생쥐 암컷을 무균사육장치내에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 대조군, TX 주사군, TX 주사 후 참홀파래 추출물 처리군(ME 처리군)으로 나눈 후 시간의 경과에 따라 24, 48, 그리고 72시간으로 세분시켰으며 각각에 10마리씩 배정하였다.

### 2. TX의 제조와 주사

TX 주사군과 ME 처리군에 생리식염수에 희석된 10% TX (Fluka, Germany)용액을 각각 600mg/kg씩 복강주사하였으며, 대조군에는 동량의 생리식염수를 주사하였다.

### 3. 참홀파래 추출물의 제작과 투여

참홀파래는 전남 진도군 구자도리 외해지역 참홀파래 양식장에서 시험 양식중인 건강한 성숙 조체를 채취하여, 증류수로 세척한 후 실온에서 약 15시간정도 완전 건조시켜서 조체 1g 당 증류수 30ml를 넣어 막자사발에서 약 3분간 충분히 마쇄한 후 다음 2000rpm에서 20분간 원심분리하였다. 그 상등액을 모아 syringe filter (0.22  $\mu$ m)로 여과 제균한 후 시료로 사용하였다. 시료는 30mg/kg의 양으로 ME처리군에 복강주사하였다.

### 4. 신장조직 표본제작

Triton를 접종한 후 24, 48 그리고 72시간이 되었을 때 생쥐를 경추탈구로 희생시키고 생리식염수와 인산완충용액으로 심장관류고정(cardiac perfusion)을 한 후 신장을 적출하였다. 적출된 신장은 10% 중성포르말린(neutral buffered formalin : NBF)용액에 실온에서 24시간 동안 고정한 후, 통상적인 방법으로 paraffine에 포매하고 5 $\mu$ m두께로 연속절편을 만들었다. 연

속절편은 Hematoxyline과 Eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다.

#### 5. 신장조직의 냉동절편제작

지방염색에 사용될 신장조직의 냉동절편 제작은 우선 위에서 서술한 방식으로 신장조직을 적출하여 NBF용액에 고정한 후 동결과피를 방지(cryoprotection)하기 위해 30% sucrose 용액에 24시간동안 침적시킨 후 냉동절편기(cryostat)로 5 $\mu$ m 두께의 냉동절편을 제작하였다. 한편 콜레스테롤 염색에 사용될 신장조직 냉동절편은 fromol-calcium용액에 1주일동안 고정한 후 위와 동일한 방법으로 냉동절편을 제작했다.

#### 6. 신장조직내 지방의 염색

신장조직의 지방 염색은 Sudan black B 염색법으로 행해졌는데 우선 냉동절편을 absolute propylene glycol로 10분간 탈수한 후 Sudan black B 용액에 10분간 염색하였다. 85% propylene glycol로 3분간 탈색한 후 증류수에 수세하고 nuclear fast red로 1분간 대조 염색하였다. 대조 염색 후 증류수로 3회 수세한 다음 glycerin jelly로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 7. 신장조직내 콜레스테롤의 염색

신장조직의 콜레스테롤 염색은 Perchloric acid-napthoquinone(PAN) 염색법이 시행되었다. 우선 냉동절편위에 PAN 시약을 도포한 후 60 $^{\circ}$ C incubator에서 용액의 색깔이 적색에서 청색으로 변화될 때까지 반응시킨다. 반응이 완료되면 60% perchloric acid을 적하한 후 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

### III. 결 과

#### 1. 신장조직의 일반적인 형태변화

생리식염수를 복강주사한 대조군에서는 전 실험기간동안 정상적인 신장 구조가 나타났다

(Fig.1.). 대조군의 콩팥소체(renal corpuscles)에서 보우만주머니(Bowman's capsule)의 요세관공간(urinary space)은 사구체(glomerulus)로 파악 있었으며, 보우만주머니의 외벽(parietal layer)은 단층편평상피의 형태로 관찰되었다. 또한 콩팥소체 주변에서 주로 나타나는 근위곱슬세관(proximal convoluted tubule: PCT)는 잘 발달된 솔모양가장자리(brush border)를 나타냈으며, 원위곱슬세관(distal convoluted tubule: DCT)과 헨레고리(henle's loop)도 정상적인 형태를 유지하고 있는 것으로 관찰되었다..

TX 주사 후 신장조직은 시간의 경과에 따라 차이가 나타났으며, 특히 TX 주사 후 48시간에서 대조군과 유의한 차이가 있는 것으로 관찰되었다. TX 주사 후 24시간에서 대조군과 별 차이를 보이지 않았던 TX 주사군은 TX 주사 후 48시간에서는 우선 대부분의 콩팥소체에서 보우만주머니 외벽의 단층편평상피는 비후되어 단층 입방상피의 형태로 나타났으며 이러한 변화는 혈관극(vascular pole)과 PCT가 시작되는 요세관극(urinary pole) 모두에서 잘 나타났다(Fig. 2.). 요세관 공간은 보우만주머니 외벽세포의 비후에도 불구하고 오히려 대조군에 비해 넓어진 것으로 관찰되었다. TX 주사 후 72시간에서도 보우만주머니 외벽세포의 비후가 관찰되었으나 TX 주사 후 48시간에서와는 달리 요세관극에서만 주로 나타났으며 콩팥소체의 요세관공간은 TX 주사 후 48시간에서보다는 좁아진 것으로 관찰되었다.

TX 주사 후 ME 처리군에서 관찰된 시간의 경과에 따른 신장조직의 형태변화는 대조군과 비교했을 때 그 경향성은 TX 주사군과 유사하게 나타났다. TX 주사 후 24시간에는 별 다른 변화가 일어나지 않았으나, 48시간에서는 일부 콩팥소체에서 보우만주머니 외벽세포의 비후와 요세관공간의 확장을 관찰할 수 있었으나 대부분은 대조군과 동일한 정상적인 형태를 유지하고 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 3.). ME 처리군에서의 이러한 변화는 TX 주사군보다 적은 것으로 나타났다. 한편 TX 주사 후 전 실험기간동안 TX 주사군과 ME 처리군은 PCT, DCT

그리고 헨레고리는 대조군과 별 차이가 없었던 것으로 관찰되었다.

### 2. 신장조직내의 지방 분포 변화

Sudan Black B에 흑청색으로 염색된 지방입자는 대조군의 콩팥소체, PCT, DCT 그리고 헨레고리에서 잘 나타나지 않았다(Fig. 4). 대조군에서 이러한 지방분포 양상은 시간의 경과에 관계없이 동일하게 나타났다.

TX 주사군에서 관찰된 지방입자분포는 TX 주사 후 시간의 경과에 따라 대조군과는 아주 다르게 나타났다. 우선 TX 주사 후 24시간이 경과했을 때 사구체의 일부에 지방입자가 침착되어 있는 양상을 보였으나 PCT, DCT 그리고 헨레고리에서는 지방입자가 나타나지 않았다. 그러나 TX 주사 후 48시간이 되었을 때 지방입자는 사구체 전지역, PCT, DCT 그리고 헨레고리에서 침착되어 있는 것으로 나타났으며 염색된 지방입자도 24시간에 비해 그 수와 크기가 증가한 것으로 관찰되었다(Fig. 5). 이러한 TX 주사 후 72시간이 되었을 때에는 TX 주사 후 48시간에서보다는 지방입자는 사구체를 비롯한 PCT, DCT 그리고 헨레고리 전 분포지역에서 감소된 경향성을 보였으며, 염색된 지방입자의 크기도 줄어든 것으로 나타났다.

TX 주사 후 ME 처리군의 지방염색 결과는 전 실험기간 동안 TX 주사군에 비해 지방의 분포가 감소한 것으로 나타났으며 염색된 지방입자의 크기도 줄어들었다. 우선 TX 주사 후 24시간이 되었을 때 TX 주사군에서처럼 사구체의 일부지역에서 지방이 관찰되었으나 TX 주사군에 비해 분포는 감소된 양상으로 나타났다. TX 주사 후 48시간(Fig. 6.)과 72시간에서 ME 처리군은 TX 주사군에 비해 분명하게 감소된 지방분포가 나타났으며, 특히 사구체에서 잘 관찰되었다

### 3. 간조직내의 콜레스테롤 분포 변화

대조군에서는 콩팥소체, PCT, DCT 그리고 헨레고리에서 아주 적은 수이지만 PAN에 질한 흑청색으로 염색된 콜레스테롤 입자가 나타났

다(Fig. 7., Fig. 8.). 대조군에서의 이러한 콜레스테롤의 분포양상은 전 실험기간동안 동일한 것으로 관찰되었다.

TX 주사군에서 관찰된 콜레스테롤의 분포는 TX 주사 후 시간의 경과에 따라 서로 다르게 나타났으며 이런 변화는 대조군과는 차이가 있는 것으로 관찰되었다. 우선 TX 주사 후 24시간이 되었을 때 콩팥소체에서는 일부분에서 콜레스테롤 침착이 증가되었고, 일부 피질과 수질 경계부위의 PCT, DCT 그리고 피질의 헨레고리에서 콜레스테롤 침착이 증가되었다. 그러나 TX 주사 후 24시간의 콜레스테롤 증가는 미약한 것으로 인정되지만 TX 주사 후 48시간이 되었을 때 대조군에 비해 월등한 콜레스테롤 증가를 관찰할 수 있었다. 즉 사구체에서 선명하게 염색된 콜레스테롤 입자의 증가가 나타났으며 (Fig. 9.) 또한 전체 PCT, DCT 그리고 헨레고리에서 반응을 보였다(Fig. 10.). 그러나 이러한 TX 주사 후 48시간의 콜레스테롤 침착의 증가는 TX 주사 후 72시간이 되었을 때 콜레스테롤 침착이 감소하는 경향을 보였다. 콩팥소체에서 심하게 나타나지만, 일부 피질과 수질 경계부위의 PCT, DCT 그리고 피질의 헨레고리에서는 TX 주사 후 48시간때보다는 감소한 콜레스테롤의 침착을 관찰하였다.

TX 주사 후 ME 처리군에서의 콜레스테롤 침착은 TX 주사 후 48시간이 되었을 때 약간 증가했을 뿐 24시간과 72시간에서는 대조군과 유사한 침착양상을 나타내었다. 그러나 TX 주사 후 48시간이 되었을 때 나타나는 증가는 사구체는 별 변화가 없고(Fig. 11.) 다만 피질과 수질 경계부의 PCT, DCT 그리고 헨레고리에서 약간 증가되는 것으로 나타났다(Fig. 12.). 그러나 TX 주사 후 48시간의 이러한 변화는 TX 주사군에 비해서는 아주 감소된 양상으로 관찰되었다.

## IV. 고찰

혈중내 콜레스테롤, 콜레스테롤에스터 및

triglyceride와 같은 지질의 농도가 증가되는 것을 고지혈증이라고 Robbins 들(1989)은 정의하였으며, 이는 Catlos와 Goetz(1984), Hayashi 들(1982) 그리고 Venkatesan 들(1988)의 의해 지방대사장애로 인해 실질조직내에서는 지방의 비정상적 축적되어 지방변성(fatty change)을 유도한다고 보고되었다. 고지혈증의 병인으로 Dalin 들(1994), Dominique 들(1991), Gerber 들(1981) 그리고 Raul 들(1990)이 보고한 triglyceride의 hydrolysis의 저해, Karen 들(1994)와 Noriaki 들(1989)이 보고한 LDL receptor의 결핍의 결과로 생긴 LDL의 대사 이상, 그리고 Vushkin과 Dolgov(1986)이 보고한 Apo B의 transport율의 증가와 같은 지질과 지질단백의 대사 이상으로 생기는 원발성인 것과 Robbins에 의해 보고된 당뇨병, 갑상선 기능 감퇴, 알콜성 간질환 등의 속발성인 것으로 나눌수 있다. 특히 근래에 들어 계속적인 증가추세는 보이는 이유는 식이성향의 서구화로 인한 지방섭취량의 증가에 의한 것이며, 최(1992)와 최와 양(1993)은 이러한 고지혈증은 콜레스테롤이 혈관내막에 침적됨으로 야기되는 동맥경화의 발병 증가를 주도한다고 보고하였다.

이와 같은 고지혈증 치료를 위한 항고지혈증 인자의 탐색에는 최와 양(1993), Ren 들(1994) 그리고 Takeshi 들(1988) 등의 보고에 의하면 식이섭취 실험이 행해졌으며 주로 혈청분석 즉, 총콜레스테롤(total cholesterol), 유리콜레스테롤(free cholesterol), 중성지방, 고밀도지단백(high density lipoprotein), 저밀도지단백의 함량 및 동맥경화지수(atherogenic index)등의 변화를 통해서 조사되었다.

Hornick 들(1983)와 Sharma (1979)에 의하면 TX는 non-haemolytic detergent로 triglyceride, high-molecular-weight Apo B, free & ester-bound cholesterol, phospholipid, fatty acid 의 혈청농도를 증가시키고, Hayashi(1981)와 Larusso 들(1982)은 in vivo 와 in vitro에서의 lysosomal cholesterol esterase의 활성도가 감소된다고 보고하였다.

참홀파래 추출물의 항고지혈증 효과를 조사

하기 위해서 TX를 복강주사한 후 참홀파래 추출물을 복강주사한 다음 생쥐에게 신장조직의 형태변화를 조사하였다. 신장조직의 형태변화는 Hematoxylin & Eosin 염색을 통한 간조직의 일반적인 형태변화를, Sudan black B 염색을 통한 지방입자 분포 변화를 그리고 Perchloric acid-napthoquinone 염색을 통한 콜레스테롤 입자의 분포변화를 광학현미경으로 관찰하였다.

신장의 일반적인 형태 변화는 TX 주사 후 대부분의 콩팥소체에서 보우만주머니 외벽의 단층편평상피는 비후되어 단층 입방상피의 형태로 나타났으며 이러한 변화는 혈관극(vascular pole)과 PCT가 시작되는 요세관극(urinary pole) 모두에서 잘 나타났다. 이러한 입방상피형태로의 비후는 보우만주머니에서의 여과(filteration)상태의 변화로 야기된 것으로 여과되는 지방의 증가에 의한 것으로 사료된다. 장기관 알콜투여로 인해 간세포내의 지방대사 이상 생겼을 때, 신장에서는 본 실험과 같이 보우만주머니 외벽상피의 비후한다는 보고가 김들(1994)에 의해서 있었다. 그러나 ME 처리군에서 일부 콩팥소체에서만 관찰할 수 있었으며 이는 지방대사의 이상이 적었다고 생각할 수 있는 결과였다. 지방분포변화는 TX 주사군에서 시간의 경과에 따라 지방입자가 사구체 전지역, PCT, DCT 그리고 헨레고리에서 침착되어 있는 것으로 나타났으며, 염색된 지방입자 크기도 증가한 것으로 관찰되었다. ME 처리군에서는 지방입자의 분포가 감소한 것으로 나타났으며 염색된 지방입자의 크기도 줄어든 것으로 나타났다. 또한 콜레스테롤입자 분포의 변화의 경우도 동일하게 나타났다. 신장에서의 콜레스테롤을 비롯한 지방입자의 변화는 TX에 의한 간세포에서의 지방대사이상과 관련성을 가지는데 간에서의 이러한 군에서 나타나는 이러한 일련의 변화는 고지혈증에서 나타나는 병변으로서, 이것은 간세포에서 일시적인 지방대사장애 즉, TX에 의해 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA (HMG CoA) reductase에 의한 간세포내에서 cholesterol 합성 증가로 야기된 plasma lipoprotein의 증가와 같은 기전에 의한 지방축적이

나타난다는 Baran 들(1985), Goldfarb(1978), Kasim 들(1991)의 이전 보고가 있었으며, 지방 대사장애는 Dominique 들(1991)의 의하면 triton이 세포내 lipase의 활성을 저해하여 triglyceride의 축적인 증가시키며, 지방입자의 증가는 주로 콜레스테롤의 증가에 의해 주도된 것이라고 보고하였다. 또한 이러한 간세포내의 지방대사장애는 정 들(1997)에 의하면 혈액 내에서의 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤, 중성지방, 저밀도지단백의 함량이 증가된다고 보고하였다. 이러한 이미 보고된 TX에 관한 보고와 본 실험에서의 결과를 종합해보면 간의 지방대사이상으로 인해 혈액내의 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤, 중성지방, 저밀도지단백의 함량이 증가되며 이는 신장에서 여과되는 지방을 비롯한 콜레스테롤량을 증가시키게되며, 그 결과 신장 각 부위에서의 지방과 콜레스테롤 침적이 증가되었다. 그러나 ME 처리군에서는 이들 입자의 침적이 감소한 것은 참홀파래 추출물이 간세포내의 지방대사이상을 억제하여 혈액내의 지방과 콜레스테롤 수치를 떨어뜨린 결과 지방과 콜레스테롤의 축적이 줄어든 것으로 사료된다.

위의 결과로 다시 정리해 보면 TX 주사군에서는 TX 주사에 야기된 혈중의 과다한 지방에 의한 신장에서 지방축적이 일어났으나, ME 처리군의 신장조직은 대조군과 유사한 형태를 유지하는 것으로 나타났으며, 이는 참홀파래 추출물의 항고지혈작용에 의한 지방축적억제로 사료된다.

## V. 참고문헌

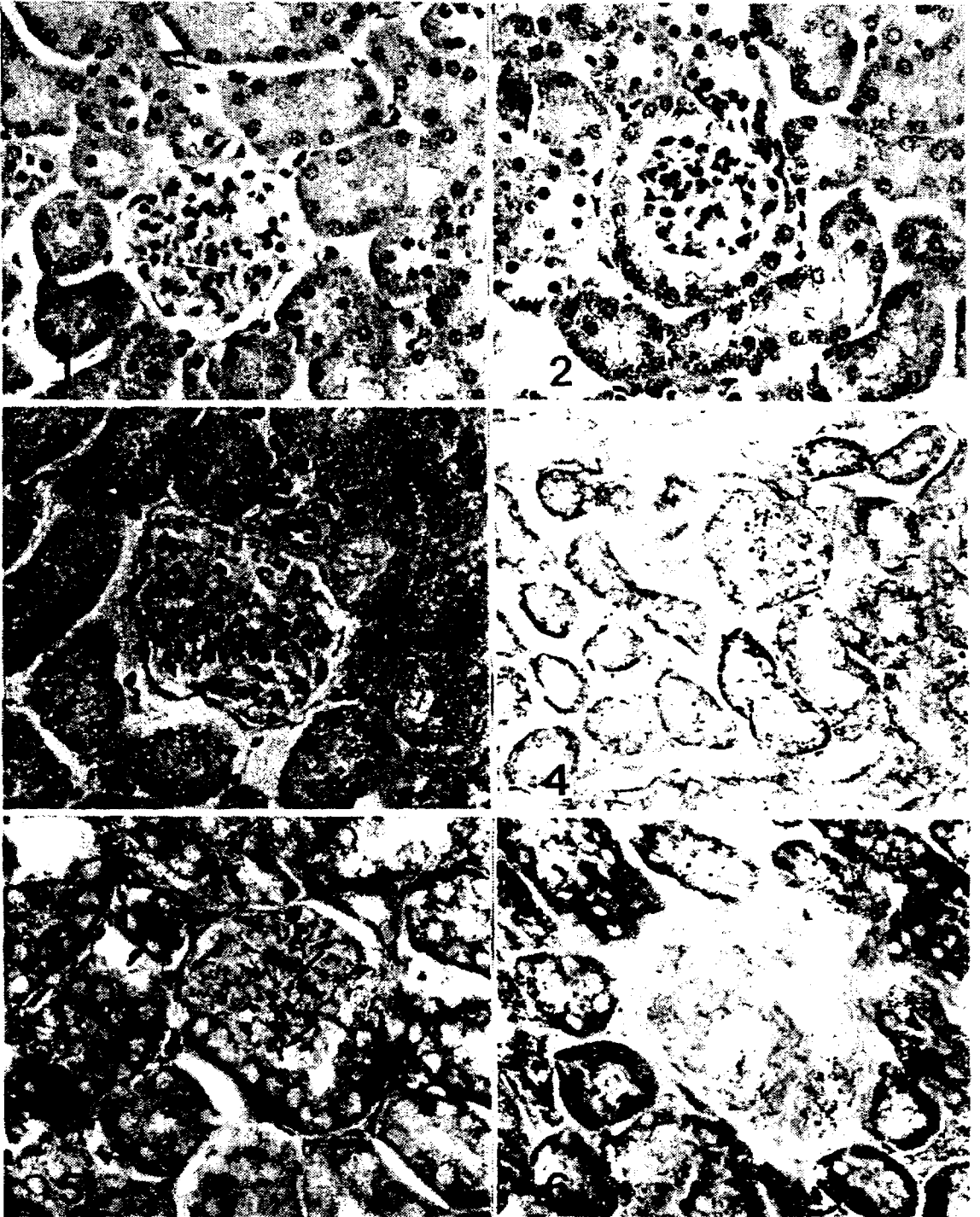
1. 김진택, 김동환, 안상현 : 장기간 알콜투여에 의한 간 및 신장, 위장 조직손상에 미치는 영향. 동국대학교 한의학연구소 논문집. 3: 163-9, 1994
2. 김진택, 박인식, 안상현 : Triton WR-1339 주사에 의한 고지혈증 유발시 간세포내 지방축적에 관한 형태학적연구. 동국대학교 한

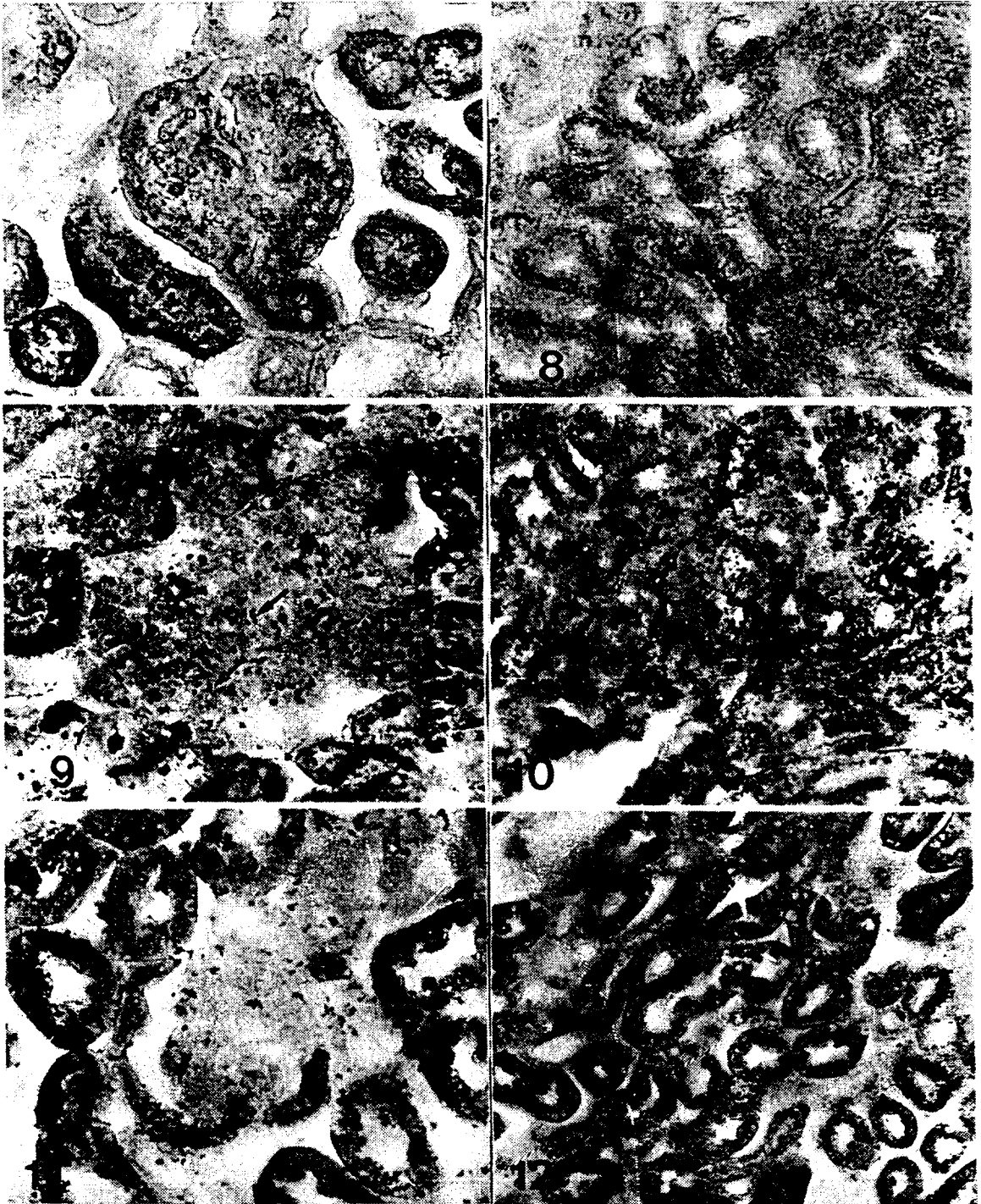
- 의학연구소 논문집. 6: 107-15, 1997.
3. 정영하, 조용철, 박인식, 안상현, 김진택, 강용주, 홍용기 : Triton WR-1339 복강주사로 유도된 생쥐의 고지혈증에 대한 참홀파래 추출물의 영향. 30(5): 850-8, 1997.
4. 조영철 : 유용해조류 양식개발시험. 1차년도 중간보고서. 수산청. pp. 147. 1995.
5. 조영철 : 유용해조류 양식개발시험. 2차년도 중간보고서. 수산청. pp. 203. 1996.
6. 최재수, 양한석 : 천연에 존재하는 고지혈증 개선 활성성분의 탐색. 생명과학. 3(2): 79-90, 1993.
7. 최재수 : 고지질혈증과 그 치료약. 생명과학. 2(2): 134-7, 1992.
8. Abe, S. and T. Kaneda : Studies on the effect of marine products on the cholesterol metabolism in rats. VIII. The isolation of hypocholesterolemic substance from green laver. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 383-9, 1973a.
9. Abe, S. and T. Kaneda : Studies on the effect of marine products on the cholesterol metabolism in rats. IX. Effect of betaines on plasma and liver cholesterol levels. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 391-3. 1973b.
10. Baran, J. S., Laos, I., Langford, D. D., Miller, J. E., Jett, C., Taite, B., and Rohrbacher, E. : 3-Alkyl-3-hydroxyglutaric acid ; a new class of hypocholesterolemic HMG CoA reductase inhibitors.. J. Med. Chem. 28(5): 597- 601, 1985.
11. Catlos, T. and Goetz, W. R. : Sandritter's color atlas & textbook of Histopathology. 7th edition. Year Book Med. Co. pp153-5. 1984.
12. Dalin, R., Hiroyuki, N., Hideomi, A., and Takahiro, N. : Study on Antihypertensive and Antihyperlipidemic effects of marine algae. Fisheries Science. 60(1): 83-8, 1994.
13. Dominique, H., Paul, H., and David, N. B.

- : Effect of lipase inhibitor, triton WR-1339 and tetrahydrolipstatin, on the synthesis and secretion of lipids by rat hepatocytes. *FEBS*. 286(1,2): 186-8, 1991.
14. Gerber, L. E. and Erdman, J. W. : Hyperlipidemia in rat fed retinoic acid. *Lipid*. 16(7): 496-501, 1981.
  15. Goldfarb, S. : Rapid increase in hepatic HMG CoA reductase activity and in vivo cholesterol synthesis after triton WR-1339 injection. *J. Lipid. Res.* 19(4): 489-94, 1978.
  16. Hayashi, H., Ninobe, S., Matsumoto, Y., and Suga, T. : Effect of triton WR-1339 on lipoprotein lipolytic activity and lipid content of rat liver lysosome. *J. Biochem (Tokyo)*. 89(2): 573-9, 1981.
  17. Hayashi, H., Shitara, M., and Yamasaki, F. : The origin of lipid accumulated in the liver lysosomes after administration of triton WR-1339. *J. Biochem.* 92(5):1585-90, 1982.
  18. Hornick, C.A., Kita, T., Hamilton, R. L., Kane, J. P., and Havel, R. J. : Secretion of lipoproteins from the liver of normal and WHHR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 80 (19): 6096-100, 1983.
  19. Karen, F. K., Dawn, R. M., Linda, L. A., Steven, E. R., Leslie, D. S., and James, M. W. : In vivo Correction of LDL receptor deficiency in the WHHR with recombinant adenoviruses. *J. Bio. Chem.* 269(18):13695-702, 1994.
  20. Kasim, S. E., Leboeuf, R. C., Khilnani, S., Tallapaka, L., Dayananda, D., and Jen, K. L. : Mechanisms of triglyceridelowering effect of an HMG-CoA reductase inhibitor in a hypertriglyceridemic animal model, the Zucker obese rat. *J. Lipid. Res.* 33(1): 1-7, 1992.
  21. Keith, E. S. : Atherosclerosis. *Encyclo. Human Bio.* 1: 447-55, 1991.
  22. Larusso, N. F., Kost, L. J., Carter, J. A., and Barham, S. S. : Triton WR-1339, a lysosomotropic compound, is excreted into bile and alters the biliary excretion of lysosomal enzymes and lipids. *Hepatology*. 2(2): 209-15, 1982.
  23. Lottenberg, A. M., Oliveira, H. C., Nakandakare, E. R., and Quintao, E. C. : Effect of dietary fish oil on the rate of very LDL, triacylglycerol formation and on the metabolism of chylomicrons. *Lipid*. 27(5): 326-30, 1992.
  24. N. B. Myant : Cholesterol. *Enclo. Human Bio.* 2: 411-418, 1991.
  25. Noriaki, K., Toru, K., Atsushi, M., Masayuki, Y., Kenji, I., Yutaka, N., and Chuichi, K. : Induction of mRNA for LDL receptors in heterozygous Watanabe Heritable Hyperlipidemic Rabbit treated with CS-514 (Pravastatin) and Cholestyramine. *Circulation*. 79(5): 1084-90, 1989.
  26. Raul, G. M., Ivete, A. R., and Mario, H. H. : Effects of triton WR-1339 and heparin on the transfer of surface lipids from triglyceride-rich emulsions to HDL in rats. *Lipid*. 25(11): 701-5, 1990.
  27. Ren, D., H. Noda, H. Amano, T. Nishino, and K. Nishizawa. : Study on antihypertensive and antihyperlipidemic effects of marine algae. *Fish. Sci.* 60: 83-88, 1994.
  28. Robbins, S. L., Cotran, R., and Kumar, V. : Robbins pathologic basis of disease. W. B. Saunders. 4th edition. pp556-61. 1989.
  29. Sharma, R. D. : Effect of various iso-flavones on lipid levels in triton-treated rats. *Atherosclerosis*, 33: 371-5, 1979.
  30. Takeshi, C., Hisashi, M., Yasushi, K., Michihiko, M., Johji, Y., and Hajime, F. : The effect of crude on experimental hypercholesteremia; Mode of action of Epigallocatechin Gallate in tea leaves.

- Chem. Pharm. Bull. 36(1): 227-233, 1988.
31. Venkatesan, S., Ward, R. J., and Peter, T. J. : Effect of chronic ethanol feeding on the hepatic secretion of VLDL. *Biochim Biophys Acta.* 960(1): 61-6, 1988.
  32. Vushkin, M. L. and Dolgov, A. V. Activity of cholesterol metabolism enzymes and lipid levels in the rat liver, aorta, adrenals and serum after exposure to triton WR-1339. *Vopr. Med. Khim.* 32(3): 98-101, 1986.
  33. Zeniya, M. and Reuben, A. : Triton WR-1339-induced changes in serum lipids and biliary lipid secretion. *Am. J. Physiol.* 254 (3pt1): 346-54, 1988.







### Legends for figure

- Fig. 1. The structure of kidney in mouse at hour 48 after saline injection. The renal corpuscle and convoluted tubule were appeared as normal structure. H & E. x400.
- Fig. 2. The kidney in mouse at hour 48 after TX injection. The parietal layer of Bowman's capsule is swelled as cuboidal type. H & E. x400.
- Fig. 3. The kidney in mouse at hour 48 after TX injection with seaweed extract. The parietal layer of Bowman's capsule was shaped as squamous type that was looked like as saline injection group. H & E. x400.
- Fig. 4. The kidney in mouse at hour 48 after saline injection. The lipid blot of renal corpuscle and convoluted tubule were not appeared. Sudan black B stain. x400
- Fig. 5. The distribution of lipid blot (arrow) in murine kidney at 48 after TX injection. These blot were noticeably increased in glomerulus than control group and these appeared in convoluted tubule. Sudan black B stain. x400
- Fig. 6. The distribution of lipid blot in murine kidney at 48 after TX injection with seaweed extract. These blot were noticeably decreased in glomerulus than TX injection group and these were disappeared in convoluted tubule. Sudan black B stain. x400
- Fig. 7. The cholesterol particle of renal corpuscles in mouse at hour 48 after saline injection. The cholesterol particle were stain as dark green asterisk in glomerulus by PAN method. PAN method. x400.
- Fig. 8. The cholesterol particle of convoluted tubule in mouse at hour 48 after saline injection. The cholesterol particle were stain as dark green asterisk in convoluted tubule by PAN method. PAN method. x400.
- Fig. 9. The cholesterol particle (arrow) of renal corpuscles in mouse at hour 48 after TX injection. The cholesterol particle in glomerulus were remarkably increased than saline injection group. PAN method. x400.
- Fig. 10. The cholesterol particle of convoluted tubule in mouse at hour 48 after TX injection. The cholesterol particle in convoluted tubule were considerably increased than saline injection group. PAN method. x400.
- Fig. 11. The cholesterol particle of renal corpuscles in mouse at hour 48 after TX injection with seaweed extract. The glomerulus had few cholesterol particle than TX injection group. PAN method. x400.
- Fig. 12. The cholesterol particle of convoluted tubule in mouse at hour 48 after TX injection with seaweed extract. The convoluted tubule had few cholesterol particle than TX injection group. PAN method. x400.

=Abstract=

**The Lipid Accumulation Suppressive Effect of *Monostroma nitidum*  
In kidney of Murine with hyperlipidemia induced by Triton WR-1339**

In-Sick Park · Sang-Hyun Ahn · Nan-Hee Choi · Jin-Tack Kim

*Department of Anatomy, College of Oriental Medical, Dongguk University*

Renal tissues of ICR mouse were intraperitoneally injected with *Monostroma nitidum* extract(ME) after Triton WR-1339(TX) injection were observed to investigate the lipid accumulation suppressive effect of ME. The renal tissues were obtained at hour 24, 48, and 72 after TX injection that were fixed in fromol-calcium solution and were cryocut. The tissue stained by H&E for general morphology, sudan black B for lipid and perchloric acid-naphthoquinone method for cholesterol. The parietal layer of Bowman's capsule is swelled as cuboidal type at hour 48 after TX injection and the lipid blot and cholesterol particle were noticeably increased in glomerulus than control group and these appeared in convoluted tubule, collecting tubule, and Helen's loop. But the parietal layer of Bowman's capsule was shaped as squamous type that was looked like as normal morphology in ME treated group after TX injection and the lipid blot and cholesterol particle were considerably decreased in glomerulus than TX group. As results indicated that the accumulation of lipid including cholesterol caused by TX injection were mitigated in renal tissues by the antihyperlipidemic effect of ME

Key Word.: Hyperlipidemia, Triton WR-1339, Kidney, Lipid, Cholesterol,  
Antihypercholesterolemia