

EFFECT OF FEED RESTRICTION DURING GESTATION AND LACTATION PERIOD ON CHANGES IN ORGAN WEIGHT IN RAT OFFSPRING

Hye Won Kim, PhD^{1,2}, Sangmi Lee, MS^{1,3}, Sun Hwa Lee, MD, PhD⁴, Inho Jo, PhD^{2,3}, Young Ju Kim, MD, PhD^{1,2,3}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, ²Medical Research Institute, ³Department of Molecular Medicine, Ewha Womans University School of Medicine; ⁴Neodin Medical Institute, Seoul, Korea

Objective

We examined the effect of maternal feed restriction during gestation and lactation period on changes in liver, spleen, lung and brain weight in 3 and 24-week-old rat offspring.

Methods

At day 10 of gestation, rats were divided into two groups and given an *ad libitum* (AdLib) diet or 50% food restricted (FR) diet until delivery. Offspring were divided into four groups: AdLib/AdLib, AdLib throughout experimental period; FR/AdLib, FR during pregnancy and AdLib after delivery; AdLib/FR, AdLib during pregnancy and FR after delivery; and FR/FR, FR throughout experimental period. Offspring were killed at 3 and 24 weeks of age.

Results

In the FR/AdLib group, all of the organ's weights were not differed among the four groups in the 3 and 24-week-old offspring. In the AdLib/FR group, liver ($P<0.01$) and spleen ($P<0.001$) weight were decreased in the 3-week-old offspring, but these weights were not differed in the 24-week-old offspring. In this group, male's lung weight was not differed but female's lung ($P<0.05$) weight was higher than in the control group, however, lung weight of 24-week-old male offspring was increased ($P<0.01$) whereas female was not differed. Brain weight of AdLib/FR group was higher in the 3 ($P<0.001$) and 24-week-old ($P<0.001$ in male, $P<0.01$ in female) offspring than in the control group.

Conclusion

Our results indicate that maternal feed restriction during critical period might impact on the normal growth and development of offspring organs and also, these effects may influence to prevalence of disease in offspring's lifelong period.

Keywords: Maternal food restriction; Pregnancy; Lactation; Offspring; Organ weight

성인기에 주로 발병하는 고혈압, 심혈관계 질환, 당뇨, 비만 등 대부분의 성인기 질환은 주로 개인의 유전적 요인이나 식습관, 운동량 등에 초점을 맞추어서 그 발병 원인을 찾고 있다[1]. 하지만 이러한 요인들 외에도 출생 전 자궁내 환경에도 영향을 받을 수 있다는 주장도 제기되고 있다[2,3]. 자궁내 환경은 모체의 호르몬이나 기형 발생 약물(teratogenic drugs) 등뿐만 아니라 모체가 섭취하는 영양수준에 따라 조성이 되는데[4], 특히 임신합병증으로 자궁내 영양공급이 저하되면 자궁내 성장지연(intrauterine growth retardation)이 발생한다[5]. 자궁내 성장지연은 전 세계 산모의 7%–15%에게서 나타나는 것으로 알려져 있다[6]. 이는 태아의 성장을 지연시켜 저체중아나 조산아의 출산

Received: 2012.4.6. Revised: 2012.5.16. Accepted: 2012.5.29.

Corresponding author: Young Ju Kim, MD, PhD
Department of Obstetrics and Gynecology, Ewha Womans University Mokdong Hospital, Ewha Womans University School of Medicine, 1071 Anyangcheon-ro, Yangcheon-gu, Seoul 158-710, Korea
Tel: +82-2-2650-5029 Fax: +82-2-2647-9860
E-mail: kkyj@ewha.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2012. Korean Society of Obstetrics and Gynecology

위험을 증가시키고, 더 나아가 아동기 후반과 성인기의 대사성 질환 발병률과 사망률까지도 영향을 준다[7,8]. 자궁내 성장지연과 대사성 질환과의 관련성은 따라잡기 성장(catch-up growth) 이론에 의해 설명된다[9]. 따라잡기 성장이란 출생 시 정상아에 비해 체중이 적게 태어나거나 충분히 성장하지 않고 태어난 신생아에게서 나타나는 급속한 성장을 말한다. 따라잡기 성장 이론과 함께 주목 받고 있는 또 다른 이론으로는 ‘surviving small baby hypothesis’가 있는데, 이는 저영양 상태에서는 글루코코르티코이드(glucocorticoid)와 인슐린(insulin)과 같은 대사성 호르몬에 대한 감수성이 증가되고 성장하기 위한 열량을 저장시키기 때문에, 출생 후 비만과 대사성 질환을 일으킬 수 있다는 이론이다[10]. 급속하게 성장하는 신생아나 동물에게는 적은 양의 에너지에 대해서도 받아들이려고 하는 반응이 증가한다. 이러한 반응이 지속되면 식이섭취에 대하여 내성이 증가하게 되고 그 결과 지방의 축적이 증가되는데, 이러한 반응은 출생 후 첫 주나 첫 달 안에 일어난다고 한다[11]. 그렇기 때문에 출생 전뿐만 아니라 출생 후 초기, 수유기의 영양 상태도 성인기 건강과 매우 밀접하게 관련이 있다고 말할 수 있다[8]. 조산아를 대상으로 한 연구에서 출생 후 약 4주간의 집중적인 실험동물로 조산아의 체중이 정상 수준까지 증가했다고 보고하였다[12]. 또한, 수유기에 식이제한을 받은 흰쥐의 경우 염증반응이 증가하였거나[13], 수유기 동안 단백질 제한 식이를 먹은 어미 쥐에게서 자란 자손 쥐의 성장이 지연되었다는 연구도 있다[14].

이처럼 자손의 건강한 성장은 모체의 임신 중 영양상태뿐만 아니라 출산 후 영양 상태와도 밀접하게 관련되어 지속적인 관심이 필요하다. 따라서 본 연구자는 임신 중 혹은 수유기에 모체의 영양결핍으로 인한 자손의 성장에 주는 영향을 동물모델을 통하여 알아보고자 하였으며, 3주령과 24주령에 각각 비교함으로써 출생 전 영양결핍이 수유기와 더불어 성인기까지 걸친 성장에 어떠한 영향을 주는지를 주요 장기 무게의 증감을 통하여 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 실험동물의 사육 및 연구방법

본 연구는 이화여자대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 수행되었다(승인번호: ESM 10-0137). 9주령 Sprague-Dawley (SD)종 수컷 흰쥐와 암컷 흰쥐(Orient Bio Inc., Seongnam, Korea)를 1주일간 환경에 적응시킨 후 교미를 시켰다. 임신을 확인한 후 임의로 두 군으로 나누어 임신 10일째부터 22일까지 식이전량공급 혹은 50% 식이제한을 시켰으며, 출산 후 자손 쥐들을 네 군으로 나눈 후 군에 따라 출생 이후부터 실험이 끝날 때까지 식이전량공급 혹은 50% 식이제한을 시켰다. 본 연구에 적용된 네 군의 실험군은 다음과 같다(Fig. 1): 1) *ad libitum* (AdLib)/AdLib군, 식이를 실험 전 기간 동안 정상적인 양으로 공

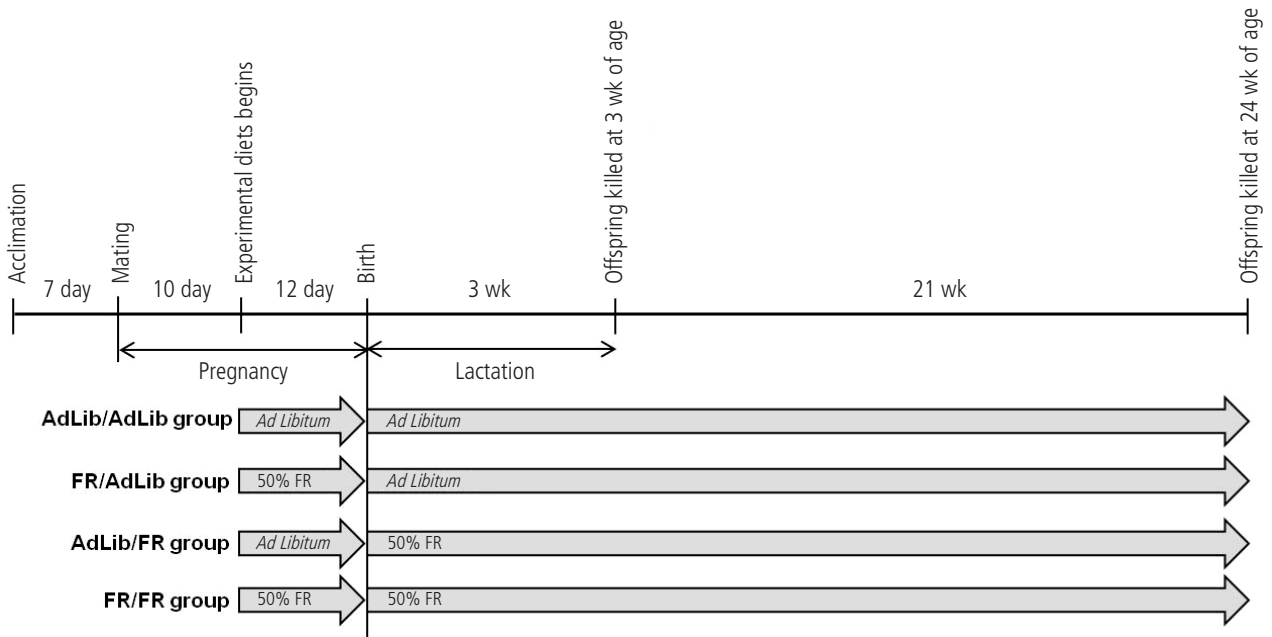


Fig. 1. Study design. Nine-week-old male and female Sprague-Dawley rats were used in this study. After a 1-week acclimation period, rats were mated. At day 10 of gestation, rats were randomly divided into two groups and given an *ad libitum* (AdLib) standard laboratory chow or 50% food restricted diet determined by quantification of normal intake in *ad libitum* fed rats until delivery. Offspring were divided randomly into four groups: 1) AdLib/AdLib, given *ad libitum* diet throughout experimental period; 2) food restricted (FR)/AdLib, given 50% diet during pregnancy and *ad libitum* diet during lactation and adulthood; 3) AdLib/FR, given *ad libitum* diet during pregnancy and 50% FR diet during lactation and adulthood; and 4) FR/FR, given 50% FR diet throughout experimental period.

급; 2) food restricted (FR)/AdLib군, 임신 중에 50% 식이제한을 한 어미 쥐에게서 출생하였으나 출생 후 실험 종료일까지 정상적인 식이공급; 3) AdLib/FR군, 임신 중에 정상적인 식이공급을 한 어미 쥐에게서 출생하였으나 출생 후 실험 종료일까지 50% 식이제한; 4) FR/FR군, 식이를 실험 전 기간 동안 50% 식이제한하여 공급하고 자손 쥐들은 3주령과 24주령 때 희생하여 간, 비장, 폐, 뇌를 적출하였고, 적출한 즉시 무게를 재었다. 본 연구에 적용된 실험동물의 마릿수는 3주령의 경우 AdLib/AdLib군 수컷과 암컷 각각 4마리, FR/AdLib군 수컷 4마리+암컷 5마리, AdLib/FR군 수컷과 암컷 각각 5마리, FR/FR군 수컷과 암컷 각각 4마리였다. 24주령의 경우 AdLib/AdLib군 수컷과 암컷 각각 3마리, FR/AdLib군 수컷 6마리+암컷 5마리, AdLib/FR군 수컷과 암컷 각각 3마리, FR/FR군 수컷과 암컷 각각 2마리였다.

실험기간 동안 동물실험실은 온도 $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\% \pm 10\%$, 조명 150–300 Lux, 조명시간 12시간 명암주기로 일정하게 맞추었으며, 실험에 사용된 식이는 방사선 멸균된 일반고형사료(Purina, Pyeongtaek, Korea)였고, 음수는 상수도를 여과한 후 자외선유수멸균기를 통과시킨 물을 제한 없이 공급하였다.

2. 통계비교

통계분석은 SPSS ver. 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였으며, 값은 평균 \pm 표준오차(mean \pm standard error of the mean)로 나타내었다. 네 군 간의 통계적 유의성 비교를 위하여 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 수행하였고 Duncan's test로 사후분석을 실시하였으며, P 값이 0.05 미만인 경우에만 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

결 과

어미 쥐의 체중은 임신 9일째, 임신 14일째, 임신 21일째 모두 네 군 간에 유의적인 차이가 없었다(Table 1). 자손 쥐들의 체중을 출생 3주부터 24주까지 측정한 결과, FR/AdLib군, AdLib/AdLib군(대조군), FR/FR군, AdLib/FR군 순으로 높았다(Fig. 2).

생후 3주령 자손 쥐들의 체중 100 g당 장기 무게를 대조군과 비교하였을 때, 수컷 자손 쥐 간 무게는 FR/AdLib군과는 차이가 없었으

나, AdLib/FR군과 FR/FR군에서 각각 39%, 36% 감소하였다($P < 0.01$) (Table 2). 비장 무게의 경우 대조군과 FR/AdLib군과는 차이가 없었으며, AdLib/FR군과 FR/FR군은 대조군보다 각각 59%, 63%가 감소하였고($P < 0.001$), AdLib/FR군과 FR/FR군 사이에는 유의적인 차이가 없었다. 폐 무게는 네 군 간의 차이가 없었으며, 뇌 무게의 경우 대조군

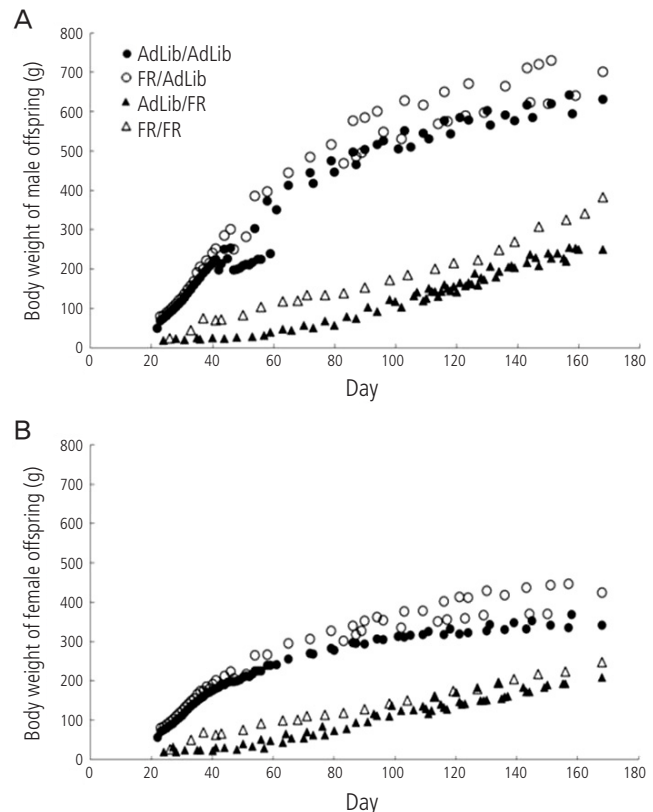


Fig. 2. Body weight of male and female offspring in AdLib/AdLib, AdLib/FR, FR/AdLib, and FR/FR groups during experimental period. (A) Body weight in male offspring and (B) body weight in female offspring. AdLib/AdLib, given *ad libitum* diet throughout experimental period; FR/AdLib, given 50% food restricted (FR) diet during pregnancy and *ad libitum* diet during lactation and adulthood; AdLib/FR, given *ad libitum* diet during pregnancy and 50% FR diet during lactation and adulthood; FR/FR, given 50% FR diet throughout experimental period.

Table 1. Body weights of mother rats in the AdLib/AdLib, FR/AdLib, AdLib/FR, and FR/FR groups

Gestational period	AdLib/AdLib (n=2)	FR/AdLib (n=4)	AdLib/FR (n=2)	FR/FR (n=3)	P-value
Day 9	272.50 \pm 6.00	292.50 \pm 12.77	297.00 \pm 23.00	312.67 \pm 22.82	NS
Day 14	305.25 \pm 5.75	286.38 \pm 13.17	326.75 \pm 17.25	318.67 \pm 20.35	NS
Day 21	403.75 \pm 27.75	317.88 \pm 24.22	383.75 \pm 8.75	358.83 \pm 14.62	NS

Values are presented as mean \pm standard error of the mean values.

AdLib/AdLib, given *ad libitum* diet throughout experimental period; FR/AdLib, given 50% food restricted diet during pregnancy and *ad libitum* diet during lactation and adulthood; AdLib/FR, given *ad libitum* diet during pregnancy and 50% food restricted diet during lactation and adulthood; FR/FR, given 50% food restricted diet throughout experimental period; NS, no significant.

Table 2. Relative organ weight of 3-week-old offspring in the AdLib/AdLib, FR/AdLib, AdLib/FR, and FR/FR groups^d

Organ	AdLib/AdLib	FR/AdLib	AdLib/FR	FR/FR	P-value
Male offspring					
Number	4	4	5	4	
Liver	4.17 ± 0.57 ^a	3.48 ± 0.18 ^{ab}	2.56 ± 0.08 ^b	2.70 ± 0.10 ^b	<0.01
Spleen	0.48 ± 0.02 ^a	0.42 ± 0.02 ^a	0.20 ± 0.00 ^b	0.18 ± 0.03 ^b	<0.001
Lung	0.89 ± 0.06	0.89 ± 0.06	1.13 ± 0.14	1.04 ± 0.08	NS
Brain	3.21 ± 0.76 ^a	2.23 ± 0.18 ^a	5.76 ± 0.33 ^b	5.87 ± 0.16 ^b	<0.001
Female offspring					
Number	4	5	5	4	
Liver	4.17 ± 0.32 ^a	3.48 ± 0.12 ^{ab}	2.82 ± 0.28 ^b	2.80 ± 0.14 ^b	<0.01
Spleen	0.49 ± 0.04 ^a	0.43 ± 0.02 ^a	0.22 ± 0.05 ^b	0.24 ± 0.02 ^b	<0.001
Lung	0.88 ± 0.05 ^{ac}	0.83 ± 0.04 ^a	1.16 ± 0.10 ^b	1.08 ± 0.11 ^{bc}	<0.05
Brain	2.60 ± 0.03 ^a	2.56 ± 0.25 ^a	5.49 ± 0.66 ^b	5.62 ± 0.12 ^b	<0.001

Values are presented as mean ± standard error of the mean values.

AdLib/AdLib, given *ad libitum* diet throughout experimental period; FR/AdLib, given 50% food restricted diet during pregnancy and *ad libitum* diet during lactation and adulthood; AdLib/FR, given *ad libitum* diet during pregnancy and 50% food restricted diet during lactation and adulthood; FR/FR, given 50% food restricted diet throughout experimental period; NS, no significant.

^{a,b,c}Different superscript letters indicate the comparison with significant differences; ^dRelative organ weight (g/100 g body weight).

Table 3. Relative organ weight of 24-week-old offspring in the AdLib/AdLib, FR/AdLib, AdLib/FR, and FR/FR groups^d

Organ	AdLib/AdLib	FR/AdLib	AdLib/FR	FR/FR	P-value
Male offspring					
Number	3	6	3	2	
Liver	2.76 ± 0.04	3.57 ± 0.50	3.41 ± 0.09	2.86 ± 0.12	NS
Spleen	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.16 ± 0.01	NS
Lung	0.25 ± 0.03 ^a	0.27 ± 0.02 ^a	0.36 ± 0.01 ^b	0.31 ± 0.03 ^{ab}	<0.01
Brain	0.35 ± 0.05 ^{ab}	0.27 ± 0.01 ^a	0.69 ± 0.05 ^c	0.47 ± 0.02 ^b	<0.001
Female offspring					
Number	3	5	3	2	
Liver	2.87 ± 0.18 ^a	3.08 ± 0.17 ^{ab}	3.40 ± 0.07 ^b	2.78 ± 0.04 ^a	<0.05
Spleen	0.16 ± 0.01	0.09 ± 0.05	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.02	NS
Lung	0.35 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.39 ± 0.09	NS
Brain	0.57 ± 0.02 ^{ab}	0.46 ± 0.04 ^a	0.78 ± 0.04 ^c	0.66 ± 0.03 ^{bc}	<0.01

Values are presented as mean ± standard error of the mean values.

AdLib/AdLib, given *ad libitum* diet throughout experimental period; FR/AdLib, given 50% food restricted diet during pregnancy and *ad libitum* diet during lactation and adulthood; AdLib/FR, given *ad libitum* diet during pregnancy and 50% food restricted diet during lactation and adulthood; FR/FR, given 50% food restricted diet throughout experimental period; NS, no significant.

^{a,b,c}Different superscript letters indicate the comparison with significant differences; ^dRelative organ weight (g/100 g body weight).

과 비교했을 때, FR/AdLib군과는 차이가 없었으나 AdLib/FR군과 FR/FR군에서 각각 179%, 182%가 증가하였다($P < 0.001$). 생후 3주령 암컷 자손 쥐의 간 무게는 대조군과 비교하였을 때 FR/AdLib군과는 차이가 없었고, AdLib/FR군과 FR/FR군 둘 다에서 33%씩 감소하였다($P < 0.01$). 비장 무게의 경우 대조군과 FR/AdLib군과는 차이가 없었으며, AdLib/FR군과 FR/FR군에서 각각 대조군보다 56%, 52%가 감소하

였다($P < 0.001$). 유의적인 차이가 없었던 수컷 쥐의 폐 무게와는 달리, 암컷 자손 쥐의 폐 무게는 AdLib/FR군이 다른 세 군보다 가장 높은 값을 보였다($P < 0.05$). 뇌 무게의 경우 대조군과 비교했을 때, FR/AdLib군과는 차이가 없었고 AdLib/FR군에서 211%, FR/FR군에서 216% 각각 증가하였다($P < 0.001$).

24주령 자손 쥐들의 체중 100 g당 장기 무게를 네 군 사이에서 비교

한 결과, 수컷 자손 쥐 간과 비장의 무게는 군 간의 차이를 보이지 않았다(Table 3). 폐 무게는 AdLib/FR군에서 대조군보다 144% 증가하였으며($P<0.01$), 대조군, FR/AdLib군, FR/FR군 사이에는 차이가 없었다. 뇌 무게도 폐와 마찬가지로 AdLib/FR군에서 대조군보다 197% 증가하여 다른 세 군보다 가장 높은 값을 보였고($P<0.001$), 대조군, FR/AdLib군, FR/FR군 사이에는 유의적인 차이가 없었다. 24주령 암컷 자손 쥐의 경우 비장과 폐 무게는 군 간의 차이를 보이지 않았다. AdLib/FR군의 간 무게가 대조군보다 118% 증가하였으며($P<0.05$), 나머지 세 군 사이에는 유의적인 차이가 없었다. 뇌 무게도 역시 AdLib/FR군에서 대조군보다 136% 증가하여 가장 값이 높았고($P<0.01$), 다른 세 군 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

고 찰

본 논문은 생후 9주령된 SD종 암컷 흰쥐를 대상으로 임신기와 수유기에 식이를 제한시킨 후 자손 쥐들의 체중당 장기 무게 변화를 관찰한 연구이다. 또한 식이제한을 자손 쥐가 24주령이 될 때까지 지속시킴으로써 임신 중 혹은 수유 중에 겪었던 식이제한이 자손의 성인기까지의 건강에 어떠한 영향을 주는지 장기 무게의 증감을 통하여 관찰하고자 하였다.

본 연구에서는 출생 전부터 성인기까지, 실험기간 내내 영양을 충분히 공급받은 자손 쥐(AdLib/AdLib군)를 임의로 대조군이라고 명명하고 모든 결과를 대조군과 대비하여 분석하였다. 임신 중 식이제한을 받은 어미 쥐에게서 태어났다고 하더라도 3주간 영양이 충분한 젖을 먹은 새끼들(FR/AdLib군)은 간, 비장, 폐, 뇌의 무게가 대조군 수준으로 회복되었으며, 24주령에서도 군 간의 차이를 보이지 않았다. 이는 임신 중에 비록 충분한 영양을 태아에게 주지 못했지만, 출생 후 성장이 급속히 일어나는 때에 충분한 영양을 줌으로써 발생한 따라잡기 성장에 의한 것으로 생각된다. 따라잡기 성장이란 임신주수를 다 채우지 못하고 태어난 미숙아나 저체중아가 정상아에 비해 뒤쳐진 성장을 따라잡기 위하여 빠른 속도로 성장하는 것을 말하며, 성인기가 되었을 때 복부 비만, 골다공증, 제2형 당뇨, 심혈관 질환 등의 발병률을 높인다고 알려져 있다[9,15]. 정상체중으로 태어난 새끼 쥐와 저체중으로 태어난 새끼 쥐의 출생 후 21일째의 체중을 비교하였을 때, 저체중군이 정상체중군보다 2~4배 더 무겁다는 동물연구도 있었다[16]. 이러한 타행 연구들을 참고하였을 때, 본 연구에서도 24주령의 체중을 비교한 결과 전체적으로 수컷과 암컷 모두에게서 FR/AdLib군이 대조군보다 무거운 것으로 보아, 본 연구의 동물모델도 따라잡기 성장을 한 것으로 판단할 수 있었다. 특히 세포 수 증식(cellular hyperplasia)이 급속도로 일어나는 출생 초기에[17] 자손 쥐에게 제공된 충분한 영양공급은 임신 중 지연되었던 세포증식을 가속화 시켰다고 볼 수 있다. 나아가 세포 수 증식보다 세포 크기의 증가(cellular hypertrophy)가 더 많이 일어나는 출생 후 44일 이후의 시기에 계속되는 실험동물로 각 장기에서 늘어난 세포들의 크기가 증가한 것으로 보인다[18]. 또한 임

신 중 모체의 영양결핍이 출생 후 자손의 성장기 초기에 비만 세포 수를 증가시키고 소아비만을 일으킴으로써 성인기 비만의 원인이 될 수 있다는 타 연구결과로 예상하였을 때[19], FR/AdLib군의 체중이 대조군보다 증가하였지만 주요 장기 무게는 차이가 없는 이유는 체중 증가의 주 원인이 장기를 구성하는 세포의 크기 증가와 더불어 내장 지방량도 증가했기 때문이라고 유추할 수 있다. 본 연구에서 적용된 24주령 동물모델의 내장 지방량을 관찰한 결과, 대조군(수컷 $10.60 \pm 0.10 \text{ mm}^2$, 암컷 $7.14 \pm 1.05 \text{ mm}^2$)에 비해 FR/AdLib군의 수컷(16.85 ± 0.14)과 암컷(13.95 ± 0.86)에서 각각 약 1.6배($P<0.001$), 2.0배($P<0.01$) 증가한 것을 확인할 수 있었다(unpublished data). 이미 보고된 연구들에 따르면 임신 중 충분한 영양을 공급받지 못하여 발생하는 자궁내 성장 지연(intrauterine growth retardation)으로 태어난 자손들은 일생에 걸쳐 비만, 인슐린 저항성(insulin resistance), 내당능 장애(glucose intolerance), 비 알코올성 지방간(nonalcoholic fatty liver disease)의 발병 위험이 높다고 한다[20-23]. 본 연구의 24주령 동물모델을 이용한 선행연구에서 대조군과 비교하였을 때, FR/AdLib군의 혈중 저밀도지단백질 콜레스테롤(low density lipoprotein-cholesterol)과 공복 시 포도당(fasting glucose)의 농도가 증가한 경향을 보였다. 또한 혈중 중성지질(수컷 $208.33 \pm 9.70 \text{ mg/dL}$, 암컷 $336.00 \pm 10.00 \text{ mg/dL}$)이 대조군(수컷 81.00 ± 39.51 , 암컷 115.67 ± 28.42)보다 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있었다(수컷, $P<0.001$; 암컷, $P<0.01$; unpublished data). 따라서 FR/AdLib 동물모델의 결과를 다시 정리하면, 출생 전 영양결핍으로 충분한 성장을 하지 못한 자손 쥐들은 생 후 수유기 동안 정상적인 실험동물로 장기 무게의 따라잡기 성장을 하였고, 장기 무게 증가와 더불어 내장 지방량도 상당량 증가하였으며, 결국 당대사와 지방대사 장애가 발생한 것으로 보인다.

FR/AdLib군과는 다르게 비록 임신 중 모체로부터 영양을 충분히 받아 태어났다고 하더라도 3주간의 수유기 동안 식이제한을 받은 모체의 젖을 먹은 수컷과 암컷 자손 쥐(AdLib/FR군)들은 대조군보다 간과 비장의 무게가 가벼웠는데(Table 2), 이러한 결과에 대한 해석은 SD종 흰쥐의 성장곡선을 통하여 설명할 수 있다. SD종 흰쥐의 출생 전부터 출생 후까지 성장에 따른 장기별 DNA량을 측정하는 연구에 따르면, 간의 DNA는 임신 약 17일부터, 비장의 DNA는 출생 후 약 12일부터 증가하기 시작하여 둘 다 출생 후 약 44일까지 지속적으로 DNA량이 증가하는 것을 관찰하였고, 그 이유는 이 시기에 세포 수 증식이 주로 일어나기 때문이라고 보고하였다[18]. 따라서 세포 수 증식이 주로 일어나는 시기 동안의 불충분한 실험동물은 정상적인 장기 무게, 총 단백질량, RNA와 DNA량의 증가를 방해할 수 있으며[17], 이러한 선행 연구들로 예상하였을 때, 3주령 AdLib/FR군 수컷과 암컷 자손 쥐의 간과 비장의 무게 감소는 수유기 동안 모체로부터의 불충분한 영양공급으로 인하여 세포 수 증식이 제한을 받았기 때문이라고 말할 수 있겠다. 또한 세포 수 증식의 관점에서 보면, 수유기의 식이제한에 따라 간과 비장이 받는 영향은 임신 중의 충분한 식이공급에 대한 영향보다 더 크게 나타난 것으로 말할 수 있다. 하지만 특이하게도 수유기 이후부터 24주까지 장기간 영양결핍을 시켰을 때, 간과 비장의 무게가 대조군과 차이가 없어

지거나, 암컷 자손 쥐의 경우 오히려 간의 무게가 대조군보다 증가한 결과를 보였다. 출생 3주부터 24주까지 체중 증가 현황을 관찰한 결과에서도 체중은 네 군 중 가장 적었음에도 불구하고 체중의 상당 부분을 차지하는 간 무게는 가장 큰 것으로 보아, 이는 AdLib/FR군의 비정상적인 간 대사에 의한 간 무게의 이상 증가라고 생각할 수 있다. 수유기 동안 단백질 제한을 시킨 어미 쥐의 젖을 먹은 새끼 쥐들에게 추가로 22일 동안 단백질 제한을 시킨 결과 지방간염(steatohepatitis)이 생기고 지방질 생합성(lipogenesis)도 증가한 것을 관찰하였다[24]. 따라서 AdLib/FR군의 간 무게가 증가한 이유는 지방간의 형성 때문이라고 추측할 수 있으며, 보다 정확한 결론을 내리기 위하여 본 연구의 동물 모델에 대한 지방간 형성 유무 및 간의 지방대사 관련 지표의 발현 증가 현황에 대한 추가적인 분석이 더 필요하다고 생각하여 이에 대한 후생 연구를 계획 중에 있다.

간과 비장의 무게와는 다르게 3주령과 24주령 AdLib/FR군 자손 쥐의 폐와 뇌 무게는 대조군과 차이가 없거나 오히려 증가한 결과를 보였다. 이 결과에서 본 연구자는 세 가지 추측을 할 수 있었다. 첫 번째 추측으로, SD종 흰쥐의 성장에 따른 DNA양의 증가 패턴이 장기마다 다르기 때문이라는 것이다. 간과 비장과는 다르게 폐와 뇌는 임신 약 16일 이후부터 출생 후 약 14일까지 DNA양이 증가하고 그 이후에는 변화가 없는 것으로 관찰되었다[18]. 따라서 폐와 뇌는 급속하게 성장하여 단기간에 성장을 마쳤기 때문에, 출생 후 수유기, 혹은 성인까지 식이제한이 계속되더라도 그 영향을 받는 시기가 간과 비장보다 상대적으로 짧을 수 있을 것이라고 생각된다. 두 번째 추측으로 폐의 무게가 3주령과 24주령에서 대조군과 차이가 없거나 혹은 그 이상으로 증가한 이유는, 모체의 식이제한으로 인한 자손 쥐 폐의 세포외 기질(extracellular matrix)의 증가 때문이라고 생각할 수 있다. Rehan 등[25]은 임신 중 모체의 식이제한은 자손 쥐 폐에서 엘라스틴(elastin)과 같은 세포 외 기질의 축적을 증가시켰다고 보고하였는데, 비록 Rehan 등[25]의 연구와 본 연구의 동물모델과 식이제한 시기가 다르지만, 본 연구의 동물모델에서 폐 무게가 대조군과 차이가 없거나 다른 세 군보다 무거운 것은 비정상적인 세포외 기질의 축적 때문이라는 가능성을 염두에 둘 수 있었다. 세 번째 추측으로는, 뇌는 식이제한에 대해 보호받고 있기 때문이다[26,27]. 이를 뇌검약 이론(brain sparing phenomenon)이라고 하는데, 뇌검약 현상은 저체중과 영양실조에 대한 연구에서 관찰되었으며 사람이나 동물모델 모두에게서 뇌로 가는 혈류량이 증가함을 보였다[17,28]. 이에 본 연구의 동물모델에서 뇌 무게가 증가한 것은 출생 후 급격한 영양 부족으로 발생한 뇌검약 현상으로 보이며, 이러한 비정상적인 혈류량의 증가는 성인이 되었을 때 행동 장애나 학습 능력 장애를 일으키는 데에 영향을 줄 것이라고 예상하였다[29]. 본 연구결과에서 뇌검약 현상은 출생 후 식이를 제한한 군(AdLib/FR, FR/FR군)에서만 나타났는데, 이 역시 정상적인 SD종 흰쥐의 성장 과정에서 뇌의 DNA양은 출생 후 초기에 급격히 증가한다는 연구결과를 바탕으로 보았을 때, 뇌가 출생 전보다 출생 후 식이제한에 더 큰 영향을 받은 것으로 볼 수 있다. 따라서 3주령과 24주령 AdLib/FR군의 폐와 뇌 무게가 대조군 만큼 혹은 그 이상으로 증가한 이유는

폐의 비정상적인 조직의 축적과 뇌 혈류량 증가로 요약할 수 있으며, 이는 폐질환과 학습장애 등으로 진행될 수 있을 것이다.

본 연구에서는 임신 중반부터 후반까지 어미 쥐에게 식이제한을 시켰어도 모체군 간의 체중 차이는 없었다. 임신 중반기부터 약 11일간의 식이제한이 모체의 체중 증감에는 영향을 주지 않았으나 태내 자손 쥐에게 미치는 영향은 출생 후 성인기까지 계속되었는데, 이를 통하여 볼 때 임신 중 단기간의 식이제한으로 인한 영향은 자손의 출생 후 실험동물에 상응하여 자손의 단·장기적 건강을 좌우하는 데에 크게 기여한다고 말할 수 있다. 또한 출생 후 수유기까지의 모체의 영양 섭취 수준도 자손의 장기적인 건강에 큰 영향을 미칠 수 있음을 본 연구를 통하여 확인하였다. 본 연구의 제한점은 각 군당 마리 수가 충분하지 않았다는 점을 들 수 있으며, 그렇기 때문에 성별에 따른 결과의 차이가 분명히 있음에도 불구하고 본 연구에서는 결론을 단정짓기에 어려웠다. 이는 연구자가 속한 시설적 환경 문제를 가장 큰 원인으로 꼽을 수 있으며 추후 연구 수행 시에는 개선될 예정이다. 하지만 이러한 제한점이 있음에도 불구하고 수컷, 암컷 자손 쥐들에게서 유의미한 결과들이 도출된 것으로 보아 본 연구의 수행 방법이 타당하다는 것을 의미하며, 이는 앞으로의 연구를 수행하는 데 충분한 근거 자료가 될 수 있을 것으로 보인다.

결론적으로 임신 중과 수유기 동안의 모체 식이제한은 자손의 대사 장애, 두뇌발달장애 등 전 생애 건강에 위협이 될 수 있는 결과를 야기할 것으로 생각된다. 본 연구는 임신기, 수유기의 모체 식이제한이 자손 건강에 미치는 단·장기적인 영향을 체중당 장기무게를 통하여 관찰하고 분석함으로써 자칫 소홀할 수 있는 모체의 건강에 대해 다시 한번 경각심을 일깨워 주는 연구라는 데에 의의가 있다고 하겠다. 후생 연구에서는 이러한 동물모델을 이용하여 성인기 대사장애의 지표가 될 수 있는 당대사와 지방대사 기전에 초점을 맞추며 행동장애 등의 지능관련 실험도 수행할 예정이다. 본 연구결과를 요약하면 다음과 같다. 첫째, 임신 중 영양결핍으로 태어난 자손 쥐들은 출생 후 정상적인 영양 공급으로 인하여 따라잡기 성장을 하였는데, 이는 장기 무게의 증가뿐만 아니라 내장 지방량도 증가한 것으로 보인다. 둘째, 임신 중 정상적인 실험동물을 받다가 출생 후 영양 제한을 받은 자손 쥐들의 장기 무게는 감소하였으나, 이러한 영양 제한이 성인기까지 지속되었을 때 장기 무게가 대조군 수준으로 회복되었고, 두뇌 같은 경우 전 기간에서 뇌검약 현상이 관찰된 것으로 보아, 출생 전 영양 상태뿐만 아니라 출생 후 영양 상태도 매우 중요할 것이라고 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단 기초연구사업의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2011-0004200).

References

1. Coupé B, Grit I, Darmaun D, Parnet P. The timing of "catch-up growth" affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;297:R813-24.
2. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)* 1998;95:115-28.
3. Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clark PM. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993;36:62-7.
4. Lucas A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. *Arch Dis Child* 1994;71:288-90.
5. Simmons RA, Gounis AS, Bangalore SA, Ogata ES. Intrauterine growth retardation: fetal glucose transport is diminished in lung but spared in brain. *Pediatr Res* 1992;31:59-63.
6. World Health Organization. The World Health Organization report: reducing risks, promoting healthy life. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002.
7. Tzschoppe A, Struwe E, Rascher W, Dörr HG, Schild RL, Goecke TW, et al. Intrauterine growth restriction (IUGR) is associated with increased leptin synthesis and binding capability in neonates. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;74:459-66.
8. Plagemann A. Perinatal nutrition and hormone-dependent programming of food intake. *Horm Res* 2006;65 Suppl 3:83-9.
9. Hales CN, Ozanne SE. The dangerous road of catch-up growth. *J Physiol* 2003;547:5-10.
10. Nair L, Nair MK, Chacko DS. Markers of fetal onset adult diseases. *Indian Pediatr* 2009;46 Suppl:s48-54.
11. Widdowson EM, McCance RA. A review: new thoughts on growth. *Pediatr Res* 1975;9:154-6.
12. Lucas A, Gore SM, Cole TJ, Bamford MF, Dossetor JF, Barr I, et al. Multicentre trial on feeding low birthweight infants: effects of diet on early growth. *Arch Dis Child* 1984;59:722-30.
13. Desai M, Gayle DA, Casillas E, Boles J, Ross MG. Early undernutrition attenuates the inflammatory response in adult rat offspring. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2009;22:571-5.
14. Chen JH, Martin-Gronert MS, Tarry-Adkins J, Ozanne SE. Maternal protein restriction affects postnatal growth and the expression of key proteins involved in lifespan regulation in mice. *PLoS One* 2009;4:e4950.
15. Cettour-Rose P, Samec S, Russell AP, Summermatter S, Mainieri D, Carrillo-Theander C, et al. Redistribution of glucose from skeletal muscle to adipose tissue during catch-up fat: a link between catch-up growth and later metabolic syndrome. *Diabetes* 2005;54:751-6.
16. Widdowson EM, Mc CR. Some effects of accelerating growth. I. General somatic development. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1960;152:188-206.
17. Winick M, Noble A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J Nutr* 1966;89:300-6.
18. Winick M, Noble A. Quantitative changes in DNA, RNA, and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Dev Biol* 1965;12:451-66.
19. Strauss RS. Effects of the intrauterine environment on childhood growth. *Br Med Bull* 1997;53:81-95.
20. Alisi A, Cianfarani S, Manco M, Agostoni C, Nobili V. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in adolescents: pathogenetic role of genetic background and intrauterine environment. *Ann Med* 2012;44:29-40.
21. Nobili V, Alisi A, Panera N, Agostoni C. Low birth weight and catch-up-growth associated with metabolic syndrome: a ten year systematic review. *Pediatr Endocrinol Rev* 2008;6:241-7.
22. Alisi A, Panera N, Agostoni C, Nobili V. Intrauterine growth retardation and nonalcoholic Fatty liver disease in children. *Int J Endocrinol* 2011;2011:269853.
23. Coupe B, Grit I, Hulin P, Randuineau G, Parnet P. Postnatal growth after intrauterine growth restriction alters central leptin signal and energy homeostasis. *PLoS One* 2012;7:e30616.
24. Kwon DH, Kang W, Nam YS, Lee MS, Lee IY, Kim HJ, et al. Dietary protein restriction induces steatohepatitis and alters leptin/signal transducers and activators of transcription 3 signaling in lactating rats. *J Nutr Biochem* 2012;23:791-9.
25. Rehan VK, Sakurai R, Li Y, Karadag A, Corral J, Bellusci S, et al. Effects of maternal food restriction on offspring lung extracellular matrix deposition and long term pulmonary function in an experimental rat model. *Pediatr Pulmonol* 2012;47:162-71.
26. Desai M, Crowther NJ, Lucas A, Hales CN. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Br J Nutr* 1996;76:591-603.
27. Desai M, Gayle D, Babu J, Ross MG. Permanent reduction in heart and kidney organ growth in offspring of undernourished rat dams. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:1224-32.
28. Scherjon SA, Oosting H, Smolders-DeHaas H, Zondervan HA, Kok JH. Neurodevelopmental outcome at three years of age after fetal 'brain-sparing'. *Early Hum Dev* 1998;52:67-79.
29. Smart JL. 'Malnutrition, learning and behavior': 25 years on from the MIT symposium. *Proc Nutr Soc* 1993;52:189-99.

임신기와 수유기 동안의 모체의 식이제한이 자손 쥐의 장기 무게에 주는 영향

이화여자대학교 의과대학 ¹산부인과학교실, ²의과학연구소, ³분자의과학교실, ⁴네오딘의학연구소

김혜원^{1,2}, 이상미^{1,3}, 이선희⁴, 조인호^{2,3}, 김영주^{1,2,3}

목적

본 연구에서는 임신기와 수유기 동안의 모체의 식이제한이 3주령과 24주령 자손 쥐의 간, 비장, 폐, 뇌 무게에 주는 영향을 알아보고자 하였다.

연구방법

임신한 Sprague-Dawley종 흰쥐를 두 군으로 나누어 임신 10일째부터 22일까지 식이전량공급 혹은 50% 식이제한을 시켰으며, 출산 후 자손 쥐들을 네 군으로 나누어 후 군에 따라 식이공급을 달리하였다: AdLib/AdLib군, 실험 전 기간 동안 제한 없이 식이공급; FR/AdLib군, 임신 중에 50% 식이제한을 한 어미 쥐에게서 출생하였고 출생 후 실험 종료일까지 제한 없이 식이공급; AdLib/FR군, 임신 중에 제한 없이 식이공급을 한 어미 쥐에게서 출생하였고 출생 후 실험 종료일까지 50% 식이제한; FR/FR군, 실험 전 기간 동안 50% 식이제한을 한 군으로 자손 쥐들은 3주령과 24주령 때 희생하여 간, 비장, 폐, 뇌를 적출하였고 무게를 재었다.

결과

3주령과 24주령 FR/AdLib군 자손 쥐의 간, 비장, 폐, 뇌 무게는 네 군 간의 차이가 없었다. AdLib/AdLib군(대조군)과 비교했을 때, 3주령 AdLib/FR군 수컷과 암컷 자손 쥐의 간($P<0.01$)과 비장($P<0.001$)의 무게는 모두 감소하였으나, 24주령에서는 암컷의 간 무게($P<0.05$)가 증가한 것을 제외하고는 모두 차이가 없었다. 3주령의 폐 무게는 수컷의 경우 차이가 없었으나 암컷은 대조군보다 증가하였다($P<0.05$). 하지만, 24주령의 폐 무게는 수컷의 경우 증가하였고($P<0.01$) 암컷은 차이가 없었다. 뇌 무게는 3주령($P<0.001$)과 24주령(수컷 $P<0.001$, 암컷 $P<0.01$) 모두에서 대조군보다 증가하였다.

결론

임신기와 수유기 동안의 모체의 식이제한은 자손 쥐의 장기 무게에 영향을 줄 수 있으며, 이러한 영향은 자손 쥐의 전 생애에 걸친 질병 발생률에도 영향을 미칠 것이다.

중심단어: 모체 식이제한, 임신기, 수유기, 자손, 장기 무게