

랫드에서 난황의 경구투여가 간 지방산의 산화, 에스터화에 미치는 영향

김창현^{1*} · 엄경환^{2†} · 신종서^{2†}

¹한경대학교 동물생명융합학부, 교수

²강원대학교 동물생명과학대학, 교수

(2020년 2월 27일 접수: 2020년 5월 28일 수정: 2020년 6월 9일 채택)

Effect of oral administration of egg yolk on oxidation and esterification of hepatic fatty acid in rats

Kim Chang-Hyun^{1*} · Um Kyung-Hwan^{2†} · Shin Jong-Suh^{2†}

¹*School of Animal Life Convergence Science, Hankyong National University,
17579, Republic of Korea*

^{2†}*College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, 24341, Republic of Korea
(Received February 27, 2020; Revised May 28, 2020; Accepted June 9, 2020)*

요약 : 본 연구의 목적은 달걀의 섭취가 랫드의 간에서 합성, 분비되는 간 지방산의 산화, 에스터화 사이의 대사적 분할 메커니즘을 구명하는 것이었다. 동물은 4개의 그룹으로 나누어 30일 동안 난황을 경구투여 하였다: 대조군 (CON, control, 생리식염수 1.0 g), T1 (삼겹살 기름 1.0 g), T2 (난황 1.0 g), T3 (삼겹살 기름 1.0 g, 난황 1.0 g을 각각 1주일씩 교체 투여군). 간에서 [¹⁴C]-labelled lipid의 축적율은 모든 처리구 가운데 T2가 유의하게 낮았다 (P<0.05). 인지질 분비량은 T2가 기타 처리구에 비해 유의하게 높았다 (P<0.05). 중성지방 분비량은 T1이 가장 높았으며 CON, T3, T2 순서로 유의하게 높았다 (P<0.05). 총 glycerolipid로부터 인지질의 대사적 분할율은 T2가 가장 높았고 T3, CON, T1 순서로 높았다 (P<0.05). 총 glycerolipid로부터 ¹⁴CO₂ 방출은 T2에서 가장 높았으며 CON, T1, T3과 비교할 때 높은 산화율을 보여 주었다 (P<0.05). 간으로부터 glycerolipid의 대사적 분할은 중성지방의 경우 T2가 CON, T1, T3와 비교할 때 감소하였으나 인지질은 T2에서 증가했다 (P<0.05).

주제어 : 난황, 경정맥 캐놀라, 중성지방, 인지질, 모니터링

Abstract : The purpose of the present study was to investigate the mechanism of metabolic partitioning between oxidization and esterification of liver fatty acids synthesized and secreted by the liver from egg yolk-fed laboratory rats. Animals were divided into four groups and orally administered egg yolk daily for 30 days: CON (control group, 1.0 g of saline solution), T1 (1.0 g

[†]Corresponding author

(E-mail: acopop9969@kangwon.ac.kr; jsshin@kangwon.ac.kr)

of pork belly oil), T2 (1.0 g of egg yolk), and T3 (1.0 g of pork belly oil and 1.0 g of egg yolk, alternatively each week). The accumulation rate of [^{14}C]-labelled lipid in liver was lowest in T2 among all treatments ($P<0.05$). Phospholipid secretion was higher in T2 than other treatments ($P<0.05$). The triglycerol secretion was highest in T1 and higher in the order of CON, T3, and T2 ($P<0.05$). Metabolic partitioning rate of phospholipid from total glycerolipid was highest in T2, followed by T3, CON and T1 ($P<0.05$). The $^{14}\text{CO}_2$ production from total glycerolipid was the highest in T2 and showed a high oxidation rate compared to CON, T1, and T3 ($P<0.05$). Metabolic partitioning of glycerolipid from the liver decreased in triglycerol of T2 compared to CON, T1, and T3, whereas phospholipids of T2 increased ($P<0.05$).

Keywords : Egg yolk, Jugular cannula, Triglycerol, Phospholipid, Monitoring

1. 서론

달걀의 콜레스테롤에 대한 잘못된 인식을 바로 잡으려는 노력이 계속되고 있다. 영양학적으로 가장 완벽한 식품으로 알려진 달걀은 콜레스테롤이 높기 때문에 섭취를 제한해야 한다는 의견이 지배적이었으나 그 메커니즘이 명확하게 밝혀지지 않아 많은 논쟁이 계속되었다. 뇌혈관 및 심혈관 질환의 위험성과 관련한 혈액 지질 대사 이상은 포화지방, 트랜스지방산 및 콜레스테롤에 기인한다는 사실이 새롭게 밝혀졌다. 달걀은 혈액 콜레스테롤을 높이지 않으며 청소년의 학습능력 향상과 동시에 치매 예방에 도움이 되는 “Brain food”로써 새롭게 조명되기 시작하였다[1-3]. 달걀의 레시틴은 세포막 인지질 이중 층의 구성 및 태아 발육에 필수적인 콜린의 공급원으로써 정상적인 콜레스테롤 대사 및 간 기능을 유지해주고 두뇌 기억력 활성화에 도움이 된다[4]. 달걀의 난황은 31%의 지방을 함유하며 난황 지방의 22%가 인지질, 인지질의 70%가 레시틴으로 구성되어 있다[3]. 레시틴은 소장에서 인지질 포화상태를 유지함으로써 콜레스테롤 흡수를 낮추고 변을 통한 콜레스테롤의 배설을 촉진시킨다[5].

섭취하는 콜레스테롤의 흡수율과 함께 혈액 콜레스테롤의 정상수준 유지 및 감소와 관련한 간 지방산의 산화, 에스터화 사이의 대사적 분할은 매우 중요하다[5]. 랫드에서 달걀의 섭취가 HMG-CoA reductase activity 억제 및 스테롤 배설 증가를 통한 혈액 콜레스테롤을 낮추는 생화학적 메커니즘이 보고되었다[3]. 콜레스테롤을 비롯한 지질 대사 메커니즘을 구명하는데 있어서 간에서 분비되는 중성지방 및 인지질의 생합성,

분비와 관련한 간 지방산의 산화, 에스터화 사이의 대사적 분할에 관한 생체 모니터링 기법이 보고되었으나 본 연구와 관련한 결과는 거의 없다 [5,6]. 본 연구는 랫드에게 달걀을 경구투여 후 경정맥 캐놀라를 부착하여 동물의 간에서 합성, 분비되는 간 지방산의 산화, 에스터화 사이의 대사적 분할 메커니즘을 생체 모니터링 하였다.

2. 실험

2.1. 실험동물 및 실험설계

Sprague-Dawley 계통의 랫드 숫컷 (체중 180 ± 3.12 g) 20마리를 대한바이오링크(주)로부터 구입하였다. 4처리군*처리군 당 5반복 (반복 케이지 당 1마리씩)으로 완전임의배치 하였다. 실험 처리군은 대조군 (CON, control, 생리식염수 1.0 g), T1 (삼겹살 기름 1.0 g), T2 (난황 1.0 g), T3 (삼겹살 기름 1.0 g, 난황 1.0 g을 각각 1주일씩 교체 투여군)로 구분하였다.

2.2. 실험식이와 사양관리

동물실험 절차는 EEC Directive (86/609/EEC)에서 제시된 과학적이고 윤리적인 규정을 준수하였으며, 강원대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 얻어서 진행하였다 (Approved No. KNU-17007). 실험식이는 미국영양연구소 (American Institute of Nutrition, AIN'93)에서 제시한 랫드의 영양소요구량을 충족할 수 있도록 조절된 정제펠릿식을 이용하였다[7]. 정제펠릿식은 제조 후 70°C 건조 오븐에서 24 시간 건조하여 수분 12%를 함유하였다. 정제펠릿식이 (%)는 카제인

20.00, 옥수수전분 39.75, 설탕 10.00, 텍스트린 13.20, 대두유 7.00, 솔카플록 5.00, AIN-93 미네랄 혼합제 3.50, AIN-93 비타민 혼합제 1.00, L-시스틴 3.00를 함유하였다[6,7]. 동물은 플라스틱 케이지에서 사육하였으며 온도와 습도는 각각 22°C, 52% 유지하였다. 일반 펠렛식이를 이용하여 1주일의 환경 적응기간을 거친 후 30일 동안 실험식이를 급여하면서 매일 동일한 시간에 난황을 경구투여 하였다. 사양실험이 종료된 후 경정맥 캐놀라를 부착하였다. glycerolipid에 대한 산화, 에스터화 사이의 대사적 분할을 생체모니터링 기법으로 조사하였다[6].

2.3. 생체모니터링

사양실험이 종료된 후 Moir 등 (1995)의 방법으로 경정맥 캐놀라를 부착하였다[8]. 마취제로써 케타민 (50 mg/mL) 3: 럼폰 1의 혼합액을 체중 100 g당 0.15 mL씩 복강주사 후 경정맥 캐놀라를 수술에 의해 부착하였다. citric saline 0.3 mL를 캐놀라 속으로 주입하여 정상적인 혈액의 흐름을 확인하면서 5일 간의 회복기를 두었다[9]. 혈액 공여 동물로써 체중 600 g의 Sprague-Dawley 계통 수컷의 간에서 새롭게 합성된 초저밀도지질단백질 (VLDL-TG, very low density lipoprotein-triglycerol)의 분비를 가속화하기 위하여 10% fructose 용액을 음수로써 공급하였다. 동물을 마취시킨 후 복대동맥으로부터 얻어진 혈액 10 mL를 이용하여 지질단백질을 동위원소 표식하였다. 동물로부터 얻어진 혈액 VLDL 잔유물을 배양 후 중밀도지질단백질 (IDL, intermediate density lipoprotein)을 분리하고 lipopolysaccharide (LPS)를 제조하였다. 지질 지표물질로써 [³H]-cholesteroyl ether와 cholesteryl-[¹⁴C]-oleate는 Amersham International (Amersham, Bucks., U.K.) 제품을 사용하였다. 시험관에 지질 지표물질, cholesterol ester transfer protein와 반응시약을 넣고 배양하여 지질단백질을 표식하여 LPS를 제조하였다. LPS를 사용하기 직전에 0.45 μm filter pore size를 통과하여 여과시켰다[10,11]. 동물에게 LPS의 주입량은 Scintillation counter (Packard 1600TR, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA)에서 측정한 후 [¹⁴C] 300,000 dpm, [³H] 300,000 dpm으로 조절하였다. LPS를 경정맥 캐놀라를 통하여 주입한 다음 분당 5의 속도로 공급되는 호흡대사장치 (pump: Masterflex model 7524-50; Cole-Parmer Instrument Co.

Ltd. Breath sampling bag: Laboratory for Expiration Biochemistry Nour-ishment Metabolism Co., Ltd.)에 넣고 [¹⁴C]-CO₂ (이하 ¹⁴CO₂로 표기함)를 알칼리 흡습제 (에탄올아민과 에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르 1:2 혼합액)를 이용, 수집하여 산화율을 계산하였다. 15분 후 Triton WR 1339 용액 1.0 mL를 경정맥 캐놀라를 통하여 주입하였다. 호흡대사 챔버에서 60분간 둔 다음 랫드 체중 kg 당 60 mg의 pentobarbitone을 이용하여 마취하였다[12-14]. 상기의 방법으로 마취 후 근적외선 램프를 이용하여 실험동물의 체온을 유지하면서 복강을 절개하여 복대동맥으로부터 3 mL의 혈액을 신속하게 채취하였다. 간, 뒷다리 근육과 지방조직은 액체 질소에서 급속냉동 후 생화학적 분석 시까지 보관하였다. 각 조직으로부터 지질을 추출하여 Thin-layer chromatography (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)에 의해 지질 분획을 분리하였다[6,15].

2.4. 통계처리

얻어진 모든 자료에 대한 통계적 분석은 SPSS statistical software program (version 20.0, IBM Inc., Armonk, NY, USA)을 이용하였다. 일원분산분석 및 던칸의 다중검정법에 의해서 각 처리구의 평균값에 대한 95% 신뢰수준에서 통계적인 유의차 (P<0.05)를 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 혈액과 간 glycerolipid 속으로 cholesteryl-[¹⁴C]-oleate의 합병율 및 ¹⁴CO₂ 방출율

난황을 경구투여 후 경정맥 캐놀라를 부착한 랫드의 혈액과 간에서 총지질 분획에서 glycerolipid 속으로 cholesteryl-[¹⁴C]-oleate (이하 ¹⁴C로 표기함)의 합병율 및 ¹⁴CO₂ 방출은 Table 1과 같다. [³H]-cholesteroyl ether (이하 ³H로 표기함)의 간과 혈액에서 합병율은 [¹⁴C]의 간과 혈액에서 합병율에 비하여 높게 나타났다. [³H]의 간 내 합병율은 89.82-90.71%로서 매우 높았으나 혈액 속으로 합병율은 1.09-1.11%로서 매우 낮았다. 각 처리구 사이의 통계적인 유의차는 인정되지 않았다. 간 지방산의 대사분할에 있어서 [¹⁴C]의 주입 시 일어나는 간에서 합성, 분

Table 1. Effect of egg yolk on $^{14}\text{CO}_2$ production and incorporation of [^3H], [^{14}C] label into liver and plasma in rats

	Incorporation of [^3H],[^{14}C]label(%of injected dose)				$^{14}\text{CO}_2$ production
	Plasma		Liver		
	[^3H]	[^{14}C]	[^3H]	[^{14}C]	
CON	1.09	20.41 ^{bc}	90.71	30.19 ^b	12.52 ^b
T1	1.11	27.76 ^a	90.11	39.66 ^a	8.30 ^c
T2	1.09	18.07 ^c	90.40	26.77 ^c	18.09 ^a
T3	1.11	20.97 ^b	89.82	29.90 ^b	11.86 ^b
PSE	0.0207	1.1414	0.3254	1.4843	1.0817
P-value	0.9860	0.0001	0.8421	0.0001	0.0001

CON: control group, 1.0 g of saline solution, T1: 1.0 g of pork belly oil, T2: 1.0 g of egg yolk, T3: 1.0 g of pork belly oil and 1.0 g of egg yolk, alternatively each week.

^{a,b,c}Values within the same line with different superscript are significantly different (n=5, p<0.05).

비되는 VLDL-TG의 대사율을 보정해주기 위해 [^3H]와 [^{14}C]를 동시에 사용한다[6,16]. 지질대사에서 [^3H]의 간 속으로 합병율은 [^{14}C]의 간 속으로 합병율에 비하여 높지만 혈액 속으로 [^3H] 합병율은 매우 낮다. [^3H]-cholesteryl oleoyl ether는 cholesteryl- ^{14}C -oleate와 달리 간에서 위와 같은 대사경로를 거치지 않으며 90%이상이 그대로 간에 남는다. 따라서 두 가지 물질을 사용하면 보다 정확하게 간에서의 지방산 대사분할 메커니즘을 측정할 수 있다[17].

[^{14}C]의 간에서 합병율은 T1, CON, T3 순서로 높았으며 T2가 가장 낮았으며 (P<0.05) 합병율 범위는 26.77-39.66%로서 혈액의 합병율에 비해 높았다. 혈액 속으로 합병율은 T1, T3, CON 순서로 높았고 T2가 가장 낮았으며 (P<0.05) CON과 T3, CON과 T2 사이의 통계적인 유의차는 나타나지 않았으며 혈액 속으로 합병율 범위는 18.07-27.76%로서 간에서 합병율에 비해 낮게 나타났다. 이전에 연구한 Moir 등 (1995), Shin 등(2019)의 보고는 본 결과와 비슷하였다[6,7]. 한편, 상기의 결과와 직접 관련한 내용은 알려지지 않았다. 간에서 cholesteryl- ^{14}C -oleate는 [^{14}C] oleic acid와 콜레스테롤로 대사가 진행된다. 올레인산은 산화와 에스터화 과정을 거치면서 새롭게 VLDL-TG의 합성에 이용되어 30분 후 혈액으로 이동된다. 따라서 cholesteryl- ^{14}C -oleate를 사용하면 간에서 새롭게 합병된

VLDL-TG의 혈액 분비량을 측정하는 것이 가능하다[6,11,18]. glycerolipid 대사에 의한 $^{14}\text{CO}_2$ 방출은 T2가 가장 높았고 T1가 가장 낮았으나 (P<0.05) 중간 값을 차지한 CON과 T3 사이의 통계적인 유의차는 인정되지 않았고 $^{14}\text{CO}_2$ 방출량의 범위는 8.30-18.09%로 나타나서 난황을 경구투여 한 랫드에서 glycerolipid 대사가 빠르게 진행되는 것으로 나타났다. 간 지방산의 대사에 관한 생체모니터링에서 $^{14}\text{CO}_2$ 의 방출은 [^{14}C]-케톤체 산화보다도 더욱 중요하다[6,19]. 본 결과, 새롭게 주입된 [^{14}C]로부터 간과 혈액 속으로 glycerolipid의 합병율은 삼겹살기름을 경구투여한 T1에서 가장 높았고 난황을 경구투여한 T2가 가장 낮았으며 $^{14}\text{CO}_2$ 방출은 그 반대로 나타남을 알 수 있었다. 또한, 삼겹살기름을 경구투여한 랫드와 비교할 때 삼겹살기름과 난황을 교차투여 하였을 때 새롭게 주입된 [^{14}C]로부터 간과 혈액 속으로 glycerolipid의 합병율이 낮아졌으며 $^{14}\text{CO}_2$ 방출은 증가하였음을 확인하였다.

3.2. 조직 내 [^{14}C] lipid의 축적율

난황을 경구투여 후 경정맥 캐놀라를 부착하여 조사한 $^{14}\text{CO}_2$ 방출, 조직 내 cholesteryl- ^{14}C -oleate (이하 ^{14}C 로 표기함)의 축적율은 Table 2와 같다. [^{14}C]의 흡수율과 $^{14}\text{CO}_2$ 방출은 각 처리군에서 유의적인 차이를 나타냈다. $^{14}\text{CO}_2$ 방출과 [^{14}C]의 합병율은 각 처리군에서 큰 차이

Table 2. Effect of egg yolk on $^{14}\text{CO}_2$ production and tissue accumulation of [^{14}C] lipid in rats

	Absorption of [^{14}C]lipid(%)	$^{14}\text{CO}_2$ production (% of absorbed dose)	Tissue [^{14}C]lipid accumulation (% of absorbed dose/g of tissue)		
			Adipose tissue	Liver	Hind-leg muscle
CON	56.57 ^b	25.22 ^b	0.50 ^b	0.62 ^b	0.29 ^b
T1	64.51 ^a	17.13 ^c	1.79 ^a	1.52 ^a	0.55 ^a
T2	56.12 ^b	33.35 ^a	0.40 ^b	0.31 ^c	0.18 ^b
T3	56.48 ^b	27.78 ^b	0.53 ^b	0.83 ^b	0.29 ^b
PSE	1.1379	1.8234	0.1464	0.1692	0.0475
P-value	0.0010	0.0001	0.0011	0.0001	0.0082

CON: control group, 1.0 g of saline solution, T1: 1.0 g of pork belly oil, T2: 1.0 g of egg yolk, T3: 1.0 g of pork belly oil and 1.0 g of egg yolk, alternatively each week.

^{a,b,c}Values within the same line with different superscript are significantly different (n=5, p<0.05).

를 보여주었다. 이러한 결과는 Moir 등 (1995), Park, Zammit (2019), Shin 등(2019)의 보고와 비슷하였다[6-8]. 그러나 본 결과와 직접 관련된 내용은 보고된 바 거의 없다. [^{14}C]의 흡수율과 $^{14}\text{CO}_2$ 방출은 절식, 정상식이 섭취군에서 서로 다르기 때문에 그 차이를 보정할 필요가 있다. 따라서 정확한 자료를 제시하기 위해서는 $^{14}\text{CO}_2$ 방출과 조직 [^{14}C]의 축적율에 대한 자료를 Table 2와 같이 흡수된 양의 %로 표기하는 것이 바람직하다[6,8,19].

[^{14}C]의 조직 내 축적율은 T1이 기타 처리군에 비해서 높았고 간에서 T2가 낮았음을 (P<0.05) 제외하면 CON, T1, T3 사이의 차이는 없었다. $^{14}\text{CO}_2$ 방출은 T2가 높았고 T1이 가장 낮았으며 T2는 CON, T1, T3와 비교할 때 각각 1.32배, 1.95배, 1.20배 높아졌다 (P<0.05). 이러한 결과는 T1에서 지질 축적을 증가에 의해서 이루어졌을 것으로 보이는데 산화 (간, 근육, 갈색지방) 보다는 오히려 지방조직 내 지질축적을 위한 새롭게 주입된 [^{14}C]의 새로운 흐름을 나타내는 것으로 추정할 수 있다[6,10,20].

T1의 지방조직에서 [^{14}C]의 축적율이 CON, T2, T3에 비하여 각각 3.5배, 4.48배, 3.38배 높았던 점은 이를 잘 반영해 주고 있다. 근육은 산화를 위한 순환하는 중성지방의 중요한 제거 부위로 알려져 있으며[6] 본 결과는 뒷다리 근육 내 [^{14}C]의 축적율이 가장 높았던 T1가 CON, T2, T3에 비해서 각각 1.90배, 3.05배, 1.90 배

유의하게 높은 경향을 나타냈다 (P<0.05). 따라서 달걀의 섭취가 지질의 흡수를 억제함과 동시에 산화를 가속화하여 줌으로써 조직 내 지질 축적을 낮추는 것으로 판단된다[6,20,21].

3.3. Glycerolipid 대사의 분할

난황을 경구투여 한 후 경정맥 캐놀라를 부착하여 조사한 혈액과 간 에스터화로 발생한 생물체에서 회수된 간에서 대사된 콜레스테롤 에스터의 비율은 Table 3 같다. 여기에 제시된 값은 지질대사에 따른 서로 다른 측정값의 차이를 보정해 주기 위해서 [^3H] 회수율 Table 1을 기준으로 한 대사된 양의 %농도로서 나타낸 수치이다. 총 glycerolipid (간에서 대사된 cholesteryl ^{14}C -oleate %)는 T1이 가장 높았으며 CON, T2, T3순서로 높았으나 통계적인 유의차는 인정되지 않았다. 인지질 분비량은 난황을 경구투여 한 T2가 기타 처리군에 비해서 유의하게 높았다 (P<0.05). 중성지방 분비량은 T1이 가장 높았으며 CON, T3, T2 순서로 유의하게 높았으나 (P<0.05) CON과 T3 사이의 통계적인 유의차는 없었다. 총 glycerolipid에 대한 인지질의 분할 비율은 T2가 가장 높았고 T3, CON 순서로 높았고 T1은 가장 낮았으며 각 처리군 사이의 통계적인 유의차가 나타났다 (P<0.05). [^{14}C]-total glycerolipid에 대한 $^{14}\text{CO}_2$ 방출은 T2에서 가장 높았으며 CON, T1, T3과 비교할 때 유의하게 높은 산화율을 보여 주었다 (P<0.05). 일반적으로

Table 3. Effect of egg yolk on metabolic partitioning of glycerolipid in rats

	Total glycerolipid (% of cholesterol [¹⁴ C]-oleate metabolized in liver)	% Secreted		Phospholipid/ total glycerolipid (%)	¹⁴ CO ₂ /[¹⁴ C] total glycerolipid (%)
		Phospholipid (% of total glycerolipid labelled)	TG (% of total triglycerol labelled)		
CON	77.95	11.74 ^c	48.15 ^b	31.91 ^c	26.03 ^c
T1	83.19	8.47 ^d	57.92 ^a	21.86 ^d	20.46 ^d
T2	74.09	25.24 ^a	30.98 ^c	40.01 ^a	39.10 ^a
T3	73.41	18.33 ^b	48.15 ^b	35.31 ^b	32.03 ^b
PSE	2.6269	1.9769	2.9607	2.0343	2.1531
P-value	0.5990	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

CON: control group, 1.0 g of saline solution, T1: 1.0 g of pork belly oil, T2: 1.0 g of egg yolk, T3: 1.0 g of pork belly oil and 1.0 g of egg yolk, alternatively each week.

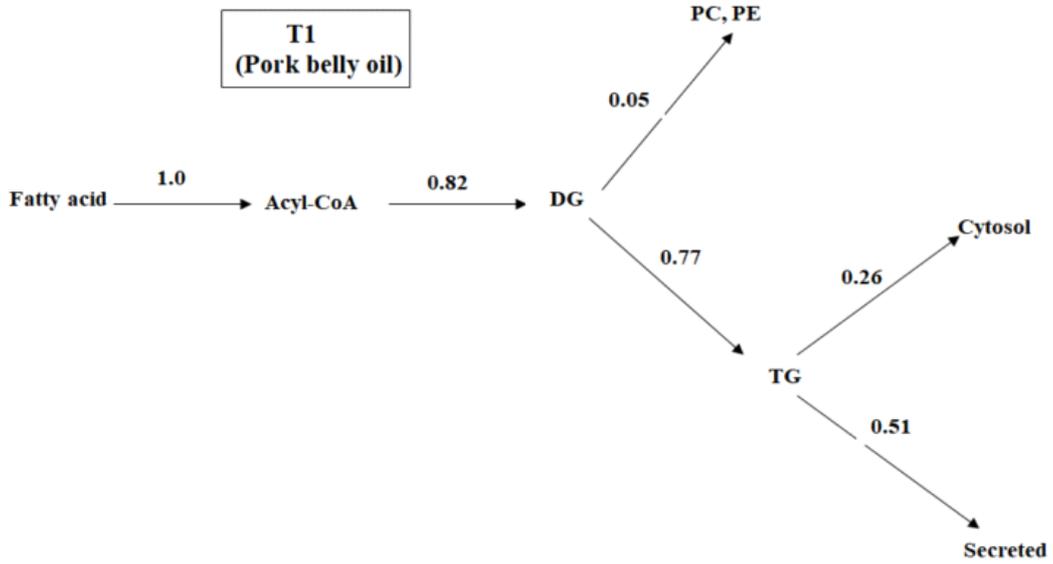
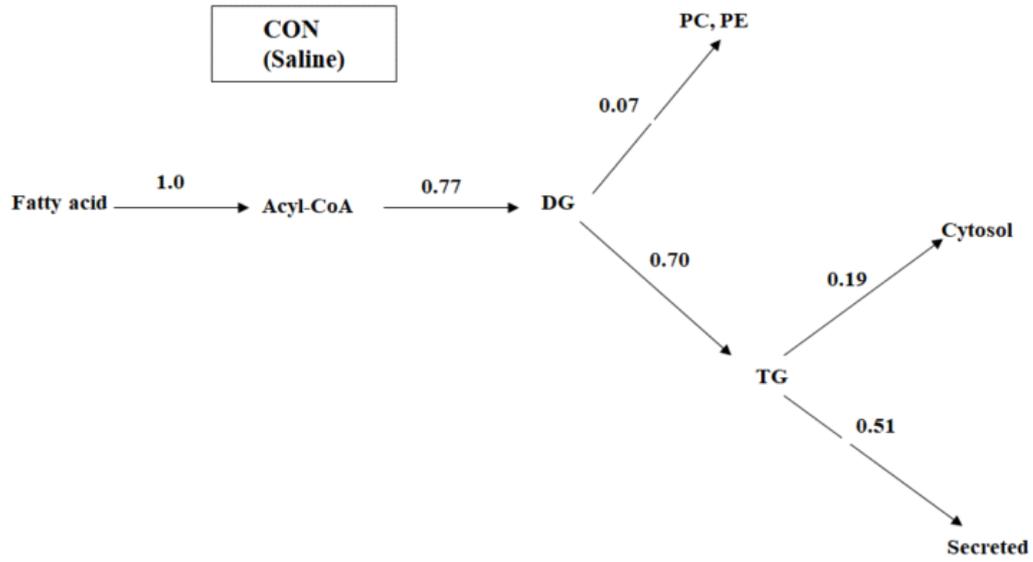
^{a,b,c}Values within the same line with different superscript are significantly different (n=5, p<0.05).

간에 의한 지방산의 에스터화 비율이 낮아졌을 때 대부분의 인지질은 간에서 그대로 유지되어 적절한 세포막 구조를 유지해주는 한편, 인지질합성을 위해 쓰이는 에너지를 절약해준다[6]. 본 결과, 새롭게 주입된 [¹⁴C]으로부터 간에서 혈액 속으로 분비된 glycerolipid의 대사분할은 glycerolipid의 경우 삼겹살기름을 경구투여 한 T1에서 높았고 난황을 경구투여 한 T2가 낮았으나 인지질 분비율과 ¹⁴CO₂ 방출은 그 반대로 나타남을 알 수 있었다. 달걀의 섭취가 간에서 새롭게 합성된 glycerolipid의 대사분할에서 중성지방을 낮추고 동시에 인지질 분비, 및 ¹⁴CO₂ 방출량 증가로써 혈액 지질을 낮춘다는 사실을 발견했다.

3.4. 간에서 지질분할의 정량화

난황을 경구투여 한 후 경정맥 캐놀라를 부착한 랫드에서 조사한 glycerolipid의 대사분할 분기점의 기여도를 Fig. 1과 같이 정량화하였다. 간으로부터 분비된 [¹⁴C]-TG 비율은 CON 70.02, T1 77.28, T2 41.82, T3 63.33%로 나타났다. 중성지방 분할에서 난황을 경구투여 한 T2는 CON, T1, T3와 비교할 때 각각 28.20, 35.46, 21.52% 감소하였다. 간으로부터 분비된 인지질 비율은 CON 7.14, T1 5.02, T2 17.65, T3 12.33%로 나타났다. 인지질 분할에서 난황을 경

구투여 한 T2는 CON, T1, T3와 비교할 때 각각 10.51, 12.63, 5.33배 증가하였다. 3.3항에서 제시한 glycerolipid 대사의 분할과 함께 본 결과는 Moir 등 (1995), Park과 Zammit (2019)이 보고한 내용과 비슷하였다[6-8]. 그러나 본 결과와 직접 관련한 보고는 거의 찾아볼 수 없었으며, 달걀을 섭취하면 간 지방산의 산화, 에스터화에 관한 대사적 분할 메커니즘을 조절하여 줄으로써 혈액 지질을 낮출 수 있다는 새로운 사실을 구명한 최초의 결과로 본다. 삼겹살 기름을 경구투여 한 T1와 비교할 때 난황을 경구투여 한 T2의 지질 감소는 acyl-CoA, DG, 인지질 및 중성지방의 분할 경로로 이어지는 acyl moiety의 분할 방향에서 다중적인 감소효과에 의해서 나타난 것으로 볼 수 있다[14,20,22]. 따라서, 산화하는 방향으로 acyl-CoA의 증가 및 분비에 기인한 중성지방의 세포 내 축적증가는 일반적으로 동일한 기여도를 만든다[22]. glycerolipid 합성은 랫드의 간에서 지방산 대사의 주요한 루트이며 조직은 아주 적은 양이지만 새롭게 합성된 지방산을 활용하여 일부 글리세롤의 에스터화를 꾀한다[23,24]. 지방산화를 위한 아실카르니틴 형성과 지방합성을 위한 에스터화 사이의 간 지방산 분할은 지방산의 산화율을 결정하므로 산화와 에스터화 사이의 간 지방산 분할은 매우 중요하다[20,23]. 정상식이를 섭취한 랫드에서 지방산의



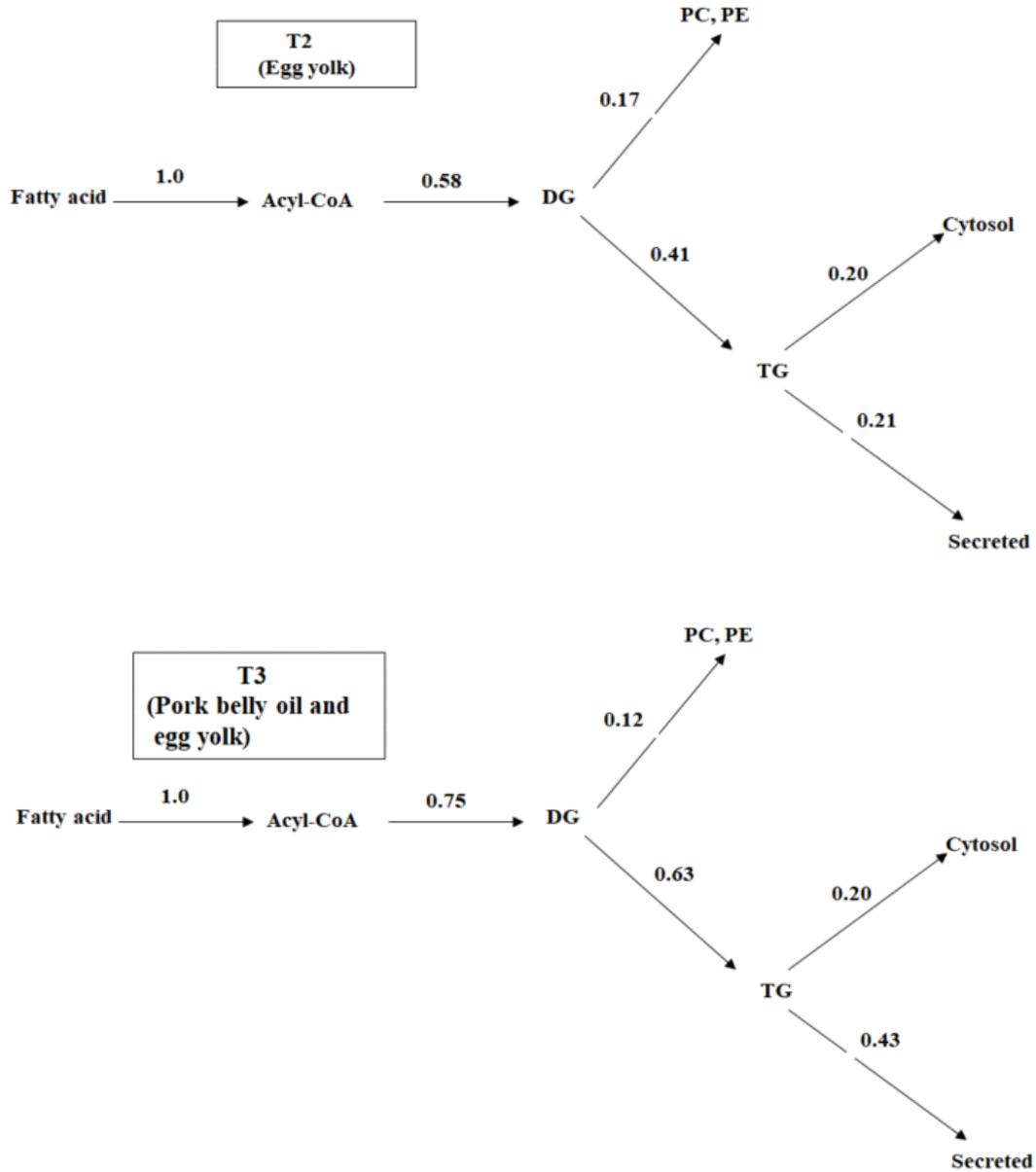


Fig. 1. Quantification of the metabolic partitioning on oxidation and esterification of hepatic fatty acids by oral administration of egg yolk in rats.

CON: control group, 1.0 g of saline solution, T1: 1.0 g of pork belly oil, T2: 1.0 g of egg yolk, T3: 1.0 g of pork belly oil and 1.0 g of egg yolk, alternatively each week.

^{a,b,c}Values within the same line with different superscript are significantly different (n=5, p<0.05).

DG, diglycerol; TG, triglycerol; PC, phosphatidyl choline; PE, phosphatidyl ethanolamine.

대사는 중성지방과 인지질 합성 쪽으로 진행되며 간에서 합성되어 혈액 속으로 분비된 중성지방을 함유하는 VLDL은 동물의 지방조직 내 lipoprotein lipase의 기질로써 사용된다[20,23].

4. 결론

난황을 경구투여 한 랫드에게 경정맥 캐놀라를 부착하여 간 지방산의 산화, 에스터화에 대사적 분할 메커니즘을 생체 모니터링 기법으로 측정하였다. 실험 처리구는 대조군 (CON, control, 생리식염수 1.0 g), T1 (삼겹살 기름 1.0 g), T2 (난황 1.0 g), T3 (삼겹살 기름 1.0 g, 난황 1.0 g을 각각 1주일씩 교체 투여군)로 배치하였으며 그 결과는 다음과 같다. glycerolipid 대사에 의한 Cholesteryl-¹⁴C-oleate의 간, 혈액 속으로 합병율은 T2가 T1, T3, CON에 비해서 낮았다 (P<0.05). glycerolipid 대사에 의한 ¹⁴CO₂ 방출은 T2가 높았고 T1이 가장 낮았다 (P<0.05). Cholesteryl-¹⁴C-oleate의 조직 속으로 축적율은 T1이 기타 처리군에 비해서 높았다 (P<0.05). 인지질 분비량은 T2가 기타 처리군에 비해서 높았고 중성지방 분비량은 T1이 가장 높았다 (P<0.05). [¹⁴C]-total glycerolipid에 대한 ¹⁴CO₂ 방출은 T2가 CON, T1, T3과 비교할 때 높았다 (P<0.05). 결론적으로, 달걀을 섭취하면 간 지방산의 산화, 에스터화에 관한 대사적 분할 메커니즘을 조절하여 줌으로써 혈액 지질을 낮출 수 있다는 새로운 사실을 밝혀냈다

감사의 글

본 연구는 2018년도 한국연구재단 기본연구지원사업(C1012520)으로 연구하였으며 이에 깊은 감사를 드립니다. 실험설계 및 진행을 위해 도움을 주신 전 강원대학교 박병성 교수와 실험에 협조를 해준 동물바이오모델 실험실 학생에게 감사드립니다.

References

1. H.T. Bang, J. Hwangbo, S.O. Park, B.S. Park, "Effect of oral administration of egg yolk on cholesterol metabolism in rats", *The Korean Society of Applied Science and Technology*, Vol.31, No.2, pp. 255-264, (2014).
2. C. Jeffrey, W. Elain, K. Alvin, T. Sally, "Dietary phospholipids, hepatic lipid metabolism and cardiovascular disease", *Current Opinion in Lipidology*, Vol.19, No.3, pp. 257-262, (2008).
3. B.S. Park, S.O. Park, "Lipid-lowering mechanism of egg yolk in normal rats", *International Journal of Food Science and Technology*, Vol.51, No.12, pp. 2512-2519, (2016).
4. A. Krishnaswamy, E. Cooper, "An activity-dependent retrograde signal induces the expression of the high-affinity choline transporter in cholinergic neurons", *Neuron*, Vol.61, No.2, pp. 272-286, (2009).
5. S. Lee-K.H. Um-B.S. Park, "Effect of n-6/n-3 fatty acid ratio on metabolic partitioning in hyperlipidemic rats", *The Korean Society of Applied Science and Technology*, Vol.35, No. 3, pp. 643-653, (2018).
6. S.O. Park, V.A. Zammit, "In vivo monitoring of hepatic glycolipid distribution of n-6/n-3 in jugular-vein-cannulated rats as a nutritional research model for monogastric animal", *Archives Animal Breedings*, Vol.62, No.2, pp. 437-446, (2019).
7. B.S. Park, S.O. Park, "Extracts of housefly maggot reduces blood cholesterol in hypercholesterolemic rats", *The Korean Society of Applied Science and Technology*, Vol.31, No.1, pp. 101-112, (2014).
8. A. Moir, B.S. Park, V. Zammit, "Quantification in vivo of the effects of different 468 types of dietary fat on the loci of control involved in hepatic triacylglycerol secretion", *Biochemical Journal*, Vol.308, No.2, pp. 537-542, (1995).

9. B. S. Park, "Effect of n-6/n-3 fatty acid ratio on hepatic glycerolipid partitioning in second generation rats", *The Korean Society of Applied Science and Technology*, Vol.34, No.4. pp. 839-850, (2017).
10. Y.M. Wang, B. Zhang, Y. Xue, Z.J. Li, J.F. Wang, C.H. Xue, T. Yanagita, "The mechanism of dietary cholesterol effects on lipids metabolism in rats", *Lipids in Health and Disease*, Vol.9, No.4. pp. 4-9, (2010).
11. A.M. Umpleby, "Tracing lipid metabolism: the value of stable isotopes", *Journal of Endocrinology*, Vol.226, No.3. pp. G1-10, (2015).
12. T. Iwasaki, S. Takahasi, M. Takahasi, Y. Zenimaru, T. Kujiraoka, "Deficiency of the very low-density lipoprotein (VLDL) receptors in streptozotocin-induced diabetic rats: Insulin dependency of the VLDL receptor", *Endocrinology*, Vol.146, No.8. pp. 3286-3294, (2005).
13. K. Nakajima, T. Nakano, Y. Tokita, T. Nagamine, A. Inazu, J. Kobayashi, H. Mabuchi, K.L. Stanhope, P.J. Havel, M. Okazaki, M. Ai, A. Tanaka, "Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons", *Clinica Chimica Acta*, Vol.412, No.15. pp. 1306-1318, (2011).
14. F. Wilfling, H. Wang, J.T. Haas, "Triacylglycerol synthesis 75 enzymes mediate lipid droplet growth by relocalizing from the ER to lipid droplets", *Developmental Cell*, Vol.24, No.4. pp. 384-399, (2013).
15. M. Cid-Hernández, F.A.L. Dellamary-Toral, L.J. González-Ortiz, M.J. Sánchez-Peña, F.P. Pacheco-Moisés, "Two dimensional thin layer chromatography-bioautography designed to separate and locate metabolites with antioxidant activity contained on *Spirulina platensis*", *International Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 2018, No.2018. pp. 1-9, (2018).
16. D.J.M. Kollareth, C.L. Chang, I.H. Hansen, R.J. Deckelbaum, "Radiolabeled cholesteryl ethers: A need to analyze for biological stability before use", *Biochemistry and Biophysics Reports*, Vol.13, No.3. pp. 1-6, (2018).
17. Y. Shi, D. Cheng, "Beyond triglyceride synthesis: the dynamic functional roles of MGAT and DGAT enzymes in energy metabolism", *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, Vol.297, No.1. pp. 10-18, (2009).
18. Z. Chen, M.C. Gropler, J. Norris, J.C. Lawrence Jr, T.E. Harris, B.N. Finck, "Alterations in hepatic metabolism in *fl* mice reveal a role for lipin 1 in regulating VLDL-triacylglyceride secretion", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol.28, No.10. pp. 1738-1744, (2008).
19. F.K. Huynh, M.F. Green, T.R. Koves, M.D. Hirschey, "Measurement of fatty acid oxidation rates in animal tissues and cell lines", *Methods Enzymology*, Vol.542, No.5. pp. 391-405, (2014).
20. T. J. Grevengoed, E.L. Klett, R.A. Coleman, "Acyl-CoA metabolism and partitioning", *Annual Review of Nutrition*, Vol.34, No.4. pp. 1-30, (2014).
21. R.P. Constantin, G.S.D. Nascimento, C.L. Salgueiro, A. Bracht, E.L. Ishii-Iwamoto, N.S. Yamamoto, J. Constantin, "Citrus flavanones affect hepatic fatty acid oxidation in rats by acting as prooxidant agents", *Bioactive Natural Materials and Compounds*, Vol.2013. No.2. pp. 1-12, (2013).
22. S.M. Koves, D.M. Watkins, G.W. Muoio, G.W. Cline, G.I. Shulman, R.A. Coleman, "Liver-specific loss of long chain acyl-CoA synthetase-1 decreases triacylglycerol synthesis and beta-oxidation and alters phospholipid fatty acid composition", *Journal of Biological Chemistry*, Vol.284, No.41. pp. 27816-27826, (2009).
23. K. Ebihara, M. Tachibe, N. Kaneko, T.

Kishida, "Hydroxypropylation of high-amylose maize starch changes digestion and fermentation-dependent parameters in rats", *Journal of Nutritional Science*, Vol.2, No.e19. pp. 1-10, (2013).

24. L. Hodson, K.N. Frayn, "Hepatic fatty acid synthesis and partitioning: The effect of metabolic and nutritional state", *Proceedings of Nutrition Society*, Vol.78, No.1. pp. 126-134, (2019).