

공액리놀레산 함유 디글리세라이드 식용유지 조성물의 rat에 대한 단회 경구투여독성 및 항비만 효과

홍순기 · 박채규 · 이미자 · 정신교¹ · 이영호² · 현선희*
KT&G 중앙연구원, ¹경북대학교 농업생명과학대학, ²(주)일신웰스

Acute Oral Toxicity and Anti-obesity Effect of Diglyceride Preparation Containing Conjugated Linoleic Acid in Rat

Soon Gi Hong, Chae-Kyu Park, Mi-Ja Lee, Shin Gyo Chung¹, Young Ho Lee², and Sun Hee Hyun*

KT&G Central Research Institute

¹College of Agriculture & Life Sciences, KyungPook National University

²Ilshinwells Co., Ltd.

Abstract The present study was carried out to investigate the acute oral toxicity and anti-obesity effects of a diglyceride preparation containing conjugated linoleic acid (DG+CLA). To test its acute oral toxicity, the DG+CLA was injected into 30 rats (15 males and 15 females) at dosage of 2,000 mg/kg and 5,000 mg/kg. Mortality rates, clinical signs, and body weight changes were monitored for 14 days following administration. According to the results, the lethal dose (LD₅₀) of DG+CLA was determined as >5,000 mg/kg in both sexes. There were no significant changes in general conditions, clinical signs, body weight, and gross lesions between the vehicle control and DG+CLA groups. For the anti-obesity studies, obese Zucker rats were randomly divided into 4 groups and fed saline, soybean oil, diglyceride, and DG+CLA, respectively, for 8 weeks. The DG+CLA groups presented significant differences in body weight, food efficiency ratio, serum lipid levels, and fat weight. Overall, the results showed that the DG+CLA did not have acute oral toxicity and reduced body weight, serum lipid levels, and fat gain.

Key words: diglyceride preparation containing conjugated linoleic acid, acute oral toxicity, anti-obesity, serum lipid levels, fat weight

서 론

Conjugated linoleic acid(CLA)는 자연적으로 유제품이나 쇠고기
에 존재하며, n-6계 필수지방산인 linoleic acid(C18:2n-6)로부터 생
성된 공여 이중결합을 갖는 이성체이다(1-4). CLA는 1987년 Ha
등(5)이 c9, c11-, t9, c11-, t9, t11-, c10, c12-, t10, c12- 및 t10,
t12-CLA 등 8개 이성체 혼합물을 종합적으로 CLA라 명명하였
다. 화학적으로 linoleic acid로부터 합성한 CLA는 c9, t11-CLA
이성체와 t10, c12-CLA 이성체가 각각 48% 정도로 합성되며, 나
머지는 미량으로 함유되어 있다. 합성된 CLA는 동맥경화증의 발
생저하(6), 면역기능 향상(7), 항암작용(5,8), 성장촉진(9), 항산화
및 고혈당 등의 증상에 대해 우수한 효과를 나타내며, 체지방감
소(10)를 통해 비만을 억제한다고도 알려져 있다. Balb/C mice을
대상으로 CLA(0.5 g CLA/100 g of diet)를 42일간 공급한 후 체
지방 양이 감소되었으며(11), Sprague-Dawley rats(SD rats)에게 3
주 동안 CLA 투여 시 liver TG, serum NEFA, liver NEFA이 유
의적으로 감소함을 보고하였다(12). 사람을 대상으로 한 임상실

험에서 CLA 1.8-4.2 g/d를 12주(3개월) 이상 복용하였을 때 체지
방 감소효과가 유의적으로 나타나는 것으로 보고하고 있다(13-
19). 이러한 특성으로 인해 CLA는 기능성 식품 및 의약품의 유
효성분으로 유용하게 이용될 수 있다. 디글리세라이드(DG)는 지
방산과 글리세린의 에스테르 교환반응으로 제 1, 제 2 또는 제
1 및 제 3 위치의 글리세린에 지방산이 결합된 유지조성물로
'트리글리세라이드'라고 불리는 일반유지와 특별히 구분하여 취
급하고 있다. 최근에는 디글리세라이드가 중성유지와 비교 시 소
화, 흡수되는 과정은 같으나, 중성지방으로 거의 재합성되지 않
음으로써 섭취하더라도 혈중 중성지방 함량이 상승되지 않고 체
지방을 축적시키지 않는 생리 효과가 있다는 것이 밝혀져 있으
며(20), 이에 대한 연구가 계속 진행되고 있다.

현재까지 CLA와 DG의 안전성에 대한 연구결과는 많이 보고
되어있다. 40마리 수컷 rat에게 1.5% CLA 함유 식이를 36주간
투여한 결과, CLA 투여군에서 조직형태학적 변화와 여러 기관
의 중량 변화에 차이가 없었으며(21), 5종의 histidine-의존성 *Sal-*
*monella typhimurium*의 돌연변이원성 실험결과, 돌연변이를 유발
하지 않았다(22). CLA 섭취군이 대조군보다 LPS-stimulated TNF-
 α 와 nitric oxide의 발현을 억제하였으며, 또한 CLA의 섭취가 면
역학적으로 안전함을 밝혔다(23). Bontempo V 등(24)은 CLA가
임신한 암컷 돼지들과 이들로부터 태어난 새끼 돼지들에게 면역
학적으로 미치는 영향을 알아본 결과, CLA 섭취군(어미돼지)의
경우 대조군에 비하여 IgG와 lysozyme이 상승하였으며, 이들로부
터 태어난 새끼 돼지들 역시 IgG serum lysozyme이 유의적으로

*Corresponding author: Sun Hee Hyun, KT&G Central Research
Institute, Daejeon 305-805, Korea
Tel: 82-42-866-5676
Fax: 82-42-861-1949
E-mail: shhyun@ktng.com
Received December 31, 2008; revised March 3, 2009;
accepted March 9, 2009

상승하였다고 보고하였다.

DG에 대한 급성독성 결과 독성이 나타나지 않았으며, 흰쥐에게 2년 동안(25), 비글견에게 1년 동안 DG를 급여한 후에도 어떤 부작용도 없었으며(26), 유전독성(27), 인체에 대한 독성도 없었다(28-34).

그러나 DG+CLA에 관한 안전성시험으로서 단회 경구투여독성 시험은 전혀 수행되지 않았다. 따라서 본 연구는 제조방법이 간단하고 생산성이 우수할 뿐만 아니라, 동시에 항암, 인체 체지방 감소, 면역증강, 또는 당뇨병 예방 및 치료의 효과를 가지는 공액 리놀레산 또는 이의 이성체를 결합시켜 기능성을 부여할 수 있는 공액 리놀레산을 포함하는 고순도 디글리세라이드 식용유 조성물에 대한 LD₅₀(lethal dose of 50%)값을 통한 안전성 자료를 확보하기 위하여 단회경구투여 독성시험을 식품의약품안전청 고시 제 2005-60호(2005. 10. 21.) “의약품 등의 독성시험 기준” 및 식품의약품안전청고시 제 2005-79호(2005. 12. 21.) “비임상 시험 관리기준”에 준하여 GLP 수준에서 수행하였다. 또한 안전성 시험과 예비 실험을 통하여 얻은 용량으로 항비만 효과를 알아보았다.

재료 및 방법

재료

시험물질인 공액리놀렌산이 함유된 디글리세라이드 식용유 조성물(DG+CLA)은 (주)일신웰스로부터 공급받아 본 실험에 사용하였다. DG+CLA는 86.6% 디글리세라이드, 0.87% 모노글리세라이드, 12.53% 트리글리세라이드가 함유된 유지(100%)에 지방산 조성물로서 공액리놀렌산이 60% 이상이며, 비중이 0.87인 유지로써 heating mantle를 이용하여 interesterification 방법으로 합성하였다.

설치류 단회경구투여 독성시험

실험동물은 5주령 Sprague-Dawley rats를 (주)오리엔트(Orient Bio Inc, 성남, 한국)로부터 구입하여 24±2°C, 습도 60%의 항온, 항습 장치가 되어 있는 실험실 환경에서 고형사료로 1주간 순응시킨 후 사용하였다. 실험군은 총 3군(n=30, 암컷 15, 수컷 15)으로 각각의 시험물질을 단회경구투여 한 후 14일 동안 관찰하였다. 본 시험물질의 예비실험을 근거로 설치류에서 고전적인 단회 경구투여 한계용량으로 사용되는 5,000 mg/kg을 최고용량으로 하고 그 다음 용량으로 현재 많이 사용되는 2,000 mg/kg과 부형제 대조군을 설정하였다. 경구투여는 시험물질 투여 전 약 16시간 동안 음수는 자유섭취하면서 시험계를 절식시킨 후 위관이 부착된 일회용 주사기를 이용하여 위내에 단회 강제 경구 투여하였다. 투여 후 약 4시간 후에 사료를 급여하였다. 시험군은 다음과 같다.

Vehicle: Olive oil(5 mL/kg/day) 투여군

DG+CLA 2000: Diglyceride preparation containing conjugated linoleic acid(2,000 mg/kg/day) 투여군

DG+CLA 5000: Diglyceride preparation containing conjugated linoleic acid(5,000 mg/kg/day) 투여군

모든 동물에 대한 임상적 일반증상 관찰은 매일 최소 1회씩 부검 당일까지(15일간) 관찰하였다. 투여 개시를 1일로 하여, 투여 1일에는 투여 후 0.5, 1, 2, 4 및 6시간째에 일반상태, 운동성 자율신경기능 및 배설물 등 일반증상을 관찰하였고, 그 다음날부터

는 매일 1회 이상 관찰하면서, 빈사나 사망동물의 유무를 확인하였다. 체중은 투여 당일, 투여 4, 8일 및 15일(부검당일)에 측정하였다. 부검을 위해 실험 종료 시 모든 생존동물은 위관검사를 실시한 후 ether로 마취시켜 방혈 치사시킨 후 체표면, 두부, 흉부 및 복부를 포함한 전신의 장기·조직에 대해서 상세한 육안 검사를 실시하였다.

수컷 대조군 한 마리에서 고환, 부고환 및 정낭에 대하여 소견이 관찰되어 조직병리학적 검사를 실시하였다. 적출한 장기는 10% 중성 포르말린 용액에 고정하여 일정한 두께(3 mm)로 삭정한 후 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하여 3 μm의 조직 절편을 제작하였다. 이후 일반적인 염색방법인 Hematoxylin & Eosin 염색(H&E stain)을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

동물의 사망이 관찰되지 않아 치사량을 구하는 통계는 실시하지 않았다. 모든 시험결과는 평균치와 표준편차를 사용하여 나타내었으며, 대조군과 시험군과의 비교는 Student's t-test를 사용하여, 대조군과 비교하여 p값이 5% 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

항비만 효과 시험

실험동물은 5주령 수컷 Obese Zucker rats를 중앙실험동물(주)에서 구입하여 온도 20.7-21.2°C, 상대습도 49.9-54.2%, 환기횟수 10-15회/hr, 조명시간 12시간(오전 8시-오후 8시), 조도 200-300 Lux의 동물사육실에서 방사선으로 멸균된 실험동물용 쥐사료를 (주)퓨리나코리아(평택, 한국)에서 공급받아 음용수와 함께 급여하였으며 그 조성은 Table 1과 같다. 14일 동안 동물사육실의 환경하에서 검역 및 순화시키면서 비만이 유도됨을 외견상으로 확인한 후 시험에 사용하였다.

실험군은 총 4군(n=8)으로 8주간 각각의 사료를 매일 경구투여 하였다. 실험군과 투여 용량은 다음과 같다.

Control: Saline(5 mL/kg/day) 투여군

Soybean oil: Soybean oil(5 mL/kg/day) 투여군

DG: Diglyceride(5 mL/kg/day) 투여군

DG+CLA: Diglyceride preparation containing conjugated linoleic acid(5 mL/kg/day) 투여군

체중 및 식이섭취량은 시험물질투여 개시 직전, 투여 개시 후 주 1회, 8주간 측정하였다. 조직의 지방량 측정을 위해 부검동물로부터 신장주위지방(좌/우), 내장지방, 갈색지방 및 부고환 주위

Table 1. Composition of normal diet (Unit: %)

Composition (%)	Normal diet
Corn	31.7
Wheat flour	23.0
Wheat germ meal	7.2
SBM dehulled	22.8
Corn gluten meal	3.0
Alfalfa meal	3.0
Fish meal	3.4
Animal fat	2.5
Vitamin premix	0.2
Mineral premix	0.2
Choline, 50%	0.3
Others	2.7
Total	100.0

지방(좌/우)을 적출하여 중량을 측정하였다.

혈청학적 검사로서 시험동물을 부검 전일 18시간 동안 절식시킨 후 ether 마취 하에 복대동맥으로부터 채혈하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 혈청을 분리하였으며, 혈액생화학 자동분석기(Hitachi 7060, Tokyo, Japan)를 이용하여 총콜레스테롤과 중성지방함량을 분석하였다.

모든 시험결과는 평균치와 표준편차를 사용하여 나타내었으며, 대조군과 시험군과의 비교는 Student's t-test 또는 Fisher's exact test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 p값이 5% 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

설치류 단회경구투여 독성시험

본 실험에서 시험물질 DG+CLA 2,000 mg/kg과 5,000 mg/kg을 rat에 단회 경구 투여한 결과, 관찰기간(14일) 동안 암컷 대조군 및 시험물질 투여군에서 사망례는 관찰되지 않았다. 관찰기간 동안 수컷 대조군 및 수컷 시험물질 투여군, 암컷 시험물질 5,000 mg/kg 투여군에서는 시험물질로 기인한 외견상의 일반증상은 관찰되지 않았다(Table 2). 그러나 암컷 대조군에서 투여 후 1시간째에 연변(soft stool) 2례 및 점액변(mucous stool) 1례가 관찰되었고, 투여 후 4시간째에 점액변 1례가 관찰되었다. 암컷 시험물질 2,000 mg/kg 투여군에서 투여 후 1시간째에 연변 1례를, 투여 후 6시간째에 점액변 1례가 관찰되었으나, 투여 2일부터 암컷 대조군 및 시험물질 2,000 mg/kg 투여군에서 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다.

체중 변화 측면에서 시험물질 투여 당일(1일째), 4, 8, 15일째 체중을 측정된 결과, 암·수컷 시험물질 투여군 모두에서 대조군과 비교하여 뚜렷한 차이가 없었으며 순조로운 체중 증가가 관찰되었다(Table 3). 실험 완료 후 부검하여 뇌, 신장, 심장, 폐, 간, 위, 장, 정소, 난소 등의 장기를 관찰한 결과, 암컷 대조군 및 암·수컷 시험물질 투여군 모두에서 특이한 소견은 관찰되지 않았다(Table 4). 수컷 대조군 1례에서 부고환(epididymis), 정낭(seminal vesicle) 및 고환(testis)에서 소형(small) 소견이 관찰되어 조직병리학적 검사를 실시하였다. 조직병리학적 검사 결과, 수컷 대조군 1례에서 부고환, 정낭 및 고환의 위축(atrophy) 소견이 관찰되었으나, 이는 자연 발생적인 소견으로 사료되어진다.

따라서 SD rat을 이용한 DG+CLA의 단회경구투여 독성시험 결과, 사망동물 및 일반증상, 체중변화, 육안적 해부소견, 조직병리학적 검사 결과에 따라 최고농도 5,000 mg/kg body weight에서 어떠한 이상변화도 나타나지 않아 본 실험에서는 LD₅₀값을 5,000 mg/kg body weight 이상으로 산출하였다.

항비만 효과 시험

DG+CLA의 체지방 축적 억제효과를 알아보기 위하여 유전적으로 비만이 유도된 obese fa/fa male Zucker rats를 대조군, soybean oil 투여군, DG 투여군 및 DG+CLA 투여군으로 분류하였다. 그런 다음, 일반식이를 섭취시키고 대조군은 멸균생리식염수를, 투여군은 각각의 물질을 5 mL/kg의 용량으로 8주간 1일 1회 경구투여 하였다. 체지방의 억제효과를 관찰하기 위한 지표로 체중의 변화, 식이효율, 혈청지질함량 및 지방조직무게 등을 측정하였다.

Table 2. Clinical signs of acute oral toxicity study in SD rats(n=5)

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	Clinical sign	Day after treatment																				
				1					2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
				0.5 hr	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr																
Male	Vehicle	0	NAD ¹⁾	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	DG+CLA ²⁾	2000	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	DG+CLA	5000	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Female	Vehicle	0	NAD	5	3	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Soft stool	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	DG+CLA	2000	Mucous stool	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			NAD	5	4	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	DG+CLA	5000	Soft stool	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			Mucous stool	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DG+CLA	5000	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	

¹⁾NAD: No abnormalities detected

²⁾DG+CLA: Diglyceride preparation of containing conjugated linoleic acid

Table 3. Body weights of acute oral toxicity study in SD rats (n=5)

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	Day after treatment			
			1	4	8	15
Male	Vehicle	0	168.00±6.44	212.79±11.01	259.19±14.37	325.19±18.77
	DG+CLA	2000	166.26±5.79	211.33±5.67	252.84±7.85	311.67±10.20
	DG+CLA	5000	167.98±4.08	212.45±4.29	253.07±5.98	312.87±9.49
Female	Vehicle	0	138.48±4.04	171.19±7.17	191.77±11.15	221.74±18.07
	DG+CLA	2000	140.35±3.11	172.16±5.41	192.55±11.86	220.31±16.61
	DG+CLA	5000	139.75±2.17	171.96±1.09	191.98±10.00	221.08±13.42

Each value represents the mean±SD

Table 4. Histopathological findings of acute oral toxicity study in SD rats

Organs	Sex	Male
	Compound	Vehicle
	Dose (mg/kg)	0
	No. of examined animals	5
Epididymis	No. of examined	1
	Not remarkable	0
	Remarkable	1
	Atrophy	1
Seminal vesicle	No. of examined	1
	Not remarkable	0
	Remarkable	1
	Atrophy	1
Testis	No. of examined	1
	Not remarkable	0
	Remarkable	1
	Atrophy	1

체중 변화 및 식이효율

8주 동안 시험물질을 투여하면서 체중변화와 식이효율을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 대조군과 soybean oil 투여군 및 DG 투여군은 각각 313.4±12.4, 307.4± 12.4, 307.2±11.0 g으로 유의할 만한 체중 증가를 나타내지 않았다. 반면에 DG+CLA 투여군은 대조군과 비교하여 3주째부터 통계학적으로 유의성 있게 체중이 감소하였다. CLA의 항비만효과는 CLA의 주요 이성질체인 c9, t11-CLA와 t10, c12-CLA가 hormone sensitive lipase와 carnitine palmitoyl transferase의 활성을 증가시켜 체지방을 감소시킨다는 연구 결과(35)와 같이 DG+CLA도 obese Zucker 랫드에서 hormone sensitive lipase와 carnitine palmitoyl transferase의 활성을 증가시켜 체중의 감소를 유도하는 것으로 사료되어진다.

체중의 감소가 식이섭취량에 의해 영향을 받는지를 알아보기 위해 총 시험기간 동안의 1일 체중 증가량을 1일 식이섭취량으로 나누어 1일 식이효율을 계산한 결과, soybean oil 투여군, DG 투여군 및 DG+CLA 투여군의 1일 식이효율은 각각 0.220±0.009, 0.213±0.014, 0.226±0.017 g으로 대조군(0.185±0.007 g)과 비교해 통계학적으로 유의성 있게 식이효율이 증가하였다. Obese Zucker rats는 유전적으로 leptin수용체에 이상을 가진 hyperleptinemia이 나타나는 동물모델인데 DG+CLA 투여가 obese Zucker rat에서 leptin수용체 역할을 하여 식이섭취량을 억제함으로써 사료되며 이는 향후에 더 많은 연구가 필요하다고 사료되어진다.

혈중 지질 측정

DG+CLA의 혈청 중 콜레스테롤 및 중성지질에 미치는 영향을

평가하기 위하여 시험 종료 후 혈액을 채취하여 혈청지질을 분석하였다(Table 6). 총콜레스테롤은 대조군이 142.0±11.4 mg/dL로 나타났고, soybean oil, DG 및 DG+CLA 투여군은 각각 119.3±8.5, 120.0±6.3 및 100.8±15.4 mg/dL로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 총콜레스테롤의 감소를 나타냈다. 중성지방은 대조군이 383.8±75.4 mg/dL로 나타났고, soybean oil, 및 DG 투여군은 각각 235.5±53.7 mg/dL와 246.5±34.2 mg/dL로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 중성지방의 감소를 나타냈다. 그러나 DG+CLA 투여군은 중성지방이 296.3±86.1 mg/dL로 대조군에 비하여 유의성 있는 변화를 나타내지는 못했지만 현저한 감소효과를 나타냈다. 대두유는 일반적으로 65 mg/100 g 식물성 스테롤류를 함유하고 있으며, 이 식물성스테롤은 콜레스테롤 구조와 매우 비슷한데, 일반적으로 콜레스테롤과 중성지방 저하 효과가 있는 것으로 알려져 있다(36). 식물성 스테롤이 혈중 콜레스테롤을 낮추는 효과는 식물성 스테롤이 동물성 콜레스테롤보다 지방유화액(미셀)에 대한 친화력이 더 높아 콜레스테롤 흡수를 저하시키기 때문으로 보인다(37). DG 또한 인체시험과 동물실험 결과 혈중 콜레스테롤과 중성지방의 농도를 저하한다고 알려져 있다(38,39). 본 연구에서도 대조군에 비해 soybean oil과 DG 투여군이 콜레스테롤과 중성지방이 저하효과가 나타났다. 이는 적절한 용량의 soybean oil, DG 및 DG+CLA가 비만으로 인한 고지혈 현상을 억제할 뿐만 아니라 관상동맥경화증을 비롯한 각종 동맥경화증을 예방할 수 있는 가능성을 보여주는 것으로 사료된다.

지방조직의 무게측정

DG+CLA가 지방축적에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험 종료 후 신장주위지방, 부고환주위지방, 내장지방 및 갈색지방 무게를 측정하였다(Table 7). 신장주위 지방 무게는 대조군이 21.6±1.9 g으로 나타났다. Soybean oil, DG 및 DG+CLA 투여군은 각각 20.8±1.9, 21.2±1.3 및 18.7±1.3 g으로 나타나 통계학적 유의성은 인정되지 않았지만, DG+CLA 투여군에서 신장주위지방 무게는 대조군에 비해 현저한 감소를 나타냈다. 또한, 부고환지방, 갈색지방 및 내장지방 무게는 soybean oil 및 DG 투여군을 제외한 DG+CLA 투여군에서 대조군(17.7±1.8, 1.8±0.3 및 13.8±1.1 g)과 비교해 각각 12.3±1.0, 0.9±0.3 및 11.6±0.7 g으로 유의성 있는 감

Table 6. Effect of DG+CLA on serum lipid level in Zucker rats for 8 weeks (n=8)

Group	Dose (mL/kg)	Total cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Control	5	142.0±11.4	383.8±75.4
Soybean oil	5	119.3±8.5*	235.5±53.7*
DG	5	120.0±6.3*	246.5±34.2*
DG+CLA	5	100.8±15.4**	296.3±86.1

Each value represents the mean±SD (*p < 0.05, **p < 0.01).

Table 5. Effect of DG + CLA on food efficiency ratio in Zucker rats for 8 weeks (n=8)

Group	Dose (mL/kg)	Body weight gains		Food intake (g/day)	FER ¹⁾
		56 days (g)	g/day		
Control	5	313.4±12.4	5.60±0.22	30.23±0.09	0.185±0.007
Soybean oil	5	307.4±12.4	5.49±0.22	24.97±0.06**	0.220±0.009**
DG	5	307.2±11.0	5.49±0.20	25.81±1.41**	0.213±0.014*
DG+CLA	5	225.8±8.4**	4.03±0.15**	17.85±0.66**	0.226±0.017**

¹⁾FER (Food efficiency ratio): body weight/food take
Each value represents the mean±SD (*p < 0.05, **p < 0.01).

Table 7. Effect of DG+CLA on serum lipid level in Zucker rats for 8 weeks (n=8)

Group	Dose (mL/kg)	Kidney fat (g)	Epididymal fat (g)	Brown fat (g)	Visceral fat (g)
Control	5	21.6±1.9	17.7±1.8	1.8±0.3	13.8±1.1
Soybean oil	5	20.8±1.9	17.9±0.7	1.7±0.2	13.4±1.0
DG	5	21.2±1.3	18.9±1.4	1.7±0.2	13.3±2.7
DG+CLA	5	18.7±1.3	12.3±1.0**	0.9±0.3*	11.6±0.7*

Each value represents the mean±SD (**p* < 0.05, ***p* < 0.01).

소를 나타냈다.

따라서, obese Zucker rats에서 DG+CLA의 투여가 DG와 soybean oil의 투여보다 월등한 지방축적의 억제를 보이면서 항비만 효과가 인정되는 것으로 판단되었고, 이에 대한 명확한 기전은 혈장 중의 렙틴 등의 분석을 통해 최종적으로 확증할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

단회 경구 투여 독성 평가를 위해 암·수 rat을 이용하여 시험 물질 2,000 mg/kg과 5,000 mg/kg을 투여한 후 14일 동안 관찰한 결과, 투여에 기인한 사망례 및 체중변화, 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다. 암컷 대조군 및 시험물질 2,000 mg/kg 투여군에서 투여 1일에 연변의 점액변이 관찰되었으나, 이는 투여에 기인한 일시적인 변화로 사료된다. 투여 2일부터는 암컷 대조군과 시험물질 투여군에서 특이한 일반증상이 관찰되지 않았다. 부검 시 암컷 대조군 및 암·수 시험물질 투여군에서 투여에 기인한 것으로 판단되는 육안소견은 관찰되지 않았다. 수컷 대조군 1례의 부검결과, 부고환, 정낭 및 양측 고환에서 소형 소견 관찰되어, 조직병리학적 검사를 실시한 결과, 부고환, 정낭 및 고환의 위축 소견이 관찰되었으나, 이는 자연 발생적인 소견으로 사료된다. 이상으로 공액리놀렌산이 함유된 디글리세라이드 식용유지 조성물을 rat에 단회 경구투여한 결과, LD₅₀값이 rat kg당 5,000 mg 이상으로 판단되며, 단회 경구 투여에 대한 독성을 나타내지 않는 것으로 판단된다. 항비만 효과를 조사하기 위해 obese Zucker rat에 saline, soybean oil, DG, DG+CLA를 8주간 투여한 후 효과를 비교하였다. 체중변화의 경우 DG+CLA 투여군은 대조군에 비하여 투여 후 3주째부터 통계학적으로 유의성 있게 체중 감소를 나타냈다. 1일 식이효율측정의 결과, soybean oil, DG 및 DG+CLA 투여군이 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있는 1일 식이효율의 증가를 나타냈다. 혈중지질분석의 결과, 총콜레스테롤 수치에서 soybean oil, DG 및 DG+CLA 투여군 모두 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 총콜레스테롤 함량이 감소되었으며, 중성지방 수치는 soybean oil 및 DG 투여군에서만 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성 있게 감소되었다. 지방조직 무게 측정 결과, DG+CLA 투여군은 신장주위지방 무게를 제외한 부고환주위지방, 갈색지방 및 내장지방 무게에서 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있게 지방조직 무게가 감소되었다. 이상의 결과로 obese Zucker rat에 대한 5 mL/kg의 DG+CLA 경구투여는 CLA의 주요 이성질체인 c9, t11-CLA와 t10, c12-CLA가 hormone sensitive lipase와 carnitine palmitoyl transferase의 활성을 증가시켜 지방 분해를 촉진시켜 체내 지방의 축적을 막으며, 중성지방 콜레스테롤과 같은 지질 대사에 영향을 주어 항비만 효과를 나타내는 것으로 사료되어진다.

참고문헌

- Kelly GS. Conjugated linoleic acid: A review. *Altern. Med. Rev.* 6: 367-384 (2001)
- Nakamura MT, Nara TY. Structure, function, and dietary regulation of Δ6, Δ5, and Δ9 desaturases. *Annu. Rev. Nutr.* 24: 345-376 (2004)
- Joseph AS, Miller GD. Potential health benefits of conjugated linoleic acid. *J. Nutr.* 19: 470S-471S (2000)
- Lin TY. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. *Food Chem.* 67: 1-3 (1999)
- Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881-1887 (1987)
- Gniwotta C, Morrow JD, Roberts LJ, Kuhn H. Prostaglandin F2-like compounds, F2-isoprostanes, are present in increased amounts in human atherosclerotic lesions. *Arterioscl. Throm. Vas.* 17: 3236-3241 (1997)
- Pariza MW, Ha YL, Benjamin H, Sword JT, Gruter A, Chin SF, Storkson J, Faith N, Albright K. Formation and action of anticarcinogenic fatty acids. *Adv. Exp. Med. Biol.* 289: 269-272 (1991)
- Macdonald HB. Conjugated linoleic acid and disease prevention: A review of current knowledge. *J. Nutr.* 19: 111S-118S (2000)
- Sugano M, Tsujita A, Yamasaki M, Yamada K, Ikeda I, Kritchevsky D. Lymphatic recovery, tissue distribution and metabolic effects of conjugated linoleic acid in rats. *J. Nutr. Biochem.* 8: 38-43 (1997)
- Yurawecz MP, Hood JK, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108: 19-25 (1995)
- Terpstra AH, Javadi M, Beynen AC, Kocsis S, Lankhorst AE, Lemmens AG, Mohede IC. Dietary conjugated linoleic acids as free fatty acids and triacylglycerols similarly affect body composition and energy balance in mice. *J. Nutr.* 133: 3181-3186 (2003)
- Yamasaki M, Mansho K, Mishima H, Kasai M, Sugano M, Tachibana H, Yamada K. Dietary effect of conjugated linoleic acid on lipid levels in white adipose tissue of sprague-dawley rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63: 1104-1106 (1999)
- Gaullier JM, Halse J, Høy K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, Gudmundsen O. Supplementation with conjugated linoleic acid for 24 months is well tolerated and reduces body fat mass in healthy, overweight humans. *J. Nutr.* 135: 778-784 (2005)
- Riserus U, Berglund L, Vessby B. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: A randomised controlled trial. *Int. J. Obesity* 25: 1129-1135 (2001)
- Gaullier JM, Halse J, Høyvik HO, Høy K, Syvertsen C, Nurminen M, Hassfeldt C, Einerhand A, O'Shea M, Gudmundsen O. Six months supplementation with conjugated linoleic acid induces regional-specific fat mass decreases in overweight and obese. *Brit. J. Nutr.* 97: 550-560 (2007)
- Kamphuis MM, Lejeune MP, Saris WH, Westerterp-Plantenga MS. The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body weight regain, body composition, and resting metabolic rate in overweight subjects. *Int. J. Obesity* 27: 840-847 (2003)
- Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans-metabolic effects. *Lipids* 36: 773-781 (2001)

18. Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *J. Int. Med. Res.* 29: 392-396 (2001)
19. Mougios V, Matsakas A, Petridou A, Ring S, Sagredos A, Melissopoulou A, Tsigilis N, Nikolaidis M. Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *J. Nutr. Biochem.* 12: 585-594 (2001)
20. Nagao K, Wang YM, Inoue N, Han SY, Buang Y, Noda T, Kouda N, Okamoto H, Yanagita T. The 10-trans, 12-cis isomer of conjugated linoleic acid promotes energy metabolism in OLETF rats. *Nutrition* 19: 652-656 (2003)
21. Scimeca JA. Toxicological evaluation of dietary conjugated linoleic acid in male Fischer 344 Rats. *Food Chem. Toxicol.* 36: 391-395 (1998)
22. O'Hagan S, Menzel A. A subchronic 90-day oral rat toxicity study and *in vitro* genotoxicity studies with a conjugated linoleic acid product. *Food Chem. Toxicol.* 41: 1749-1760 (2003)
23. Yang M, Cook ME. Dietary conjugated linoleic acid decreased cachexia, macrophage tumor necrosis factor- α production, and modifies splenocyte cytokines production. *Exp. Biol. Med.* 228: 51-58 (2003)
24. Bontempo V, Sciannimanico D, Pastorelli G, Rossi R, Rosi F, Corino C. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *J. Nutr.* 134: 817-824 (2004)
25. Soni MG, Kimura H, Burdock GA. Chronic study of diacylglycerol oil in rats. *Food Chem. Toxicol.* 39: 317-329 (2001)
26. Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Marit GB, Morita O, Tamaki Y, Suzuki H. A chronic dietary toxicity study of DAG (diacylglycerol) in Beagle dogs. *Food Chem. Toxicol.* 44: 81-97 (2006)
27. Kasamatsu T, Ogura R, Ikeda N, Morita O, Saigo K, Watabe H, Saito Y, Suzuki H. Genotoxicity studies on dietary diacylglycerol (DAG) oil. *Food Chem. Toxicol.* 43: 253-260 (2005)
28. Takei A, Toi T, Takahashi H, Takeda Y, Moriwaki J, Takase H, Katsuragi Y. Effects of diacylglycerol-containing mayonnaise on lipid metabolism and body fat in human. *Jpn. Nutr. Food* 4: 89-94 (2001)
29. Watanabe H, Tokimitsu I. Digestion and absorption of diacylglycerol. p.30. In: *Diacylglycerol Oil*, Katsuragi Y, Yasukawa T, Matsuo N, Flickinger BD, Tokimitsu I, Matlok MG (eds). American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (2004)
30. Matsuyama T, Shoji K, Watanabe H, Shimizu M, Saotome Y, Nagao T, Matsuo N, Hase T, Tokimitsu I, Nakaya N. Effects of diacylglycerol oil on adiposity in obese children: Initial communication. *J. Pediatr. Endoc. Met.* 19: 795-804 (2006)
31. Teramoto T, Watanabe H, Ito K, Omata Y, Furukawa T, Shimoda K, Hoshino M, Nagao T, Naito S. Significant effects of diacylglycerol on body fat and lipid metabolism in patients on hemodialysis. *Clin. Nutr.* 23: 1122-1126 (2004)
32. Maki KC, Davidson MH, Tsushima R, Matsuo N, Tokimitsu I, Umporowicz DM, Dicklin MR, Foster GS, Ingram KA, Anderson BD, Frost SD, Bell M. Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of a triacylglycerol control oil. *Am. J. Clin. Nutr.* 76: 1230-1236 (2002)
33. Nagao T, Watanabe H, Goto N, Onizawa K, Taguchi H, Matsuo N, Yasukawa T, Tsushima R, Shimasaki H, Itakura H. Dietary diacylglycerol suppresses accumulation of body fat compared to triacylglycerol in men in a double-blind controlled trial. *J. Nutr.* 130: 792-797 (2002)
34. Yasunaga K, Glinsmann WH, Seo Y, Katsuragi Y, Kobayashi S, Flickinger B, Kennepohl E, Yasukawa T, Borzelleca JF. Safety aspects regarding the consumption of high-dose dietary diacylglycerol oil in men and women in a double-blind controlled trial in comparison with consumption of a triacylglycerol control oil. *Food Chem. Toxicol.* 42: 1419-1429 (2004)
35. Moon HS, Lee HG, Seo JH, Chung CS, Kim TG, Kim IY, Lim KW, Seo SJ, Choi YJ, Cho CS. Down-regulation of PPAR γ 2-induced adipogenesis by PEGylated conjugated linoleic acid as the pro-drug: Attenuation of lipid accumulation and reduction of apoptosis. *Arch. Biochem. Biophys.* 456:19-29 (2006)
36. Normen L, Dutta P, Lia A, Andersson H. Soy sterol esters and beta-sitosterol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 908-913 (2000)
37. Becker M, Staab D, von Bergman K. Long-term treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitosterol. *J. Pediatr.* 122: 292-296 (1993)
38. Watanabe H, Onizawa K, Taguchi H, Kobori M, Chiba H, Naito S, Matsuo N, Yasukawa T, Hattori M, Shimasaki H. Nutritional characterization of diacylglycerols in rats. *J. Jpn. Oil Chem.* 46: 301-307(1997)
39. Yasukawa T, Yasunaga K. Nutritional functions of dietary diacylglycerols. *J. Oleo Sci.* 50: 427-432 (2001)