

高脂肪食餌가 腸組織의 脂質像 및 脂質合成에 미치는 影響*

慶北大學校 醫科大學 生化學教室

朴 在 厚 · 曹 準 承

啓明大學校 醫科大學 生化學教室

郭 春 植

= Abstract =

Effect of High Lipid Diet Profile and Lipid Biosynthesis of Intestinal Tissue in Rat

Jae Hoo Park, Joon Seung Jo

*Department of Biochemistry, Kyungpook National University
School of Medicine, Taegu, Korea*

Chun Sik Kwak

*Department of Biochemistry, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea*

Effect of high lipid diet and its composition on lipid profile and lipid biosynthesis was investigated in Sprague-Dawley rats weighing 60–65gm. The animals were divided into three groups and fed 3 different fat diets: 12% calorie control diet, 45% calorie corn oil diet, and 45% calorie butter fat diet. The diets were fed to the rats ad libitum for 12 weeks. And lipid profile and incorporation of acetate-¹⁴C into intestinal lipid were investigated.

Mean small intestinal lipid levels in mg/100ml for the control group were 15.2±1.5; triacylglycerol 2.6±0.5; phospholipid, 1.04±0.14; cholesterol, and 20.4±5.9; total lipid. The increase of lipid content due to long term administration of high lipid diet was more prominent in animal fat (45% calorie butter fat) diet group than in plant fat (45% corn oil) diet group. In 45% calorie-butter fat diet feeding, phospholipid was increased 2-fold and triacylglycerol 1.5-fold but total cholesterol did not show significant increase.

On the otherhand, incorporation of radioactive acetate into intestinal tissue revealed maximum level at 3 hours after administration in all group, and maximum incorporation rate of both plant and animal fat diet group did not show significant difference but slightly decreased than control normal diet group (about 15%).

The result indicated that long-term feeding of animal diet composed 45% calorie butter fat, slightly increases small intestinal levels of triacylglycerol and phospholipid but plant lipid diet do not affect the lipid profile and synthesis of lipid in intestinal tissue.

* 본 논문은 1983년도 계명대학교 동산의료원 임상연구 보조비로 이루어졌음.

緒 論

腸管은 消化 및 吸收을 行하는 主된 臟器이며, 攝取된 食物의 90%는 小腸을 通過하는 사이에 吸收된다. 大體로 腸管의 物質吸收는 擴散에 의한 受動的인 吸收와 能動的인 吸收에 의해서 이루어지며, 吸收된 物質은 主로 두 經路에 의해서 輸送된다¹⁾. 즉 門脈系의 靜脈을 通하여 肝으로 直送되는 경우와 腸管領域의 淋巴管系와 胸管을 通해서 結局 血中으로 들어가는 經路이다. 그리고 特히 脂肪의 消化에는 22%가 glycerol과 脂肪酸으로 完全히 分解되어 吸收되며 이때 glycerol은 吸收되어 門脈으로 들어가고, 78%는 部分的으로 消化되어 monoacylglycerol로서 腸内壁에 吸收되어 그곳에서 다시 脂肪酸과 結合해서 다시 triacylglycerol로 再合成되어 大部分은 磷脂質과 cholesteryl ester를 包含해서 chylomicron의 形態로 되어 腹部淋巴管을 通해서 輸送된다고 한다^{1,2)}. 最近에 와서 脂肪吸收에 있어 脂肪微

粒子가 腸粘膜의 刷毛外膜을 貫通하는 相互作用에 대해서 關心을 가지게 되었다³⁾. 脂質攝取는 刷毛外膜이 外因性 脂質을 融合해서 内膜으로 移送함으로써 이루어지며, 이것은 Ca²⁺같은 2價 ion과 脂質濃度에 의해서 允進된다고 한다⁴⁾. 따라서 高脂肪食餌를 投與하면 腸管에서의 脂肪吸收는 物論 腸組織의 脂質像과 脂質合成에 어떠한 變化가 惹起될 것으로 생각된다. 그러나 이것에 關心을 둔 報告는 別로 찾아 볼 수 없었다. 따라서 著者는 離乳된 쥐를 使用해서 植物性 또는 動物性 高脂肪食餌를 12週間 投與하고 腸組織의 各種 脂質含量을 測定하는 同時 放射性醋酸의 腸脂質에의 編入速度등을 調査하여 그 結果를 報告코자 한다.

材料 및 方法

動物 및 處置: 動物은 Sprague-Dawley 種의 흰 쥐 숫컷으로서 生後 3週가 지나 離乳된 것을 使用하였으며 體重이 60~65g 되는 숫쥐를 任意로 골라서

Table 1. Composition of experimental fat diet (g/1,000g diet)

	Control 12% Fat	45%-Corn oil	45%-Butter fat
Corn oil(g) ¹	40	220	—
Butter fat(g) ²	12	—	220
Corn starch(g) ³	678	410	410
Casein(g) ⁴	175	198	198
Salt mix(g) ⁵	40	40	40
Vitamin mix. (g) ⁶	5	5	5
D-Threonine(g) ⁷	1.5	1.5	1.5
DL-Methionine(g) ⁷	1.5	1.5	1.5
Cellulose(g) ⁸	42	124	124
Kcal/g	3.9	4.4	4.4
Distribution	% of Energy		
Fat	12	45	45
Starch	70	47	37
Protein	18	18	18

1. Refined corn oil, Seoul Food INC.
2. Berkshire Butter fats, Berkshire Food U. S. A.
3. Samsung Food INC.
4. Lactic casein, 30 mesh, New Zealand.
5. Salt mixture: per 1kg of diet: CaCO₃, 30.0g; CaHPO₄, 2H₂O, 7.5g; K₂HPO₄, 32.2g; NaCl 16.7g; MgSO₄, 7H₂O, 10.2g; ferric citrate, 2.75g; MnSO₄, 0.51g; KI, 70mg; CuCl₂, 5H₂O, 35mg; ZnCl₂, 25mg; CoCl₂, 5H₂O, 5mg; (NH₄)₆Mo₇O₂₄, 4H₂O, 5mg
6. Vitamin mixture: per 1kg of diet; thiamine-HCl, 20mg; riboflavin, 20mg; pyridoxine, 20mg; nicotinic acid, 90mg; D-calcium pantothenate, 60mg; folic acid, 10mg; biotin, 1mg menadione, 45mg; vitamin B₁₂ (0.1% triturate in mannitol), 20mg; retinyl acetate, 2,000 IU; cholecalciferol, 1,000 IU; DL-tocopheryle acetat, 0.1g; choline, 1.5g; inositol 0.1g; vitamin C, 0.9g; P-aminobenzoic acid, 0.1g.
7. Wako Pure chemicals Co.
8. CMC(Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber)

3群으로 나누고 各各의 實驗食餌를 調製하여 덩어리로 만들어서 朝夕으로 물과 함께 自由로 攝取시키면서 一定한 條件下에서 12週間 飼育하였다.

實驗食餌의 種類와 그 組成은 表 1과 같으며, 全熱量에 대한 脂肪으로부터 얻는 熱量의 比率에 따라 12% calorie 脂肪食餌(對照食餌), 植物性 高脂肪食餌(45% calorie-corn oil diet) 및 動物性 高脂肪食餌(45% calorie-butter fat diet)로 區分하였다. 對照食餌의 脂肪組成은 多價不飽和脂肪酸(P)과 飽和脂肪酸(S)의 含量比率이 2:1이 되도록 corn oil (P:S=5.3:1)과 butter (P:S=0.05:1)를 混合하였다.

脂質의 定量: 6時間 絶食시킨 쥐를 잡아서 곧 開腹하여 胃幽門에서 30cm 되는 곳부터 10cm 幅의 部位를 끊어내어 이 중에서 1.0g을 秤量하여 glass homogenizer 에 넣고 0.15-M 食鹽水를 10ml 加하여 homogenate 를 만들었다. 이것에 chlorform-methanol(2:1) 混合液을 5ml 씩 2번 加하여 脂質을 抽出하였으며 이 抽出液을 使用하여 各種 脂質을 定量하였다⁵⁾. Triacylglycerol 의 定量은 上記抽出液 0.5ml 를 사용하여 glycerokinase 와 glicerol-3-phosphate oxidase 를 觸媒로 하여 4-aminoantipyrine 과 chlorophenol 이 縮合해서 생기는 quinone 化合物의 赤色을 比色하여 定量하는 榮研社(日本, 東京)의 kit 試藥인 Triglyzyme-GP 法으로 測定하였다⁶⁾. 總 cholesterol 의 定量은 上記 chlorform-methanol 抽出液 2ml 를 乾燥한 後 Zak 및 Dickman⁷⁾의 法에 의해 測定하였다. 磷脂質의 定量은 上記 chlorform-methanol 抽出液 0.5ml 에 過鹽素酸을 加하여 濕性灰化시켜서 遊離되어 나오는 磷을 Fiske-SubbaRow 法⁸⁾으로써 比色하는 Naito 法⁹⁾을 應用한 榮研社의 kit 試藥으로 測定하였다. 總脂質의 定量은 上記 chlorform-methanol 抽出液 0.5ml 를 무게를 아는 容器에 옮겨서 低溫 乾燥한 後에 그 무게를 秤量하였다.

脂質에 編入된 ¹⁴C의 放射能測定: 쥐에게 acetate-

1-¹⁴C 의 (sodium salt, 61 mCi/mmol, The Radiochemical Centre 社 製品)를 體重 100g 當 4 μ Ci 에 해당되는 量을 0.15-M 食鹽水 0.5ml 에 녹여서 腹腔內로 注入하고 3時間後에 動物을 ether 麻醉下에 開腹하여 大動脈으로부터 採血해서 失血死시키고 小腸을 摘出하였다. 이 組織을 glass homogenizer 로서 0.15-M 食鹽水와 함께 10%(W/V) homogenate 를 만들고서 chloroform-methanol 의 混合液을 加하여 脂質을 抽出하고 이것의 一定量을 무게를 아는 planchet 에 옮겨서 低溫 乾燥시켜서 그 무게를 秤量하고 gas flow counter (Nuclear Chicago 社製 model No. 480)로써 그 放射性을 測定하였다. 한편 放射性 醋酸이 腸脂質에서 時間에 따라 어떻게 編入되는가를 보기 위하여 對照食餌를 攝取한 숫쥐 15마리 acetate-1-¹⁴C 를 體重 100g 當 4 μ Ci 씩을 腹腔內로 注入하고 1.5, 3.0 및 4.5時間에 各 5마리의 쥐를 죽여 小腸을 摘出하고 위와 같은 方法으로 脂質을 分離하여 그 放射性을 測定하였다. 그리고 脂質量에 따른 自己 吸收曲線을 作成해서 測定值을 補正하였다.

成 績

體重이 60~65g 되는 離乳된 흰쥐 숫컷을 3群으로 나누어 各各 12% calorie 脂肪食餌 45% calorie corn oil 食餌와 45% calorie butter fat 食餌를 12週間 投與한 後 各群 動物의 腸組織中의 各種 脂質 含量을 調査한 結果는 表 2와 같으며, 腸脂質에의 放射性 醋酸의 編入樣相을 調査한 結果는 圖 1 및 表 3과 같다.

即 對照群의 腸脂質 濃度는 triacylglycerol 이 15.2 \pm 1.5mg/g, 磷脂質이 1.6 \pm 0.5mg/g, cholesterol 이 1.1 \pm 0.2mg/g, 그리고 總脂質量은 20.4 \pm 5.9mg/g 이었다. 이것에 比하여 45% corn oil 를 含有한 植物性 高脂肪食餌群에서는 磷脂質量만 約 1.5배가량 높은 以外에는 別다른 差異는 없었으나

Table 2. Influence of high-fat diet on the content of lipids of small intestine in rats

Group	12% Fat diet(12)	45% Corn oil (9)	45% Butter fat(9)
		(mg/g)	
Triacylglycerol	15.2 \pm 1.5	13.5 \pm 2.3	21.1 \pm 1.9
Phospholipid	2.6 \pm 0.5	4.1 \pm 1.1	5.3 \pm 1.2
Cholesterol	1.1 \pm 0.1	1.1 \pm 0.2	1.2 \pm 0.2
Total lipid	20.4 \pm 5.9	25.86 \pm 2.17	30.3 \pm 3.15

All values are mean \pm SD of the number of animals indicated in parentheses. All animals were treated with experimental fat diet for 12 weeks.

Table 3. Incorporation of acetate-1-¹⁴C into lipid of intestine in rats treated with high-fat diet for 12 weeks

12% Fat(12)	45% Corn(9)	45% Butter(9)
3253±460	2756±432	2748±404

All values are mean ±SD of the number of animals indicated in parentheses in each group. Acetate-1-¹⁴C 4μCi per 100g of body weight in 0.5ml of saline solution, was injected intra peritoneally at three hours prior to killing. Lipid was extracted from the small intestine and the activity was counted with gas flow counter.

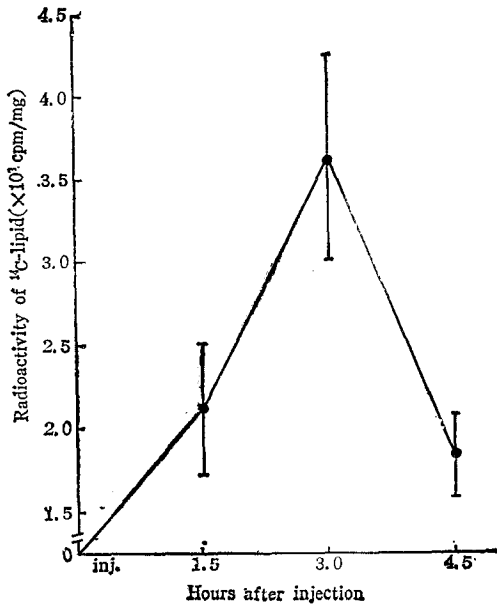


Fig. 1. Time course of acetate-¹⁴C incorporation into intestinal lipid of normal rats

45% calorie butter fat 를 含有한 動物性 高脂肪食餌 群에서는 磷脂質량이 2배, triacylglycerol 이 1.5배로 各各 增加되었다. 그러나 cholesterol 値는 群間에 뚜렷한 差異는 없었다.

한편 腸脂質에의 放射性 醋酸의 編入은 모든 食餌 群에서 다같이 注入後 3時間째 最高値를 나타내었다. 그리고 放射性 醋酸의 腸脂質에의 編入量은 動物性 또는 植物性 高脂肪 食餌群間에는 別다른 差異를 나타내지 않았으나 다같이 對照群의 그것과 比較해서 約 15% 以下되는 傾向을 보였다. 即 高脂肪 食餌를 長期間 攝取시키면 腸의 脂質濃度는 增加되는 反面에 腸組織에서의 脂質合成 速度는 多小 低下되었다.

考 察

植物性 또는 動物性 高脂肪食餌로서 長期間 投與

했을 때 脂肪吸收處인 腸組織의 脂質像과 그 脂質 合成速度에 어떠한 變化가 있는가를 알아보기 위하여 離乳된 흰쥐 숫컷을 使用하여 調査한 本實驗結果에 의하며 正常食餌群에 比하여 動物性 高脂肪食餌群에서 腸組織의 總磷脂質 濃度는 2배, triacylglycerol 의 量은 1.5배로 增加되었으며 따라서 總脂質이 增加를 보였다. 그러나 脂質分割中 總 cholesterol 値의 變化는 뚜렷하지 않았다. 이에 比하여 植物性 高脂肪食餌群에서는 磷脂質의 量만 1.5배가 량 增加되었을 뿐 顯著하지 않았다. 그리고 腸組織에서의 脂質合成速度는 高脂肪食餌群에서 오히려 低下되어 있었다. 이와같이 成長過程에 있는 쥐에게 高脂肪食餌로서 長期間 飼育하면 腸組織의 脂質分割中 磷脂質이나 triacylglycerol 등에 量的 變化가 招來되며 이 現象은 植物性 脂肪보다 動物性 脂肪을 攝取할 때 더욱 뚜렷하다고 하겠다. Proulx 등⁴⁾에 의하면 腸管에서의 脂質吸收 機轉은 腸粘膜의 刷毛 外膜에서 外因性 脂質을 融合해서 内膜으로 移送함으로써 이루어진다고 하며 이것은 Ca²⁺이온과 脂質의 濃度에 의해 允進된다고 하였다. 그리고 腸管内로 脂質攝取가 많을 수록 腸에서의 그 吸收는 增加된다고 하였으나 腸에서의 脂質吸收의 增加가 腸組織의 脂質量과 直結되지는 않는다고 하였다. 따라서 腸組織의 構成脂質 樣相은 個體의 營養狀態에 의해서 影響받는 다고 할 수 있다. 本研究의 結果에서와 같이 長期間 動物性 高脂肪食餌를 投與하면 脂肪組織에서의 脂肪積存이 增加되는^{10,11)} 것과 같이 腸組織에서도 脂肪量의 增加를 나타낸다고 하겠다. 그리고 腸뿐만 아니라 肺組織^{12,13)} 그리고 血清脂質像과 脂蛋白質^{14,15)}에도 그 分割의 變化를 惹起한다고 한다.

高脂肪食餌를 投與하면 腸組織의 脂質分割中 특히 triacylglycerol 이 1.5배로 增加한데 比하여 磷脂質이 2배로 顯著히 增加되었다. 이것은 아마 多量의 脂肪이 腸에서 消化되어져 脂肪酸과 monoacylglycerol 로서 吸收되어 腸粘膜 細胞内에서 다시 triac-

ylglycerol 로 再合成되고 chylomicron 으로 되어 多量 淋巴液으로 보내는데¹⁶⁾ 이때 chylomicron 의 合成을 위하여 그 構成成分인 磷脂質이 많이 所要되기에 문인 것으로도 생각된다.

한편 腸組織의 脂質에의 放射性 醋酸의 編入構相은 肝脂質에의 그것과¹⁶⁾는 달리 腹腔內로 醋酸을 注入한 後 3時間째 最高值에 達하였다. 이것은 高脂肪食餌 群에서도 마찬가지였다. 卽 醋酸은 體內에서 acetyl-CoA 로 되어 곧 脂肪酸合成의 原料가 되어 脂肪으로 編入되는 것인데¹⁶⁾ 이것으로 보아 腸組織에서는 腸粘膜에서 吸收한 消化物質로부터 脂質을 再合成하는 以外에 血流로 통해서 운반되어 들어오는 脂質合成用 物質로부터 脂質合成 反應이 일어나고 있음을 알 수 있으며 이것은 主로 自體構成成分을 얻기 위한 反應이라고도 할 수 있다. 腸組織에서의 脂質合成은 高脂肪食餌群에서 若干 떨어지는 傾向을 보였는데 이 現象은 다른 臟器組織에서도 볼 수 있는 現象^{10,12)}으로서 그 臟器組織이 受容할만큼 脂質이 충만되었을 때는 逆作用으로 그 合成反應이 抑制되는 現象이라고 하겠으며 이러한 機轉은 律速 酵素에 의한 그 活性 變動¹⁷⁻²⁰⁾에 의해서 이루어질 것으로 생각된다.

要 約

高脂肪食餌 및 그 種題가 腸組織의 脂質像과 脂質合成에 어떠한 影響을 미치는가를 알아보기 위하여 離乳된 60~65g의 흰쥐 5마리를 使用하여 12% caloric 脂肪食餌를 對照食餌로 하여 45% caloric의 corn oil 또는 butter fat의 高脂肪食餌를 12週間 投與하여 腸組織의 各種 脂質含量과 acetate-¹⁴C의 腸脂質에의 編入樣相을 調査하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

正常 쥐 小腸의 各 脂質濃度는 triacylglycerol 이 $15.2 \pm 1.5 \text{ mg/g}$ 磷脂質이 $2.6 \pm 0.5 \text{ mg/g}$, cholesterol 이 $1.04 \pm 0.14 \text{ mg/g}$, 그리고 總脂質量은 $20.4 \pm 5.9 \text{ mg/g}$ 이었다. 高脂肪食餌의 長期間 投與로서 이들 脂質量이 增加되는 傾向은 植物性 脂肪食餌群보다 動物性 脂肪食餌에서 더욱 뚜렷하였다. 특히 45% caloric의 butter 食餌의 投與로써 脂質分劃中 磷脂質의 增加가 2배로써 가장 뚜렷하였고 다음은 triacylglycerol 이로서 1.5배의 增加를 보였으나 總 cholesterol 值의 變動은 뚜렷하지 않았다. 한편 腸組織에서 acetate-¹⁴C의 脂質에의 編入率은 모든 群에서 主入後에 3時間째 最高值에 達했으며, 各 群間의 最高值의 比較에서 植物性 및 動物性 高脂肪食

餌群에는 差異가 없었으나 對照食餌群과 比較해서 약간 低下되는 傾向을 보였다(約 15%).

以上の 結果로 보아 高脂肪食餌 特別 動物性 脂肪을 長期間 攝取하면, 腸組織의 中性脂肪이나 磷脂質의 含量은 增加되는 現象이 일어나는 反面에 腸에서 脂質合成速度는 若干 떨어진다고 하겠으며 이와는 달리 植物性 高脂肪食餌에 의한 腸組織의 脂質像과 그 合成에는 큰 變動이 없다고 하겠다.

參 考 文 獻

1. Martin, D. W., Mayes, P. A., and Rodwell, V. W.: Digestion and absorption in the gastrointestinal tract. Haper's review of biochemistry. 18th ed. Lange Med. Publication, California, pp.527—539, 1981.
2. Masoro, E. J.: Lipids and lipid metabolism. Ann. Rev. Physiol., 39: 301—325, 1977.
3. Pagano, R. E., and Weinstein, J. N.: Lipid vesicle-cell interaction. Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 7: 435—468, 1978.
4. Proulx, P., McNeil, J., Brglez, I., and Williamson, D. G.: Interaction of lipids with intestinal brush border membrane preparations. Can. J. Biochem., 60: 904—909, 1982.
5. Folch, J., Lees, M., and Sloane Stanley, G. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. J. Biol. Chem., 26: 497—509, 1957.
6. Sugiura, M.: A simple colorimetric method for determination of serum triglycerides with lipoprotein lipase and glycerol dehydrogenase. Clin. Chem. Acta, 8: 125—130, 1977.
7. Zak, B., and Dickeman, R. C.: Rapid estimation of free and total cholesterol. Am. J. Clin. Pathol., 24: 1307—1325, 1954.
8. Fiske, C. H., and SubbaRow, Y.: The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem., 66: 375—400, 1925.
9. Naito, H. K.: Modification of the Fiske-SubbaRow method for total phospholipids in serum. Clin. Chem., 21: 1454—1458, 1975.

10. 朴淵默, 曹準承: 高脂肪食餌 및 人藝投與가 脂質代謝에 미치는 影響. 慶北醫大雜誌, 23: 62—72, 1982.
11. Wood, J. D., and Reid, J. T.: The influence of dietary fat on fat metabolism and body fat deposition in meal-feeding and nibbling rats. *Br. J. Nutr.*, 34: 15—24, 1975.
12. 盧柱喆, 曹準承: 高脂肪食餌가 肺組織의 脂質像에 미치는 影響. 慶北醫大雜誌, 23: 81—87, 1982.
13. Donovan, D. H., and Menzel, D. B.: Effect of dietary fat and vitamin E on mouse lung lipids. *J. Nutr.*, 109: 1856—1864, 1979.
14. 李淳宰, 金泰煥, 曹準承: 食餌內的 脂肪含量과 投與期間이 血清脂肪成分 및 脂蛋白分割에 미치는 影響. *한국영양학회지*, 14: 34—40, 1981.
15. Narayan, K. A., and McMullen, J. J.: The interactive effect of dietary glycerol and corn oil on rat liver, serum lipids and serum lipoproteins. *J. Nutr.*, 109: 1836—1846, 1979.
16. 朴東烈, 曹準承: 醣酸代謝에 대한 食餌의 調節 效果. 慶北醫大雜誌, 23: 73—80, 1982.
17. Martin, D. W., Mayer, P. A., and Rodwell, V. W.: Regulation of lipid metabolism. *Harper's review of biochemistry*, 18th ed. Lange Med. Publication, California, pp. 245—262, 1981.
18. Paik, H. S., and Yearick, E. S.: The influence of dietary fat and meal frequency of lipoprotein lipase and hormonesensitive lipase in rat adipose tissue. *J. Nutr.*, 108: 1798—1805, 1978.
19. Lin, H., Romsos, D. R., Tack, P. I., and Leveille, G. A.: Influence of dietary lipid on lipogenic enzyme activities in coho salmon. *J. Nutr.*, 107: 2100—2107, 1977.
20. DeBont, A. J., Romsos, D. R., Tsai, A. C., Waterman, R. A., and Leveille, G. A.: Influence of alterations in meal frequency on lipogenesis and body fat content in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 149: 849—854, 1975.