Kor. J. Food Hygiene 7 (2, 3), 123-135 (1992)

콜레스테롤 투여 흰쥐에 있어서 乳酸菌 醱酵乳의 飮用效果(II)

이용욱 · 노우섭 · 김종규
서울大學校 保健大學院

Benefits of Fermented Milk in Rats Fed by Hypercholesterolemic Diet (II)

Yong-Wook Lee, Woo-Sup Roh and Jong-Gyu Kim
Graduate School of Public Health, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

ABSTRACT—**This study was performed to investigate the long term effect of fermented milk in drink on rats fed by cholesterol diet. 150 of 5-week-old male rats of Sprague-Dawley strain were divided into six groups according to diet and content of fermented milk in drink. The first group served as normal control group fed by synthetic pellets of standard diet. The second, cholesterol control group, was treated with standard diet containing 1% of cholesterol and 500,000 IU/100g of vitamin D_2. The other four groups, fermented milk groups, FM-25, FM-50, FM 75 and FM-100 were treated with the cholesterol and vitamin D_2 diet and supplied with 25%, 50%, 75% and 100% of fermented milk in drink, respectively. The animals were sacrificed for analysis in 3, 6, 9 and 12 months. Weight gain, diet intake, and drink consumption were significantly different among groups. Fermented milk reduced serum cholesterol to a significant effect ($p<0.05$) and significantly increased the ratio of high density lipoprotein cholesterol to total cholesterol ($p<0.05$). Serum triglycerides were reduced to a smaller and less significant effect in fermented milk group. The aorta and liver of fermented milk showed slighter medial calcification and necrosis and milder fat degeneration than did the cholesterol control group. Supplementation of fermented milk may have a helpful effect on hypercholesteremia and atherosclerosis.**

Keywords□**Benefits of fermented milk, Long-term effect, Rats, Hypercholesteremia, Atherosclerosis**

食生活 樣式의 서구화와 생활 패턴의 변화에 따라 우리나라에서도 점차 疾病 이환 양상이 선진국형으로 변화하는 경향이며 사망원인중 심·맥관계 疾患이 차지하는 比가 증가하는 추세이다.[1,2] 세계적으로도 심장관계 질환은 높은 사망률을 나타내고 있으며, 심장질환은 高콜레스테롤 血症과 깊은 관계가 있다는 증거가 보고되고 있다.[3] Lipid Research Clinics Program[4]에 의해서 3,806명의 成人 男子에 대해 7년 5개월 동안 행해진 硏究에서는 혈장 콜레스테롤의 감소가 심장질환의 위험성을 감소시킬 수 있다는 가능성을 제시하였다. 따라서 血中의 콜레스테롤을 저하시킬 수 있는 노력이 매우 중요한 것으로 평가되었다. 血液中의 콜레스테롤에 대하여, 특히 동맥에서 血中으로 콜레스테롤을 운반하여 동맥경화증 유발의 억제작용을 갖는 HDL-콜레스테롤(high density lipoprotein-cholesterol)농도의 감소와 혈장콜레스테롤의 주된 운반형으로 동맥벽에 콜레스테롤을 축적시키는 LDL-콜레스테롤(low density lipoprotein-cholesterol) 농도의 증가[5]를 중요한 요인으로 들고 있다.

血液中의 콜레스테롤 量은 주로 간에서 콜레스테롤의 합성과 분해 속도-담즙산으로의 전환 및 lipoprotein의 합성과 분해, 그리고 소장에서 食餌性 콜레스테롤의 흡수에 의해 조절되는 것[5,6]으로 되어 있다. 血中 콜레스테롤 量이 食事에 의해서 흡수되는 外因性 콜레스테롤보다도 體內에서 합성되는 內因性 콜레스테롤의 影響을 받는다고 하나 食餌中의 콜레

Received for publication April 6, 1992
Reprint request: Dr. Y.W. Lee at the above address

스테롤 함량은 血淸 콜레스테롤의 量을 증가시키는데 있어서 간과될 수 없는 중요한 要因임이 지적되고 있다.[7] 특히 콜레스테롤의 흡수는 phytosterols, glycoprotein, 펙틴, 리그닌, 섬유소, 불포화지방산, 대두단백질 및 칼슘 等에 의해서 감소되어질 수 있다고 추측되고 있으며,[6] 이러한 成分 및 이들 成分이 다량으로 함유된 식품들이 人體나 動物에서 血淸中의 콜레스테롤을 낮추는 效果를 나타내는지의 여부가 꾸준히 연구되어 왔다. 특히 최근에는 健康유지와 증진에 유익한 효과를 갖기 위하여 의약품 보다는 건강보조효과를 갖는 식품 또는 자연적인 食餌의 섭취가 보다 더 선호되고 있는바, 이들을 이용한 생리적인 접근방법, 즉 일상적으로 섭취하는 食品中에서 血中 콜레스테롤 저하효과 및 심·맥관계 질환의 예방효과를 갖는 요인을 탐구하는 연구가 활발해지고 있다.

자연식품중 완전식품이라고 일컬어지는 우유와 유제품에 대하여 콜레스테롤 저하 등의 효과가 처음으로 보고된 것은 Mann과 Spoerry[8]에 의해서였다. 특히 醱酵乳에 대해서는 今世期 初 소장내에서 생존이 가능한 *Lactobacillus*로 제조한 醱酵乳의 섭취가 健康에 유익하다고 강조한 Metchnikoff의 주장에서부터 시작하여 여러 硏究者들에 의하여 그 健康效果가 논의되고 있다.[9]

Mann과 Spoerry는 마사이족 남성들이 관상심장질환(coronary heart disease; CHD)을 일으키는 것으로 알려져 있는 육류와 우유를 많이 섭취함에도 불구하고 血淸 콜레스테롤 수준이 낮으며 관상 심장질환의 발생률이 낮음을 발견하고, 조사한 결과 이들은 과량의 醱酵乳를 섭취하며 또한 우유중 cholesteremia를 감소시키는 어떤 요인이 존재함을 추측하였다. 이 외에도 우유와 醱酵乳의 血中 콜레스테롤 저하 효과를 관찰한 연구들이 상당수 있으나 이들은 나아가서 동맥경화증의 억제 효과를 이론적으로만 제시하였다.

本 硏究에서는 고 콜레스테롤 혈증 및 동맥경화증에 대한 醱酵乳의 섭취효과를 조사하고자 콜레스테롤 및 비타민 D_2로써 흰쥐에 실험적으로 고콜레스테롤혈증 및 동맥경화증성 병변을 유발시키고 醱酵乳를 급여하여 그 억제적 효과를 관찰하였으며 人體實驗의 효과에 준한 결과를 얻고자 약물 및 醱酵乳 투여를 사람의 섭취 양상과 같게 하여 12개월간 관찰하였다.

材料 및 方法

實驗動物과 食餌

생후 3주령의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley strain) 150마리를 분양받아 2주 동안 예비사육으로 적응시킨 후 實驗에 사용하였다. 體重이 고르게 6개군으로 나누어 배치하고 食餌와 飮料에 따라 구분하였다. 특수 調製食餌(Table 1)와 물을 급여한 對照群, 콜레스테롤 1% 및 비타민 D_2 500,000 IU/100g을 첨가한 특수 調製食餌와 물을 급여한 콜레스테롤 對照群, 콜레스테롤 및 비타민 D_2를 첨가한 調製食餌와 乳酸菌 醱酵乳(Table 2)를 飮用水에 25%, 50%, 75% 및 100%로 혼합하여 각각 급여한 乳酸菌 醱酵乳 급여군(이하 FM-25, FM-50, FM-75 및 FM-100으로

Table 1. Basic composition of experimental diet

(g/100g diet)

Ingredient \ Diet	Standard diet	Cholesterol diet
Corn Starch	65.4	64.4
Casein(Vitamin free)	20.0	20.0
Corn-oil	5.0	5.0
α-Cellulose powder	5.0	5.0
Mineral mixture*	3.5	3.5
Cholesterol	–	1.0
Vitamin mixture**	0.8	0.8
Methione	0.3	0.3
Vitamin D_2	–	500,000 IU

* The mineral mixture(g/kg mixture) contained the following: Calcium carbonate 299.0; Calcium phosphate 4.3; Potassium phosphate 343.1; Sodium chloride 250.6; Magnesium sulfate 99.8; Ferric citrate hexahydrate 6.23; Cupric sulfate 1.56; Manganous sulfate 1.21; Zinc chloride 0.20; Potassium iodate 0.05; Molybden ammonium 0.025.

** The vitamin mixture(g/kg mixture) contained the following: Vitamin A acetate 500,000 IU; Vitamin D3 100,000 IU; Vitamin E acetate 5,000 mg; Vitamin K_3 5,000 mg; Thiamin HCl 1,200 mg; Riboflavin 4,000 mg; Pyridoxin HCl 8,000 mg; Cyanocobalamin 0.5 mg; Ascorbic acid 30,000 mg; D-biotin 20 mg ; Folic acid 200 mg; Calcium pantothenate 5,000 mg; Para-aminobenzoic acid(PABA) 5,000 mg; Niacin 6,000 mg; Inositol 6,000 mg; Choline chloride 200,000 mg.

Table 2. Proximate components of fermented milk administered to the rats

Component	Amount per 100g
Protein	3.3g
Carbohydrates	4.2g
Ca	120 mg
P	90 mg
Mg	12 mg
Na	45 mg
K	150 mg
Fe	80 μg
Thiamin	40 μg
Riboflavin	200 μg
Niacin	120 μg
Pantothenic acid	380 μg
Vitamin B_6	50 μg
Folic acid	10 μg
Vitamin B_{12}	0.4 μg
Ascorbic acid	1.0 mg

표기함)으로 구분하여 12개월 동안 사육하였다.

實驗期間中 食餌와 飮料는 자유로이 섭취하도록 하였으며 20±2℃의 실내 온도를 유지하였고 자연 채광하에서 흰쥐用 케이지에 3마리씩 넣어서 사육하였으며, 각 群別로 3, 6, 9, 12개월에 각각 일정수를 희생시켜 試料를 채취하였다.

實驗方法

食餌 및 飮料섭취량, 體重 측정 : 全 실험기간 동안 매일 일정한 시간에 같은 저울로 食餌섭취량과 飮料섭취량을 측정하였으며 體重은 매주 1회씩 동일한 요일 및 시간에 동일한 저울로 측정하였다.

食餌의 效率과 단백질 效率 산출 : 食餌의 效率(food efficiency ratio)은 해당 期間동안 섭취한 食餌의 量과 같은 期間 동안의 體重 증가량에 의하여, 단백질 效率(protein efficiency ratio)은 해당 期間 동안 섭취한 단백질의 量과 같은 기간 동안의 體重 증가량에 의하여 산출하였다.

血液 채취 및 分析 : 실험 시작후 각 3, 6, 9, 12개월에 14시간 동안 절식시킨 實驗動物에 마취제를 주사하여 가볍게 마취시킨 상태에서 심장천자(heart puncture)로써 血液을 채취하였다. 채취한 血液을 원심분리시켜 血淸을 얻고 Biochemical Analyzer (Ciba Corning Diagnostics, Express 550, U.S.A.)에 의해 분석하여 血淸中의 總 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, triglyceride 및 단백질 농도를 측정하였다. 血液의 무기물 성분으로서 무기인 농도를 上記와 같이 측정하였으며 無機質 檢液을 제조하여 칼슘의 농도를 Inductively Coupled Plasma Emission Spectro Analyzer(ICP; Jobin Yron, JY 38 Plus ISA, France)로 393.367 nm에서 측정하였다(Table 3). 콜레스테롤은 효소법에 의하여, HDL-콜레스테롤은 dextran sulfate 및 magnesium sulfate법에 의하여, triglyceride는 GPO법에 의하여, 단백질은 biuret법에 의하여, 그리고 무기인은 ammonium molybdate법에 의하였다.

Table 3. Operating Condition of ICP Emission Spectro Analyzer

Wavelength spectrum (nm)	393.367
Line gas pressure (psi)	70
Coolant gas flow rate (l/min)	12
Nebulizer Sample gas pressure (psi)	40
Carrier gas flow rate (l/min)	0.4
Pump rate (ml/min)	1.5
Integration Period	10

臟器의 채취 및 病理組織學的 觀察 : 實驗動物로부터 血淸을 채취한 후 즉시 부검하여 표적장기를 적출하였으며 생리식염수에 헹구고 여과지로 수분을 제거하여 중량을 측정하였다. 病理組織 검사를 위한 臟器는 10% 중성 완충 포르말린에 고정한 후 세척하여 흐르는 물에 수세한 다음 자동조직처리기(Fisher Co., Model 116 A, U.S.A)를 거쳐 파라핀으로 포매하였다. 이를 microtome으로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin(HE) 염색하고 현미경으로 관찰하였다.

資料의 處理와 分析

實驗分析 結果는 統計處理하여서 각 측정치별 平均値와 標準誤差를 計算하였고, 분산분석을 한 후에 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 群別 및 實驗期間別 平均値間의 有意性을 검증하였다.

結果 및 考察

體重 變化 및 食餌와 飮料 섭취량

全 實驗期間동안 각 群別 實驗動物의 體重의 變化와 食餌 및 飮料 섭취량의 變化는 Fig. 1 및 2에서 보는 바와 같다. 對照群에 비하여 콜레스테롤 및 비타민 D_2를 투여한 콜레스테롤 對照群과 乳酸菌 醱酵乳급여군 전체에서 5개월 또는 7개월까지 體重이 현저하게 감소하였다($p<0.05$). 體重 감소와 병행하여 食餌 섭취량도 감소하였으며($p<0.05$) 쇠약현상이 관찰되었다. 그러나 이후 시간이 경과함에 따라서 食餌 및 飮料 섭취량이 서서히 증가하였으며 성장곡선에 있어서도 회복됨이 관찰되었다. 이러한 회복현상은 특히 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 뚜렷하였으며 飮料中 醱酵乳의 함량이 많을수록 회복정도가 높은 경향을 보였다. 콜레스테롤 對照群에서는 10개월 경과시 모든 동물이 사망하였으나 醱酵乳 급여군에서는 12개월이 경과한 實驗 종료시에 對照群에 비하여 體重의 유의한 차이를 나타내지 아니

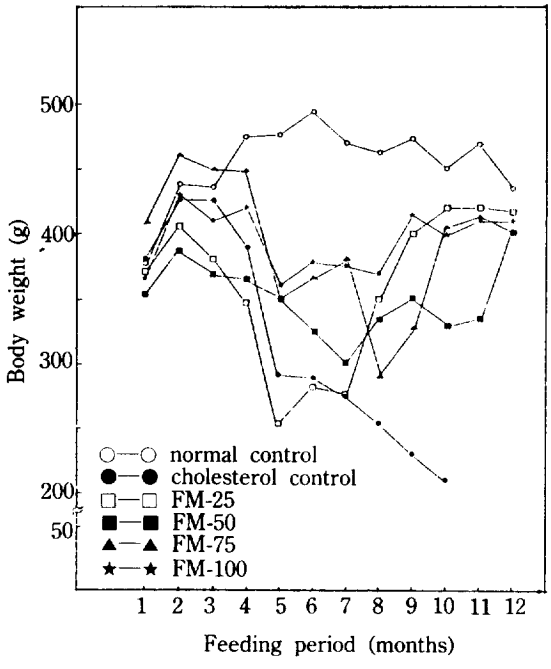

Fig. 1. Change of body weight. Each point represents mean. All rats in the cholesterol control group died in 10 months. FM; fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.

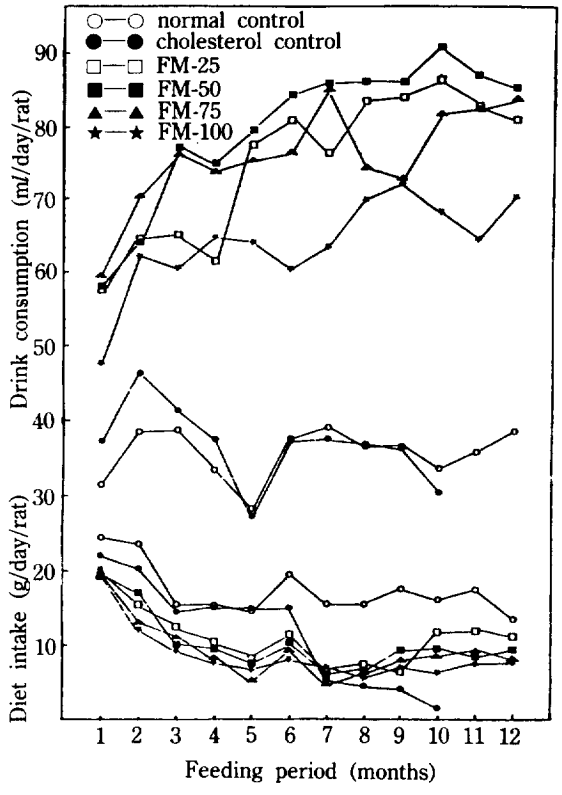

Fig. 2. Change of diet intake and drink consumption. Each point represents mean. All rats in the cholesterol control group died in 10 months. FM; fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.

하였다.

全 實驗期間中의 總 體重 증가량도 平均體重과 마찬가지로 飮料中 乳酸菌 醱酵乳의 함량이 많을수록 높게 나타났으며 12개월 경과시에는 對照群에 비하여 차이를 보이지 않았다. Okawa[10]와 이[11]는 흰쥐에 콜레스테롤과 고단위의 비타민 D_2를 4일간 복합 투여하였을 때 體重이 현저하게 감소하였다고 보고하여 本 實驗의 結果와 비교적 일치하였으며, 이들은 體重의 감소가 약물처치로 인하여 식욕감퇴를 일으켜 飼料의 섭취가 감소함으로써 일어난 것으로 설명하고 있다. 한편 飮料의 섭취량이 對照群과 콜레스테롤 對照群에서 물만을 공급시킨 것에 비해서 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 현저하게 증가하고 ($p<0.05$), 體重이 증가하고 있어 實驗動物이 乳酸菌 醱酵乳에 선호를 보였음을 알 수 있으며 이는 요

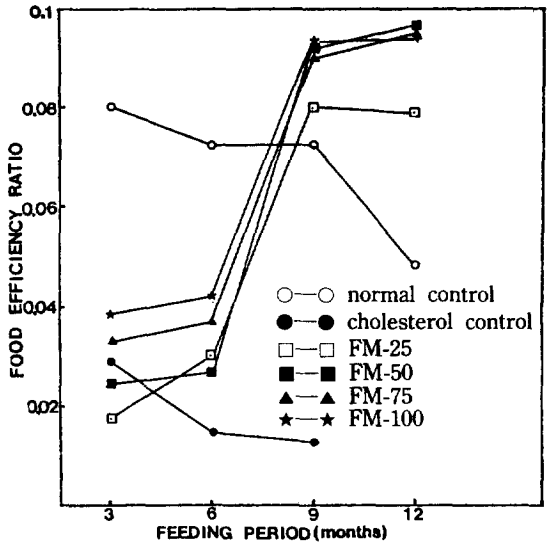

Fig. 3. Food efficiency ratios of the rats by dietary group and feeding period. Each point represents mean. All rats in the cholesterol control group died in 10 months. FM; fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.

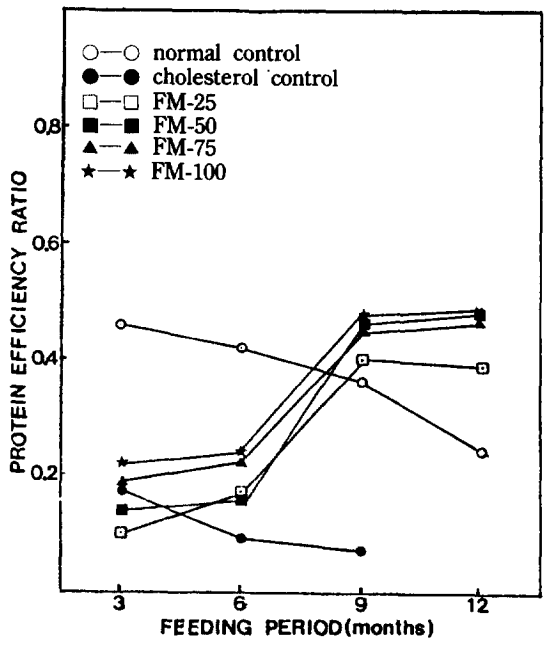

Fig. 4. Protein efficiency ratios of the rats by dietary group and feeding period. Each point represents mean. All rats in the cholesterol control group died in 10 months. FM; fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.

구르트를 쥐에 급여한 Hargrove 등[12]의 結果와 일치하고 있는데 그는 요구르트 中의 polypeptide가 성장촉진물질이 되는 것으로 추측하였다.

食餌의 效率 및 단백질 效率

全 實驗期間 동안의 食餌의 效率과 단백질 效率은 Fig. 3 및 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 食餌 및 단백질 效率은 6개월 경과시까지는 對照群에 비하여 모든 實驗群에서 매우 낮게 나타났으며($p<0.05$), 콜레스테롤 對照群은 계속 감소하였으나 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 다시 증가하여 對照群에 비하여 높은 效率을 보였다($p<0.05$). 對照群에서 實驗 末期에 食餌의 效率과 단백질 效率이 감소된 것은 성장기를 지난 후에 나타나는 일반적인 현상으로 판단되었다.

本 實驗의 結果는 콜레스테롤 食餌로 4주간 사육한 흰쥐에 있어서 對照群보다 食餌 效率이 낮았다고 하는 임 등[13]의 結果와 일치하나 本 實驗에서는 醱酵乳를 음용으로 공급하였으므로 같은 콜레스테롤 조건에서 食餌의 구성성분이 달랐을 때와의 비교는 할 수 없었다. 이와 같이 本 實驗에서 乳酸菌 醱酵乳 급여군의 食餌 및 단백질 效率이 6개월 경과후부터 뚜렷하게 증가하는 것은 前記와 같이 乳酸菌 醱酵乳의 급여로 인하여 體重이 회복, 증가되었음에 기인하며 이로써 乳酸菌 醱酵乳의 飮用效果가 있었음으로 추측되었다.

臟器의 相對重量 變化

각 臟器의 體重에 대한 相對重量은 Table 4에서 보는 바와 같다. 간의 相對重量은 對照群에 비하여 콜레스테롤 對照群에서 유의하게 증가하였으며($p<0.05$), 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 期間別로 증가 또는 감소하였고 實驗末期에는 對照群과 유의한 차이를 나타내지 않았다. 신장, 심장 및 부신의 相對重量도 對照群에 비하여 콜레스테롤 對照群에서 유의하게 증가하였으며($p<0.05$), 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 9개월까지는 對照群보다 높았으나, 實驗末期에는 對照群과 차이를 나타내지 않았다. 비장의 相對重量은 9개월까지는 對照群에 비해서 實驗群 모두 유의하게 증가하였으나 實驗末期에는 차이를 나타내지 않았다. 이와 같은 結果는 이[11]의 結果와

Table 4. Relative organ weight of the rats by group and feeding period

Organ	Group	Relative organ weight (g/100g body weight)			
		3 months	6 months	9 months	12 months
Liver	Control	2.76^{b}	2.57^{c}	2.72^{b}	3.26^{b}
	Cholesterol control	3.49^{a}	3.54^{a}	3.33^{a}	–
	FM*-25	$2.73^{b,3}$	$3.05^{b,2}$	$3.96^{a,1}$	$4.13^{a,1}$
	FM*-50	2.86^{b}	3.72^{a}	3.82^{a}	3.31^{b}
	FM*-75	3.13^{b}	4.04^{a}	3.43^{a}	3.10^{b}
	FM*-100	$2.80^{b,2}$	$3.79^{a,1}$	$3.07^{ab,12}$	$3.21^{b,12}$
Kidney	Control	$0.30^{c,2}$	$0.32^{d,2}$	$0.57^{b,1}$	0.44^{1}
	Cholesterol control	$0.66^{a,2}$	$0.81^{a,1}$	$0.70^{a,2}$	–
	FM*-25	$0.64^{a,12}$	$0.56^{b,2}$	$0.76^{a,1}$	0.42^{3}
	FM*-50	$0.54^{b,2}$	$0.54^{b,2}$	$0.93^{a,1}$	0.39^{3}
	FM*-75	$0.47^{b,2}$	$0.43^{c,2}$	$0.86^{a,1}$	0.39^{2}
	FM*-100	$0.40^{c,2}$	$0.42^{c,2}$	$0.73^{ab,1}$	0.42^{2}
Heart	Control	0.28^{b}	0.26^{c}	0.32^{ab}	0.31
	Cholesterol control	$0.32^{ab,2}$	$0.47^{a,1}$	$0.36^{a,2}$	–
	FM*-25	0.32^{ab}	0.30^{b}	0.29^{b}	0.27
	FM*-50	0.34^{a}	0.33^{b}	0.41^{a}	0.34
	FM*-75	$0.29^{ab,2}$	$0.34^{b,12}$	$0.38^{a,1}$	0.30^{12}
	FM*-100	0.27^{ab}	0.33^{b}	0.31^{ab}	0.30
Spleen	Control	0.19	0.16^{b}	0.18	0.24
	Cholesterol control	0.17^{1}	$0.11^{C,2}$	0.20^{1}	–
	FM*-25	0.17^{1}	$0.10^{c,2}$	0.17^{1}	0.22^{1}
	FM*-50	0.17	0.15^{b}	0.19	0.20
	FM*-75	0.18	0.20^{a}	0.19	0.19
	FM*-100	0.18	0.22^{a}	0.21	0.16
Adrenal gland	Control	0.008^{b}	0.007^{b}	0.008^{b1}	0.005
	Cholesterol control	0.013^{c}	0.011^{ab}	0.013^{a}	–
	FM*-25	0.014^{a}	0.016^{a}	0.015^{a}	0.010
	FM*-50	0.013^{a}	0.010^{ab}	0.014^{a}	0.012
	FM*-75	0.013^{a}	0.017^{a}	0.013^{a}	0.011
	FM*-100	0.011^{ab}	0.012^{a}	0.014^{a}	0.008

*FM: fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.
Values in the same column(dietary group) followed by different superscript letters are significantly different ($p<0.05$).
Values in the same row(feeding period) followed by different superscript numbers are significantly different ($p<0.05$).
All the rats in the cholesterol control group died in 10 months.

일부 일치하는 점이 있기는 하나 이들 報告에서는 각 臟器의 重量을 절대치로 나타내고 있어 직접 비교가 곤란하였으며 다만 부검시 각 臟器에 대한 육안적 소견에서 對照群에 비하여 콜레스테롤 對照群에서 간과 신장의 심한 비대현상이 관찰되었으며 飮料中 乳酸菌 醱酵乳의 함량이 많을수록 그 비대

및 色 변질의 정도가 감소되었음이 관찰되었다.

血清의 생화학적 成分의 變化

각 群別로 血清中의 지질 成分으로서 總콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 중성지방 함량, 단백질 함량 및 무기물함량을 측정한 結果는 Table 5~7과 같다. 血清中의 總 콜레스테롤 함량은 對照群에 비해서 콜레스테롤 對照群에서 유의하게 높았으며($p<0.05$) 또한 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 콜레스테롤 對照群에 비하여 현저하게 감소하는 경향을 보였고 飮料中 醱酵乳의 함량이 많을수록 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 그러나 實驗期間에 따라서는 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. HDL-콜레스테롤 함량은 對照群 및 콜레스테롤 對照群에 비해서 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 뚜렷한 차이를 볼수 없었으나 總콜레스테롤 함량에 대한 HDL-콜레스테롤 함량의 比는 콜레스테롤 對照群에 비해서 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 유의한 증가를 나타내었고($p<0.05$) 이는 實驗期間이 경과함에 따라 유의하게 증가하는 경향이었다($p<0.05$). 중성지방함량은 對照群에 비해서 콜레스테롤 對照群에서 6개월 및 9개월에만 유의하게 높았으며($p<0.05$) 전반적으로 飮料中 乳酸菌 醱酵乳의 함량이 증가할수록 감소하는 경향이었고 實驗期間이 경과할수록 높아지는 경향을 나타내었으나 콜레스테롤과 같이 각 群間에 현저한 차이를 볼 수는 없었다.

血清中의 콜레스테롤 함량은 주로 간에서 콜레스테롤의 합성과 분해속도, 소장에서 食餌性 콜레스테롤에 의하여 조절되는 것으로[7] 임 등[13]의 硏究에서는 흰쥐에 최고 1%의 콜레스테롤이 함유된 食餌를 급여한 結果, 對照群에 비하여 유의한 차이를 발견할 수 없었던 바, 食餌를 통한 콜레스테롤 급여수준이 혈장 總콜레스테롤 농도에 영향하지 않음을 시사하였다. 그러나 Stange 등[14]의 報告에 의하면 토끼에 食餌性 콜레스테롤을 급여하였을 때 간에서 콜레스테롤 합성의 rate limiting enzyme인 3-hydroxy-3-methylglutaryl Co A reductase의 활성을 억제한다고 하였으며 이에 따라 이[11]는 과량을 투여하면 이 효소의 작용이 미약하여 결과적으로 血清의 콜레스테롤 함량이 높아지는 것으로 설명하고 있다.

또한 血中 콜레스테롤의 變化는 콜레스테롤의 합성, 흡수, 담즙으로의 전환 및 lipoproteins의 합성과 분해에 기인하며, 콜레스테롤의 흡수는 여러가지 요소들에 의해서 감소되어질 수 있음이 시사되었는데[6] 이들 요인중 本 實驗에서는 乳酸菌 醱酵乳중의 칼슘의 유용성을 들 수 있다. 물론 血清 콜레스테롤의 저하작용은 醱酵乳에만 국한되지 않을 것이며 칼슘의 함량이 많은 다른 食品들에서도 이러한 效果가 있을 것으로 기대되지만 醱酵乳에서 더 크다고 추측되고 있다. 칼슘의 흡수와 이용에 대한 效率은 다른 형태로 칼슘을 함유하고 있는 飼料를 급여한 경우보다 醱酵乳에 의하여 공급된 칼슘이 더 잘 흡수, 이용되고 있는 것으로 나타났으며 이에 대하여 醱酵乳製品에서는 젖산, 유당, 비타민 D와 많은 양의 칼슘이 결합되어서 칼슘의 利用이 용이한 것으로 생각되고 있다.[15] Mann[16]의 硏究에서는 콜레스테롤 저하效果를 콜레스테롤 합성의 억제에 따른 것으로 설명하였다. 여기서 가정된 機轉은 醱酵乳中의 hydroxymethyl glutarate가 前記의 Stange 등[14]과 같이 hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase의 활성을 억제시킴으로써 이 효소에 의한 콜레스테롤 합성에 있어서의 rate-limiting step이 억제된다는 것이었다.

Isegawa 등[17]의 報告에서 SHR 흰쥐에게 동맥경화식이를 4주간 투여한 結果 對照群에 비하여 HDL-콜레스테롤은 별 影響이 없었다는 結果는 本 實驗의 結果와 비교적 일치하였다. 그러나 本 實驗에서는 實驗期間이 경과함에 따라 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 HDL-콜레스테롤이 유의한 증가를 보이고 있고 또한 總 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 比가 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 콜레스테롤 對照群보다 증가하고 있는것을 볼 때 血中 콜레스테롤 농도와 醱酵乳의 관계는 간과할 수 없는 것으로 평가된다.

이[11]가 흰쥐에서 實驗한 동맥경화군에서 중성 지질치가 증가하였다고 한 報告는 本 實驗의 콜레스테롤 對照群의 血清 중성지방 함량이 비교적 높은 結果와 일치하고 있으며, 이에 대해서는 증가된 콜레스테롤을 운반하기 위하여 더욱 많은 중성지방이 血中으로 유리되는 것으로 설명이 가능할 수 있겠다. Hepner 등[6]의 硏究에서는 乳酸菌 醱酵乳를 12주간 공급한 人體 實驗에서 血清의 중성지방 함량에 醱酵乳의 공급이 큰 變化를 유도하지는 않았으나 實驗期間이 경과할수록 높아지는 경향을 보여 本 實

Table 5. Content of lipids in serum of the rats by group and feeding period

Serum lipids	Group	Content of lipid in serum			
		3 months	6 months	9 months	12 months
Total cholesterol (mg/dl)	Control	45.9^{c}	35.7^{c}	48.2^{b}	56.5^{c}
	Cholesterol control	114.0^{a}	99.0^{a}	111.3^{a}	–
	FM*-25	70.9^{b,2}	78.0^{b,2}	77.0^{ab,2}	91.0^{a,1}
	FM*-50	67.1^{b}	67.5^{b}	71.0^{ab}	75.9^{b}
	FM*-75	55.1^{c}	49.3^{bc}	69.0^{b}	59.7b^{c}
	FM*-100	56.1^{c}	42.0^{c}	62.1^{b}	62.8^{c}
HDL-Cholesterol (mg/dl)	Control	36.3	29.7	34.0	41.5^{b}
	Cholesterol control	54.3^{1}	43.0^{2}	59.7^{1}	–
	FM*-25	51.7^{1}	46.0^{3}	58.5^{1}	68.3^{a,1}
	FM*-50	49.3^{1}	41.3^{2}	52.7^{1}	51.0^{b,1}
	FM*-75	41.9^{c,2}	33.3^{2}	53.5^{1}	52.7^{a,1}
	FM*-100	44.0^{1}	28.3^{2}	46.7^{1}	55.7^{a,1}
Ratio of HDL-CHL-/T-CHL	Control	0.79^{a}	0.83^{a}	0.71^{a}	0.71^{b}
	Cholesterol control	0.48^{b,1}	0.43^{b,1}	0.54^{b,1}	–
	FM*-25	0.73^{a,1}	0.59^{b,2}	0.76^{a,1}	0.72^{b,1}
	FM*-50	0.73^{a,1}	0.61^{b,2}	0.74^{a,1}	0.67^{b,1}
	FM*-75	0.76^{a,2}	0.67^{b,3}	0.78^{a,2}	0.88^{a,1}
	FM*-100	0.79^{a,2}	0.67^{b,3}	0.75^{a,23}	0.87^{a,1}
Triglyceride (mg/dl)	Control	61.7	67.4^{b}	63.4^{c}	60.8
	Cholesterol control	60.3^{3}	90.0^{a,2}	120.5^{a,1}	–
	FM*-25	41.5^{2}	68.0^{b,1}	77.0^{b,1}	69.5^{1}
	FM*-50	52.4^{2}	57.5^{c,2}	79.0^{b,1}	71.3^{1}
	FM*-75	58.4^{3}	76.3^{b,1}	84.0^{b,1}	70.5^{2}
	FM*-100	55.7^{2}	62.8^{c,12}	73.6^{c,1}	64.6^{1}

* FM: fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.
Values in the same column(dietary group) followed by different superscript letters are significantly different ($p<0.05$).
Values in the same row(feeding period) followed by different superscript numbers are significantly different ($p<0.05$).
All the rats in the cholesterol control group died in 10 months.

驗의 結果와 비교적 일치하고 있다.

血淸中의 단백질 함량을 측정한 結果는 實驗期間에 따라 3개월이 경과하였을 때에는 각 群間에 유의한 차이를 보여($p<0.05$) 콜레스테롤 對照群이 가장 낮으며 飮料中 乳酸菌 醱酵乳의 함량이 많을수록 높아지는 경향이었다. 그러나 實驗期間이 경과함에 따라 각 群別로 차이를 나타내지 않았으며 6개월까지 감소하다가 다시 회복되는 경향이었고 對照群과 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 모두 實驗末期에 약간 높아지는 경향을 나타내었다.

이 등[18] 및 김 등[19]의 報告에서 食餌 脂肪의 脂肪酸 組成 또는 食餌의 脂肪 함량의 차이가 血淸中 단백질 함량에 크게 影響을 미치지 못하였다는 結果, 조 등[20]의 報告에서 食餌內 단백질 함량이 血淸中의 단백질 함량에 큰 影響을 미치지 않는다는 結果, 또한 Isegawa 등[17]의 報告에서 동맥경화를 유도한 SHR 흰쥐의 경우 對照群에 비하여 血淸 단백질이 약간 높은 결과를 나타내었다는 점 등을 고려하여

Table 6. Content of total protein in serum of the rats by group and feeding period

Group	Content of total protein in serum (g/dl)			
	3 months	6 months	9 months	12 months
Control	$6.6^{ab,1}$	5.4^{2}	7.1^{1}	6.4^{1}
Cholesterol control	$5.8^{b,12}$	4.9^{2}	6.3^{1}	–
FM*-25	$5.9^{b,2}$	4.6^{3}	7.5^{1}	7.1^{1}
FM*-50	6.3^{ab}	4.9^{2}	7.0^{1}	7.1^{1}
FM*-75	$6.9^{a,1}$	5.7^{2}	7.1^{1}	6.7^{1}
FM*-100	6.9^{a}	6.3	6.7	6.7

* FM: fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.
Values in the same column(dietary group) followed by different superscript letters are significantly different ($p<0.05$).
Values in the same row(feeding period) followed by different superscript numbers are significantly different ($p<0.05$).
All the rats in the cholesterol control group died in 10 months.

볼 때 血淸 단백질의 함량은 다른 생화학 성분들에 비하여 食餌의 구성성분에 의하여 비교적 덜 영향 받는 것으로 평가된다.

각 群別로 血淸中의 무기물 成分으로서 칼슘과 인의 함량을 측정한 結果, 血淸中의 칼슘 함량은 實驗期間이 경과함에 따라 감소하는 경향을 보여 9개월과 12개월에는 유의하게 낮아지는 結果를 보였다($p<0.05$). 實驗群別로는 대체로 飮料中 醱酵乳의 함량이 많을수록 높게 나타나는 경향을 보였으며 콜레스테롤 對照群과 乳酸菌 醱酵乳 급여군간에 약간의 차이가 관찰되었다. 무기인의 함량은 콜레스테롤 對照群인 경우 가장 높은 수치를 보였으며 群別로 유의한 차이를 나타내기도 하였다($p<0.05$). 그러나 實驗期間에 따라서는 유의한 변화를 관찰할 수 없었다.

Einstein 등[21]은 비타민 D_2의 투여로 인하여 장에서 칼슘의 흡수가 촉진되므로 血淸의 칼슘 함량이 증가되며 뇨의 배설이 증가되고 보상적으로 血淸 무기인의 증가를 일으킨다고 보고하였다. 本 實驗의 結果로 콜레스테롤 對照群에서 血淸 무기인의 농도가 증가된 것은 이 報告와 일치하는 것으로 볼 수

Table 7. Content of inorganic chemicals in serum of the rats by group and period

Inorganics	Group	Content of inorganics in serum			
		3 months	6 months	9 months	12 months
Calcium (mg/dl)	Control	$20.3^{b,1}$	$21.6^{b,1}$	$12.5^{b,2}$	$13.2^{c,2}$
	Cholesterol control	$21.8^{b,1}$	$17.6^{c,1}$	$11.6^{b,2}$	–
	FM*-25	$25.0^{ab,1}$	$27.1^{ab,1}$	$12.6^{b,2}$	$15.0^{b,2}$
	FM*-50	$28.0^{a,1}$	$27.9^{ab,1}$	$12.3^{b,2}$	$16.3^{a,2}$
	FM*-75	$29.8^{a,1}$	$27.6^{ab,1}$	$21.0^{a,2}$	$21.5^{a,2}$
	FM*-100	$28.5^{a,2}$	$32.1^{a,1}$	$23.0^{a,2}$	$16.9^{a,3}$
Phosphorous (mg/dl)	Control	5.4^{b}	5.8	5.6	5.1^{b}
	Cholesterol control	7.9^{a}	7.0	8.2^{a}	–
	FM*-25	6.8^{b}	6.1	5.8^{ab}	7.6^{a}
	FM*-50	6.9^{ab}	6.9	7.4^{ab}	7.4^{a}
	FM*-75	5.8^{b}	6.5	5.7^{ab}	6.7^{ab}
	FM*-100	5.9^{b}	6.2	6.9^{ab}	5.6^{b}

* FM: fermented milk administered group. Numbers represent the percentage of fermented milk in drink.
Values in the same column(dietary group) followed by different superscript letters are significantly different ($p<0.05$).
Values in the same row(feeding period) followed by different superscript numbers are significantly different ($p<0.05$).
All the rats in the cholesterol control group died in 10 months.

있겠으나 칼슘의 농도가 콜레스테롤 對照群에서 가장 낮은 경향이고, 동시에 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 증가하고 있는 것을 볼 때 醱酵乳에 함유된 칼슘의 함량과 상관관계를 가질 수 있다는 점을 시사하는 것으로 생각된다. 왜냐하면 醱酵乳製品은 칼슘의 풍부한 공급원으로서 칼슘의 흡수와 이용에 대한 效率이 쥐에서 연구되었는데 요구르트에 의하여 공급된 칼슘이 보통 飼料의 칼슘보다 더 잘 흡수, 이용되었으며 또한 인과 철분의 利用도 향상된 듯하다.[15] 그러나 實驗期間이 경과함에 따라 무기인의

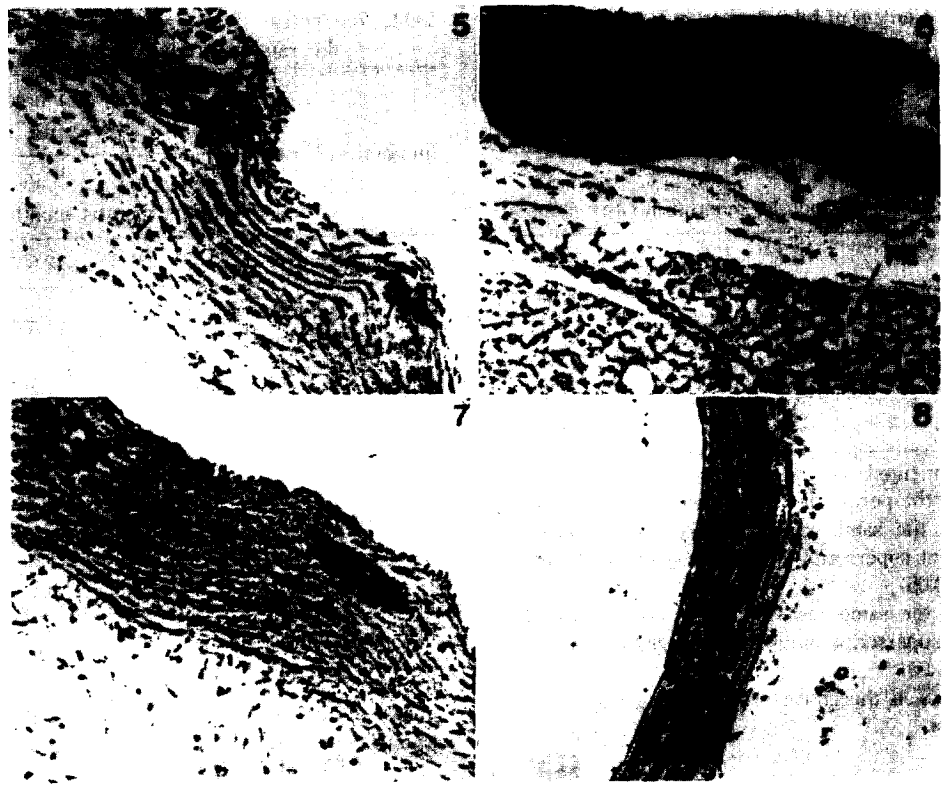

Fig. 5. Aorta of rat from cholesterol control group in 3 months showing swollen and irregular appearance with medial calcification. Also infiltration of inflammatory cell is seen. HE stain, ×200.
Fig. 6. Aorta of rat from cholesterol control group in 9 months showing severe medial calcification and degenerative change of periaortic fat tissue(PF). HE stain, ×200.
Fig. 7. Aorta of rat from fermented milk group in 3 months showing focal medial calcification. HE stain, ×200.
Fig. 8. Aorta of rat from fermented milk group in 12 months showing medial calcification. HE stain, ×200.

함량은 유의한 변화를 보이지 않은 반면에 칼슘의 함량은 유의하게 감소된 부분에 대해서는 소장에서의 칼슘 흡수조절, 尿細管에서의 재흡수 조절, 뼈중 칼슘의 dynamic turnover등, 체내 칼슘 代謝와 관련하여 實驗이 이루어져야만 설명이 가능할 것으로 보며 이에 대해서는 앞으로의 硏究가 기대된다.

臟器의 病理組織學的 검경 結果

각 群別로 組織의 病理學的인 검경을 한 결과 콜레스테롤 對照群은 3개월 후에는 대동맥의 혈관벽이 비후되었고 내막은 괴사, 중막은 괴사와 칼슘이 침착되어 혈관벽이 불규칙하게 보였으며(Fig. 5), 시간이 경과할수록 중막의 괴사와 석회 침착이 더욱 심하여졌고 혈관 주위의 지방조직도 변성되어 관찰되었다(Fig. 6). 乳酸菌 醱酵乳 급여군은 3개월 후에는 혈관벽은 비후되었고 내막의 괴사는 볼 수 없었으나 중막은 괴사와 석회 침착을 보였으며(Fig. 7), 시간이 경과할수록 중막의 괴사와 석회 침착이 증가된 소견을 보였다(Fig. 8). 일반적으로 병변의 소견이 콜레스테롤 對照群은 훨씬 심하였다.

한편 콜레스테롤 對照群은 3개월 후에는 어느정도 간 세포가 종창되어 간 세포삭이 소실되었고 지방변성이 관찰되었으며(Fig. 9), 시간이 경과할수록 심한 양상을 보였다(Fig. 10). 乳酸菌 醱酵乳 급여군은 3개월 후에는 가벼운 지방변성 소견을 보였고(Fig. 11), 시간이 경과하여도 별 차이를 보이지 않았다(Fig. 12). 일반적으로 대동맥과 간장에서의 病理組織學的 병변은 콜레스테롤 對照群이 醱酵乳 급여군보다 심하게 관찰되었다.

이와같이 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 콜레스테롤

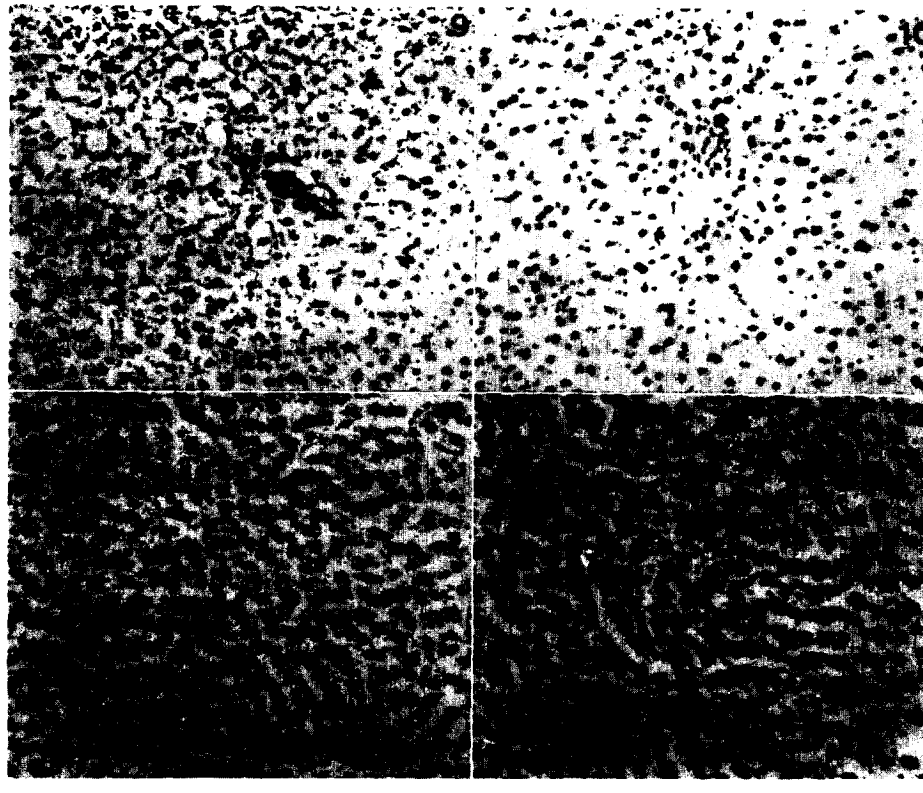

Fig. 9. Liver of rat from cholesterol control group in 3 months showing moderate fat degeneration. HE stain, ×100.
Fig. 10. Liver of rat from cholesterol control group in 9 months showing severe fat degeneration. HE stain, ×100.
Fig. 11. Liver of rat from fermented milk group in 3 months showing mild fat degeneration. HE stain, ×100.
Fig. 12. Liver of rat from fermented milk group in 12 months showing slight fat degeneration. HE stain, ×100.

對照群 보다 양호한 組織學的 소견을 나타내었던 바, 이는 前記의 혈청 지질 개선 효과와 그 효과의 정도가 飮料中 醱酵乳를 많이 함유한 群일수록 더욱 크게 나타났던 점 등과 더불어 醱酵乳의 동맥경화 증성 병변에 대한 食餌的 예방효과를 기대할 수 있다고 평가된다. 한편 더 많은 組織學的 관찰을 위한 동물 및 임상실험이 필요하며 乳酸菌 菌株別로 보다 세분화된 硏究도 필요하다고 본다.

국문요약

本 硏究에서는 흰쥐에 콜레스테롤과 비타민 D_2를 복합 투여하여 고콜레스테롤혈증 및 동맥경화증성 병변을 유발하고 장기간에 걸친 乳酸菌 醱酵乳의 飮用이 나타내는 效果를 12개월 동안 관찰하였다. 5주령의 Sprague-Dawley系 수컷 흰쥐 150마리를 체중에 따라 6개군으로 나누어 배치하였다. 對照群은 특수 調製食餌와 물을, 콜레스테롤 對照群은 콜레스테롤 1% 및 비타민 D_2 500,000 IU/100g을 함유한 특수 調製食餌와 물을 공급하였으며, 乳酸菌 醱酵乳 급여군은 콜레스테롤 및 비타민 D_2 함유 食餌와 함께 飮料로 乳酸菌 醱酵乳를 각각 25%, 50%, 75%,및 100% 함유한 飮料를 공급하여(FM-25, FM-50, FM-75 및 FM-100) 사육하면서 3, 6, 9, 12개월에 각각 희생시켜 분석, 관찰하였다.

각 群別로 食餌 섭취량, 飮料 섭취량 및 體重의 증가에 있어 차이를 보여($p<0.05$) 5 또는 7개월까지는 전반적으로 감소하는 경향이었으며 콜레스테롤 對照群에서는 계속 감소하여 10개월 경과후 모두 사망하였으나 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 이후 서서히 증가하여 實驗 末期까지 회복되는 경향을 보였다. 食餌 및 단백질 效率도 體重의 변화와 유사한 結果를 보였으며 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 實驗末期에도 계속 증가 경향을 나타내었다. 각 臟器의 相對重量은 對照群에 비하여 콜레스테롤 對照群에서 유의하게 증가하였으며($p<0.05$) 飮料中 醱酵乳의 함량이 많을수록 對照群과 유사한 경향을 나타내었다. 血淸의 總 콜레스테롤 함량은 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 콜레스테롤 對照群에 비하여 유의하게 감소하였으며($p<0.05$), 總 콜레스테롤에 대한 HDL(high density lipoprotein) 콜레스테롤의 比는 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 유의하게 증가하였다($p<0.05$). 血淸의 중성지방 함량은 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서 콜레스테롤 对照群보다 감소하였으나 유의한 차이를 보이지는 않았다. 칼슘 함량은 각 群別로 큰 차이를 발견할 수 없었으나 대체로 飮料중 醱酵乳의 함량이 많을수록 높게 나타나는 경향이었고 무기인의 함량은 뚜렷한 경향을 나타내지 않았다. 대동맥과 간에 대한 病理組織學的 검경 結果, 乳酸菌 醱酵乳 급여군에서는 콜레스테롤 對照群에 비하여 중막의 괴사와 석회 침착, 그리고 지방 변성이 완화된 소견을 보였다.

참고문헌

1. 보건사회부: 성인병 및 정신질환 관리를 위한 기초조사 연구, 1988.
2. 경제기획원 조사통계국: 사망원인 통계, 1986.
3. Gilliland, S.E.: 乳酸菌 섭취로 인한 혈청 콜레스테롤 농도의 저하효과, 대한보건협회지, **13**(2), 2-13 (1987).
4. Lipid Research Clinics Program: The lipid research clinics coronary primary prevention trial results. I. Reduction in incidence of coronary heart disease, *J. Am. Med. Assoc.*, **251**, 351 (1984).
5. Goldstein, J.L. and Brown, M.S.: The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis, *Annu. Rev. Biochem.*, **46**, 897-930 (1977).
6. Hepner, G., Fried, R., Jeor, S. St., Fusetti, L. and Morin, R.: Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk, *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**(1), 19-24 (1979).
7. 이양자: 동맥경화와 지방대사-cholesterol과 lipoprotein 대사를 중심으로, 한국영양학회 심포지움 자료집, 1984.
8. Mann, G.V. and Spoerry, A.: Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai, *A. J. Clin. Nutr.*, **27**, 464-469 (1974).
9. Richardson, T.: The hypocholesteremic effect of milk-A review, J. Food Prot., **41**, 226-235 (1978).
10. Okawa, H., Doi, K., Yasoshima, A., Fujita, T. and Okaniwa, A.: Pathology of experimental atherosclerosis: Changes of acute phase in rats loaded with vitamin D2 and cholesterol, *Jpn. J. Vet. Sci.*, **42**, 623-633 (1980).
11. 이범준: 랫트의 실험적 동맥경화증에 대한 칡성장 어유 및 옥수수유의 예방적 효과, 서울대학교 대학원 석사학위논문, 1989.
12. Hargrove, R.E., Alford, J.A.: Growth rate and feed efficiency of rats fed yogurt and other fermented milks, *J. Dairy Sci. Abstr.*, **32**, 186(1970).
13. 임현숙, 원항례, 김기남, 한인규: 식이의 콜레스테롤 급여수준이 흰쥐의 혈장 콜레스테롤, 지단백 분획 및 조직의 콜레스테롤 함량에 미치는 영향, 한국영양학회지, **18**(2), 83-89 (1985).
14. Stange, E.F., Alav, M., Schneider, A., Distschuneit, H. and Poley, J.R.: Influence of dietary cholesterol, saturated and unsaturated lipid on 3-hydroxy-3-methylglutaryl co A reductase activity in rabbit intestine and liver, *J. Lipids Res.*, **22**, 47-56 (1981).
15. Renner, E.: 乳酸菌 醱酵乳의 營養效果. 乳酸菌과 健康에 關한 第 2會 國際學術세미나 자료집, 1981.

16. Mann, S.V.: A factor in yogurt which lowers cholesterolemia in man. Atherosclerosis 26: 335(1977).
17. Isegawa, N., Doi, K., Mizutani, K. and Okaniwa, A.: Vitamin D_2-induced atherosclerosis in spontaneously hypertensive rats, SHR/NCrj, *Jpn. J. Vet. Sci.*, **46**, 443-451 (1983).
18. 李容旭, 林國煥, 金宗圭: 食餌脂肪의 脂肪酸 組成이 흰쥐의 血清 및 病理組織學的 變化에 미치는 影響, 대한보건협회지, **14**(1), 15-27 (1988).
19. 김숙희, 조명죽: 지방함량에 따르는 흰쥐의 체내 대사 연구, 한국영양학회지, **5**(4), 169-176 (1972).
20. 조미숙: 종류를 달리한 高蛋白食餌가 나이가 다른 흰쥐의 체내, Ca 및 蛋白質 代謝에 미치는 影響. 이화여자대학교 석사학위논문, 1985.
21. Einstein, R. and Groff, W.A.: Experimental hypervitaminosis D: Hypercalcemia, hypermucoproteinemia, and metastatic calcification. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **94**, 441-444 (1957).