creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

생활과학박사학위논문

한국 젊은 성인에서 아연 영양상태 및 α ENaC A663T 유전자 다형성과 짠맛 인지와의 관계 분석

The relationship among zinc nutritional status, αENaC A663T gene polymorphism and salty taste acuity in Korean young adults

2013년 2월

서울대학교 대학원

식품영양학과

노 화 영

한국 젊은 성인에서 아연 영양상태 및 αENaC A663T 유전자 다형성과 짠맛 인지와의 관계 분석

The relationship among zinc nutrition status, αENaC A663T gene polymorphism and salty taste acuity in Korean young adults

지도교수 백 희 영

이 논문을 생활과학박사학위논문으로 제출함

2012년 10월

서울대학교 대학원

식품영양학과

노 화 영

노화영의 생활과학박사학위논문을 인준함

2013년 1월

위 원 장 한 성 린 (인)

부 위 원 장 정 효 지 (인)

위 원 정 자 용 (인)

위 원 김 지 혜 (인)

위 원 백 희 영 (인)

국문 초록

나트륨 과잉 섭취는 고혈압, 심혈관계 질환 및 신장 질환 등을 유발하는 것으로 알려져 있고, 한국인의 나트륨 과잉 섭취는 여전히 주요 보건 문제 중 하나이다. 나트륨 섭취에 개인의 짠맛 인지가 영향을 줄 수 있다. 짠맛 인지 능력에 영향을 주는 요인 중 하나가 체내 아연 영양상태이다. 아연은 타액에 존재하는 미각 기능 관련 효소인 gustin의 기능 활성에 필수적인 성분으로 아연이 결핍되면 미각 기능의 손상을 초래하는 것으로 알려져 있다. 그러나 한국인의 아연 섭취 상태가 좋지 않고 한계적 결핍이 많은 경향이 있어 한국인의 아연 상태와 짠맛 인지와의 관계에 대한 연구가 필요하다. 또한 기존 여러 연구에서 비만인의 아연 영양상태가 좋지 않은 것으로 보고되고 있어 비만인의 아연 상태에 대한 연구도 필요하다. 또한, 짠맛 인지에 영향을 줄 수 있는 유전적 요인으로는 sodium-specific taste receptor로 알려진 epithelial sodium channel(ENaC) 유전자 다형성이 있다. 기존 동물 실험에서 αENaC 유전자 변이에 따른 짠맛 인지의 차이가 있음이 확인되었으나 사람에 대한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 한국 젊은 비만 여성의 아연 운반체 유전자 발현을 측정하고, 아연 보충제 섭취 후 아연 운반체 유전자 발현의 변화를 관찰하였다. 또한 식이 아연 섭취, 혈청 아연 및 아연 운반체 유전자 발현을 이용하여 한국 젊은 성인의 아연 영양상태를 측정하고, αENaC A663T 유전자 다형성을 분석하여, 아연 영양상태 및 αENaC A663T

유전자 다형성과 짠맛 인지와의 관계에 대해 보고자 하였다.

18-28세 비만 여성(n=40)과 정상 체중 여성(n=25)의 leukocyte 아연 운반체 mRNA 수준을 분석한 결과, 비만군에서 leukocyte ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6 유전자가 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮게 발현 되었으며 이 아연 운반체 유전자 발현 수준과 BMI 및 체지방률 간에 유의적인 음의 상관관계를 보였다. 반면 비만군에서 leukocyte ZnT7만 정상 체중군에 비해 유의적으로 높게 발현되었고, leukocyte ZnT7 유전자 발현 수준과 BMI 및 체지방률 간에 유의적인 양의 상관관계를 보였다.

비만 여성을 아연 보충군(n=20)과 대조군(n=20)으로 나누어 8주간 30mg/d 아연 보충제 또는 placebo 제공한 후, leukocyte 아연 운반체 mRNA 수준을 측정한 결과, 아연 보충군의 leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7 아연 운반체가 대조군과 비교하여 유의적으로 발현이 증가한 것을 확인하였다.

한국 젊은 성인의 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향을 보고자, 20대 젊은 성인(남 n=104, 여 n=103)을 대상으로 식이 아연 및 이용 가능한 식이 아연(available zinc) 섭취, 혈청 아연 및 leukocyte 아연 운반체 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향을 본 결과, 남성의 경우 leukocyte ZnT9 mRNA 수준과 짠맛 역치 간의 유의적인 음의 관계(standardized $\beta=-0.048$, $p=0.03$)를 보였고, 여성의 경우, 이용 가능한 식이 아연(available zinc)섭취(standardized $\beta=-0.467$, $p=0.04$)와 leukocyte Zip7 mRNA 수준(standardized $\beta=-0.479$,

p<0.01)이 짠맛 역치와 각각 유의적인 음의 관계를 갖는 것으로 나타났다. 또한 Zip7 mRNA 수준이 여성의 짠맛 역치를 가장 잘 설명하는 요인으로 나타났다(R^2=0.12, p=0.01).

또한 이러한 아연 영양상태와 짠맛 인지 간의 관계에 미치는 αENaC A663T 유전자 다형성의 영향을 살펴본 결과, αENaC A663T 유전자형에 따라 아연 영양상태가 짠맛 인지 미치는 영향에 차이가 존재하는 것을 확인 하였다. 여성 대상자에서, 이용 가능한 식이 아연(available zinc)섭취와 짠맛 인지 간의 유의적인 양의 관계가 존재함을 확인하였는데, 이러한 관계가 αENaC AA 유전자형을 보유한 여성에서 더 강하게 나타났고(standardized β=−0.833, p=0.02), T allele을 보유한 여성에서는 나타나지 않았다. 하지만 아연 운반체 발현과 짠맛 인지와의 관계에서는 αENaC A663T 유전자형에 따른 차이는 보이지 않았다.

본 연구에서 비만 젊은 여성의 전반적인 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 정상 체중 여성에 비해 유의적으로 낮았고, 이런 비만 여성을 대상으로 아연 보충제 섭취 후 leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9 및 Zip7 아연 운반체 발현이 유의적으로 증가함을 확인하였다. 또한 한국 젊은 성인의 이용 가능한 식이 아연(available zinc) 섭취 및 leukocyte ZnT9와 Zip7 유전자 발현과 짠맛 인지 간의 유의적인 관계가 존재함을 확인하였고 이런 관계가 성별 및 αENaC A663T 유전형에 따라 달라짐도 확인하였다. 또한 아연 영양 상태와 짠맛 인지와의 관계에 있어 여성의 Zip7 아연 운반체가 혈청 아연 및 식이

아연 섭취 보다 더 밀접한 관련이 있는 요인임을 확인하였다. 본 연구는 처음으로 한국 성인의 아연 영양상태, αENaC A663T 유전형 및 짠맛 인지와의 관계를 살펴보았다는 점에서 의의를 가진다. 이 연구 결과를 일반화하기 위해 다양한 연령층을 대상으로 한 연구가 필요하며, 또한 비만에서 아연 운반체 유전자 발현 변화와 아연 운반체 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향에 대한 메커니즘 연구도 뒷받침 되어야 할 것이다.

주요어: 아연 영양상태, 아연 운반체, αENaC, 짠맛 인지, 비만
학번: 2008-30455

목 차

국문 초록 i

List of Tables viii

List of Figures xi

List of Abbreviation xii

I. 서론 1

1. 연구 배경 1

2. 연구 목적 6

II. 문헌고찰 7

1. 아연 영양상태 평가 지표 7

1.1. 혈청/혈장 아연 9

1.2. 식이 아연 섭취량 15

1.3. 기타 지표 22

2. 아연 운반체 26

2.1. ZnT family 28

2.2. Zip family 33

3. 아연 영양상태와 짠맛 인지 38

4. αENaC 유전자 다형성과 짠맛 인지 41

5. 한국인의 아연 영양상태 45

6. 비만인의 아연 영양상태 50

III. 연구 1: 정상 체중과 비만 여성의 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 비교.....56

1 서론.....56

2 연구방법.....59

3 연구결과.....65

4 고찰.....72

5 결론.....76

IV. 연구 2: 비만 여성의 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 변화.....77

1 서론.....77

2 연구방법.....79

3 연구결과.....84

4 고찰.....92

5 결론.....95

V. 연구 3: 한국 젊은 성인의 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향.....96

1 서론.....96

2 연구방법.....99

3 연구결과.....105

4 고찰.....123

5 결론.....127

VI. 연구 4: 한국 젊은 성인의 αENaC A663T 유전자 다형성이 아

연 영양상태와 짠맛 인지 간의 관계에 미치는 영향.....129

1. 서론.....129

2. 연구방법.....132

3. 결과.....139

4. 고찰.....148

5. 결론.....152

VII. 종합 고찰.....153

VIII. 요약 및 결론.....160

IX. 참고문헌.....163

Abstract 178

List of Tables

Table 1. Suggested lower cutoffs (2.5th percentiles) for the assessment of serum zinc concentration..... 13

Table 2. Zinc content and phytate content in Korean foods 19

Table 3. Criteria for categorizing diets according to the potential bioavailability of their zinc 20

Table 4. Estimates of dietary zinc bioavailability by phytate to zinc molar ratio by WHO and IZiNCG..... 21

Table 5. Tissue distribution and Regulation of ZnT 32

Table 6. Tissue distribution and Regulation of Zip 36

Table 7. Studies on association between zinc status and salty taste acuity 40

Table 8. Studies on association between zinc status and body composition in animals studies..... 54

Table 9. Studies on association between zinc status and body composition in human studies 55

Table 10. Characteristics of non-obese and obese women 66

Table 11. The expression level of leukocyte metallothionein and zinc transporters mRNA between non-obese and obese women..... 69

Table 12. Spearman's coefficients of correlation for the leukocyte mRNA levels of metallothionein & zinc transporters with anthropometric, zinc status indictors and blood measurements in total study subjects..... 71

Table 13. Primers used in real-time PCR..... 63

Table 14. Characteristics of the study subjects at baseline 86

Table 15. Changes of characteristics of the study subjects after zinc supplementation 87

Table 16. General and salty taste characteristics of the study subjects 106

Table 17. Nutrient intakes & zinc nutritional status of the study subjects 110

Table 18. Pearson's coefficients of correlation for the leukocyte mRNA levels of metallothionein and zinc transporters with zinc nutritional status and nutrient intake in the study subjects.. 113

Table 19. Zinc nutritional status by the salty taste acuity in male and female subjects 115

Table 20. Zinc nutritional status by salty taste preference in male and female subjects 116

Table 21. Pearson's coefficients of correlation for the leukocyte mRNA levels of metallothionein and zinc transporters with salty taste threshold and preference in male and female study subjects 118

Table 22. The leukocyte mRNA levels of metallothionein and zinc transporters by salty taste acuity in male and female study subjects 119

Table 23. The leukocyte mRNA level of metallothionein and zinc transporters by salty taste preference in male and female study subjects 120

Table 24. Simple regression models of predicting salty taste threshold with zinc parameter in male and female study subjects 122

Table 25. Characteristics of the study subjects 141

Table 26. The distribution of α ENaC A663T genotypes in male and female subjects 143

Table 27. Salty taste acuity and preference by α ENaC A663T genotypes in male and female 144

Table 28. Simple regression models of predicting salty taste threshold with zinc status and the leukocyte mRNA levels of zinc transporters according to α ENaC A663T genotypes in male subjects 146

Table 29. Simple regression models of predicting salty taste threshold with zinc status and the leukocyte mRNA levels of zinc transporters according to α ENaC A663T genotypes in female subjects 147

List of Figures

Figure 1. 2.5th percentile of serum zinc concentration for males and females aged 3−74 years, by age and collection time/fasting status from NHANES Ⅱ 14

Figure 2. Generalized cell showing locations of zinc transporter. 27

Figure 3. The locations along the subunits of representative molecular variants 44

Figure 4. The expression level of leukocyte metallothionein and zinc transporters mRNA in total subjects (n=55) 68

Figure 5. The changes of serum and urinary zinc after 8 weeks of zinc supplementation in the two groups..... 88

Figure 6. The expression levels of leukocyte zinc transporter mRNAs of obese subjects (n=35) at baseline..... 90

Figure 7. The differences of leukocyte mRNA expression levels of zinc transporters compared to placebo group in zinc supplemented group after zinc supplementation..... 91

Figure 8. Distribution of salty taste threshold (A) and preference (B) of male (n=104) and female (n=103) subjects..... 107

Figure 9. The correlation between salty taste acuity and preference in total subjects (n=207)..... 108

Figure 10. The expression levels of leukocyte metallothionein and zinc transporters mRNAs in male(n=90) and female(n=72) subjects..... 112

Figure 11. Three type of α ENaC A663T polymorphism..... 134

List of Abbreviation

ALP: alkaline phosphatase

EAR: estimated average requirement

EC-SOD: extracellular superoxide dismutase

ENaC: epithelial sodium channel

MRE: metal response element

MT: metallothionein

MTF1: metal-binding transcription factor 1

RFLP: PCR-restriction fragment length polymorphism

RT-PCR: reverse transcriptase-polymerase chain reaction

SLC: solute-linked carrier

TAS1R: taste receptor 1

TGN: trans golgi network

TRPV1: transient receptor potential vanilloid

Zip: zir-and Irt-like protein

ZnT: zinc transporter

I. 서론

1. 연구 배경

나트륨 과잉 섭취는 고혈압, 심혈관계 질환 및 신장 질환 등을 유발하는 것으로 알려져 있다 (He *et al.*, 2007, Meneton *et al.*, 2005). 그러나 관련 기관의 나트륨 섭취 제한을 위한 지속적인 노력에도 불구하고, 여전히 주요 보건 문제 중 하나로 남아있다. 2010 국민건강통계에 따르면(KCDC, 2011), 한국인의 나트륨 섭취는 충분 섭취량 대비 남성은 403%, 여성은 289%로 과잉 섭취하고 있다(KNS, 2010). 나트륨 섭취는 개인의 짠맛 인지 및 선호도에 영향을 받는다(Hayes *et al.*, 2010). 따라서, 나트륨 섭취 제한을 위해 짠맛 인지에 영향을 주는 요인에 대한 연구가 필요하다.

짠맛 인지에 영향을 줄 수 있는 요인 중 하나가 체내 아연 영양상태이다. 필수 미량 영양소의 하나인 아연은 결핍 시 미각의 손상을 초래하는 것으로 알려져 있다. 아연은 타액에 존재하는 아연 금속 단백질(metalloprotein)인 gustin(carbonic anhydrase VI)의 효소 활성에 필수적인 성분이다. 따라서 아연 결핍 시, 타액 gustin의 분비가 억제 되고, 효소 활성에 문제가 생겨 맛 감지 능력이 감소하게 된다(Henkin *et al.*, 1999). 기존 연구에서 아연 결핍이 짠맛 인지를 유의적으로 낮추는 것으로 보고되었다(Wright *et al.*, 1981). 또한, 미각 기능이 저하된 노인(Stewart-Knox *et al.*, 2008)이나 환자(Takeda *et al.*, 2004, Yamagata *et al.*, 2003)를 대상으로 한

연구에서, 아연 보충제 섭취 후 맛 인지 능력이 향상되는 결과를 보였다. 그러나 건강한 젊은 성인을 대상으로 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향에 대해 본 연구는 많지 않은 실정이다.

체내 아연 영양상태 평가 지표로는 혈청/혈장 아연, 식이 아연, 아연 금속 효소 활성 등 여러 종류가 이용되고 있다(Gibson *et al.*, 2008). 일반적으로 가장 널리 사용되는 지표는 혈청 아연이지만, 체내 효율적인 항상성 메커니즘으로 인해 심각한 아연 결핍(<2~3mg/d)이 되지 않는 한, 매우 안정적으로 유지되어 경계성 아연 결핍(marginal zinc deficiency) 상태를 반영하지 못하는 한계점을 지닌다(Lowe *et al.*, 2004).

최근 체내 아연 상태 변화에 민감하게 반응하는 지표로 아연 운반체에 대한 관심이 증가하고 있다(Andree *et al.*, 2004, McMahon *et al.*, 1998). 체내에는 두 종류의 아연 운반체 유전자군인 zinc transporter[ZnT; Solute-linked carrier(SLC) 30]와 zir-and Irt-like protein(Zip; SLC39)이 존재한다. 현재까지, 포유류에는 ZnT family 10종, Zip family 14종이 보고되었다. 기존 연구에서 아연 보충제 섭취 후 일부 leukocyte 아연 운반체 유전자의 발현이 유의적으로 변하는 것을 확인하였다(Andree *et al.*, 2004, Aydemir *et al.*, 2006). 하지만 아직까지 전반적인 leukocyte 아연 운반체의 발현 정도를 살펴본 연구가 드물고, 혈청 아연 및 식이 아연과 같은 다른 지표에 비하여 아연 운반체를 체내 아연 영양상태에 대한 하나의 지표로 활용한 연구가 많지 않은 실정이다. 특히 아연 상태가 맛

인지에 미치는 영향에 대한 연구에 있어 아연 운반체를 이용한 경우는 전무하다.

한국인의 아연 영양섭취 실태를 살펴보면, 2000~2001년 농촌, 도시 및 대도시 지역별 성인 남녀의 평균 아연 섭취량은 각각 6.5±3.7, 7.3±4.4, 11.4±3.1 mg 정도 이었고(Lee *et al.*, 2004b), 2004년 농촌 및 도시 지역 성인의 평균 아연 섭취량은 7.9±3.8 mg 이었다(Choi *et al.*, 2005). 2007년 국민건강영양조사 자료를 이용한 분석 결과에서는 20대 이상 남녀 성인의 아연 섭취량은 각각 7.9~11.2mg/d, 5.4~7.7mg/d으로 나타났다(Shim *et al.*, 2009). 가장 최근 연구인 2008~2011년 644명 여대생(19-29세)의 평균 식이 아연 섭취량은 12.8mg으로 나타났다(Bae *et al.*, 2012). 기존의 연구 결과들을 종합해 보면 지난 10년간 한국인의 식이 아연 섭취량이 증가되는 경향은 보이고 있다. 하지만 국민건강영양조사에서 아연의 섭취량이 계산되지 않고, 한국인 식이 아연 섭취량을 대표 할 수 있는 연구가 많지 않아 정확한 아연 섭취량의 변화를 추정하기는 어려운 실정이다.

한국인 아연 주요 급원 식품 1위는 쌀밥으로, 총 아연 섭취량 대비 섭취하는 아연의 비율은 약 54.0%이다. 주요 동물성 아연 급원 식품인 소고기와 돼지고기를 통한 아연 섭취 비율이 각각 5.8, 3.3%인 것에 비하여 식물성 식품이 차지하는 비율이 높다(Bae *et al.*, 2012). 식물성 식품에는 동물성 식품과 달리 아연의 흡수를 방해할 수 있는 피틴산과 같은 성분이 함유되어 있다. 피틴산은 장에서 아연과 불용성 염을

형성하여 아연의 장내 흡수를 방해하여 실제 이용 가능한 식이 아연(available zinc) 섭취량을 낮춘다(Lonnerdal, 2000). 그러므로 식이 아연 섭취량을 통한 체내 아연 상태 평가 시 피틴산-아연 몰 비율을 고려하여 이용 가능한 식이 아연 섭취량도 고려할 필요가 있다(Murphy *et al.*, 1992). 특히, 아연 급원 식품으로 식물성 식품이 차지하는 비율이 높은 한국인의 아연 영양상태 평가 시 피틴산-아연 몰 비율을 고려한 이용 가능한 식이 아연 섭취를 고려할 필요가 있다.

또한, 최근 여러 연구에서 비만이 아연을 포함한 미량 영양소 결핍을 동반하는 것으로 나타났다. 체내 아연 농도가 낮은 아이들의 체중 및 체지방률이 유의적으로 높은 것으로 나타났다 (Cavan *et al.*, 1993). 남자 성인을 대상으로 한 연구에서는 아연 결핍이 체지방 비율 증가 및 복부 비만 발생의 위험 요인으로 나타났다 (Singh *et al.*, 1998). 또한 비만 아이들 및 성인을 대상으로 한 여러 연구에서 혈장/혈청 및 적혈구 내 아연 농도가 유의적으로 낮게 나타났다 (Ennes Dourado Ferro *et al.*, 2011, Ozata *et al.*, 2002, Tungtrongchitr *et al.*, 2003).

그러나 비만인의 체내 아연 상태를 아연 운반체를 이용하여 본 연구는 극히 드물다. Smidt *et al.* (2007)의 연구에서는 비만 여성의 지방 조직 내 일부 아연 운반체 유전자 발현이 정상 체중 여성에 비하여 유의적으로 낮은 것을 확인하였으나 지방 조직에 국한되었다는 한계점을 가진다. 또한 dos Santos Rocha *et al.* (2011) 연구에서는 비만 여성의 leukocyte metallothionein(MT)과 일부 아연 운반체 유전자 발현을 측정한 결과, MT의 발현이 다른 아연 운반체보다

월등히 높음을 확인하였으나 비만 대상자만을 관찰하였다는 한계점을 가지고 있다. 따라서 정상 체중과 비교하여 비만에서의 전반적인 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 차이를 본 연구가 필요하다.

아연 외에 짠맛 인지에 영향을 줄 수 있는 유전적 요인으로, 포유류의 sodium-specific taste receptor로 알려진 epithelial sodium channel(ENaC) 유전자 다형성을 들 수 있다. ENaC는 로 $\alpha-$, $\beta-$, $\gamma-$ 의 세 가지 subunit가 존재하며, 특히 미뢰세포 내에 $\alpha-$ subunit의 발현이 가장 높은 것으로 알려져 있다 (DeSimone *et al.*, 2006). Amiloride에 의해 ENaC가 차단될 시, 미각세포 내 나트륨 이동이 변화되고, 염화 나트륨에 대한 맛 감지가 억제되는 것으로 보고되고 있다 (Hellekant *et al.*, 1991, Henkin *et al.*, 1999, Lin *et al.*, 1999). 또한, Xenopus oocytes에서 ENaC의 발현이 나트륨 이동을 증진시키는 것으로 나타났다 (Stähler *et al.*, 2008). 기존의 동물(mice) 연구 (Shigemura *et al.*, 2008)에서는 짠맛에 대한 반응이 ENaC $\alpha-$ subunit의 유전적 변이에 따라 달라짐을 확인하였다. 사람의 ENaC 유전자 다형성에 대한 연구 결과 (Ambrosius *et al.*, 1999, Sugiyama *et al.*, 2001), αENaC A663T 유전적 변이가 모든 인종에서 빈번하게 나타남을 확인하였다. 하지만, 아직까지 한국 사람의 αENaC A663T 유전자 다형성이 분석 된 바 없고, αENaC A663T 유전자 다형성이 짠맛 인지에 미치는 영향에 대해 본 연구도 전무하다.

2. 연구 목적

본 연구는 한국 젊은 비만 여성의 아연 영양상태와 아연 보충 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 변화를 분석하고, 한국 젊은 성인의 아연 영양상태 및 αENaC A663T 유전자 다형성과 짠맛 인지와의 관계에 대해 연구하고자 수행되었다. 본 연구 목적을 달성하기 위한 세부 연구 문제는 다음과 같았다.

연구 문제 1: 정상 체중과 비만 여성 간의 아연 영양상태 및 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현에 차이가 있는가?

연구 문제 2: 비만 여성의 아연 보충제 섭취로 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현에 변화가 있는가?

연구 문제 3: 한국 젊은 성인의 혈청 아연, 식이 아연 섭취 및 leukocyte 아연 운반체를 이용하여 평가한 아연 영양상태가 짠맛 인지에 영향을 미치는가?

연구 문제 4: 한국 젊은 성인의 αENaC A663T 유전자 다형성이 아연 영양상태와 짠맛 인지 간의 관계에 영향을 미치는가?

II. 문헌고찰

1. 아연 영양상태 평가 지표

아연은 필수 미량 영양소의 하나로, 체내의 여러 생화학적, 면역적, 임상적 기능을 담당한다 (Gibson *et al.*, 2008). 아연이 담당하는 생화학적 기능은 촉매적, 구조적, 조절적 기능으로 구분된다. 아연은 체내 200개 이상의 아연 금속 효소의 촉매적 활성에 필수적인 요소이다. 대표적인 효소로는, RNA nucleotide transferases (RNA polymerases Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ), alkaline phosphatase, carbonic anhydrases 등이 있다 (McCall *et al.*, 2000). 또한 아연은 아연 금속 효소 및 단백질 구조의 안정화에 기여한다 (Vallee *et al.*, 1990). 또한 아연은 유전자 발현을 증진 또는 억제하는 역할도 한다. 대표적인 예로 MT 및 MT-like protein 등이 있다. MT 유전자의 전사 조절은 MT promoter에 있는 metal response element (MRE)와 관련이 있는데, 아연에 의해 활성화된 metal-binding transcription factor 1(MTF1)이 MRE에 결합하여 MT 유전자의 전사를 조절하는 것으로 알려져 있다 (Cousins, 1994). 이런 생화학적 기능 외에, 아연은 체내 면역 기능 및 성장 등에도 관여한다.

아연은 철과 같은 다른 미량 무기질과 달리 부적절한 식이 섭취에 대응할 수 있는 체내 저장 형태를 가지고 있지 않다 (Gibson *et al.*, 2008). 따라서 식이 아연의 변화에 따라 소화 기관과 신장을 통해 흡수 및 배설을 즉각적으로 조절하여 아연의 항상성을 유지한다.

동위원소 추적자법 (isotope tracer techniques)을 이용한 연구에서(King *et al.,* 2001), 성인 남성을 대상으로 식이 아연 섭취를 12.2mg/d에서 0.23mg/d로 줄였을 때, 장 내의 아연의 흡수가 100% 증가하였고, 소변 아연 배설량은 11.8mg/d에서 0.23mg/d로 감소하여 체내 아연 농도를 일정하게 유지한다. 하지만 아연의 심각한 결핍 상태에 이르면 이러한 항상성 유지 메커니즘이 깨지게 되고, 성장 지연, 성 성숙 지연, 식욕 감퇴, 신경 장애, 면역력 감소 등에 인한 감염 등의 임상적 증세가 나타난다 (Hambidge, 2000). 이러한 심각한 결핍 상태는 장 말단 피부염(acrodermatitis enteropathica)과 같은 유전적 질환 환자, 알코올성 간경화 환자, 아연과 결합하여 배설을 촉진하는 물질 및 약물 장기 복용자 (Aggett *et al.*, 1989), 아연 보충 없이 장기간 정맥영양 투여 환자(Kay *et al.*, 1976) 등에서 나타난다. 아연의 약한 결핍(moderate deficiency) 상태에서는 성장 지연, 피부 변화, 식욕 감퇴, 무기력증, 비정상적인 암적응, 상처치료 지연 등의 증상이 나타난다 (Hambidge, 2000).

아연 영양상태 평가 지표에 대한 여러 연구가 진행되고 있으나, 아직까지 재현성이 높고 민감한 지표에 대한 합의는 이뤄지지 않고 있다. 일반적으로 아연 영양상태 평가에 이용되는 지표는 혈청/혈장 아연, 식이 아연 섭취량 그리고 그 외 지표로 나눌 수 있다 (Gibson *et al.*, 2008). 다음에서 아연 영양상태 평가에 이용되는 지표의 특징을 살펴보고자 한다.

1.1. 혈청/혈장 아연

혈청 또는 혈장 아연의 농도는 아연 영양상태 평가에 가장 널리 사용되는 생화학적 지표이다. 혈청 내로 이동된 아연의 거의 대부분(70%)은 기본적으로 albumin에, 나머지 18%는 α-2-marcroglobulin에 결합되고, 나머지는 transferrin 이나 caeruloplasmin과 같은 다른 단백질이나, histidine과 cystine과 같은 아미노산과 결합하여 존재한다. 아연 항상성 메커니즘에 의하여 건강한 사람들의 혈청 농도는 매우 좁은 범위 (12-15 μmol/L)에서 유지된다(Gibson *et al.*, 2008). 이러한 혈청/혈장 아연 농도 측정은 몇 가지 한계점은 가지고 있으나 집단의 아연 영양상태를 평가하는 데 있어 World Health Organization(WHO)/the United Nations Children's Fund(UNICEF)/International Atomic Energy Association (IAEA)/International Zinc Nutrition Consultative Group(IZiNG)이 추천하는 유일한 아연 영양상태 생화학적 지표이다 (de Benoist *et al.*, 2007). 아이들 성장에 있어 아연 보충제 섭취의 효과에 대한 메타 분석에서 혈청 아연 농도에 대한 아연 보충제 섭취의 전체적인 효과가 크고 유의적이었다 [(weighted average effect size = 0.82 (95% CI: 0.50-1.14; p <0.0001)] (Brown *et al.*, 2002). 또한 20-35세 성인 남성(n=5)을 대상으로 한 아연 고갈(0.23mg/d)과 보충(12.2mg/d) 연구 (zinc depletion/repletion study)에서 식이 아연 섭취의 변화를 혈장 아연이 가장 잘 설명하는 것으로 나타났다.

혈청 아연은 최근 식이, 혈액 채취 시간, 나이, 성별, 감염 등의

영향을 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 결과 해석 시 이런 점을 고려하여야 한다 (de Benoist *et al.*, 2007). 혈청 아연 농도는 24시간 동안 20% 정도 내에서 변동을 거듭하는데 이런 변동에 가장 영향을 주는 것은 식이 섭취이다. 음식의 섭취 즉시 혈청 아연 농도가 증가되고 이후 4시간 동안 점진적으로 감소하는 양상을 보인다 (Hambidge *et al.*, 1989). 또한 혈청 아연 농도는 시간에 따라 변화되는데, 공복 상태에서 밤 동안 혈청 아연 농도는 서서히 증가하여 아침 시간의 아연 농도가 가장 높으며, 이후 정오까지는 혈청 아연 농도가 서서히 감소하고 그 이후 다시 농도가 증가하는 양상을 보인다(Guillard *et al.*, 1979). 급성 감염 및 염증 발생 시 혈액 내에서 간으로 아연의 이동이 증가하여 혈청 아연 농도가 감소한다(Singh *et al.*, 1991). 급성기 반응(acute-phase response) 동안 분비된 cytokines 이 간 내 금속 결합 단백질인 MT의 합성을 촉진하여 간으로의 아연 흡수가 증가된다 (Schroeder *et al.*, 1990, Rofe *et al.*, 1996). 또한 혈중 아연은 대부분 albumin에 결합되어 있기 때문에 간경변(cirrhosis)나 단백질-에너지 결핍증(protein-energy malnutrition)과 같은 질병 발생 시 저 알부민 혈증이 발생하여 혈청 아연 농도가 감소하는 결과를 보인다(Solomons, 1979). 이 외에도 임신 중 또는 경구 피임약 복용 및 기타 호르몬 치료 시 나타나는 혈액 희석(hemodilution) 발생 시에도 혈청 아연 농도가 감소한다. 반면, 세포 내 아연 농도가 혈중 농도 보다 높기 때문에 내인성 또는 외인성 용혈(hemolysis) 발생 시 혈청 아연 농도가 극도로 높아진다 (Halsted *et al.*, 1968, Hobisch-Hagen *et al.*, 1997).

집단의 아연 영양상태 평가 시, 나이, 성별, 혈액 채취 시간을 고려한 혈청 아연의 낮은 한계치(lower cutoff-value)를 이용한다 (Table 1). 이 한계치는 미국 국민건강영양조사(National Health and Nutrition Examination Survey) Ⅱ (NHANES Ⅱ: 1976-1980)에서 건강하고 영양 불량이 아닌 3~74세의 대표 집단의 자료를 이용하여 나이, 성별, 혈액 채취 시간에 따른 혈청 아연 농도의 2.5th percentile에 해당하는 값으로 설정하였다 (Pilch *et al.*, 1985). 혈청 아연 농도는 나이, 성별, 혈액 채취 시간에 따라 다른 양상을 보인다 (Figure 1). 혈청 아연 농도는 남녀 모두 사춘기부터 증가하다가 20대에 가장 높고 그 이후로 서서히 감소한다. 사춘기 이후부터 남성의 혈청 아연 농도가 여성보다 높다. 또한 혈액을 채취한 시간 및 8시간 이상 공복 여부에 따라 혈청 아연의 농도가 달라진다. 과거에는 아침 시간 공복 혈액을 기준 방법으로 제시하였으나 대규모 조사에 적용하기가 현실적으로 어려우므로 혈액 채취 시간 및 공복 여부에 따라 다른 기준치를 모두 제시하고 있다(Brown *et al.*, 2004). 오전 8시간 공복 혈액 채취 시, 10세 이상 남녀의 혈청 아연 한계치는 각각 11.3 μmol/L, 10.7 μmol/L이고, 오전 비공복 혈액의 경우는 10.7 μmol/L, 10.1 μmol/L이다. 오후시간에 채취한 혈액에 대한 혈청 아연의 한계치는 더 낮아져 남녀 각각 9.3 μmol/L, 9.0 μmol/L에 해당한다. 또한 앞에서 언급한 바와 같이 여성의 경우, 임신으로 인한 혈액 희석(hemodilution)이 발생하여 혈청 아연 농도가 감소한다. 따라서 임신 여부에 따라 기준치를 달리 하였다. 하지만 수유기 여성의 경우 임산부만큼 혈청 아연 수준이 낮아지지 않기 때문에 비임신 여성의

기준치를 따른다.

그러나 혈청 아연과 식이 아연 간의 관계 연구에 따르면, 심각한 식이 아연 제한 (<2-3mg/d)시 혈청 아연 농도가 급격히 떨어지지만 (Lowe *et al.*, 2004), 약간의 식이 아연 제한 (3-5mg/d)시 혈청 아연은 거의 변화 없거나 변화 정도가 매우 미비한 것으로 나타났다. 즉, 항상성 메커니즘의 효율적인 조절 아래 심각한 아연 제한이 발생하지 않는 한 상대적으로 안정하게 유지되어 경계성 결핍(marginal deficiency) 또는 정상 범위 내의 식이 아연 섭취의 변화를 잘 반영하지 못 하는 점이 제기되기도 하였다(Gibson *et al.*, 2008).

Table 1. Suggested lower cutoffs (2.5th percentiles) for the assessment of serum zinc concentration

	Lower cutoffs for serum Zn (μmol/L)			
	Children <10 yr	Females ≥ 10 yr		Males ≥ 10 yr
		Non-pregnant	pregnant	
Morning fasting[a]	-	10.7	1st Trimester: 8.6 2nd/3rd Trimester: 7.6	11.3
Morning non-fasting	9.9	10.1		10.7
Afternoon	8.7	9.0		9.3

a. subjects ≥ 20yr;

Subject with low serum albumin, elevated WBCC, current diarrhea, using oral contraceptives and etc. were excluded.

Edited from Table 1 in Gibson, R. S., Hess, S. Y., Hotz, C. & Brown, K. H. (2008). Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *Br J Nutr*, 99 Suppl 3, S14-23.

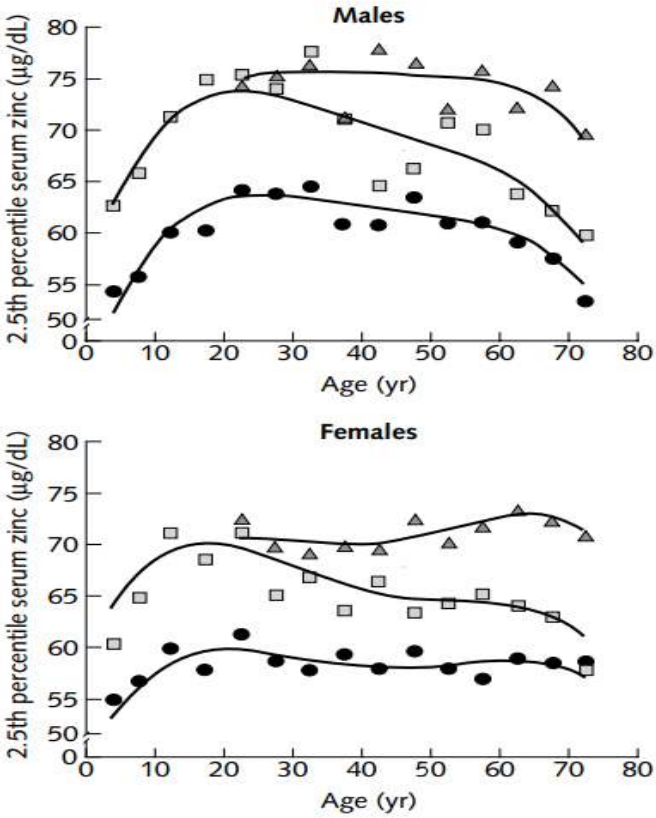


Figure 1. 2.5th percentile of serum zinc concentration for males and females aged 3−74 years, by age and collection time/fasting status from NHANES Ⅱ

Symbols represent the mid−point for five−year age intervals. Data for each time of day and fasting status group are shown as; AM fasted ≥ 8h(▲); AM non−fasted (■); PM/evening non−fasted(●)

Source: Brown, K. H., Rivera, J. A., Bhutta, Z., Gibson, R. S., King, J. C., Lonnerdal, B., Ruel, M. T., Sandtrom, B., Wasantwisut, E. & Hotz, C. 2004. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull,* 25, S99−203.

1.2. 식이 아연 섭취량

집단의 아연 영양상태 평가에 식이 아연 섭취도 지표로 많이 이용된다. 아연의 부적절한 섭취가 아연 결핍의 주요 원인이므로 식이 아연 섭취량은 아연 영양상태 평가에 주요한 요소 중 하나이다. 식이 아연 섭취 자료를 통한 집단의 아연 영양상태평가 시, 적절한 또는 부적절한 아연 섭취에 관련 있는 식이 패턴에 대한 정보도 함께 얻을 수 있으며, 아연 섭취가 부적절하여 아연 결핍 가능성이 높은 취약 집단을 분별하는 데 유용하다. 평균 필요량(Estimated average requirement; EAR)을 기준으로 집단 내 부적절한 섭취 비율을 추정한다(Gibson *et al.*, 2008).

식이 아연 섭취를 이용한 아연영양상태 평가 시 고려해야 할 중요한 요인은 아연의 생체 이용률(bioavailability)이다. 아연과 함께 존재하는 여러 식이 성분들이 아연의 흡수 및 이용에 영향을 준다. 아연의 흡수율을 감소시키는 대표적인 요인 중 하나가 피틴산(phytate)이고, 이 외에도 식이 칼슘은 아연의 흡수를 낮추고, 동물성 단백질은 아연의 흡수를 높이는 것으로 알려져 있다(Lonnerdal, 2000). 피틴산은 위장관 내에서 식이 아연 및 내인성 아연과 결합을 이루어 불용성을 염을 형성하여 체내로의 아연 흡수를 억제한다(Sandstrom, 1997). 일반적으로 식품 내 존재하는 아연은 육류, 생선, 해산물 등의 동물성 식품에 가장 많이 함유되어 있으나, 동물성 식품 외에도 견과류, 콩류 및 전곡류 등의 식물성 식품에도 상대적으로 많이 함유되어 있다.

그러나 이런 식물성 식품에는 피틴산도 많이 함유되어 있어 식품 내 아연 함유량에 비해 체내로 흡수되어 이용되는 아연(available zinc)의 양은 적다(Lonnerdal, 2000, Joung *et al.*, 2004) (Table 2).

따라서 식이 아연 섭취를 통한 아연 영양상태 평가 시 식이 아연 섭취의 절대량뿐 아니라 아연의 생체 이용률을 고려한 이용 가능한 아연도 함께 고려되어야 한다. 피틴산의 아연 흡수 억제 효과는 용량 의존적(dose-dependent)으로 나타나므로, 아연의 생체 이용률 추정에 피틴산-아연 몰 비율을 이용한다. 식품 및 음식의 피틴산-아연 몰 비율은 다음과 같이 계산한다.

[피틴산(mg)/660(피틴산 분자량)]/[아연(mg)/65.4(아연 분자량)]

일반적으로, 견과류, 콩류 및 전곡류의 피틴산 함량은 221mg-1372mg/100g이고, 일반적으로 피틴산-아연 몰 비율은 19-88로 다른 식품에 비하여 높은 편이다. 기타 다른 식물성 식품의 피틴산 함량은 0-115mg/100g으로 피틴산-아연 몰 비율의 범위는 일반적으로 0-42정도이다. 동물성 식품은 피틴산을 전혀 함유하지 않으므로 피틴산-아연 몰비율은 0이다(Joung *et al.*, 2004, de Benoist *et al.*, 2007)(Table 2).

식이 아연의 생체 이용률을 추정하는 방법에는 크게 2가지로 WHO 방법과 IZiNCG 방법이 있다. WHO(1996)가 제시한 방법에 따르면, 식사를 그 특징에 따라 3개 유형으로 나누었다 (Table 3). 주로 육류

및 생선과 같이 적절한 단백질이 포함되어 있는 동물성 식품으로 구성되어 있는 경우는 높은 생체 이용률 식사(high-bioavailability diet)로 분류, 정제되지 않은 곡류 및 피틴산이 많은 콩류로 주로 구성되어 있는 식사는 낮은 생체 이용률 식사(low- bioavailability diet)로 분류하고 이 두 형태가 혼합된 식사를 중간 생체 이용률 식사(moderate-bioavailability diet)로 분류하였다. 이 때 낮은, 중간 그리고 높은 생체 이용률 식사의 각각의 아연 생체 이용률은 15, 30, 50%로 제시하였다(Table 3 & 4). IZiNCG 방법(de Benoist *et al.*, 2007)에 따르면, 식사의 형태를 혼합 식이와 정제되지 않은 식이(unrefined) 두 형태로만 나누어 정의하였고, 대상을 20대 성인으로 한정 지었으며 성별에 따른 차이를 구분하였다. 혼합 식이의 피틴산-아연 몰 비율을 4-18로 보았고, 이 때의 아연 생체이용률은 남성은 26%, 여성은 34%로 제시하였다. 정제되지 않은 식이의 피틴산-아연 몰 비율은 18 초과로, 아연 생체 이용률은 남성은 16%, 여성은 25%로 제시하였다. Murphy *et al.* (1992)의 연구에서는 앞에 제시한 WHO (1996)의 기준에 따라 피틴산-아연 몰 비율을 고려한 이용 가능한 아연(available zinc) 섭취를 계산하는 알고리즘을 제시하였다. 각 개인의 전체 아연 섭취량에서 이용 가능한 아연 섭취를 계산하는 식은 다음과 같다.

이용 가능한 아연 (mg/day) = 전체 아연 섭취량 (mg/day) × 아연 이용성 요인

이 때, 아연 이용성 요인(zinc availability factor)은 피틴산-아연 몰 비율에 따라 정해지며, 피틴산-아연 몰 비율이 15미만, 15-30, 30 초과인 경우에 각각 아연 이용성 요인을 0.30, 0.15, 0.10으로 설정하였다. 또한 이러한 피틴산-아연 몰 비율이 다른 식이 요인(칼슘, 단백질)보다 아연 흡수 정도를 잘 설명하는 것으로 나타났다(Brown *et al.*, 2004). 회귀 모델을 이용하여 네 가지의 식이 요인(아연, 피틴산-아연 몰 비율, 단백질, 칼슘)과 식이 아연의 흡수율에 대한 관계를 본 결과, 최종 모델에서 아연과 피틴산-아연 몰 비율이 아연 흡수율을 가장 잘 설명하는 요인으로 나타났다(R^2=0.4, $p<0.001$) .

Table 2. Zinc content and phytate content in Korean foods

Food groups	Zinc (mg/100g)	Phytate (mg/100g)
Meat (pork, beef)	2.9-7.0	0
Poultry	1.8-3.0	0
Seafood (fish, etc.)	0.5-5.5	0
Eggs	1.1-1.4	0
Dairy	0.4-3.2	0
Seeds, nuts	0.3-10	933-1280
Beans	1.0-5.0	508.5-1371.8
Whole-grains	0.5-3.5	221-973.3
Refined grains	0.4-1.4	191.7-669.5
Bread	0.4-1.0	20-26.9
Vegetables	0.1-2.4	0.4-319.9
Fruits	0-0.2	1-50

Edited from Table 1 in Joung, H., Nam, G., Yoon, S., Lee, J., Shim, J. E. & Paik, H. Y. (2004). Bioavailable zinc intake of Korean adults in relation to the phytate content of Korean foods. *Journal of Food Composition and Analysis,* 17**,** 713-724.

Table 3. Criteria for categorizing diets according to the potential bioavailability of their zinc

Category (Zinc bioavailability)	Dietary characteristics
High availability (50%)	· Refined diets low in cereal fiber, low in phytic acid content · Diets with phytate-zinc molar ratio<5 · Adequate protein content principally from non-vegetable sources, such as meats and fish
Moderate availability (30%)	· Mixed diets containing animal or fish protein · Lacto-ovo, ovo-vegetarian, or vegan diets not based primarily on unrefined cereal grains or high-extraction-rate flours. · Diets with phytate-zinc molar ratio within range 5-15, or not exceeding 10 if more than 50% of the energy intake is accounted for by unfermented, unrefined cereal grains and flours while the diet is fortified with inorganic calcium salts (> 1g Ca^{2+}/ day) · Availability of zinc improves when the diet includes animal protein or milks, or other protein sources or milks
Low availability (15%)	· Diets high in unrefined, unfermented, and ungerminated cereal grain (e.g., flat breads and sorghum) · Diets in which the phytate-to-zinc molar ratio exceeds 15 · Diets in which high-phytate soy-protein products constitute the primary protein source · Diets in which approximately 50 percent of the energy intake is accounted for either by one or a combination of the following high-phytate foods; high-extraction-rate(≥90 percent) wheat, rice, maize grains and flours, oatmeal, and millet, sorghum, cowpeas, pigeon peas, grams, kidney beans, blackeye beans, groundnut flours · Diets that have high intake of inorganic calcium salts (> 1g Ca^{2+}/ day) either as supplements or as adventitious contaminants (e.g. from calcareous geophagia), which potentiate the inhibitory effects of low-availability diets and low intakes of animal protein exacerbate these effects.

Edited from Table 5.5 in WHO (1996), Trace elements in human nutrition and health: 5. Zinc. Geneva.

Table 4. Estimates of dietary zinc bioavailability by phytate to zinc molar ratio by WHO and IZiNCG

	WHO			IZiNCG	
Diet types represented	Highly refined[a]	Mixed/refined vegetarian[b]	Unrefined[c]	Mixed/refined vegeterian	Unrefined, cereal-based
Phytate to zinc molar ratio	< 5	5-15	> 15	4-18	>18
Zinc bioavailability	50%	30%	15%	26% men 34% women	18% men 25%women

Edited from Table 1.8 in De Benoist, B., Darnton-Hill, I., Davidsson, L., Fontaine, O. & Hotz, C. (2007). Conclusions of the Joint WHO/UNICEF/IAEA/IZiNCG Interagency Meeting on Zinc Status Indicators. Food Nutr Bull, 28, S480-4.

1.3. 기타 지표

그 외 아연 영양상태 평가 시 이용되는 지표로는 머리카락의 아연 농도, 소변 아연 농도, 세포 내 아연 농도, 아연 금속효소 및 아연 결합 단백질 등이 있다.

머리카락 아연 농도는 전통적인 방법으로 장기간의 아연 영양상태를 측정하는 데 유용한 지표이다. 몇몇 아이들과 여성을 대상으로 한 연구에서 머리카락 아연 농도가 식이 아연 섭취를 잘 반영하는 것으로 보여진다(Ferguson *et al.*, 1989, Gibson *et al.*, 1991, Gibson *et al.*, 1998). 14-52세 152명 말라위 임산부를 대상으로 한 연구에서(Gibson *et al.*, 1998), 피틴산-아연 몰 비율 높은 그룹(>17)이 피틴산-아연 몰 비율이 낮은 그룹에 비해 머리카락의 아연 농도가 유의적으로 낮은 것으로 나타나 유의적인 음의 관계를 갖는 것을 확인하였다. 또한 평균 월령 58개월인 캐나다 아이들(남 62명, 여 44명)을 대상으로 한 연구(Gibson *et al.*, 1991)와 4-6세의 말라위 아이들(남 37명, 여 29명)을 대상으로 한 연구 (Ferguson *et al.*, 1989)에서도 같은 양상을 보였다. 머리카락의 아연 농도는 혈청 아연과 달리 안정적이어서 하루 동안의 변화(diurnal variation), 공복 시간, 식이 섭취, 급성 감염 등으로 인한 영향을 받지 않는다. 단, 아이들의 경우 성장 호르몬과 성 호르몬(testosterone hormone)의 영향으로 남자 아이의 머리카락 아연의 농도가 여자 아이의 머리카락 아연의 농도보다 낮다(Nishi, 1996). 또한 캐나다와 말라위 아이들을

대상으로 한 연구에서 머리카락 아연 농도가 계절의 영향을 받는 것으로 나타났다. 낮 시간이 긴 봄/여름이 낮 시간이 짧은 가을/겨울에 비해 머리카락 아연 농도가 낮은 경향을 보였다(Gibson *et al.*, 1989).

적혈구, 백혈구, 중성구 등을 포함한 여러 세포 내 아연 농도도 아연 영양상태 평가 지표로 사용된다. 세포 내 아연 농도는 혈청 아연 농도에 비해 상대적으로 장기간의 아연 영양상태를 평가 할 수 있는 지표이다. 하지만 아직까지 세포 내 아연 농도에 대한 기준치가 설정되어 있지 않아 연구 간의 비교가 어렵고(Thompson, 1991), 또 이런 세포를 충분한 양 얻고 종류에 따라 분리하는 것도 어렵기 때문에 집단을 대상으로 한 연구에서는 현실적으로 사용하기가 어렵다(Gibson *et al.*, 2008).

또 다른 지표로는 아연금속효소 및 아연 결합 단백질이 있다. 혈장, 적혈구와 같은 특정 세포 내의 여러 아연금속효소의 효소적 활성을 통하여 아연영양상태를 평가한다. 대표적으로 alkaline phosphatase(ALP)와 extracellular superoxide dismutase(EC-SOD) 등이 있다(Gibson *et al.*, 2008). 그러나 이런 지표들이 일관된 결과를 보이지 않는다는 제한점을 갖는다. 또한 ALP의 경우, 혈청 아연과 마찬가지로 심각한 아연 결핍 시 활성이 감소하나 약한 아연 결핍에서는 변하지 않는다는 제한점이 있다 (King *et al.*, 2001, Pinna *et al.*, 2001).

아연 결합 단백질로 아연영양상태 평가에 많이 이용되는 지표는

MT이다. MT는 금속 결합 단백질로, 대부분의 조직에 존재하는데, 특히 간, 췌장, 신장 및 소장 점막 등에 존재한다(Gibson *et al.*, 2008). 혈장 내 MT 농도는 식이 아연 섭취 변화에 따라 변화하여 식이 아연 섭취가 낮을 시 혈장 내 MT 농도는 감소한다(King, 1990). 그러나 혈장 내 MT 농도는 감염 및 스트레스에 의해서도 증가하므로 적혈구 내 MT 농도를 아연 영양상태평가에 더 많이 활용한다. 적혈구 내 MT 농도는 심각한 아연 결핍 및 경계성 아연 결핍 상태를 모두 반영하고 혈장 내 MT 농도와 달리 감염 및 스트레스에 영향을 받지 않기 때문에 좋은 지표로 여겨지나(Grider *et al.*, 1990), 좁은 범위의 아연 영양상태의 차이를 감지하는 데에는 한계가 있다.

이 외에도 중합효소 연쇄반응(polymerase reaction assay)를 이용하여 체내 아연 조절과 관련된 단백질 mRNA의 수준을 측정하여 아연 영양상태를 평가하는 방법에 대한 관심도 증가하고 있다. 대표적으로 reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)을 이용하여 아연 보충 및 제한 후 여러 조직에서의 MT mRNA 수준을 측정하는 방법이 이용되고 있다. 기존의 연구에서 lymphocytes MT mRNA 발현이 약한 아연 결핍에도 뚜렷하게 감소하고(Allan *et al.*, 2000), 아연 보충 후, monocyte 및 erythrocytes MT mRNA 수준이 지속적으로 증가하였다(Andree *et al.*, 2004, Saydam *et al.*, 2002). 또한, 정량적 RT-PCR을 이용한 lympholastoid cell의 ZnT와 Zip 아연 운반체 유전자의 발현도

잠재적인 아연 영양상태평가 지표로 관심을 받고 있다. Andree *et al.* (2004)의 연구에서, 27일간 22mg/d 아연 보충제 섭취 시, leukocyte Zip1 mRNA 수준이 17% 유의적으로 감소하여 Zip1을 식이 아연 섭취를 반영하는 잠재적인 아연 영양상태평가 지표로 제안하였다. 아연 운반체와 식이 아연 섭취와의 관계에 대해서는 다음 장 (2. 아연 운반체)에서 자세히 다루려 한다.

2. 아연 운반체

체내에는 두 종류의 아연 운반체 유전자군(gene family)인 ZnT (SLC30)와 Zip(SLC39)이 존재한다. Figure 2과 같이 ZnT family는 세포질 내 아연을 세포 외 또는 세포 내 소낭으로 이동시켜 세포 내 아연 농도를 낮추는 역할을 하고, Zip family는 ZnT와 반대로 세포 외 또는 세포 내 소낭의 아연을 세포질로 이동시켜 세포 내 아연 농도를 증가시키는 역할을 한다. 현재까지, 포유류에는 ZnT family는 10종, Zip family는 14종이 보고되었고, 체내 아연 영양 상태에 따라 아연 운반체 발현이 조절된다(Lichten and Cousins, 2009). 다음에서 각각의 아연 운반체의 특징 및 식이 아연을 비롯한 체내 아연 영양상태에 따른 아연 운반체 발현의 변화에 대해 살펴 보고자 한다.

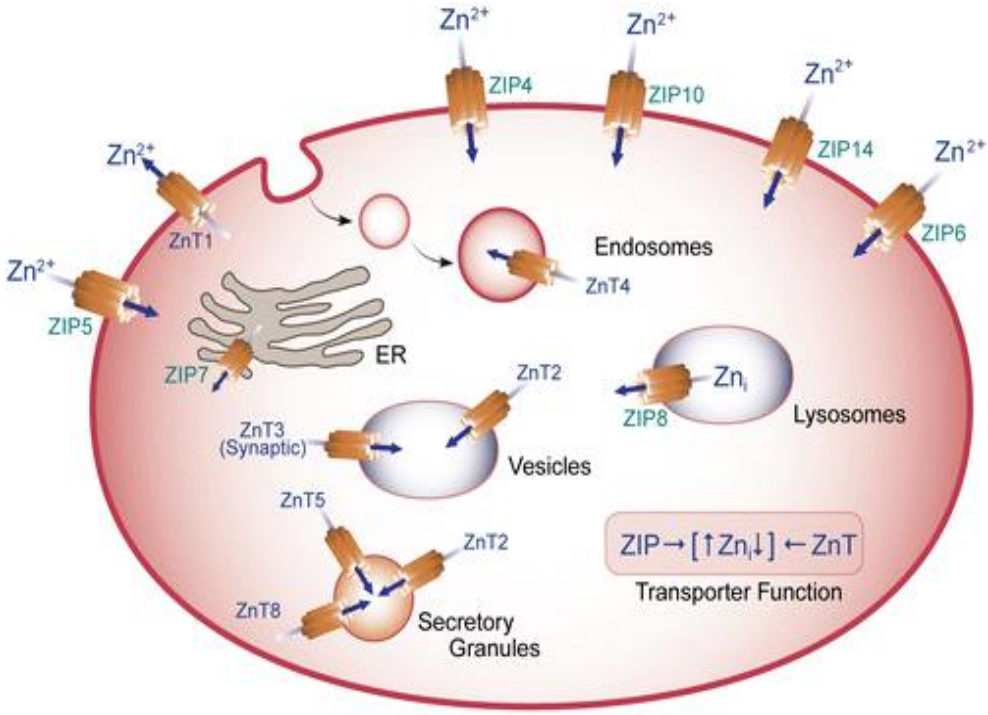


Figure 2. Generalized cell showing locations of zinc transporter

Source: LICHTEN, L.A. & COUSINS, R.J. 2009. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. Annu Rev Nutr, 29, 153-76.

2.1. ZnT family

ZnT family에는 총 10개의 아연 운반체가 존재한다(Lichten and Cousins, 2009). 각각의 체내 분포 및 아연 결핍 및 보충에 따른 ZnT gene family의 발현 변화를 Table 5에 나타내었다.

ZnT family 중 포유류에서 가장 먼저 발견된 것은 ZnT1으로 체내 여러 조직에 분포하는 데, 특히 소장과 같은 아연의 흡수, 재생 및 이동에 관련된 조직에서 높게 발현된다(Palmiter *et al.*, 1995, Kaplan *et al.*, 1998). ZnT1의 발현은 식이 아연에 영향을 받는 것으로 알려져 있다. in vitro 실험에서 ZnT1의 발현의 변화가 MT의 발현의 변화와 평행하게 가는 것을 확인하였고(Langmade *et al.*, 2000), MTF-1 knockout mice 에서 ZnT1 mRNA와 MT mRNA의 수준이 각각 4, 6배 유의적으로 감소하였다. 즉, ZnT1 유전자의 발현은 MT 유전자와 마찬가지로 MTF1에 의해 발현이 조절된다. 기존 동물(rat) 실험(Liuzzi *et al.*, 2001)에서 고 아연 식이(180mg Zn/kg)를 제공한 경우 소장을 포함한 신장, 간 등의 조직에서 ZnT1 유전자 발현이 증가였다. 사람의 leukemia 세포인 MOLT-4와 THP-1 세포에 15-30uM 아연을 처리한 경우, ZnT1 mRNA 수준이 12-20배 유의적으로 증가하였다(Overbeck *et al.*, 2008). 세포 실험뿐 아니라 인체 실험에서도 이러한 경향을 보였는데, 19-31세 젊은 건강한 남성(n=9)을 대상으로 하루에 15mg의 아연을 Zinc Sulfate ($ZnSO_4$)의 형태로 10일간 제공하며 leukocyte ZnT1 mRNA 수준을

측정한 결과, 아연 보충제 섭취 후 ZnT1 mRNA 수준이 2.5배 유의적으로 증가하였다(Aydemir *et al.*, 2006). 여러 기존의 연구를 통해 ZnT1은 식이 아연 섭취 수준을 잘 반영하는 아연 운반체로 여겨진다.

ZnT1과 달리, ZnT2는 소장, 간, 췌장 및 신장 등 제한된 조직에 분포하며 각 조직의 세포 소낭의 아연 축척을 촉진한다. 하지만, ZnT1과 마찬가지로 기존 동물(rat) 실험(Liuzzi *et al.*, 2001)에서 아연 결핍 식이(<1mg Zn/kg)를 제공한 경우 소장을 포함한 신장, 간 등의 조직에서 ZnT2 유전자 발현이 감소하였고, 고 아연 식이(180mg Zn/kg)를 제공한 경우 ZnT2 유전자 발현이 증가였다. 또한 소장, 신장, 간 조직에서는 ZnT1보다 ZnT2 유전자 발현 수준이 더 높은 것으로 나타났다. 하지만 아연 항상성 유지에 대한 ZnT2의 역할은 알려진 바가 없다(Lichten and Cousins, 2009).

ZnT3은 뇌 또는 고환 등에 분포하며 특히 쥐의 뇌 해마(hippocampus)와 피질(cortex) 및 소포체 소포체 막에 분포한다 (Palmiter *et al.*, 1996). 하지만, 아연 결핍 및 보충에 따른 ZnT3 유전자 발현의 변화는 보고된 바 없다. ZnT4의 소장의 상피 세포 등의 체내 여러 조직에 분포한다. 특히 세포 내 trans-Golgi network, endosome 및 기타 소낭 등에 분포한다(Liuzzi *et al.*, 2001, Murgia *et al.*, 1999). Murgia *et al.*(1999)의 연구에서 쥐 신장 세포 (rat normal kidney; NRK cell) 세포 외액의 아연 농도가 증가되면

ZnT4의 의한 trans-golgi network에서 세포질 내 소포체 부분으로의 아연 수송이 증가하는 것으로 나타났다(Lichten and Cousins, 2009). 하지만, 동물(rat) 실험(Liuzzi *et al.*, 2001)에서 아연 결핍 또는 고아연 식이를 제공하여 아연 섭취량을 달리하여도 소장, 신장, 간의 ZnT4 유전자 발현의 차이는 존재하지 않았다. 즉, ZnT4는 식이 아연 섭취의 변화에 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

ZnT5는 체내 여러 조직에 분포하나, 특히 췌장 β-세포의 secretary granules 에서 ZnT5 유전자 발현이 가장 높은 것으로 알려져 있다(Kambe *et al.*, 2002). 실제로 ZnT5 knockout mice가 대조군에 비해 췌장 β-세포의 기능 이상으로 지방 조직이 적은 것으로 나타났다(Palmiter *et al.*, 2004). ZnT5는 세포 내에서는 골지 소포체 또는 plasma membrane에 존재하는 것으로 알려져 있다. 소장 세포인 Caco-2 cell에서는 ZnT5가 주로 상피 세포막(apical membrane)에 존재한다(Cragg *et al.*, 2002, Cragg *et al.*, 2005). 소장 세포 상피 세포막에 존재하는 ZnT5는 아연에 의해 발현이 증가 또는 감소한다. Caco-2 cell에 7일 동안 100uM $ZnSo_4$ 처리 시 ZnT5 mRNA 수준이 2배 증가하였다(Cragg *et al.*, 2002). 그러나 더 높은 농도인 200uM의 아연을 처리한 경우 오히려 ZnT5 mRNA수준이 감소하였다. 또한 ZnT6는 ZnT5와 관련성이 높은 것으로 알려져 있다. ZnT6는 간, 뇌, 신장 및 소장에 분포하며 ZnT5와 거의 같은 조직에 분포하는 것으로 알려져 있다. 특이한 점은 ZnT5는 ZnT6와 복합체를

형성하여 아연 이동에 관여하는 것으로 보인다. 두 아연 운반체 모두 포유류 세포의 trans-golgi network(TGN)에 위치하는 것으로 알려졌다(Huang *et al.*, 2002, Kambe *et al.*, 2002).

ZnT7는 간, 신장, 비장, 심장, 뇌, 소장, 폐 등 쥐(mice)의 다양한 조직 내에 분포하는 것으로 알려져 있다. 이 중 소장과 간에서의 발현이 가장 높고 뇌에서의 발현이 가장 낮다. 또한 golgi apparatus에 위치하여 golgi apparatus 안으로 아연이 축적되는 것을 돕는다(Kirschke *et al.*, 2003). 또한 ZnT7 knockout mice를 이용한 실험에서 ZnT7 결핍 쥐가 전체적인 성장이 더디고 체지방률이 낮음을 확인하였다. 따라서 이러한 결과를 토대로 ZnT7은 다른 아연 운반체와 달리 체구성 조절에 관여하는 것으로 보인다(Huang *et al.*, 2007).

ZnT8의 경우 췌장β-세포 및 간 조직 내 세포 소낭에 존재하여 세포질에서 세포 소낭으로 아연의 이동을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Chimienti *et al.*, 2004). ZnT9는 체내 여러 조직 내 세포질 및 핵에 존재하며, ZnT10은 태아의 뇌와 간에 존재한다. ZnT10은 태아가 발달하는 동안 아연 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 보이나, 그 기능에 대한 연구는 수행된 적이 없다. 그리고 이 세 종류의 아연 운반체를 대상으로 아연 결핍 및 보충에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다.

Table 5. Tissue distribution and Regulation of ZnT

	Tissue distribution	Author (year)	Study	Regulation
ZnT1	Ubiquitous -plasma membrane, vesicles, basolateral side	Langmade *et al.* (2000)	in vitro	▲ZS in Hepa cell
		Kelleher *et al.* (2003)		▲ ZS in HC11 cell
		Overbeck *et al.* (2008)		▲ ZS in MOLT-4, THP-1
		Liuzzi *et al.* (2001)	in vivo	▲ ZS in the small intestine, liver & kidney of rats
				- ZD in the small intestine, liver & kidney of rats
		Andree *et al.* (2002)		- ZS in leukocyte of human
		Aydemir *et al.* (2006)		▲ ZS in leukocyte of human
ZnT2	Widespread(small intestine, kidney, liver, pancreas) - endosomal/lysosomal vesicles	Liuzzi *et al.* (2001)	in vivo	▲ ZS in the small intestine, liver & kidney of rats
		Liuzzi *et al.* (2004)		▼ ZD in the small intestin and pancreas of mice
ZnT3	Brain, testis-synatic vesicles	Palmiter *et al.* (1996)	in vivo	- ZD in the mouse thymus
ZnT4	Ubiquitous (intestine, liver, kidney) - plasma membrane, trnas-Golgi network, vesicles)	Liuzzi *et al.* (2001)	in vivo	- ZS in the small intestine, liver & kidney of rats
				- ZD in the small intestine, liver & kidney of rats
ZnT5	Ubiquitous-secretory granules in pancreatic β-cells	Cragg *et al.* (2002)	in vitro	▲ ZS in Caco-2 cell
		Cousins *et al.* (2003)		▼ ZD in THP-1
		Kambe *et al.* (2002)		▲ ZS in HeLa cell
ZnT6	Widespread (liver, small intestine, kidney, spleen, brain) - trans-Golgi network	Cousins *et al.* (2003)	in vitro	▼ ZS& ZD in THP-1
ZnT7	Widespread (liver, small intestine, kidney, spleen, brain) - trans-Golgi network	Cousins *et al.* (2003)	in vitro	▲ ZS in THP-1
				▼ ZD in THP-1
ZnT8	Pancreatic β-cells, liver – vesicles			-
ZnT9	Ubiquitous – cytoplasm & nucleus			-

▲ increase the level of mRNA, ▼ decrease the level of mRNA, - no influence
ZS, zinc supplementation, ZD, zinc depletion

32

2.2. Zip family

Zip family에는 총 14개의 아연 운반체가 존재한다(Lichten and Cousins, 2009). 각각의 체내 분포 및 아연 결핍 및 보충에 따른 Zip family의 발현 변화를 Table 6에 나타내었다.

Zip1은 여러 다양한 조직 및 다양한 형태의 세포에 분포한다. 적백혈병 세포(K562 cell)에서 Zip1은 plasma membrane에 존재하며 아연의 흡수에 관여한다. 사람 급성 단핵구성 백혈병 세포(THP-1)에서 아연 처리 후 Zip1 유전자 발현이 감소하였고, 반대로 TPEN[N,N,N9,N9-tetrakis(2-pyridylmethyl) ethylenediamine]을 처리하여 아연 고갈 상태가 된 후에는 Zip 1 유전자 발현이 증가하는 것으로 나타났다(Gaither *et al.*, 2001). 20-24세 젊은 여성(n=15)과 64-75세 노인 여성(n=10)을 대상으로 27일간 zinc gluconate 형태로 하루에 22mg 아연을 보충한 결과, leukocyte Zip1 유전자 발현이 각각 17%, 21% 유의적으로 감소하였다 (Andree *et al.*, 2002). Zip2는 Zip1과 같이 소장, 간 및 leukocyte와 같은 혈액 세포에 주로 분포하며 TPEN 처리하여 아연 고갈 상태가 된 급성 단핵구성 백혈병 세포인 THP-1 cell에서 Zip2 유전자 발현이 유의적으로 증가하였다(Cao *et al.*, 2001). Zip3은 골수 및 비장에 분포하는 것으로 알려져 있으며 THP-1 cell에서 TPEN 처리하여 아연 고갈 상태가 된 후, Zip3 mRNA수준이 증가하였다(Lichten and Cousins,

2009). 또한 19-31세 젊은 건강한 남성을 대상으로 zinc sulfate($ZnSO_4$)의 형태로 하루에 15mg의 아연을 10일간 제공하며 leukocyte Zip3 mRNA 수준을 관찰한 결과, 제공 후 Zip3 mRNA 수준이 2배 이상 유의적으로 감소하였다(Aydemir *et al.*, 2006).

Zip4은 아연의 흡수 및 재흡수와 관련된 장기인 소장, 위, 대장 및 신장에 분포한다. 아연 결핍 쥐의 소장 상피 세포에서 Zip4의 발현이 증가하는 것을 관찰하였다(Dufner-Beattie *et al.*, 2003). Zip5는 Zip4와 매우 유사한 것으로 알려져 있다. 유전자 서열이 84% 정도 일치하는 것으로 보고되었다(Wang *et al.*, 2002). Zip4와 마찬가지로 소장 및 대장을 비롯한 간, 소장, 췌장 등에서 발현된다. 하지만 Zip4와 달리, 아연을 적절한 양을 섭취한 쥐(mice)에서 소장 기저 세포막(basolateral membrane)에서 발현되며, 아연 결핍 시 표면에서 제거되어 세포 내부로 이동하는 것으로 보인다(Dufner-Beattie *et al.*, 2004). 따라서 Zip5는 Zip4와 반대 방향을 작용하며, 체내 아연 상태를 장 점막에 전달하는 역할을 하는 것으로 보여진다(Wang *et al.*, 2004).

Zip6은 유방암 세포인 MCF-7과 ZR-75 cell에서 에스트로겐 호르몬에 의해 발현이 조절 됨을 확인하였다(Manning *et al.*, 1988). 따라서 스테로이드 호르몬에 민감한 세포인 자궁, 유선 및 전립선 등에 분포하며, 주로 세포막에서 아연을 세포 내로 이동시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Taylor *et al.*, 2003). 식이 아연 섭취와의

관련성에 대한 연구는 보고된 바 없으나, Zip6가 면역 반응에 따른 아연 항상성 유지에 관여하는 것으로 보인다(Kitamura *et al.*, 2006).

Zip7은 여러 조직에 분포하며 세포 내 아연 농도를 증가시키는 역할을 한다. 하지만 Zip7은 plasma membrane이 아닌, golgi apparatus에 분포하여 소낭 내 아연을 세포질로 이동시키는 역할을 하는 것으로 보여진다(Taylor *et al.*, 2007). 또한 전립선 상피 세포인 RWPE-1 cell에 75μM $ZnSO_4$ 처리 후 Zip7의 유전자 및 단백질 수준을 측정한 결과, Zip7의 유전자 발현에는 변화가 없었으나, 단백질 수준은 감소하는 경향을 보였다(Huang *et al.*, 2005).

Zip8은 주로 폐, 신장, 간, 뇌, 소장 등 여러 조직에서 발현되며, 식이 아연 섭취와의 관련성에 대한 연구는 미비하나, LPS나 TNFα와 같은 염증 반응 매개체에 의해 발현이 촉진되는 것으로 보고되고 있다(Begum *et al.*, 2002). Zip10의 경우는 MTF-1에 의해 발현이 촉진되는 ZnT1과 달리, MTF-1에 의해 발현이 억제되는 것으로 알려져 있다(Wimmer *et al.*, 2005). 즉 아연 결핍 시 Zip10의 발현이 증가 될 것으로 보여지나 이에 대한 연구가 미비한 실정이다.

Table 6. Tissue distribution and Regulation of Zip

	Tissue distribution	Author (year)	Study	Regulation
Zip1	Widespread (intestines, blood cells, liver) - plasma membrane	Gaither *et al.* (2001)	in vitro	▼ ZS in THP-1 cell ▲ ZD in THP-1 cell
		Andree *et al.* (2004)	in vivo	▼ ZS in leukocyte of human
Zip2	Widespread (intestines, blood cells, liver)	Cao *et al.* (2001)	in vitro	▲ ZD in THP-1 cell
Zip3	Bone marrow & spleen	Lichten *et al.* (2009)	in vitro	▼ ZD in THP-1 cell
		Aydemir *et al.* (2006)	in vivo	▼ ZS in leukocyte of human
Zip4	Small intestine, kidney - apical membrane	Dufner-Beattie *et al.* (2004)	in vivo	▲ ZD in small intestine ▼ ZS in small intestine
Zip5	Intestine, pancreatic cells - basolateral membrane			-
Zip6	Breast cancers, prostate, brain, testis			-
Zip7	Widespread - Golgi apparatus	Taylor *et al.* (2007)	in vitro	- ZS in RWPE-1
Zip8	Widespread (lung, kidney, pancreatic β-cell) - plasma membrane, cytoplasm			-

▲ increase the level of mRNA, ▼ decrease the level of mRNA, - no influence
ZS, zinc supplementation, ZD, zinc depletion

위의 결과를 통해 ZnT family 중 유전자 발현과 아연 보충 및 결핍 간의 유의적인 관계가 있는 것은 ZnT1, ZnT2, ZnT5, ZnT6, ZnT7이다. 하지만 ZnT5, ZnT6, ZnT7의 경우 in vitro 실험만 진행되어 in vivo 실험이 필요한 것으로 보인다. 가장 활발히 연구가 진행된 ZnT1의 경우도 인체 실험에서 아연 보충 양과 기간에 따라 결과가 다르게 나왔다. 따라서 이에 대한 추후 연구가 필요한 것으로 보인다. Zip family 중 유전자 발현과 아연 보충 및 결핍 간의 유의적인 관계가 있는 것은 Zip1-Zip5로 나타났다. 하지만, Zip1과 Zip3을 제외하고는 주로 in vitro 실험만 진행되어 동물 또는 인체 실험에도 이와 같은 관계를 확인할 필요가 있다.

3. 아연 영양상태와 짠맛 인지

아연 결핍은 미각의 손상을 초래하는 것으로 알려져 있다. 아연은 타액에 존재하는 아연 금속 단백질(metalloprotein)인 gustin (carbonic anhydrase VI)의 효소적 활성에 필수적인 성분이다. 타액 gustin의 분비 감소는 미각과 후각의 기능 저하 및 손상과 관련이 있다. 따라서 아연 결핍 시, 타액 gustin의 분비가 억제 되고, 효소 활성에 문제가 생겨 맛 감지 능력이 감소하게 된다(Henkin *et al.*, 1999).

기존의 아연 영양상태 및 짠맛 인지와의 관계에 대한 연구를 Table 7에 나타내었다. 기존 연구(Wright *et al.*, 1981)에서 5명의 21-30세 젊은 남성에게 아연 결핍 식이(0.25mg Zn/day)섭취 후, 쓴맛에 대한 감지는 변화 없었으나, 짠맛에 대한 감지가 유의적으로 낮아짐을 확인하였다. 55-90세 유럽지역 성인 385명을 대상으로 한 연구에서 적혈구 아연 농도와 짠맛 인지 사이에 유의적인 양의 관계를 가짐을 확인하였다(Stewart-Knox *et al.*, 2005). 또한, 미각 기능이 둔화된 70-87세 노인을 대상으로 한 연구에서(Stewart-Knox *et al.*, 2008), 아연 보충제 섭취(30mg Zn/day) 후, 짠맛에 대한 인지가 증가하였다. 그에 반면 아연 보충제 섭취 후, 단맛, 신맛, 쓴맛에 대한 인지의 변화는 나타나지 않았다. 미각 이상 환자(Takeda *et al.*, 2004, Yamagata *et al.*, 2003)를 대상으로 한 연구에서도, 아연 보충제 섭취 후 맛 인지 능력이 향상되는 경향을 보였다. 젊은 성인을 대상으로 짠맛 인지와 아연의 영양상태의 관계에 대해 본 연구는 많지 않으나,

McDaid *et al.*(2007) 연구에서 26명의 20-40세 여자 성인의 식이 아연 섭취와 짠맛 인지 간의 유의적인 양의 관계를 보였다. 이런 관계가 남자 성인에서는 나타나지 않는 것으로 보고하였다.

또한, 영양 불량 상태인 개발 도상국 아이들의 아연 영양상태와 짠맛 역치에 관계에 대한 연구도 보고된 바 있는데, 162명의 평균 월령이 81.5±7.0 과테말라 아이들을 대상으로 한 연구에서 머리카락 아연 농도가 낮은 아이들(< 1.68 μmol/g)의 짠맛 감지 역치의 중위수가 8.75 mmol, 머리카락 아연 농도가 높은 아이들(≥ 1.68 μmol/g)의 짠맛 감지 역치의 중위수는 3.75 mmol로 아연 상태가 좋지 않은 아이들의 짠맛 감지 역치가 유의적으로 높았다(Cavan *et al.*, 1993).

한국인을 대상으로 한 아연영양상태가 짠맛에 미치는 영향에 대한 연구는 Yoon *et al.* (2000) 연구가 거의 유일한 듯하다. Yoon *et al.*(2000)의 연구에서 노년기 여성(71.3±7.7세, n=59)과 여대생(22.3±2.8세, n=59)의 아연 영양상태를 비교하고 그에 따른 미각 기능의 차이를 보았다. 짠맛에 대한 인지는 노인기 및 청년기 여성 모두에게서 아연 섭취량이 높을수록, 맛이 감지 농도 즉 역치가 낮아짐을 관찰하였다. 그러나, 이외 한국인의 영양상태와 짠맛 인지에 대한 연구는 거의 없고, 또한 건강한 젊은 성인을 대상으로 아연영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향에 대해 본 연구는 전무하다.

Table 7. Studies on association between zinc status and salty taste acuity

Author	Subjects	Result
Wright *et al.* (1981)	· 5 young men aged 21-30 yr	· The intensity ratings NaCl solutions were significantly lower during zinc depletion (0.25 mg Zn/day) · Bitterness perception was not altered with zinc depletion
Cavan *et al.* (1993)	· 162 Guatemalan children aged 81.5±7.0 mo	· Median of recognition thresholds for salt in those children with hair zinc < 1.68 μ mol/g was higher ($p < 0.05$) than those of their counterparts with hair zinc ≥ 1.68 μ mol/g
Yoon *et al.* (2000)	· 59 old women aged 71.3±7.7 yr & 59 young women aged 22.3±2.8 yr	· The lower the taste thresholds for salty taste, the higher the average dietary zinc intake in old and young women
Yamagata *et al.* (2003)	· 12 patients with taste disorder aged 61.3 yr	· Although there was no significant correlation, the increase in taste thresholds was detected in many patients after chemotherapy with an intravenous drip infusion including zinc
Stewart-Knox *et al.* (2005)	· 385 older European adults aged 55-90 yr	· Erythrocyte zinc status was positively associated with salty acuity (p=0.012)
McDaid *et al.* (2007)	· 50 young adults aged 20-40 yr	· Higher dietary zinc intake was associated with better salty taste acuity in female (p=0.017)
Stewart-Knox *et al.* (2008)	· 199 healthy older adults aged 70-87 yr	· Salt taste acuity was greater in response to Zn (30 mg) than placebo post-intervention · There was no apparent change in acuity for sweet, sour or bitter taste in response to Zn

4. αENaC 유전자 다형성과 짠맛 인지

최근 유전적 기술의 발전과 함께 맛 수용체 유전자 다형성이 맛 인지와 관련이 있는 것으로 보고되고 있다. 특히 사람에서의 쓴맛과 단맛에 대한 연구는 많이 보고 되고 있는데, Kim *et al.*(2003)의 연구에서 쓴맛 수용체인 T2R 단백질 해당 유전자인 taste 2 receptor 38(*TAS2R38*)의 유전적 변이가 phenylthiocarbamide(PTC)와 같은 쓴맛 물질에 대한 감지 인지에 영향을 주는 것이 확인되었다. 또한 T1R2와 T1R3 heterodimer 단백질이 주로 단맛 수용체의 역할을 담당하는데, 해당 유전자인 TAS1R2와 TAS1R3의 변이가 설탕 섭취 및 서당(sucrose)에 대한 맛 감지와 관련성이 높은 것으로 보고되었다 (Fushan *et al.*, 2009, Eny *et al.*, 2010).

짠맛의 경우는 epithelial sodium channel(ENaC)가 영향을 줄 것으로 보고되고 있다(Shigemura *et al.*, 2008, Chandrashekar *et al.*, 2010). ENaC는 포유류에서 신장뿐 아니라 미뢰 세포에서도 발현도가 높은 sodium-specific salt taste receptor로 알려져 있다. ENaC는 α-, β-, γ- 의 세 가지 subunit이 존재하며, 특히 미뢰세포 내에 α- subunit이 가장 많이 발현되는 것으로 알려져 있다(DeSimone *et al.*, 2006). 여러 포유류들에 대한 연구에서, 이뇨제인 amiloride가 ENaC 차단제로 작용하며 amiloride에 의해 ENaC 작용이 차단되면 미각세포 내 나트륨의 이동을 바꾸고, 염화 나트륨에 대한 맛 감지를 억제하는 것으로 보고되고 있다(Hellekant *et al.*, 1991, Henkin *et al.*,

1999, Lin *et al.*, 1999). Xenopus oocytes를 이용한 연구에서 ENaC의 발현이 나트륨 이동을 증진시키는 것으로 나타났다(Stähler *et al.*, 2008). 기존의 동물(mice) 실험(Shigemura *et al.*, 2008)에서 짠맛에 대한 반응이 ENaC α-subunit의 유전적 변이에 따라 달라짐을 확인하였다. 하지만 사람에서의 αENaC 유전자 다형성이 짠맛에 미치는 영향에 대해 본 연구는 전무한 실정이다.

ENaC 유전자 다형성으로 가장 처음 알려진 것은 βENaC C-말단의 T594M으로 주로 흑인에게서만 나타난다(Baker *et al.*, 1998). βENaC 의 세포 외 loop에서 G442V 유전적 변이도 발견되었으나 역시 흑인에서만 유전적 다형성이 보고되었다(Persu *et al.*, 1998). 모든 인종에서 유전적 변이가 나타나는 것은 ENaC α-subunit COOH 말단에 존재하는 αENaC A663T 유전자이다. 흑인, 백인 뿐 아니라 아시아인에게도 모두 유전적 변이가 발견되었다(Ambrosius *et al.*, 1999, Sugiyama *et al.*, 2001, Wang *et al.*, 2008) (Figure 3). αENaC A663 allele의 빈도는 백인은 30%, 흑인은 15%, 일본인의 경우는 58~64%, 중국인의 경우는 40~43% 정도이다. 하지만 아직까지 한국인을 대상으로 αENaC A663T 유전자 다형성을 분석한 연구는 보고된 바 없다.

αENaC A663T 유전자형이 ENaC의 활성에 관여하는 것으로 보고되고 있다. 특히, wild-type인 αA663-ENaC에 비교하여 mutant-type인 αT663-ENaC가 존재하는 경우, ENaC의 표면 발현이

증가되고, 나트륨의 흐름을 유의적으로 높이는 것으로 보고되었다. 즉 αENaC T663 allele 보유한 사람이 αENaC AA homozygotes 보유한 사람보다 높은 ENaC 활성을 가지는 것으로 보인다(Samaha *et al.*, 2004, Yan *et al.*, 2006, Tong *et al.*, 2006). 기존 연구(Ambrosius *et al.*, 1999, Sugiyama *et al.*, 2001)에서, 이러한 αENaC A663T 유전적 변이가 고혈압과 관련이 깊은 것으로 알려져 있으나 αENaC A663T유전자 다형성이 짠맛 인지에 미치는 영향에 대한 연구는 진행된 바 없다.

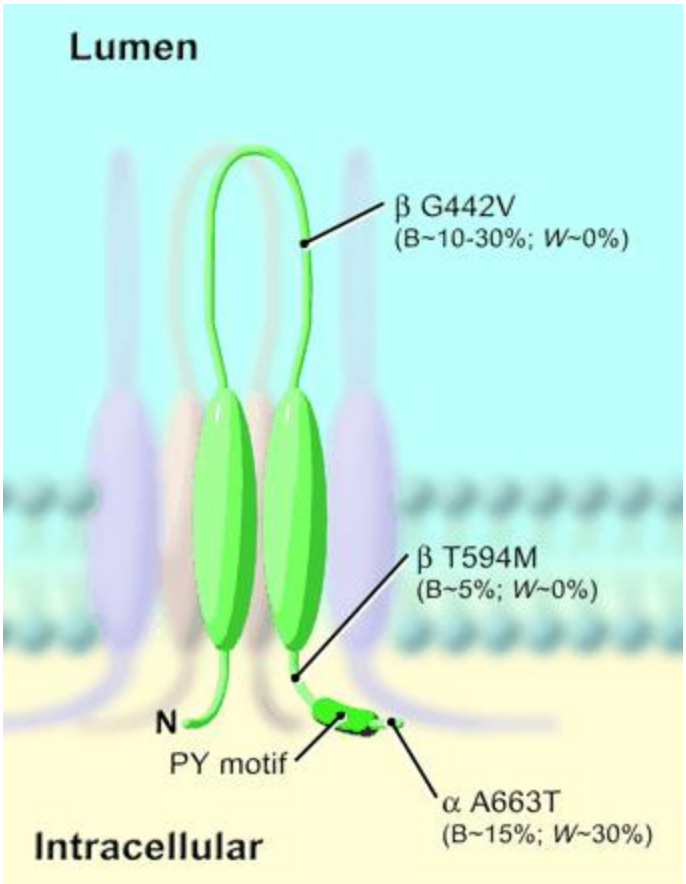


Figure 3. The locations along the subunits of representative molecular variants

Allele frequencies are in brackets; B, black; W, white.

Source: Pratt, J. H. (2005). Central role for ENaC in development of hypertension. *J Am Soc Nephrol,* 16, 3154-9.

5. 한국인의 아연 영양상태

한국인의 지난 10년간의 식이 아연 섭취 실태를 살펴보면, 2000~2001년 건강 증진 프로젝트 자료에서 추출한 경북지역 시골, 도시(안동) 및 대도시(대구) 성인 남녀의 평균 아연 섭취량은 각각 6.5±3.7, 7.3±4.4, 11.4±3.1 mg로 지역별 유의적인 차이가 존재하였다. 그 당시 한국인 일일 권장량(Recommended Daily Allowance, RDA) 대비 54, 62, 95%에 해당하는 섭취량이다(Lee *et al.*, 2004b). 또한 2004년 한국 경기도 지역 농촌(여주군 대신면), 도시(수원시) 지역별 성인의 아연 영양상태를 살펴 본 결과에 따르면(Choi *et al.*, 2005), 전체 대상자의 아연 평균 아연 섭취량은 7.9±3.8mg이었고, 일일 권장량(RDA) 대비 섭취비율은 73.1±33.9%로 낮았으나 지역별 차이는 존재하지 않았다. 그러나, 아연 권장 섭취량 대비 75% 미만으로 섭취하는 대상자의 비율은 전체적으로 63.8%이었고, 도시에서는 67.5% 농촌에서는 54.7%로 농촌 지역 사람들 보다 도시 지역 사람들 중 75% 미만 섭취 비율이 유의적으로 높았다. 또한 다른 미량영양소인 인, 철에 비해 권장량 대비 적게 섭취하는 비율이 높은 편이었다. 2007년 국민건강영양조사 자료를 이용한 Shim *et al.*(2009)의 연구, 20대 이상 남성의 아연 섭취량은 7.9~11.2mg/d로, 65-74세 남성과 75세 이상 남성의 아연 섭취량이 권장 섭취량 대비 98.9%, 98.8%로 다른 연령대에 비해 조금 낮은 편이었다. 20대 이상 여성의 아연 섭취량은 5.4~7.7mg/d로

남성에 비해 여성의 아연 섭취량이 전체적으로 낮았으며, 여자 성인의 평균 섭취량은 모든 연령대에서 아연 권장 섭취량 대비 77.1~98.8%로 적게 섭취하는 것으로 나타났다. 가장 최근 연구인 2008년 말부터 2011년 초까지 서울, 충북 및 강원지역 내 각 1개 대학교에서 총 644명 여대생(19-29세)를 대상으로 식이 조사를 한 결과(Bae *et al.*, 2012), 평균 식이 아연 섭취는 12.8mg으로 한국인 권장 섭취량(Recommended Nutrient intake; RNI)대비 157.7%에 해당하였고, 한국인 평균 필요량(EAR) 미만으로 섭취하는 비율은 10.1% 정도였다. 전반적으로 지난 10년간 한국인의 식이 아연 섭취량이 증가되는 경향은 보이고 있으나, 한국인 식이 아연 섭취량을 대표 할 수 있는 연구가 많지 않아 정확하게 아연 섭취량의 변화를 추정하기는 어려운 실정이다.

한국인 아연 주요 급원 식품을 살펴보면, 1995년 국민건강영양조사 자료를 분석한 결과(Kwun *et al.*, 2000)에 따르면 아연 주요 급원 식품이 곡류, 감자 및 서류 및 콩류 등 주로 식물성 식품 위주로 섭취했었다 하지만, 2004년 한국 농촌, 도시 지역 성인의(Choi *et al.*, 2005)의 아연 주요 급원 식품은 쌀밥, 돼지고기, 소고기, 강낭콩, 팥, 개고기, 닭고기, 우럭, 두부 등의 순으로 나타났고, 2008~2011년까지 조사된 한국 성인 여성(Bae *et al.*, 2012)의 아연 주요 급원 식품 역시, 쌀밥, 소고기, 잡곡, 돼지고기, 난류 등의 순으로 과거에 비해 2000년대 들어오면서 동물성 식품으로부터의 아연 섭취가 증가한 것을

볼 수 있었다. 하지만, Choi *et al.*(2005)와 Bae *et al.*(2012)의 연구 모두에서 아연 주요 급원 식품 1위는 쌀밥이었고, 총 아연 섭취량 대비 쌀밥으로부터 섭취하는 아연의 비율은 각각 35.9%와 54.0%이고 그 외 다른 식품으로부터 섭취하는 아연은 10% 미만으로 동물성 식품으로부터 섭취하는 아연의 비율이 증가하였다고는 하나 그 양은 아직까지 미비하다.

앞에서 언급했듯이 식물성 식품에는 피틴산과 같은 식이 섬유소가 아연의 장내 흡수를 방해하는 성분이 있어 이용 가능한 식이 아연 (available zinc) 섭취량이 낮춘다. 따라서 아연의 생체 이용률을 고려하기 위하여 한국인의 피틴산-아연 몰 비율을 살펴보면, 지난 30년 간 (1969년-1998년) 피틴산-아연 몰 비율이 도시 지역에서는 21.3에서 7.6으로 감소하였고, 농촌 지역에서는 21.1에서 9.7로 감소하였다(Do *et al.*, 2007). WHO(1996)기준으로 살펴보면, 한국인의 식사가 1960-70년대에는 아연 생체 이용률이 낮은 식사 패턴이었다면 8-90년대에 들어서면서 아연 생체 이용률이 중간 정도의 식사 패턴으로 변화되었다고 할 수 있겠다. 하지만 최근 한국인의 전반적인 식이 아연 및 피틴산-아연 몰 비율을 고려한 식이 아연 섭취 상태를 본 연구는 찾기 어렵다. 따라서 이에 대한 연구도 더 활발히 진행되어야 하겠다.

혈청 아연 지표를 통한 한국인의 아연 영양상태를 살펴보면, 도시 지역의 여대생을 대상으로 한 연구에서(Kim *et al.*, 1999, Son *et al.*,

1999), 평균 혈청 아연 농도는 각각 11.8 μmol/L, 14.8 μmol/L였다. 혈청 아연의 기준치인 10.7 μmol/L(Gibson *et al.*, 2008)미만인 대상자는 각각 22.9%, 2.7%로 두 연구의 편차가 큰 것을 볼 수 있다. 2000~2001년 건강 증진 프로젝트 자료에서 추출한 경북지역 시골, 도시(안동) 및 대도시(대구) 성인 남녀의 평균 혈장 아연 농도는 12.4~18.3 μmol/L로 기준치를 상회하였다(Lee *et al.*, 2004b). 하지만 최근 데이터가 없어 최근 한국인의 혈청 아연 수준을 통한 아연 영양상태에 대한 동향은 알 수 없다.

이 외 RT-PCR 분석을 이용하여 체내 아연 조절과 관련된 단백질 유전자 발현 수준을 통한 한국인의 아연 영양상태 평가에 대한 연구는 많지 않다. 50-80세 성인 남녀 110명을 대상으로 한 연구에서 mononuclear cell MT와 아연 영양상태와의 관계를 본 결과, MT 유전자 발현과 혈장 아연이 유의적인 음의 관계를 갖는 것으로 나타났다(Kwon *et al.*, 2007). 또한 몇몇 연구에서 아연 보충제 섭취 후 관련 유전자 발현 수준의 변화를 살펴보았다. Andree *et al.* (2004)의 연구에서 20-24세 젊은 여성(n=15), 64-75세 노인 여성(n=10)을 대상으로 zinc gluconate 형태로 하루 22mg 아연을 28일간 제공한 후 leukocyte ZnT1과 Zip1 유전자 발현을 살펴본 결과, 젊은 여성 및 노인 여성에서 모두 leukocyte Zip1의 발현이 17~21% 유의적으로 감소하였다. Lee *et al.*(2004a)의 연구에서는 19-24세 남녀 성인(남 n=2, 여 n=3)을 대상으로 zinc gluconate

형태로 하루 50mg 아연을 14일간 제공한 후 mononuclear cell의 MT 유전자 발현을 살펴본 결과, MT의 발현이 아연 보충제 섭취 후 4.7배 유의적으로 증가하였다.

6. 비만인의 아연 영양상태

비만은 비정상적으로 체지방 조직이 축적되는 것을 말하며 세계 주요 보건 문제 중에 하나이다. 지난 10년간 약 1억 2천명에 가까운 사람들에게서 비만 관련 질병이 발병되었다(WHO, 2000b). 2010년 국민건강통계(KCDC, 2011)에 따르면, 우리나라 19세 이상 여자 성인의 경우 1998년에서 2010년까지 비만 유병률이 약 25.1%에서 24.8%로 큰 변화 없이 유지되는 수준이었으나, 남자 성인의 비만 유병률은 25.1%에서 36.2%로 약 10% 이상 증가하였다. 비만은 이상지혈증 및 공복 혈당 장애 등을 동반하며, 더 나아가 그로 인한 심혈관계질환, 당뇨, 고혈압 및 암 등 전체적인 질병의 발생 위험 증가에 기여한다(Caterson *et al.*, 2004, Salvetti *et al.*, 2008, Torgerson *et al.*, 2002). 또한 최근 여러 연구에서 비만이 아연을 포함한 미량 영양소 결핍을 동반하는 것으로 나타났다(Ennes Dourado Ferro *et al.*, 2011, Garcia *et al.*, 2009, Kimmons *et al.*, 2006).

실험 동물 및 사람을 대상으로 한 여러 연구에서 체내 아연 상태와 비만과의 관련성에 대해 연구해 왔다(Table 8). 고지방 식이 또는 고서당(sucrose) 식이를 통해 비만을 유도한 동물 모델(mice)에서 대조군에 비해 혈중 아연 농도 및 지방 세포 아연 농도가 유의적으로 낮았고, 아연 보충으로 인해 지방 조직이 감소하는 것으로 나타났다 (Chen *et al.*, 1996, Tallman *et al.*, 2003, Chen *et al.*, 2000a). Padmavathi *et al.*(2009)의 연구에서는 아연 결핍식을 먹인 어미

쥐(rat)에서 태어난 새끼 쥐의 체지방 비율이 증가하였고, 제지방(lean body mass)는 감소하였다.

아이들을 대상으로 한 연구에서 아연 영양상태가 체구성과 관련이 깊은 것으로 나타났다(Table 9). 과테말라의 평균 월령이 81.5 개월인 남녀 아이들을 총 162명(남자 89명, 여자 73명)을 대상으로 한 연구에서(Cavan *et al.*, 1993) 머리카락 아연 농도에 따라 두 그룹으로 나누었을 때, 머리카락 아연 농도가 낮은 그룹(<1.68 μmol/g)이 높은 그룹에 비해 신장 대비 체중(weight-for-height)에 대한 Z score가 유의적으로 높았다. 뉴질랜드의 건강한 11세 아이들 총 520명을 대상으로 한 연구에서도 머리카락 아연 농도가 낮은 그룹(<2.44 μmol/g)이 아이들이 높은 그룹 아이들보다 유의적으로 체중이 더 무겁고, 상완 지방 면적(mid-upper-arm fat area)가 넓은 것으로 나타났다(Gibson *et al.*, 2000). 브라질의 7-14세 비만 아이들과 정상 체중 아이들을 비교한 연구에서, 혈장 및 적혈구 내 아연 농도가 비만군에서 유의적으로 낮았다(Marreiro *et al.*, 2004). 즉 체내 아연 상태는 아이들의 체지방 및 체중과 유의적인 음의 관계를 가지는 것으로 보인다. 하지만 72명의 18-36개월 된 칠레의 비만 아이들을 대상으로 한 연구에서는 혈장 아연 농도와 체구성 간의 유의적인 관계가 나타나지 않았다(Weisstaub *et al.*, 2007).

성인을 대상으로 한 연구에서도 이와 같은 관계가 동일하게 나타났다(Table 9). 인도의 25-64세 남자 성인 850명을 대상으로 한

연구(Singh *et al.*, 1998)에서 아연 결핍이 체지방 비율 증가 및 복부 비만의 위험 요인으로 나타났다. 또한 과체중 또는 비만 남녀 성인의 혈청 또는 적혈구 내 아연 농도 및 CuZn-SOD 활성이 정상 체중 성인에 비해 유의적으로 낮은 것으로 보고되었다(Ennes Dourado Ferro *et al.*, 2011, Ozata *et al.*, 2002, Tungtrongchitr *et al.*, 2003).

비만인에서 아연 결핍이 나타나는 원인은 특정 조직 내에 아연이 '감금(sequestration)' 되어 있기 때문으로 알려져 있다 (Begin-Heick *et al.*, 1985). 아연은 조직 내에서 MT와 결합되어 있다. MT는 아연에 의해서도 합성이 증가되나 corticoid 호르몬에 의해서도 합성이 증가된다. 일반적으로 비만에서 이 호르몬의 분비가 증가되어 조직 내 MT의 합성도 촉진된다. 따라서 비만에서 조직으로의 아연 흡수가 증가되는 반면 혈청 아연 농도는 감소된다.

이러한 비만에서의 체내 아연 상태의 변화가 아연 운반체 발현의 변화를 가져 올 것으로 보이나 이에 대한 연구는 극히 드물다. Smidt *et al.* 의 연구(2007)에서 비만 여성(36.9±9.4세, n=12)의 지방 조직 내 몇몇 아연 운반체 유전자 발현이 정상 체중 여성(43.4±9.4세, n=12)과 비교하여 유의적으로 낮은 것을 확인하였으나 지방 조직에 국한되었다는 한계점을 가진다. 또한 dos Santos Rocha *et al.*(2011)의 연구에서는 비만 여성(20-56세, n=55)의 leukocyte MT과 ZnT1, Zip1과 Zip3 아연 운반체 유전자 발현을 측정한 결과, MT의 발현이 다른 아연 운반체보다 월등히 높음을 확인하였으나 비만 대상자 만을

관찰하였다는 제한점을 가지고 있다. 따라서 정상 체중과 비교하여 비만에서의 전반적인 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 차이를 본 연구가 필요하다 하겠다.

Table 8. Studies on association between zinc status and body composition in animals studies

Author	Subjects	Result
Chen *et al.* (1996)	· ob/ob mice · High fat-induced obese mice	· Lower serum zinc level in ob/ob mice and dietary obese mice
Chen *et al.* (2000a)	· Sucrose-induced obese mice	· Lower serum zinc level in sucrose-induced obese mice
Tallman *et al.* (2003)	· High fat-induced obese C57BL/6J mice	· Lower adipose zinc level in high fat-induced obese C57BL/6J mice
Padmavathi *et al.* (2009)	· The offspring from female Wistar rats with zinc-restricted diet	· Increased the percentage of body fat and decreased lean mass in offspring by the effect of maternal zinc restriction

Table 9. Studies on association between zinc status and body composition in human studies

Author	Subjects	Result
Cavan *et al.* (1993)	· 162 Guatemalan children aged 81.5±7.0 mo	· Higher weight-for-height Z score in low hair zinc group (<1.68μmol/g)
Gibson *et al.* (2000)	· 520 New Zealand children aged 11 yr	· Higher body weight and mid-upper-arm fat area in low hair zinc group (<2.44μmol/g)
Marreiro *et al.* (2004)	· obese children and adolescents aged 7-14 yr	· Lower serum and erythrocyte zinc level in obese children and adolescents
Weisstaub *et al.* (2007)	· 72 Chilean obese preschool children	· No association between plasma zinc and body composition in obese children
Singh *et al.* (1998)	· 850 Indian male aged 25-64 yr	· The association of micronutrient deficiency with high body fat and central obesity
Ozata *et al.* (2002)	· 66 Turkish obese men aged 49.1±17 yr	· Lower erythrocyte zinc and CuZn-SOD level in obese men
Tungtrongchitr *et al.* (2003)	· overweight and obese subjects in Thailand (51 male & 190 female)	· Lower serum zinc and SOD level in overweight and obese subjects
Ennes Dourado Ferro *et al.* (2011)	· 73 premenopausal women, aged 20-50 yr	· Low erythrocyte zinc level in obese subjects

SOD, superoxide dismutase

III. 연구 1: 정상 체중과 비만 여성의 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 비교

1 서론

비만은 비정상적으로 체지방 조직이 축적되는 것을 말하며 세계 주요 보건 문제 중에 하나이다. 지난 10년간 약 1억 2천명에 가까운 사람들에게서 비만 관련 질병이 발병되었다(WHO, 2000b). 비만은 이상지혈증 및 공복 혈당 장애 등 체내 생리적 이상 증상을 동반하며, 더 나아가 그로 인한 심혈관계질환, 당뇨, 고혈압 및 암 등 전체적인 질병발생 위험 증가에 기여한다(Caterson *et al.*, 2004, Salvetti *et al.*, 2008, Torgerson *et al.*, 2002). 또한 최근 여러 연구에서 비만이 아연을 비롯한 여러 미량 영양소 결핍을 동반하는 것으로 나타났다 (Ennes Dourado Ferro *et al.*, 2011, Garcia *et al.*, 2009, Kimmons *et al.*, 2006).

아연은 주요 미량 영양소의 하나로 효소의 활성, 단백질 구조의 안정화, 유전자 발현, 세포 성장, 면역 기능 및 미각 기능 등 여러 체내 주요 기능에 관여한다. 아연의 결핍 상태에 이르면 성장 지연, 성 성숙 지연, 식욕 감퇴, 신경 장애, 면역력 감소 등에 인한 감염 등의 임상적 증세가 나타난다(Hambidge, 2000). 비만 성인 및 아이들을 대상으로 한 연구에서 대상자의 혈청, 혈장 및 적혈구 내 아연의 농도 및 SOD 활성이 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮은 것이 확인되었다

(Tungtrongchitr *et al.*, 2003, Marreiro *et al.*, 2004). 또 다른 연구에서는 체내 아연 농도가 낮은 아이들이 체내 아연 농도가 높은 아이들에 비해 신장 대비 체중(weight-for height) 및 체지방 무게가 유의적으로 더 높은 것으로 나타났다(Cavan *et al.*, 1993, Gibson *et al.*, 2000).

또한 최근 여러 연구를 통해 체내 아연 상태에 따라 아연 운반체 유전자 발현이 조절 되는 것으로 알려져 있다(Gibson *et al.*, 2008). 체내에 존재하는 아연 운반체는 ZnT(SLC30) family와 Zip(SLC39) family 두 종류로, ZnT family는 세포질 내 아연을 세포 외 또는 세포 내 소낭으로 이동시켜 세포 내 아연 농도를 낮추는 역할을 하고, Zip family는 ZnT와 반대로 세포 외 또는 세포 내 소낭의 아연을 세포질로 이동시켜 세포 내 아연 농도를 증가시키는 역할을 한다. 현재까지, 포유류에는 ZnT family가 10종, Zip family는 14종이 존재하는 것으로 보고되고 있다(Lichten *et al.*, 2009). 성인 남성 또는 여성을 대상으로 한 연구에서 아연 보충제 섭취 후 leukocyte ZnT1과 Zip1 등의 아연 운반체 발현이 유의적으로 변화하는 것을 확인하였다(Andree *et al.*, 2004, Aydemir *et al.*, 2006).

그러나 아직까지 비만인의 아연 운반체 유전자 발현에 대한 연구는 미비한 실정이다. Smidt *et al.*(2007)의 연구에서 비만 여성의 지방 세포 내 아연 운반체 유전자 발현이 정상 체중 여성에 비해 유의적으로 낮은 것을 확인하였다. 하지만 지방 세포에 국한되었다는 제한점을

가진다. dos Santos Rocha *et al.* (2011)의 연구에서는 비만 대상자의 leukocyte MT과 아연 운반체의 발현을 측정한 결과, MT의 발현이 다른 아연 운반체보다 월등히 높음을 확인하였으나 대조군 없이 비만 대상자 만을 관찰하였다는 제한점을 가진다.

따라서, 본 연구에서는 18-28세 정상 체중과 비만 여성 간의 체내 아연 영양상태를 혈청 아연, 식이 아연 섭취뿐 아니라, 전반적인 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 정도를 이용하여 비교해 보고자 하였다.

2 연구방법

2.1 연구 디자인 및 대상자

대구 및 경북지역에서 18-28세 젊은 여성 중, 정상 체중(Non-obese group)인 25명과 비만(Obese group) 40명을 모집하였다. 비타민 및 무기질 보충제 또는 기타 영양소 보충제, 경구 피임약을 포함한 아연 영양상태에 영향을 줄 수 있는 약물을 정기적으로 복용하는 사람, 빈혈이 있거나 채혈에 문제가 있었던 사람, 흡연자 및 급성 또는 만성 질환을 보유하고 있거나 이에 대한 가족력이 있는 사람은 대상자에서 제외하였다. 비만은 체질량 지수 (Body mass index; BMI)가 25 kg/m2 이상으로 정의하였다 (WHO, 2000a). 대상자들의 신체 계측 및 혈압 측정을 하였고, 3일 식이 기록지를 이용한 식이 섭취 조사, 12시간 공복 혈액, 24시간 소변 수집을 통한 생화학적 검사를 실시하였다. 본 연구의 모든 과정은 생명 윤리 심의 위원회의 승인을 받아 진행하였다.

2.2 신체 계측 및 혈압 측정

대상자들의 신장, 체중, 허리둘레 및 혈압을 측정 기기 및 표준화된 측정법을 훈련 받은 조사원이 측정하였다. 신장은 신장계 (TKK-11252, Japan)를 이용하여, 체중 및 체지방은 체성분 측정기 (Inbody 3.0, Biospace Co., Korea)를 이용하여 측정하였다. 체질량

지수(BMI)는 신장과 체중을 이용하여 계산하였다. 허리둘레는 직립 자세에서 늑골의 가장 아랫부분과 골반장골능 (iliac crest) 사이 중간 부위를 측정하였다 (WHO, 2008). 혈압 측정을 위해 대상자들은 앉은 상태에서 10분간 휴식을 취한 후, 자동 전자 혈압계 (HEM-770A, Japan)를 이용하여 수축기 및 이완기 혈압을 각 두 번씩 측정하여 각각의 평균값을 분석에 사용하였다 (Pickering *et al.*, 2005).

2.3 식이 섭취 조사

일상 식이 섭취 (usual dietary intake) 평가를 위해 주중 이틀, 주말 하루를 포함한 비연속적인 3 일 식이기록지를 수집하였다. 대상자들은 영양사로부터 식이기록지 작성 요령에 대한 교육을 받았다. 식이기록지에 3 일 동안 섭취한 모든 음식 및 음료의 섭취량 및 재료를 자세히 기록하게 하였고, 기록지 수거 시 훈련 받은 조사원이 기록한 내용을 검토하였다. 조사된 식이섭취자료를 Can-pro 를 이용하여 일일 평균 에너지 및 영양소 섭취량으로 환산하였다.

2.4 생화학 지표 측정

아연 상태 및 기타 생화학 지표 분석을 위하여 12 시간 공복 혈액 및 24 시간 소변을 채취하였다. 12 시간 공복 혈액은 플라스틱 주사기를 이용하여 채취 한 후, 2 시간 이내에 4℃ 에서 3,000 rpm, 10 분간 원심

분리(Allegra 6R, Beckman Coulter, USA)하여 분석 전까지 −70℃에 보관하였다. 24 시간 소변은 폴리에틸렌 용기에 채취하여, 무게를 측정하고 분주하여 분석 전까지 −20℃에 보관하였다 (Kim *et al.*, 2004). 혈청과 소변의 아연 농도는 atomic absorption spectrometry (AAS 600, Perkin Elmer)를 이용하여 분석되었다. 소변 creatinine 은 Jaffe 반응을 이용하여 분석하여 (Jacobs *et al.*, 1945), 소변 아연 농도를 1mg creatinine 당 아연 농도로 환산하여 분석에 이용하였다. Serum superoxide dismutase (SOD) 농도는 SOD assay kit (Cayman Chemical Company, USA)를 이용하여, 혈청 alkaline phosphatase level(ALP)은 automated analyzer (ADVIA 2400, Japan)를 이용하여 분석되었다. 그 외 혈액 지표인, 공복 중성 지질 및 총 콜레스테롤도 automated analyzer (ADVIA 2400, Japan)를 이용하여 분석되었고, 공복 인슐린은 chemiluminescent immunoassay method 로, leptin 농도는 human leptin kit (Linco Research Inc., USA)이용하여(Ma *et al.*, 1996), adiponectin 농도는 human adiponectin kit (R&D Systems, USA)이용하여 immunoassay 로 측정되었다.

2.5 Leukocyte total RNA 추출 및 real−time PCR 분석

1.5ml 전혈에서 QIAamp RNA blood kit (Qiagen, USA)을 이용하여 leukocyte의 total RNA를 추출하였다 (Andree *et al.*, 2004). 추출한

RNA의 농도 및 순도는 분광광도계 Nanodrop (Thermo, USA)을 이용하여 260nm와 280nm 파장에서 흡광도를 측정하여 구하였고, 260nm/280nm ratio가 1.8 이상인 RNA 샘플만 이후 분석에 사용하였다 (정상체중군 n=20, 비만군 n=35). 0.15ug total RNA와 PrimeScriptTM RT reagent kit (Takara, Japan)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 정량적 real-time PCR (SYBR Green assay) 분석을 통해, 아연 운반체 ZnT 9종, Zip 14종과 MT, 아연 운반체, GAPDH의 발현 정도를 측정하였다. 분석에 이용한 MT, 아연 운반체 및 GAPDH primer sequence는 Table 10에 나타내었다. MT 및 아연 운반체의 상대적인 발현도는, GAPDH를 reference gene으로 하여 우선 ΔCt ($Ct_{target}-Ct_{ref}$, Ct: cycle number)를 계산하고 $2^{-\Delta Ct}\times10^{4}$를 이용하여 10^{-4} GAPDH 당 해당 gene의 발현도로 나타내었다 (Andree *et al.*, 2004).

Table 10. Primers used in real-time PCR

Gene	Primer Sequence	
	Forward	Reverse
GAPDH	CAG CCG CAT CTT CTT TTG	GCC CAA TAC GAC CAA ATC
MT	ATG GAC CCC AAC TGC TCC	TCA GGC ACA GCA GCT GCA C
ZnT1	GCA TCA GTT TAT GAG GCT GGT CCT	CAG GCT GAA TGG TAG TAG CGT GAA
ZnT2	CTG GCC TTT GCC TTT ATG AAT CTG	GGA CAC TCT CAG GGC AAC AGA AGT
ZnT3	ATG GTC ACT GGC ATC CTC CTG TA	AGA TGG AGA AGA GGA ATG CTG A
ZnT4	TGT TAA CTG ACC TAA GCG CCA TCA	GGT TAC GTT CAC ACC CAG AAC CTC
ZnT5	GGA GGC ATG AAT GCT AAC ATG AGG	GTG GAT ACG ATC ACA CCA ATG CTG
ZnT6	CCC ATG AGT GTG TAC AGT GGG AAA	GCA TTG GGA TTA CGT GAT GAT CTG
ZnT7	AGA GGG TAC AGC AGT TGC AAG GAG	AAA GCA GTA ACG GCT GAC TCT ACC
ZnT8	TAC GAT GCA CTC ACT CAC CAT TCA	AGC TGT TAC TTC GGC TCC ACT CAG
ZnT9	TTG CCT GGA TTT ATA CCG GTT CAG	CCG AGC ATT CCT ACG AAG TTC ATT
Zip1	GAT TGG GGA AGA CAC TTG ACT GCT	GAA AGA GGA AGG GGA TTT GTT TGG
Zip2	CCC TTG TCC TCT TGC TGT CAC TCT	AGC TCC CGT GGA AGA ATT TCT AGG
Zip3	GTG GAG ATA TGA GGA CCC CCT GTT	GAT GAA CTC AGC GCT AAC CGA TCT
Zip4	AGA CTG AGC CCA GAG TTG AGG CTA	TGT CGC AGA GTG CTA CGT AGA GGA
Zip5	GAG CAG GAG CAG AAC CATTAC CTG	CAA TGA GTG GTC CAG CAA CAG AAG
Zip6	CTA AGC CAT GAA GAA CCA GCA ATG	GAG AAT CAA AGT GGG AGG GCT CTT
Zip7	ACT GAA GGA GGA GCA GTG GGC AGT	AGG CCC TAA TGC CAA AGT AAC CAT
Zip8	CCT CGG ATT GAT TTT GAC TCC ACT	AGC AGG ATT TGC ATA GAC TGT CAC
Zip9	GCC TAA AGA ACT GGA AAG CCC ACT	GTG TTT CAC TTG CTT GGT GGT GTT
Zip10	TAG CCG TCT TCT GTC ATG AAC TGC	TCA TAG AGG GCA ATC ACC AGC ATA
Zip11	TCT CCT AAG CAT TTT GGT GGC CTA	TCT CTT CTT TCC ACA GGG CTC ACT
Zip12	CAA CCA CTC AAG AAG CCT CAT CAA	AAG TAC TGC CTG GTG AAA GCC AAG
Zip13	AAG AAG ATC GGG CTC CTG ACA AC	GAG AAC AGC ACC ATT ACC ACG ATG
Zip14	CAT TTG GTT TCA ACC CTC TGG AAG	TTT CAG CCA GTA GCA AGC ACT CTG

2.6 통계분석

모든 통계분석은 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., USA)으로 수행하였다. 자료의 크기가 작고 대부분의 변수가 정규성을 띄지 않아 비모수 통계 분석 방법을 이용하여 분석하였다. 정상 체중군과 비만군의 일반적 특성, 에너지 섭취, 아연 영양상태, 혈액 지표 및 아연 운반체 발현의 차이는 Wilcoxon rank sum test를 이용하였고, 전체 대상자의 아연 운반체 발현과 신체 계측, 혈액 지표, 아연 영양상태 간의 상관 관계는 Spearman 순위 상관 분석을 이용하였고, 아연 운반체 발현과 혈액 지표, 아연 영양상태 간의 관계 분석 시 BMI로 보정하였다.

3 연구결과

3.1 정상 체중군과 비만군의 일반적 특성, 아연 영양상태 및 혈액 지표

대상자의 일반적 특성, 아연 영양상태 및 혈액 지표 측정 결과를 Table 11에 나타내었다. 전체 대상자의 평균 나이는 21세로, 정상 체중군과 비만군 두 그룹 간 연령의 차이는 존재하지 않았다. 비만군의 체질량 지수(BMI)는 28.2±0.5kg/m^2, 정상 체중군의 체질량 지수(BMI)는 20.8±0.2kg/m^2로 비만군의 체질량 지수가 유의적으로 높았다 (p<0.0001). 비만군의 체지방률, 혈압, 허리 둘레도 정상 체중군에 비해 유의적으로 높았다 (p<0.001). 두 그룹 간의 에너지 섭취도 비만군에서 유의적으로 높았다 (p<0.01).

식이 아연 섭취, 혈청 아연, 소변 아연 농도에 따른 두 그룹 간 아연 영양상태의 유의적 차이를 보이지 않았다. 반면, 혈청 SOD 및 ALP 활성은 두 그룹 간 유의적인 차이를 보였다. 혈청 SOD 활성은 비만군에서 유의적으로 낮았고(p=0.02), 혈청 ALP 활성은 비만군에서 유의적으로 높게 나타났다 (p=0.04).

그 외 혈액 지표인 혈청 TG, 총 콜레스테롤 및 인슐린 농도도 정상 체중군 보다 비만군에서 유의적으로 높았다 (p<0.05). 또한 두 그룹 간 adipokine의 수준도 유의적인 차이를 보였는데, 정상 체중군과 비하여 비만군에서 leptin 수준은 2.9배 유의적으로 높았고 (p<0.0001), adiponectin 수준은 1.6배 유의적으로 낮았다 (p=0.03).

Table 11. Characteristics of non-obese and obese women

	Non-obese (n=25)			Obese (n=40)			*P*
	Mean	SEM	(Range)	Mean	SEM	(Range)	
General characteristics							
Age (yr)	20.6	0.4	(18-24)	20.8	0.3	(18-28)	NS
BMI (kg/m^2)	20.8	0.2	(18.7-22.7)	28.2	0.5	(25.6-39.1)	<.0001
Body fat (%)	15.1	0.5	(8.7-20.6)	27.6	0.8	(22.3-42.9)	<.0001
SBP (mmHg)	108.0	1.9	(87.0-124.5)	119.2	1.6	(100.0-149.0)	<.001
DBP(mmHg	69.9	1.5	(58.0-82.0)	78.0	1.1	(64.0-89.5)	<.001
Waist (cm)	69.6	0.8	(64.0-78.0)	89.1	1.3	(74.0-118.0)	<.0001
Dietary intake							
Energy (kcal)	1463.6	90.9	(672.8-2679.5)	1769.1	77.5	(1002.7-2824.9)	0.01
Zinc intake (mg/d)	6.8	0.7	(2.5-16.6)	7.5	0.4	(3.5-14.2)	0.09
(mg/1000kcal)	4.7	0.4	(1.9-13.7)	4.3	0.2	(2.9-6.5)	NS
Zinc status indicators							
Serum zinc (umol/L)	13.1	0.5	(7.8-17.3)	13.4	0.4	(8.1-18.1)	NS
Urine zinc (ug/mg creatinine)	0.44	0.04	(0.18-0.89)	0.39	0.04	(0.11-0.98)	NS
SOD (%)	11.8	1.4	(4.9-30.3)	7.8	0.3	(1.0-12.7)	0.02
ALP (IU/L)	52.0	3.0	(23.0-85.5)	58.9	1.8	(38.0-80.0)	0.04
Blood measurements							
Triacylglycerol (mg/dl)	62.5	4.9	(29.0-148.0)	107.2	18.7	(46.0-801.0)	<.001
Total cholesterol (mg/dl)	164.2	4.6	(121.5-209.5)	179.1	5.5	(106.5-265.0)	0.03
Insulin (uIU/mL)	5.1	0.5	(1.0-11.6)	12.1	1.0	(2.5-27.9)	<.0001
Adiponectin(mg/dl)	7.1	1.1	(1.0-17.7)	4.4	0.5	(0.5-13.8)	0.03
Leptin (ng/ml)	7.0	0.6	(2.7-15.0)	20.0	1.0	(6.1-34.7)	<.0001

NS, not significant

a. The difference of variables between non-obese and obese group was examined by Wilcoxon rank sum test.

3.2 정상 체중군 및 비만군의 leukocyte metallothionein과 아연 운반체 유전자 발현 비교

전체 대상자의 leukocyte MT 및 아연 운반체 유전자 발현을 Figure 4 에 나타내었다. Leukocyte의 MT mRNA 수준이 아연 운반체 mRNA 수준에 비해 월등히 높았다. 분석에 이용한 아연 운반체는 ZnT 9종 (ZnT1~ZnT9)과 Zip 14종 (Zip1~Zip14)이었으나 실제로 본 샘플에서는 ZnT3, ZnT8, Zip2, Zip5, Zip8~Zip14 유전자의 발현이 감지되지 않았다. leukocyte에서 발현된 ZnT family 중에서는 ZnT1 mRNA 수준이 가장 높았으며, 그 다음은 ZnT6, ZnT9 순으로 나타났다. Zip family 중에서는 Zip1 mRNA 수준이 가장 높았으며, 그 다음은 Zip6, Zip7 순으로 나타났다.

정상 체중군과 비만군 간 leukocyte MT와 아연 운반체 유전자 발현의 차이는 Table 12에 나타내었다. Leukocyte MT mRNA의 수준은 정상 체중군에 비해 비만군에서 47.3% 유의적으로 낮았다 (p<0.001). 대부분의 아연 운반체 mRNA 수준도 비만군에서 낮았으며, 특히 ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6 mRNA 수준이 유의적으로 낮았다. 두 그룹 간의 발현도 차이가 가장 큰 아연 운반체는 Zip1 유전자로, 정상 체중군에 비해 비만군에서 Zip1 mRNA 수준이 70.6% 낮게 나타났다 (p<0.001). 반면, ZnT7 mRNA 수준은 다른 아연 운반체와 달리 비만군에서 78.1% 유의적으로 높게 나타났다 (p<0.0001).

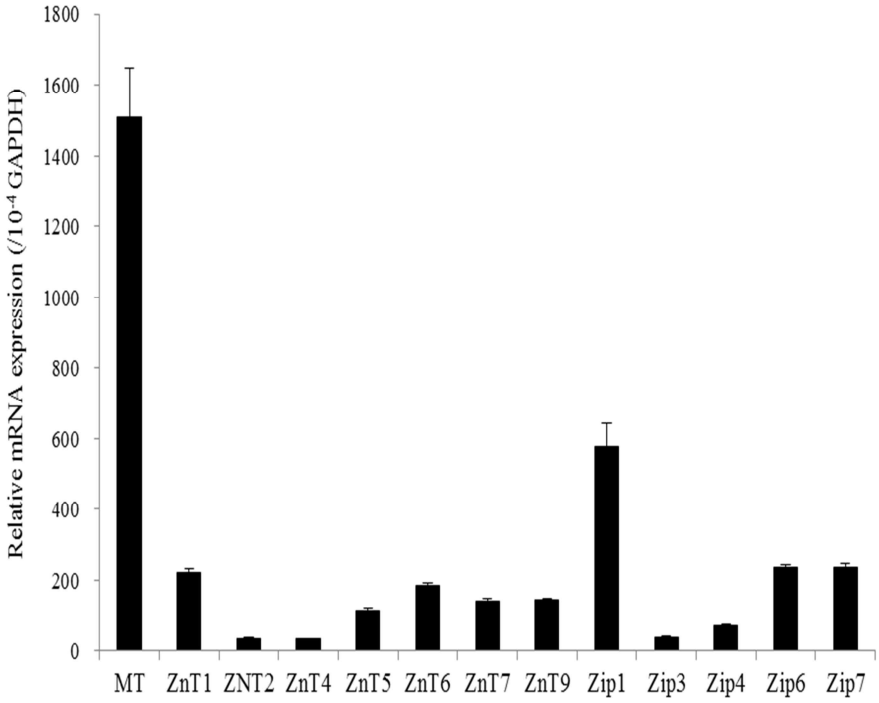


Figure 4. The expression level of leukocyte metallothionein and zinc transporters mRNA in total subjects (n=55)

Table 12. The expression level[a,b] of leukocyte metallothionein and zinc transporters mRNA between non-obese and obese women

	Non-obese (n=20)		Obese (n=35)		p^c
	Mean	SEM	Mean	SEM	
MT	2158.7	316.6	1138.2	79.7	<.0001
ZnT1	212.1	25.8	227.2	7.3	NS
ZNT2	41.8	13.1	30.0	3.9	NS
ZnT4	49.5	3.3	25.3	1.1	<.0001
ZnT5	153.2	7.6	90.3	2.1	<.0001
ZnT6	189.2	18.6	181.1	9.2	NS
ZnT7	93.1	5.9	165.9	9.2	<.0001
ZnT9	162.6	9.2	134.6	5.6	<.01
Zip1	1046.4	127.0	307.8	12.5	<.0001
Zip3	34.7	3.7	40.6	2.1	NS
Zip4	89.5	5.1	61.6	1.9	<.0001
Zip6	269.8	18.4	215.3	10.8	0.02
Zip7	216.7	26.5	244.9	12.9	NS

NS, not significant

a. The relative expression level of MT and zinc transporters was examined by using GAPDH as reference gene

b. per 10^{-4} GAPDH

c. The significant difference between non-obese and obese subjects was examined by Wilcoxon rank sum test

3.3 전체 대상자의 신체 계측, 아연 영양상태 및 혈액 지표와 leukocyte metallothionein 및 아연 운반체 유전자 발현 간의 상관 관계

전체 대상자의 신체 계측, 아연 영양상태 및 혈액 지표와 leukocyte MT 및 아연 운반체 유전자 발현 간의 상관 관계를 본 결과를 Table 13에 나타내었다, 비만군에서 발현도가 유의적으로 낮았던 MT 및 아연 운반체 유전자(ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6) mRNA 수준은 체질량 지수(BMI)와 유의적인 음의 상관 관계를 나타내었고 (p<0.05), 체지방률과도 Zip6를 제외하고 모두 유의적인 음의 상관 관계를 나타내었다 (p<0.05). 그러나 비만군에서 발현도가 유의적으로 높게 나타났던 아연 운반체인 ZnT7의 mRNA 수준은 체질량 지수(BMI)와 체지방률과 유의적인 양의 상관관계를 나타내었다 (r=0.57, p<0.001; r=0.58, p<0.001).

전체 대상자의 leukocyte MT 및 아연 운반체 유전자 발현과 아연 영양상태 간의 상관관계를 BMI 보정 후 살펴본 결과 유의적인 관계는 거의 나타나지 않았다. 단, ZnT9와 Zip6 mRNA 수준은 소변 아연 농도와 유의적인 양의 상관관계 (r=0.32, p=0.02; r=0.31, p=0.03)를 보였고, ZnT4 mRNA 수준과 ALP활성도 유의적인 양의 상관관계 (r=0.29, p=0.03)를 보였다. leukocyte MT 및 아연 운반체 유전자 발현과 혈액 지표 간의 관계도 BMI 보정 후 살펴보았으나 유의적인 상관관계는 나타나지 않았다.

Table 13. Spearman's coefficients of correlation for the leukocyte mRNA levels of metallothionein & zinc transporters with anthropometric, zinc status indictors and blood measurements in total study subjects.

(n=55)

	Leukocyte mRNA							
	MT	ZnT4	ZnT5	ZnT7	ZnT9	Zip1	Zip4	Zip6
Anthropometric measurements								
BMI (kg/m^2)	-0.40***	-0.70***	-0.59***	0.57***	-0.31*	-0.65***	-0.50***	-0.27*
Body fat (%)	-0.40***	-0.67***	-0.60***	0.58***	-0.29*	-0.61***	-0.53***	-0.20
Zinc nutritional status[a]								
Zinc intake (mg/d)	0.09	0.02	-0.02	0.11	0.03	0.18	0.08	0.16
(mg/1000kcal)	0.09	0.05	-0.20	0.20	-0.10	0.10	-0.27	0.15
Serum zinc (umol/L)	0.02	-0.04	-0.11	0.00	-0.04	0.12	0.06	0.00
Urine zinc (ug/creatinine)	0.13	0.24	0.26	0.21	0.32*	0.07	0.18	0.31*
SOD (U/ml)	-0.04	-0.02	0.09	-0.16	0.00	0.15	0.10	-0.08
ALP (IU/L)	-0.03	0.29*	0.31	0.09	-0.02	-0.01	0.18	0.02
Blood measurements[a]								
Triacylglycerol(mg/dl)	-0.09	-0.03	-0.13	0.27	-0.11	-0.17	0.03	0.05
Total cholesterol (mg/dl)	0.00	0.10	0.01	0.22	-0.19	-0.19	0.16	0.01
Insulin (uIU/ml)	-0.24	0.01	0.07	0.00	0.00	-0.19	0.18	-0.01
Adiponectin (ug/ml)	0.02	-0.05	-0.01	-0.05	-0.02	0.01	0.03	-0.02
Leptin (ng/ml)	-0.10	-0.20	-0.18	0.21	0.05	-0.03	-0.01	0.12

a. Adjusted for BMI by Spearman's partial correlation analysis * $p<0.05$, *** $p<0.001$

71

4 고찰

본 연구에서는 20대 정상 체중 여성과 비만 여성 간의 체내 아연 영양상태 및 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 정도를 비교해 보았다. 정상 체중 여성과 비만 여성 간의 아연 영양상태를 비교한 결과, 혈청 아연, 식이 아연 섭취, 소변 아연의 유의적인 차이는 존재하지 않았다. 정상 체중과 비만 여성 간의 아연 운반체 발현을 비교해 본 결과, 비만군에서 대부분의 아연 운반체 mRNA 수준이 낮게 나타났으며, 특히 ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6 mRNA 수준이 비만군에서 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 반면, 다른 아연 운반체와 달리 ZnT7 mRNA 수준은 비만군에서 정상 체중군에 비해 유의적으로 높게 나타났다.

기존 연구에서 비만 성인 및 아이들을 대상으로 한 연구에서 대상자의 혈청 또는 혈장 및 적혈구 내 아연의 농도 및 SOD 활성이 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮은 것이 확인되었다 (Tungtrongchitr *et al.*, 2003, Marreiro *et al.*, 2004). 또한 체내 아연 농도가 낮은 아이들이 체내 아연 농도가 높은 아이들에 비해 신장 대비 체중(weight-for height) 및 체지방 무게가 유의적으로 더 높은 것으로 나타났다 (Cavan *et al.*, 1993, Gibson *et al.*, 2000). 그러나 본 연구에서는 정상 체중군과 비만군 간의 혈청 아연, 소변 아연, 식이 아연 섭취와 같은 아연 영양상태의 차이는 나타나지 않았다. 혈청 아연은 아연 영양상태 평가 시 가장 널리 사용되는 지표이나, 항상성

메커니즘이 매우 효율적으로 작용하여 심각한 아연 제한(<2-3mg/day)이 되지 않는 한 비교적 안정적으로 유지되어 아연 영양상태 평가를 위한 예민한 지표로 적합하지 않다는 점이 제기되기도 한다 (Gibson *et al.*, 2008, King, 1990). 또한 소변 아연 배설량도 아연 섭취가 부족하면 즉각적으로 체외로의 배설량을 감소시켜 체내 아연 농도를 보존하려고 하므로, 단기간 아연 섭취량에 민감하게 반응하는 것으로 알려져 있다. 하지만 장기간의 아연 영양상태를 반영하지 못하고 날에 따른 변화가 심하고 수집의 어려움이 있어 정확한 아연 상태 평가 지표로 사용하기에는 한계가 있음이 지적되었다 (Gibson *et al.*, 2008, King, 1990).

단, 본 연구에서는 산화적 스트레스를 나타내는 지표인 SOD의 활성이 비만군에서 유의적으로 낮아졌다. 기존 연구에서도 (Ozata *et al.*, 2002, Tungtrongchitr *et al.*, 2003), 비만 대상자에게서 적혈구 및 혈청 내 SOD 수준이 유의적으로 낮음을 확인하였다. 아연 결핍은 체내 산화적 스트레스를 증가시키고, 이런 산화적 스트레스 증가는 SOD 활성의 낮아지는 것으로 나타난다 (Lowe *et al.*, 2009). 하지만 비만의 경우 아연 결핍뿐 아니라 다른 체내 변화로 인해 체내 산화적 스트레스가 증가하여 SOD 활성이 낮아졌을 가능성도 배제 할 수 없으므로 SOD 활성을 이용하여 비만 대상자의 체내 아연 상태를 판단하기에는 부족한 면이 있다.

본 연구에서는 혈청 아연, 식이 아연 섭취, 소변 아연, SOD 활성 외에도 전반적인 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 정도를 살펴

보았다. 기존 연구에서 leukocyte의 아연 운반체 중 ZnT1과 Zip1 유전자의 발현이 가장 높은 것으로 보고 되었다 (Overbeck *et al.*, 2008, Aydemir *et al.*, 2006). 본 연구에서도 기존 연구와 마찬가지로 전체 leukocyte 아연 운반체 중 ZnT1과 Zip1 유전자 발현 정도가 가장 높게 나타났으며, 그 외 ZnT5, ZnT6, ZnT7, Zip6, Zip7 유전자 발현도 높은 편이었고, 이 역시 기존 연구의 양상과 유사하였다. 그러나 본 연구에서 leukocyte ZnT3, ZnT8, Zip2, Zip5, Zip8-14 유전자 발현은 감지되지 않았다. 기존 연구에 따르면 ZnT3은 뇌 또는 고환 등에서 주로 발현되며, ZnT8은 췌장β-세포에서, Zip5는 주로 소장세포에서 발현되는 등 아연 운반체마다 분포하는 조직의 차이가 있는 것으로 보여진다 (Palmiter *et al.*, 1996). 따라서 ZnT3, ZnT8, Zip2, Zip5, Zip8~14 아연 운반체의 경우 leukocyte에서의 발현 정도가 매우 낮은 것으로 보여진다.

또한 비만군 및 정상체중군의 leukocyt MT 및 아연 운반체 유전자 발현의 차이를 살펴본 결과, 비만군의 leukocyt MT 및 대부분의 아연 운반체, 특히 ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6 mRNA 수준이 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮음을 확인하였다. 또한 전체 대상자의 MT 및 해당 아연 운반체 mRNA 수준이 BMI 및 체지방률과 유의적인 음의 상관 관계를 나타내었다. Smidt *et al.* (2007)의 연구에서도 지방 조직 내의 아연 운반체 발현 수준이 비만군에서 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮음 확인하였다. 따라서 비만으로 인한 체지방 증가와 같은 체내 변화가 아연 운반체 발현 수준에 영향을 주는

것으로 보이나 이를 뒷받침 할 수 있는 메커니즘에 대한 추후 연구가 필요한 것으로 보인다.

본 연구에서의 또 하나 흥미로운 점은, 대부분의 아연 운반체의 발현이 비만군에서 유의적으로 낮았던 것과 달리 leukocyte ZnT7 유전자 발현은 오히려 비만군에서 유의적으로 높게 나타났다는 것이다. ZnT7은 골지 소포체 또는 세포 소낭 세포막에 존재 하며, 아연을 세포질에서 골지 소포체 또는 소낭 내로 이동 시키는 것으로 알려져 있다 (Kirschke *et al.*, 2003). Huang *et al.* (2007)의 연구에서 ZnT7 knock-out mice의 체중 증가 및 체지방량이 적음을 확인하였다. 따라서 ZnT7은 체구성을 조절하는 데 관여하는 것으로 보여진다. 본 연구에서도 전체 대상자의 BMI와 체지방률이 ZnT7 mRNA 수준과 유의적인 양의 상관관계를 보였다. 즉 비만군에서 ZnT7 유전자 발현이 유의적으로 증가하는 것은 기존 연구 결과와 마찬가지로 ZnT7이 체구성 조절과 관련이 있기 때문으로 보인다. 따라서 비만으로 인한 체지방의 증가를 비롯한 체내 변화가 다른 아연 운반체와 다른 방향으로 leukocyte ZnT7 유전자 발현에 영향을 주는 것으로 보인다.

본 연구는 한국인 젊은 비만 여성의 아연 영양상태 변화를 기존에 많이 사용해 왔던 아연 영양상태 평가 지표인 혈청 아연, 식이 아연 섭취, SOD 및 ALP 활성뿐 아니라 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 수준을 통해서 살펴보았다는 것에 의의를 가진다. 하지만 대상자 수가 적고, 횡단적 연구(cross-sectional study) 라는 본 연구 설계 특성 상 비만과 아연 아연 상태 간의 선후 관계를 분명히 하기에는

부족한 면이 있다.

5 결론

본 연구에서는 한국인 젊은 정상 체중 및 비만 여성의 체내 아연 영양상태를 살펴본 결과, 정상 체중 여성과 비만 여성 간의 혈청 아연, 식이 아연 섭취량 및 소변 아연의 유의적 차이는 보이지 않았다. 그러나 leukocyte MT 및 아연 운반체 발현 수준을 비교한 결과, 비만 여성에서 Zip1을 비롯한 여러 아연 운반체(ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip4, Zip6) 유전자 발현 수준이 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮았고, BMI 및 체지방률과도 유의적인 음의 상관관계를 나타내었다. 반면, leukocyte ZnT7 유전자 발현은 비만군에서 유의적으로 높게 나타났고, BMI, 체지방률과도 유의적인 양의 상관관계를 나타내었다. 이 결과를 토대로, 체지방 증가와 같은 비만으로 인한 체내 변화가 아연 운반체 발현 수준에 관계하는 것으로 보여지나 이 결과를 뒷받침 할 수 있는 메커니즘에 대한 추후 연구 및 선후 관계를 분명히 할 수 있는 종단적 연구가 필요하다 하겠다.

IV. 연구 2: 비만 여성의 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 변화

1 서론

아연은 필수 미량 영양소로, 체내에서 여러 생화학적, 면역적, 임상적 기능 등 여러 주요 기능 담당한다 (Gibson *et al.*, 2008). 체내 두 종류의 아연 운반체 유전자군(gene family)인 ZnT (SLC 30)와 Zip (SLC39) family가 존재한다. 현재까지 포유류에는 ZnT family 10종, Zip family 14종 존재하는 것으로 보고되고 있다. ZnT family는 세포질 내 아연을 세포 외 또는 세포 내 소낭으로 이동시켜 세포 내 아연 농도를 낮추는 역할을 하고, Zip family는 ZnT와 반대로 세포 외 또는 세포 내 소낭의 아연을 세포질로 이동시켜 세포 내 아연 농도를 증가시키는 역할을 한다. 이러한 아연 운반체는 체내 다양한 조직에 분포하며 체내 아연 상태에 따라 그 발현을 조절하여 해당 조직의 기능을 유지하는 데 도움을 준다 (Lichten *et al.*, 2009).

이러한 아연 운반체 중 일부는 식이 아연 섭취와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 기존 연구에서 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 유의적으로 변화하는 것을 확인하였다. 19-31세 젊은 건강한 남성에게 zinc sulfate ($ZnSO_4$)의 형태로 하루에 15mg의 아연을 10일간 제공하며 leukocyte ZnT1과 Zip3 유전자 발현을 관찰한 결과, 아연 보충제 섭취 후 ZnT1 mRNA 수준은

2.5배 유의적으로 증가하였고, Zip 3 mRNA 수준은 2배 이상 유의적으로 감소하였다 (Aydemir *et al.*, 2006). 또한 20-24세 젊은 여성 (n=15)과 64-75세 노인 여성 (n=10)을 대상으로 27일간 zinc gluconate 형태로 하루에 22mg 아연을 보충한 결과, leukocyte Zip1 유전자 발현이 각각 17%, 21% 유의적으로 감소하였다 (Andree *et al.*, 2004, Aydemir *et al.*, 2006)

최근 여러 비만을 대상으로 한 연구에서 아연 결핍 증상이 나타남을 확인하였다 (Garcia *et al.*, 2009). 특히, 혈청, 혈장 및 적혈구 내 아연 농도가 비만 아동 및 성인 남녀에서 유의적으로 낮은 것으로 보고되었고 (Tungtrongchitr *et al.*, 2003, Marreiro *et al.*, 2004). 또 다른 연구에서는 체내 아연 농도가 낮은 아이들의 체중 및 체지방 무게가 체내 아연 농도가 높은 아이들에 비해 유의적으로 더 높은 것으로 나타났다 (Cavan *et al.*, 1993, Gibson *et al.*, 2000). 연구 1에서도 18-28세 젊은 비만 여성을 대상의 leukocyte 아연 운반체 발현 정도를 살펴 본 결과, 정상 체중의 여성과 비교하여 대부분의 leukocyte 아연 운반체 발현이 낮은 결과를 보였다.

따라서, 본 연구에서는 전반적인 leukocyte 아연 운반체 발현이 낮은 비만 여성을 대상으로 아연 보충제 섭취 후, leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 변화를 관찰하여 체내 아연 상태 변화를 반영하는 leukocyte 아연 운반체를 확인하고자 하였다.

2 연구방법

2.1 연구 디자인 및 대상자

연구 1에서의 대구 및 경북 지역에서 사는 18-28세 젊은 비만 여성 40명을 대상으로 아연 보충 연구를 진행하였다. 비만은 체질량 지수 (Body mass index; BMI)가 25 kg/m^2 이상으로 정의하였다 (WHO, 2000a). 이 비만 여성을 무작위로 아연 보충군(Zinc group n=20)과 대조군 (Placebo group, n=20) 두 그룹으로 나누었다. 아연 보충군에 속한 대상자는 zinc gluconate 형태로 하루에 30mg의 아연을 8주간 섭취하였고, 대조군은 형태가 유사한 placebo를 같은 기간 복용하였다. 대상자에게 보충제 또는 placebo를 섭취하는 동안 평상시 생활습관을 유지하도록 당부하였다. 대상자는 연구 시작 첫 날(baseline)과 8주 후 총 2회에 걸쳐, 대상자들의 신체 계측 및 혈압 측정을 하였고, 3일 식이 기록지를 이용한 식이섭취 조사, 12시간 공복 혈액, 24시간 소변 샘플을 통한 생화학적 검사를 실시하였다. 본 연구의 모든 과정은 생명윤리 심의 위원회의 승인을 받아 진행하였다.

2.2 신체 계측 및 혈압 측정

연구 1에서 서술한 바와 같이, 대상자들의 신장, 체중, 허리둘레 및 혈압을 측정 기기 및 표준화된 측정법을 훈련 받은 조사원이 측정하였다. 신장은 신장계 (TKK-11252, Japan)를 이용하여, 체중

및 체지방은 체성분 측정기 (Inbody 3.0, Biospace Co., Korea)를 이용하여 측정하였다. 체질량 지수(BMI)는 신장과 체중을 이용하여 계산하였다. 허리둘레는 직립자세에서 늑골의 가장 아랫부분과 골반장골능 (iliac crest) 사이 중간부위를 측정하였다 (WHO, 2008). 혈압 측정을 위해 대상자들은 앉은 상태에서 10분간 휴식을 취한 후, 자동전자혈압계 (HEM-770A, Japan)를 이용하여 수축기 및 이완기 혈압을 각 두 번씩 특정하여 각각의 평균값을 분석에 사용하였다 (Pickering *et al.*, 2005).

2.3 식이 섭취 조사

일상 식이 섭취(usual dietary intake)평가를 위해 1회 조사 시, 주중 이틀, 주말 하루를 포함한 비연속적인 3일 식이 기록지를 수집하였다. 연구 시작 시점과 8주 후 총 2회, 총 6일에 대한 식이 섭취 조사를 실시하였다. 대상자들은 영양사로부터 식이 기록지 작성요령에 대해 교육을 받았다. 식이 기록지에 3일 동안 섭취한 모든 음식 및 음료의 섭취량 및 재료를 자세히 기록하게 하였고, 기록지 수거 시 훈련 받은 조사원이 기록한 내용을 검토하였다. 조사된 식이섭취자료를 Can-pro를 이용하여 일일 평균 에너지 및 영양소 섭취량으로 환산하였다.

2.4 생화학 지표 측정

연구 1 에서 서술한 바와 같이, 아연 상태 및 기타 생화학지표 분석을 위하여 12 시간 공복혈액 및 24 시간 소변을 수집하였다. 혈청과 소변의 아연 농도는 atomic absorption spectrometry (AAS 600, Perkin Elmer)를 이용하여 분석되었다. 소변 creatinine 은 Jaffe 반응을 이용하여 분석하여 (Jacobs *et al.*, 1945), 소변 아연 농도를 1mg creatinine 당 아연 농도로 환산하여 분석에 이용하였다. SOD 활성은 SOD assay kit (Cayman Chemical Company, USA)를 이용하여, 혈청 ALP 은 automated analyzer (ADVIA 2400, Japan)를 이용하여 분석되었다. 그 외 혈액 지표인, 공복 중성 지질 및 총 콜레스테롤도 automated analyzer (ADVIA 2400, Japan)를 이용하여 분석되었고, 공복 인슐린은 chemiluminescent immunoassay method 로, leptin 농도는 human leptin kit (Linco Research Inc., USA)이용하여(Ma *et al.*, 1996), adiponectin 농도는 human adiponectin kit (R&D Systems, USA)이용하여 immunoassay 로 측정되었다.

2.5 Leukocyte total RNA 추출 및 real-time PCR 분석

1.5ml 전혈에서 QIAamp RNA blood kit (Qiagen, USA)을 이용하여 leukocyte의 total RNA를 추출하였다 (Andree *et al.*, 2004). 추출한 RNA의 농도 및 순도는 분광광도계 Nanodrop (Thermo, USA)을

이용하여 260nm와 280nm 파장에서 흡광도를 측정하여 구하였고, 260nm/280nm ratio가 1.8 이상인 RNA 샘플만 이후 분석에 사용하였다. 이 과정에서 대조군과 아연 운반체군 각각 2명, 3명씩 분석에서 제외되었다 (대조군 n=18, 아연 운반체군 n=17). 0.15ug total RNA와 PrimeScript^{TM} RT reagent kit (Takara, Japan)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 정량적 real-time PCR (SYBR Green assay) 분석을 통해, MT, 아연 운반체, GAPDH의 발현 정도를 측정하였다. 분석에 이용한 MT, 아연 운반체 및 GAPDH primer sequence는 Table 10에 나타내었다. MT 및 아연 운반체의 상대적인 발현도는, GAPDH를 reference gene으로 하여 우선 ΔCt ($Ct_{target}-Ct_{ref}$, Ct:cycle number)를 계산하고 $2^{-\Delta Ct}\times 10^{4}$ 를 이용하여 10^{-4} GAPDH 당 해당 gene의 발현도로 나타내었다 (Andree *et al.*, 2004). 또한 아연 보충제 섭취 후 아연 운반체 발현의 변화를 관찰하기 위하여 대조군에서의 아연 운반체 발현도를 100으로 놓고, 아연 보충군의 아연 운반체 발현도를 상대적으로도 비교하였다.

2.6 통계분석

모든 통계분석은 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., USA)으로 수행하였다. 자료의 크기가 작고 대부분의 변수가 정규성을 띄지 않아 비모수 통계 분석 방법을 이용하여 분석하였다. 대조군과 아연 보충군 간의 일반적 특성, 식이 섭취, 아연 영양상태, 혈액 지표, 및 아연 운반체 발현의

차이는 Wilcoxon rank sum test를 이용하였다, 아연 보충 기간 동안의 각 그룹 내의 전, 후의 차이는 Wilcoxon signed rank test를 이용하였고, 그룹 간의 변화의 차이는 Wilcoxon rank sum test를 이용하였다.

3 연구결과

3.1 아연 보충제 섭취 후 대상자의 일반적 특성, 아연 영양상태, 혈액 지표의 변화.

아연 보충군(Zinc group)과 대조군(Placebo group) 두 그룹의 보충제 섭취 전 일반적 특성, 생화학 지표 및 아연 영양상태를 Table 14에 나타내었다. 전체 대상자의 평균 나이는 약 21세로, 두 그룹 간의 연령 차이는 존재하지 않았다. 아연 보충군과 대조군의 평균 체질량 지수(BMI)는 각각 $28.1\pm0.7 kg/m^2$, $28.2\pm0.6 kg/m^2$ 로 유의적인 차이는 존재하지 않았다. 두 그룹 간 식이 아연 섭취, 혈청 아연, 소변 아연 농도 및 혈청 SOD와 ALP 활성을 통한 아연 영양상태의 차이도 존재하지 않았다. 그 외 혈압, 허리둘레 및 에너지 섭취, 혈중 중성지질, 총 콜레스테롤 및 adipokine인 leptin과 adiponectin을 포함한 혈액 지표의 두 그룹 간 차이도 존재하지 않았다.

8주간 아연 보충제 또는 placebo 섭취 후, 대상자의 일반적 특성, 아연 영양상태 및 혈액 지표 변화를 살펴본 결과 (Table 15), 일반적 특성, 보충제 섭취를 제외한 식이 아연 섭취, 혈액 지표가 그룹 내에서는 유의적으로 변한 경우도 있었으나, 두 그룹 간의 유의적인 변화의 차이는 보이지 않았다. 단, 아연 보충군 내에서 보충제 섭취 후 전체 아연 섭취량, 혈청 아연 및 소변 아연 농도가 유의적으로 증가하였다 ($p<0.05$). 하지만, 아연 보충제 섭취 후 그룹 간 혈청 아연, 소변 아연 변화의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 아연 보충군

대상자 개별적인 혈청 아연과 소변 아연 농도의 변화를 살펴 보았을 때 (Figure 5), 개인 간 변화의 차이는 존재하였으나 대상자 대부분의 혈청 아연이 증가한 것을 확인 할 수 있었다. 또한 혈청 아연의 변화 정도에 따라 증가한 반응군 (respondents, n=9)과 그렇지 않은 비반응군 (non-respondents, n=11)으로 나누어 분석한 결과, 반응군의 소변 아연 농도는 유의적으로 증가하였으나 그 외의 지표들의 유의적인 변화는 나타나지 않았다 (데이터 미제시).

Table 14. Characteristics of the study subjects at baseline

	Placebo (n=20)			Zinc (n=20)			*p*
	Mean	SEM	(Range)	Mean	SEM	(Range)	
General characteristics							
Age (yr)	20.6	0.3	(18-23)	21.0	0.6	(18-28)	NS
BMI (kg/m^2)	28.1	0.7	(25.7-39.1)	28.2	0.6	(25.6-36.3)	NS
SBP (mmHg)	119.1	2.4	(100.0-135.0)	119.3	2.2	(108.0-149.0)	NS
DBP(mmHg	78.3	1.8	(64.0-89.5)	77.7	1.3	(69.0-87.0)	NS
Waist (cm)	90.2	2.0	(74.0-118.0)	88.1	1.8	(74.0-112.0)	NS
Dietary intake							
Energy (kcal)	1731.0	118.4	(1002.7-2824.9)	1807.1	102.3	(1014.0-2571.4)	NS
Zinc intake (mg/d)	7.7	0.5	(4.3-12.1)	7.3	0.5	(3.5-14.2)	NS
(mg/1000kcal)	4.5	0.2	(3.0-5.7)	4.1	0.3	(2.9-6.5)	NS
Zinc status indicators							
Serum zinc (umol/L)	13.8	0.5	(10.1-17.3)	13.0	0.5	(8.1-18.1)	NS
Urine zinc (ug/mg creatinine)	0.44	0.06	(0.12-0.98)	0.34	0.05	(0.11-0.97)	NS
SOD (U/ml)	7.8	0.4	(4.7-12.7)	7.8	0.4	(1.0-10.0)	NS
ALP (IU/L)	56.4	2.6	(38.0-78.0)	61.4	2.6	(39.5-80.0)	NS
Blood measurements							
Triacylglycerol (mg/dl)	92.4	8.0	(52.0-198.5)	122.0	36.7	(46.0-801.0)	NS
Total cholesterol (mg/dl)	178.1	5.4	(134.0-215.5)	180.2	9.8	(106.5-265)	NS
Adiponectin (μg/ml)	4.2	0.6	(0.5-10.7)	4.6	0.9	(0.7-13.8)	NS
Leptin (ng/ml)	20.8	1.4	(6.1-34.7)	19.2	1.4	(9.1-29.9)	NS

NS, not significant

a. The difference of variables between placebo and zinc supplemented group at baseline was examined by Wilcoxon rank sum test.

Table 15. Changes of characteristics of the study subjects after zinc supplementation

	Placebo (n=20)			Zinc (n=20)			*p*
	Mean	SEM	*p*	Mean	SEM	*p*	
General characteristics							
ΔBMI(kg/m^2)	0.1	0.9	NS.	0.2	0.9	NS	NS
ΔSBP(mmHg)	-3.9	3.2	NS.	0.7	3.9	NS	NS.
ΔDBP(mmHg	-2.0	2.1	NS	0.9	2.6	NS	NS
ΔWaist(cm)	-0.5	2.3	NS	2.2	2.6	NS	NS
Zinc intake							
ΔDietary zinc(mg/d)	-1.0	0.5	0.05	-1.1	0.7	NS	NS
ΔSupplemented zinc (mg/d)	-	-	-	30	-	-	-
ΔTotal zinc(mg/d)	-1.0	0.5	0.05	28.9	0.7	<.0001	<.0001
Zinc status indicator							
ΔSerum zinc(umol/L)	0.6	0.5	NS	1.7	0.5	<.01	NS
ΔUrine zinc (ug/mg creatinine)	0.36	0.18	NS	0.30	0.16	<.05	NS
ΔSOD(U/ml)	0.7	0.7	NS	0.9	0.1	NS	NS
ΔALP(IU/L)	6.6	3.7	NS	-1.9	0.7	NS	NS
Blood measurements							
ΔTriacylglycerol (mg/dl)	4.9	11.1	NS	-16.1	44.8	NS	NS
ΔTotal cholesterol (mg/dl)	1.5	10.1	NS	-7.4	12.5	NS	NS
ΔAdiponectin(μg/ml)	0.4	1.2	NS	-1.0	1.1	NS	NS
ΔLeptin (ng/ml)	-1.0	1.8	NS	1.6	2.4	NS	NS

NS, not significant

a. The significance of changes for each variable compared to baseline level in placebo or zinc supplemented group after zinc supplementation was examined by Wilcoxon signed rank test.

b. The difference of the change in variables between placebo and zinc supplemented group for zinc supplementation was examined by Wilcoxon rank sum test.

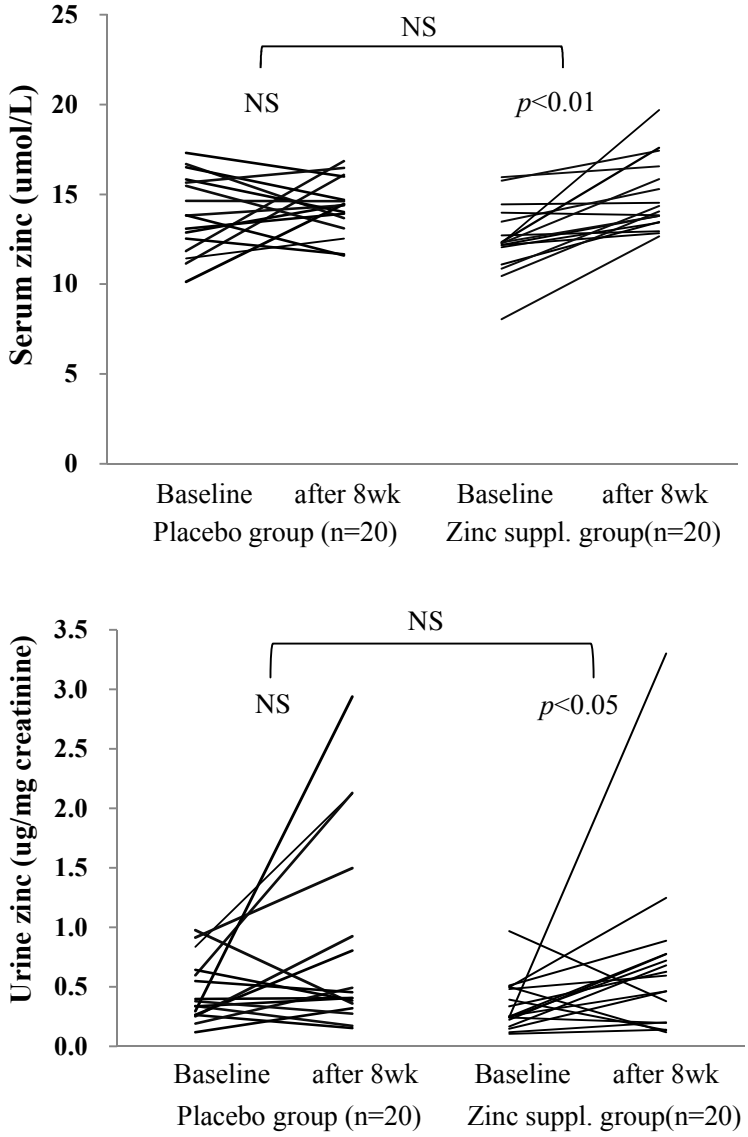


Figure 5. The changes of serum and urinary zinc after 8 weeks of zinc supplementation in the two groups

The significance of changes for each variable compared to baseline level in placebo or zinc supplement group was examined by Wilcoxon signed rank test. The difference of the change in variables between placebo and zinc supplemented group for zinc supplementation was examined by Wilcoxon rank sum test. NS, not significant

3.2 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 변화

비만 대상자의 보충제 섭취 전 leukocyte MT 및 아연 운반체 mRNA 수준을 Figure 6에 나타내었다. Leukocyte MT mRNA 수준이 아연 운반체 mRNA 수준보다 유의적으로 높았다. ZnT family 중에서는 ZnT1 leukocyte mRNA 수준이 가장 높았으며, 그 다음은 ZnT6과 ZnT7 순으로 높았다. Zip family 중에서는 Zip1 mRNA 수준이 가장 높았으며, 그 다음은 Zip7과 Zip6으로 나타났다.

8주 후 대조군 내의 아연 운반체 발현 변화를 100으로 놓고 아연 보충군 내의 leukocyte 아연 운반체 유전자의 상대적인 발현 변화를 살펴본 결과 (Figure 7), 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 중 ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7 mRNA의 수준이 각각 30.8%, 51.3%, 21.2%, 17.5%, 25.9%로 유의적으로 증가하였다 (p <0.05).

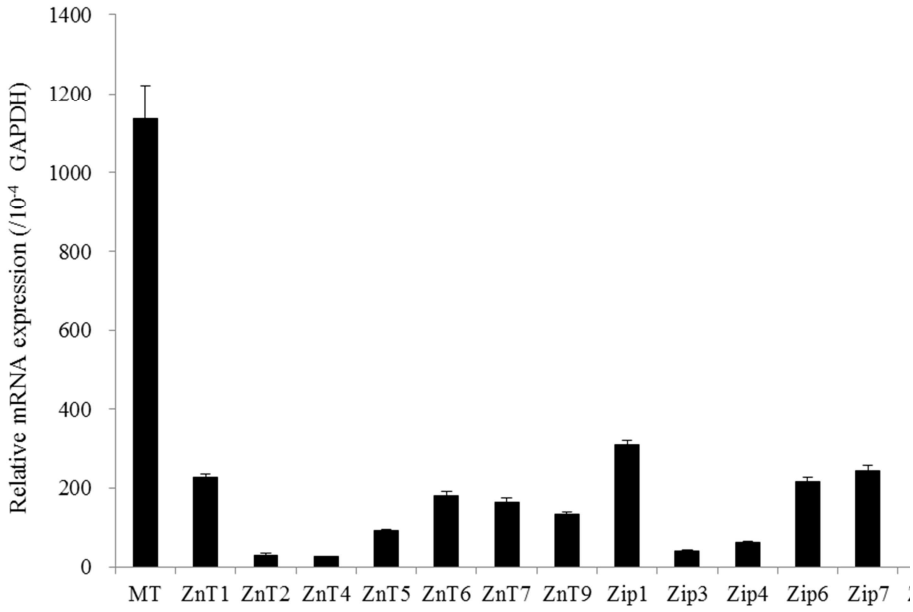


Figure 6. The expression levels of leukocyte zinc transporter mRNAs of obese subjects (n=35) at baseline.

The relative expression level of zinc transporters was examined by using GAPDH as reference gene.

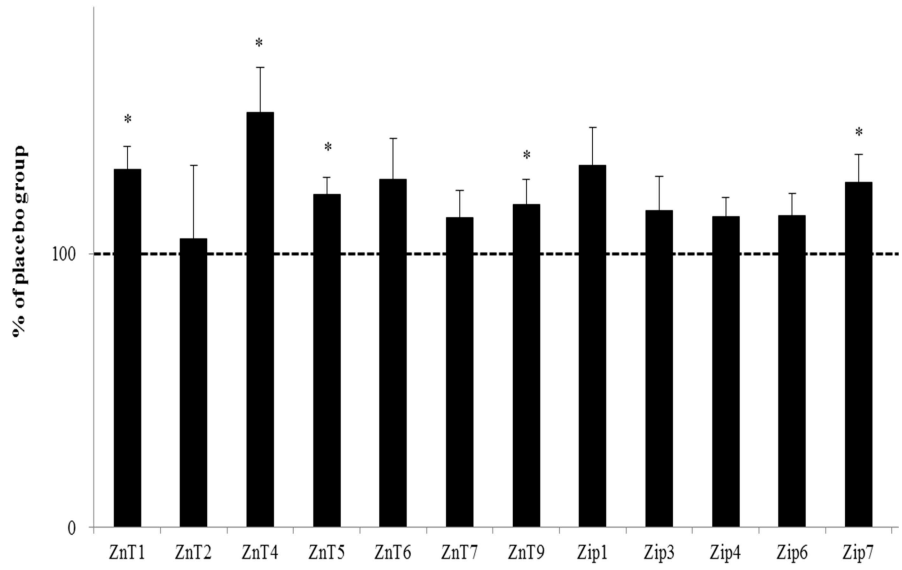


Figure 7. The differences of leukocyte mRNA expression levels of zinc transporters compared to placebo group in zinc supplemented group after zinc supplementation.

The change of the relative expression level for each zinc transporter in placebo group was placed at 100. The significant difference between placebo and zinc supplement group was examined by Wilcoxon rank sum test * $p < 0.05$

4 고찰

본 연구에서는 전반적으로 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 낮은 비만 여성의 아연 보충제 섭취 후, leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 변화를 관찰하여 체내 아연 상태 변화에 반응하는 leukocyte 아연 운반체를 확인하고자 하였다. 그 결과, 8주 동안 하루에 30mg의 아연 보충제 섭취한 비만 여성의 leukocyte 아연 운반체 중 ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7 RNA 발현이 유의적으로 증가하였다.

본 연구에서 비만 대상자의 leukocyte MT 및 아연 운반체 유전자 발현 수준을 살펴 본 결과 leukocyte 내의 MT mRNA 수준이 가장 높았으며, ZnT family 중에서는 ZnT1 leukocyte mRNA 수준이 가장 높았으며, 그 다음은 ZnT6과 ZnT7 순으로 나타났으며, Zip family 중에서는 Zip1 mRNA 수준이 가장 높았으며, 그 다음은 Zip7과 Zip6으로 나타났다. 기존 연구(Overbeck *et al.*, 2008, Aydemir *et al.*, 2006)에서도 leukocyte의 아연 운반체 중 ZnT1과 Zip1 mRNA의 수준이 가장 높게 나타났으며, 연구 1에서도 정상 체중 군을 포함한 전체 대상자의 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현을 살펴본 결과, ZnT family 중에서는 leukocyte ZnT1 mRNA 수준이 가장 높았고 Zip family 중에서는 Zip1 mRNA 수준이 가장 높게 나타난 것은 동일하였다. 그 외에 발현도가 높았던 아연 운반체 (ZnT 6, ZnT 7, ZnT 9, Zip6, Zip7)는 순서의 차이는 존재 하였으나 동일하였다.

기존 연구에서도 아연 보충제 섭취 후, 아연 운반체 유전자 발현의

변화를 관찰 하였다. Overbeck *et al.*(2008)의 연구에서 사람의 leukocyte primary cell에 아연 처리한 후, 일부 ZnT family 유전자 발현의 변화를 관찰하였는데, ZnT1과 ZnT4가 유의적으로 증가하였고, ZnT5, ZnT6, ZnT7의 발현은 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. Andree *et al.*(2004)의 연구에서는 20대 여성 (n=15) 및 65세 이상 여성 (n=10)을 대상으로 27일 동안 zinc gluconate 형태로 하루에 22mg 아연 보충제 섭취한 후 leukocyte ZnT1과 Zip1 유전자 발현 변화를 측정하였다. 그 결과, 20대 여성 및 65세 이상 여성 모두에게서 아연 보충제 섭취 후, Zip1 mRNA 수준이 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. Aydemir *et al.* (2006)의 연구에서도 19-31세 남성을 대상으로 16일 간 $ZnSO_4$ 형태로 아연 보충제 섭취 후 leukocyte MT 및 아연 운반체 유전자 발현을 측정한 결과, leukocyte MT, ZnT1 mRNA 수준이 유의적으로 증가하였고, Zip3 mRNA 수준은 유의적으로 감소하였다.

본 연구에서는 연구 1에서 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 수준이 낮은 것을 확인한 비만 여성을 대상으로 8주간 zinc gluconate 형태로 하루에 30mg 아연 보충 후 leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7 mRNA 수준이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 즉, 해당 아연 운반체들을 아연 보충제 섭취에 따른 체내 아연 상태 변화를 반영하는 아연 운반체로 볼 수 있겠다. ZnT1의 경우 기존 연구에서도 아연 보충제 섭취 후, 유전자 발현이 증가됨이 확인 되었다 (Aydemir *et al.,* 2006). 하지만 그 외의 아연 운반체에 대한 인체

실험은 아직 보고된 바가 없다. ZnT4는 주로 소장의 상피 세포 등의 체내 여러 조직에 분포하는 것으로 알려져 있으며, 세포 내에서는 trans-Golgi network, endosome 및 기타 소낭 등에 분포한다 (Liuzzi *et al.*, 2001, Murgia *et al.*, 1999). 하지만, 동물(rat) 실험 연구 (Liuzzi *et al.*, 2001)에서 아연 결핍 또는 아연 보충에 따른 체내 아연 상태 변화에 따른 소장, 신장, 간의 ZnT4 유전자 발현의 변화는 나타나지 않는 것으로 보고하였다. ZnT5는 체내 여러 조직에 분포하나, 특히 췌장 β-세포의 secretary granules 에서의 발현이 가장 높은 것으로 알려져 있다 (Kambe *et al.*, 2002). 실제로 ZnT5 knockout mice가 대조군에 비해 췌장 β-세포의 기능 이상으로 지방 조직이 적은 것으로 나타났다 (Palmiter *et al.*, 2004). In vitro 실험에서, 소장 세포인 Caco-2 cell에 7일 동안 100uM $ZnSO_4$ 처리 시 ZnT5 mRNA 수준이 2배 증가하는 것을 확인하였다 (Cragg *et al.*, 2002). 또한 사람의 leukocyte primary cell에 아연 처리 후, ZnT4는 유의적으로 증가하였고, ZnT5는 유의적으로 감소하는 결과를 보였다 (Overbeck *et al.,* 2008). ZnT9는 체내 여러 조직 내 세포질 및 핵에 존재하는 것으로 보고 되었으나, 아연 결핍 또는 보충에 대한 in vitro 및 in vivo에 대한 연구가 아직 보고된 바 없다 (Lichten and Cousins, 2009). Zip7은 여러 조직에서 발현되며 주로 golgi apparatus에 분포하여 소낭 내 아연을 세포질로 이동시키는 역할을 하는 것으로 보여진다 (Taylor *et al.*, 2007). In vitro 실험에서, 전립선 상피 세포인 RWPE-1 cell에 75μM $ZnSO_4$ 처리 후 Zip7의 유전자 및

단백질 수준을 측정한 결과, Zip7의 유전자 발현에는 변화가 없었으나, 단백질 수준은 감소하는 경향을 보였다 (Huang *et al.*, 2005). 하지만 역시 동물 및 인체 실험은 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 아직 사람을 대상으로 한 연구가 진행되지 않았던 leukocyte 아연 운반체의 아연 보충 후 유전자 발현의 변화를 보았다는 것에서 의의를 지닌다. 하지만 본 연구는 대상자 수가 적었고, 비만인을 대상으로 하였다는 제한점도 가진다.

5 결론

본 연구에서는 전반적으로 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 낮은 비만 여성을 대상으로 아연 보충제 섭취 후 아연 운반체 유전자 발현의 변화를 살펴보았다. 그 결과, 아연 보충제 섭취 후, leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7 mRNA 수준이 유의적으로 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 해당 leukocyte 아연 운반체가 아연 보충제 섭취 후 변화된 체내 아연 상태에 비교적 민감하게 반응하는 것으로 보여진다. 본 연구 결과를 일반화 하기 위해서는 다양한 연령층의 건강한 사람들을 대상으로 한 연구 및 메커니즘에 대한 연구가 필요하다.

V. 연구 3: 한국 젊은 성인의 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향

1 서론

나트륨 과잉 섭취는 고혈압, 심혈관계 질환 및 신장 질환 등을 유발하는 것으로 알려져 있다 (He *et al.*, 2007, Meneton *et al.*, 2005). 최근 연구(Bibbins-Domingo *et al.*, 2010)에서, 약간의 소금 제한(3g/day)이 상당한 정도의 심혈관계질환 발병 및 관련 의료 비용 감소를 가져올 것이라고 예상하였다. 그러나 관련 기관의 나트륨 섭취 제한을 위한 지속적인 노력에도 불구하고, 여전히 주요 보건 문제 중 하나로 남아있다. 한국인 나트륨 평균 섭취량은 4830.5mg으로 WHO에서 권고한 수준(<2000mg/day)의 2배 이상 섭취하고 있다 (KCDC, 2011, WHO, 2002). 나트륨 섭취는 개인의 짠맛 인지 및 선호도에 영향을 받는다 (Hayes *et al.*, 2010). 따라서, 나트륨 섭취의 제한에 대한 효율적인 전략을 위한, 짠맛 인지 및 선호도에 영향을 주는 요인에 대한 연구가 필요하다.

짠맛 인지에 영향을 줄 수 있는 요인 중 하나가 체내 아연 영양상태이다. 아연 결핍은 미각의 손상을 초래하는 것으로 알려져 있다. 아연은 타액에 존재하는 아연 금속 단백질(metalloprotein)인 gustin (carbonic anhydrase VI)의 효소적 활성에 필수적인 성분이다. 타액 gustin의 분비 감소는 미각과 후각의 기능 저하 및 손상과 관련이

있다 (Henkin *et al.*, 1999). 기존 연구 (Wright *et al.*, 1981)에서 아연 결핍이 짠맛 인지를 유의적으로 낮추는 것으로 보고하였다. 또한, 노인(Stewart-Knox *et al.*, 2008)이나 미각 이상 환자(Takeda *et al.*, 2004, Yamagata *et al.*, 2003)를 대상으로 한 연구에서, 아연 보충제 섭취 후 맛 인지 능력이 향상되는 결과를 보였다. 또한 영양 불량 상태인 개발 도상국인 과테말라 아이들 (평균 월령 81.5±7.0 개월, n=162)을 대상으로 한 연구에서 체내 아연 농도가 낮은 아이들의 짠맛 감지 역치가 체내 아연 농도가 높은 아이들에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였다 (Cavan *et al.*, 1993). 그러나 건강한 젊은 성인을 대상으로 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향에 대해 본 연구가 많지 않고, 아연 영양상태가 짠맛 선호도에 미치는 영향에 대한 연구는 전무하다.

또한, 짠맛 인지와 아연 영양상태 간의 관계에 대한 기존 연구에서 아연 영양상태를 주로 혈청 아연 농도를 이용하여 살펴보았다 (Stewart-Knox *et al.*, 2008, Takeda *et al.*, 2004, Yamagata *et al.*, 2003). 그러나 혈청 아연은 항상성 메커니즘의 효율적인 조절 아래에 심각한 아연 제한 (<2-3mg/d)이 되지 않는 한 상대적으로 안정하게 유지된다는 제한점을 갖는다 (Lowe *et al.*, 2009). 이런 이유로 건강한 일반 성인을 대상으로 한 관찰 연구에서는 혈청 아연과의 관계가 약하게 나타날 수 밖에 없다. 최근 아연 영양상태에 민감하게 반응하는 생화학적 지표로 아연 운반체에 대한 관심이 증가하고 있다 (Andree

et al., 2004, McMahon *et al.*, 1998). 기존의 여러 연구에서 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 유의적으로 변화 됨을 확인하였다(Andree *et al.*, 2004, Aydemir *et al.*, 2006), 연구 2에서도 정상 체중에 비해 전반적인 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 낮은 비만 여성의 아연 보충제 섭취 후, 일부 leukocyte 아연 운반체 (ZnT1, ZnT4, ZnT9, Zip7) mRNA 수준이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 따라서 체내 아연 상태에 따라 조절되는 leukocyte 아연 운반체 유전자의 발현 차이가 짠맛 인지 및 선호도에 영향을 줄 것으로 보이나 현재까지 이러한 관계를 살펴본 연구는 전무하다.

따라서, 본 연구에서는 한국 20대 성인을 대상으로 아연 영양상태를 식이 아연 섭취 및 혈청 아연 그리고 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현을 통해 평가하고, 이런 아연영양상태와 짠맛 인지 및 선호도의 관계를 살펴보고자 하였다.

2 연구방법

2.1 연구 디자인 및 대상자

본 연구에서는, 정기적으로 약물 및 식이 보충제를 섭취하지 않고, 비 흡연자인 건강한 20대 젊은 성인 207명 (남자 104명, 여자 103명)을 서울대학교 캠퍼스 내에서 모집하였다. 대상자는 총 두 번 방문 하여, 1차 방문 시 짠맛 역치 및 선호도에 대한 관능평가를 실시하였고, 24시간 회상법을 이용한 면접을 통하여 대사자의 전 날 섭취한 음식을 조사하고 추가적으로 2일치 식이조사를 위해 식이기록지 작성법에 대한 교육을 실시하였다. 2주 후 2차 방문에서는, 12시간 공복 혈액을 수집하고 신체 계측을 실시하였다. 그리고 대상자로부터 추가적으로 2일 식이기록지를 받았다. 아연 운반체 발현과 관련된 분석의 경우 전체 207명의 대상자 중 아연 운반체 발현 자료가 있는 대상자 162명 (남자 90명, 여자 72명)에 대한 자료만 분석에 사용하였다. 본 연구의 모든 과정은 서울대 생명 윤리 심의 위원회의 승인을 받아 진행하였고 (IRB NO.0812/001~001), 모든 대상자에게 연구 진행에 대한 모든 사항을 알리고 이에 대한 동의를 받았다.

2.2 신체 계측 및 혈액 지표 분석

대상자들의 신장, 체중 및 BMI를 BMI 측정 기기 (BSM 330,

Biospace, Korea)를 이용하여 훈련 받은 조사원이 측정하였다. 12시간 공복 정맥혈을 3ml를 수집 후, 혈청을 분리하여 혈청 아연, 헤모글로빈 및 혈청 알부민 수준을 측정 하였다. 생화학지표 분석은 이원검사센터에 의뢰하였으며, 혈청 아연 수준은 atomic absorption spectrometry (AAS 600, Perkin Elmer)을 이용하여 분석되었고, 헤모글로빈 및 혈청 알부민 수준은 automatic analyzer (ADVIA 2400, Bayer Diagnostics)를 이용하여 분석 되었다.

2.3 관능평가

짠맛 인지는 변형된 'up-down' 방법 (Bartoshuk, 1978)을 이용하여 짠맛에 대한 인지 역치(recognition threshold)로 측정하였다 (Meligaard *et al.*, 1991). 농도가 0.85mM에서 63.38mM까지의 총 15개의 염화 나트륨 용액을 준비하였다. 짠맛 역치는 총 2회 측정하여 그에 대한 평균을 구하였다. 첫 번째 시행에서는, 대상자에게 용액을 낮은 농도에서 높은 농도 순으로 제공하고 연속적으로 짠맛이 인지된다고 한 두 농도의 샘플 중 낮은 농도를 그 대상자의 짠맛 역치로 하였다. 두 번째 시행에서는, 반대로 용액을 높은 농도에서 낮은 농도 순으로 제공하고 연속적으로 짠맛이 나지 않는다고 한 두 농도의 샘플보다 한 단계 높은 농도를 그 대상자의 짠맛 역치로 하였고, 두 번 시행하여 측정한 역치의 평균값을 대상자의 최종 짠맛 역치로 여기고

추후 분석을 진행하였다.

짠맛 선호도 측정을 위하여 한국인이 상용하는 맑은 국인 콩나물국을 이용하였다. 콩나물국은 표준 레시피에 따라 제조하였다. 1L의 정제수에 동일한 제조사의 콩나물 400g 넣은 후 다른 양념을 넣지 않고 20분간 끓여 제조하였다. 대상자에게 제공될 때는 평소 먹는 온도를 고려하여 50~60℃ 정도로 식혀 제공하였고, 이 때 콩나물국의 염도는 항상 6.85mM(0.04%)로 유지하도록 하였다. 대상자에게 콩나물국을 맛보게 한 뒤, 식염을 함께 제공하여 본인의 기호에 맞게 간을 맞추도록 하였다. 대상자가 간을 맞춘 콩나물국을 수거하여 염도계 (TDS, Daeyoon Scale Industrial Co., Korea)를 이용하여 두 번 측정하고 그에 대한 평균값을 대상자의 짠맛 선호도로 여겨 추후 분석을 진행하였다. 관능평가 12시간 전부터 모든 대상자의 음주를 제한하였고, 최소한 2시간 전부터는 음식의 섭취와 양치질을 제한하였다.

2.4 식이 섭취 평가

대상자의 식이섭취조사는 24시간 회상법과 식사 기록법을 이용하여 비연속적인 주중 2일, 주말 1일 총 3일간의 식이를 조사하였다. 훈련받은 조사원이 면접을 통하여 그 전날 섭취한 모든 음식을 조사하였고, 이 때 식이 기록지 작성법에 대한 교육도 같이 시행하였다. 대상자에게 비연속 이틀 동안의 끼니 별 섭취한 모든 음식의 양 및 재료 등을

자세히 기록하도록 하였고, 섭취한 음식의 양의 정확한 기술을 위하여 밥, 국, 반찬 및 음료의 실물크기 사진 및 격자 및 원 등의 보조 도구를 함께 제공하였다. 또한, 기록지 수거 시 훈련 받은 조사원이 기록 내용을 검토하였다. 조사된 대상자의 식이 섭취 자료는 한국영양학회 데이터베이스와 영양소 섭취량 계산 프로그램인 DS24를 이용하여 분석하였다 (Paik *et al.*, 1997). 이를 통하여 대상자의 아연 영양소 섭취량을 계산하였고, 에너지 섭취량 보정을 위하여 영양소 밀도, 즉 1000kcal 에너지 섭취 당 아연 섭취량(mg/1000kcal)을 계산 하였다. 또한 식이 아연의 생체이용률에 피틴산이 영향을 주는 것으로 알려져 있으므로 (Lonnerdal, 2000), 피틴산-아연 몰비율 (phytate-to-zinc molar raio)을 이용하여 '이용 가능한 아연(available zinc)'의 섭취도 계산하였다(Gibson *et al.*, 2008, WHO, 1996). 피틴산-아연 몰비율의 계산 방법은 다음과 같다.

$$\text{피틴산:아연 몰비율} = \frac{\text{피틴산 섭취량(mg)}/660}{\text{아연 섭취량 (mg)}/65.4}$$

피틴산-아연 몰비율이 5미만, 5-15, 15초과로 나눠 아연 생체이용률 각각 50%, 30%, 15%로 설정하여 이용 가능한 아연(available zinc)을 계산하였다.

2.5 Leukocyte total RNA 추출 및 real-time PCR 분석

1.5ml 전혈에서 QIAamp RNA blood kit (Qiagen, USA)을 이용하여 total RNA를 추출하였다 (Andree *et al.*, 2004). 추출한 RNA의 농도 및 순도는 분광광도계 Nanodrop (Thermo, USA)을 이용하여 260nm와 280nm 파장에서 흡광도를 측정하여 구하였고, 260nm/280nm ratio가 1.8 이상인 샘플만을 사용하였다 (남자 90명, 여자 72명). 0.25ug total RNA와 PrimeScriptTM RT reagent kit (Takara, Japan)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 연구 2에서 비만 대상자의 아연 보충제 섭취 후 유의적으로 그 발현도가 변화한 ZnT1, ZnT4, ZnT9, Zip7 아연 운반체와 기존 연구에서 체내 아연 영양상태에 민감하게 반응하는 것으로 알려진 MT와 Zip1을 분석에 이용하였다. 분석에 이용한 MT, 아연 운반체 및 GAPDH primer sequence는 Table 10에 나타내었다. MT 및 아연 운반체의 상대적인 발현도는 GAPDH를 reference gene으로 하여, 우선 ΔCt ($Ct_{target} - Ct_{ref}$, Ct:cycle number)를 계산하고 $2^{-\Delta Ct} \times 10^4$ 를 이용하여 10^{-4} GAPDH 당 해당 gene의 상대적인 발현도로 나타내었다 (Andree *et al.*, 2004).

2.6 통계분석

모든 통계분석은 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., USA)으로

수행하였다. 비정규 분포하는 변수는 자연 로그 변환을 하였다. 남녀 간의 일반적 특성, 짠맛 인지 및 선호도, 영양소 섭취, 아연 영양상태 및 아연 운반체 발현의 차이는 Student's t-test 를 이용하였고, 짠맛 인지와 선호도 간의 상관관계, 짠맛 인지 및 선호도와 아연 영양상태 및 아연 운반체 발현의 상관관계 분석은 Pearson 상관 분석 또는 Pearson 편상관 분석을 이용하였다. 짠맛 인지 및 선호도가 낮은 그룹과 높은 그룹 간의 아연 영양상태의 차이, MT 및 아연 운반체 발현 수준이 낮은 그룹과 높은 그룹 간의 짠맛 인지 및 선호도의 차이도 Student's t-test 를 이용하였다. 식이 아연 섭취 및 혈청 아연에 따른 남녀 간의 아연 결핍 대상자의 분포는 카이 제곱 검정 (χ^2-test)을 이용하였다. 아연 영양상태 및 아연 운반체 발현에 따른 짠맛 인지에 미치는 영향에 대해 보고자 회귀 모델(regression model)을 분석에 이용하였고, 이 때 BMI를 공변수로 넣어 분석하였다.

3 연구결과

3.1 대상자의 일반적 특성, 짠맛 인지 및 선호도

대상자의 일반적 특성 및 짠맛 인지 및 선호도를 Table 16 에 나타내었다. 전체 대상자의 평균 나이는 23.6 세로 남, 녀 간의 차이는 존재하지 않았다. 남, 녀 대상자의 평균 BMI 는 각각 23.0±0.2 kg/m^2, 20.9±0.2 kg/m^2 로 남성 대상자가 유의적으로 높았다 (p<0.001). 혈청 알부민 및 헤모글로빈 수치 모두 남성 대상자가 유의적으로 높게 나타났으나 정상 범위 내에 들었다 (p<0.05). 짠맛 역치는 남성 (19.3±1.2mM)이 여성 (15.8±0.29mM)보다 유의적으로 높은 것으로 나타났고 (p=0.02), 짠맛 선호도도 여성 (75.4±3.0mM)보다 남성 (86.0±4.0mM)이 유의적으로 높았다 (p=0.03). 짠맛 역치 및 선호도의 분포를 살펴 보았을 때 (Figure 8), 남성의 짠맛 역치 및 선호도가 여성 대상자에 비해 더 높은 농도에 분포하는 것으로 나타났다. 또한 전체 대상자의 짠맛 인지와 선호도는 유의적인 양의 상관관계 (r=0.26, p<0.00)를 나타내었다 (Figure 9).

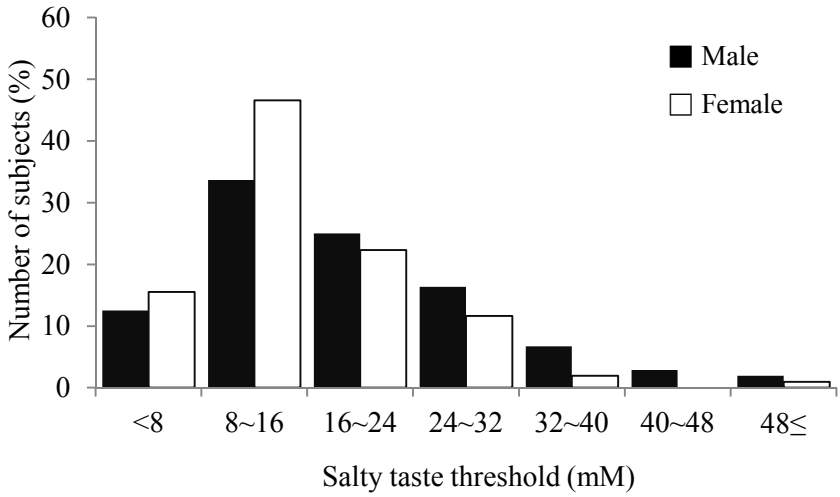
Table 16. General and salty taste characteristics of the study subjects

	Male (n=104)		Female (n=103)		p^a
	Mean	SEM	Mean	SEM	
General characteristics					
Age (yr)	23.6	0.2	23.6	0.2	NS
BMI (kg/m^2)	23.0	0.2	20.9	0.2	<0.001
Albumin (g/dl)	4.9	0.0	4.8	0.0	NS
Hemoglobin (g/dl)	15.8	0.1	13.4	0.1	<0.001
Salty taste					
Salty taste acuity (mM)	19.3	1.2	15.8	0.9	0.02
Salty taste preference (mM)	86.0	4.0	75.4	3.0	0.03

NS, not significant

a. Differences between male and female were examined by Student's t-test

A. Salty taste acuity



B. Salty taste preference

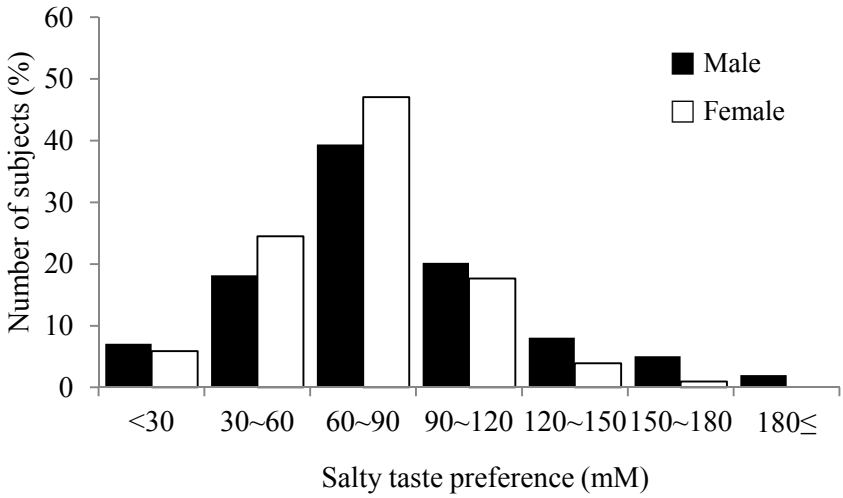


Figure 8. Distribution of salty taste threshold (A) and preference (B) of male (n=104) and female (n=103) subjects

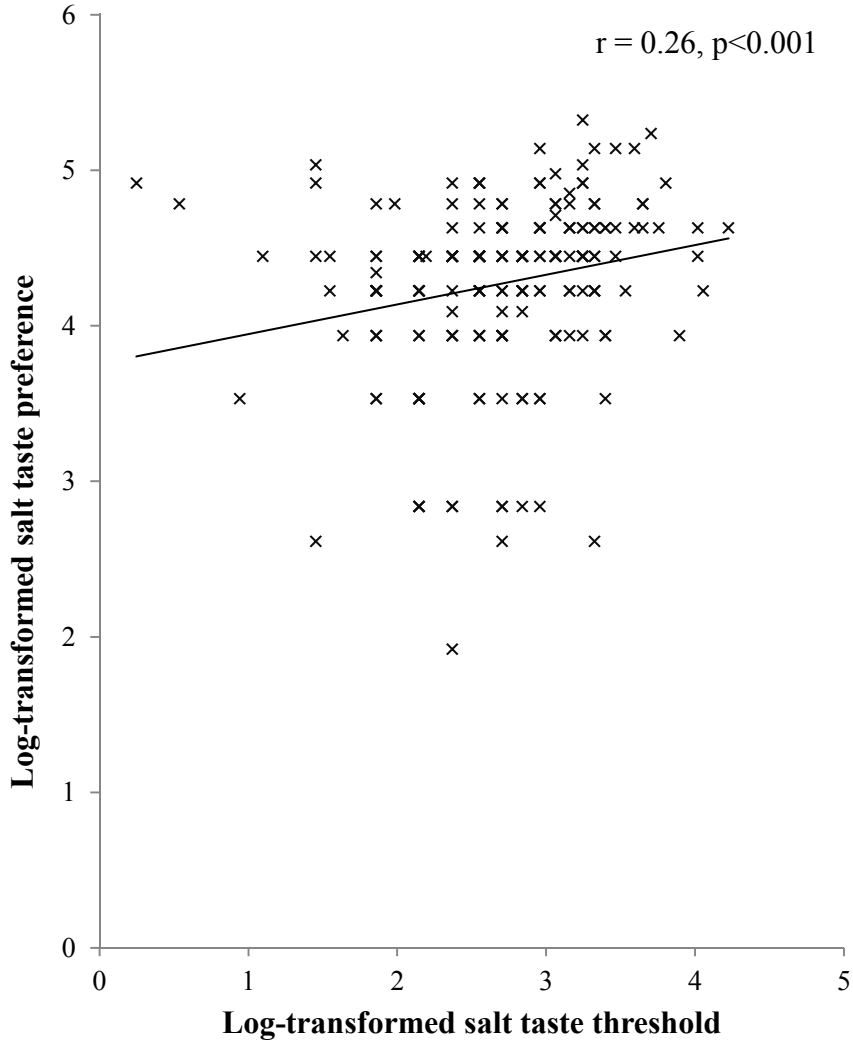


Figure 9. The correlation between salty taste acuity and preference in total subjects (n=207).

Correlation between salty taste threshold and preference was examined by Pearson's partial correlation analysis with BMI and sex. The value of salt taste acuity and preference was natural log-transformed.

3.2 대상자의 에너지, 다량 영양소 에너지 섭취 비율 및 아연 영양상태

대상자의 영양소 섭취 및 아연 영양상태를 평가한 결과를 Table 17에 제시하였다. 에너지 섭취 및 다량 영양소 에너지 섭취 비율의 성별에 따른 차이는 존재하지 않았다. 혈청 아연 농도 역시 여성 (13.6±0.3 μmol/L)이 남성 (14.4±0.2 μmol/L) 보다 유의적으로 낮았으나(p=0.04), 혈청 아연 수준을 (Gibson *et al.*, 2008)에서 제시한 기준을 이용하여 평가하였을 때, 아연 결핍 비율의 남녀 간 차이는 존재하지 않았다. 식이 아연 섭취량은 남성은 8.9±0.2mg 여성은 7.0±0.2mg 로 나타났다. 아연의 생체 이용률을 고려한 이용 가능한 식이 아연 섭취량은 남성은 3.9±0.1mg, 여성은 3.1±0.1mg 이었다. 남성의 식이 아연 및 이용 가능한 식이 아연 섭취량 모두 여성에 비해 유의적으로 높았다 (p<0.001). 하지만 1000kcal 당 식이 아연 및 이용 가능한 아연의 섭취량은 성별에 따른 유의적인 차이는 존재하지 않았다. 아연 적정 섭취 정도를 평가하기 위하여 평균 필요량(EAR) 미만으로 섭취하는 대상자의 비율을 살펴보았을 때, 여성은 56.3%, 남성은 38.5%로, 여성의 비율이 유의적으로 높았다 (p<0.01).

Table 17. Nutrient intakes & zinc nutritional status of the study subjects

	Male (n=104)		Female (n=103)		p^a
	Mean	SEM	Mean	SEM	
Nutrient intake					
Energy (kcal)	2116.2	44.1	1630.0	35.1	<.0001
CHO (%kcal)	56.3	0.6	57.1	0.5	NS
Protein(%kcal)	14.7	0.2	14.8	0.2	NS
Fat (%kcal)	29.0	0.5	28.1	0.4	NS
Zinc nutritional status					
Serum zinc (μmol/L)	14.4	0.3	13.6	0.2	0.04
Deficiency[bc] (%)	13	(12.5)	11	(10.7)	NS
Dietary zinc intake					
Total zinc (mg)	8.9	0.2	7.0	0.2	<.0001
(mg/1000kcal)	4.2	0.1	4.4	0.1	NS
Available zinc (mg)	3.9	0.1	3.1	0.1	<.0001
(mg/1000kcal)	1.8	0.0	1.9	0.1	NS
< EAR[bd] (%)	40	(38.5)	58	(56.3)	0.01

NS, not significant

a. Differences of variables between male and female were examined by Student's t-test
b. Differences of distribution between male and female were examined by χ^2-test
c. Men - <11.3 μmol/L, Women - <10.7 μmol/L (Gibson *et al.*, 2008)
d. EAR(Estimated average requirements) for zinc: Men - 8.1 mg/day, Women - 7 mg/day

3.3 대상자의 leukocyte metallothionein과 아연 운반체 유전자 발현

연구 2에서 아연 보충제 섭취 후 발현도가 유의적으로 변했던 leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT9, Zip7 과 기존 연구에서 체내 아연 상태에 민감하게 반응하는 것으로 알려진 leukocyte MT와 Zip1을 이용하여 대상자의 아연 영양상태를 분석해 보았다. 대상자의 MT 및 아연 운반체 mRNA 수준을 Figure 10에 나타내었다. 다른 아연 운반체에 비해 MT의 발현도가 가장 높았다. 그 다음으로 ZnT1과 Zip1의 발현도가 높았다. 또한leukocyte 아연 운반체 mRNA 수준은 남녀간 차이가 존재하였다. 특히 ZnT1, ZnT4, Zip1, Zip7 mRNA 수준이 남성에서 유의적으로 높게 나타났다 ($p<0.05$).

또한 leukocyte MT 및 아연 운반체 유전자 발현과 아연 영양상태 간의 상관관계를 살펴본 결과를 Table 18에 제시하였다. 남성의 경우, 아연 운반체 mRNA 수준과 혈청 아연 및 식이 아연 섭취량 간의 유의적인 상관관계 나타나지 않았다. 단 leukocyte MT, ZnT1 및 ZnT9 mRNA 수준이 식이 아연 및 이용 가능한 아연 섭취와 유의적이지 않았으나 약한 양의 상관관계 보였다. 여성의 경우 leukocyte ZnT1과 Zip7 mRNA 수준과 혈청 아연 수준이 유의적인 음의 상관관계 ($r=-0.28$, $p=0.02$; $r=-0.31$, $p=0.01$)를 나타내었고, 식이 아연 섭취량은 Zip7 mRNA 수준과 유의적인 양의 상관관계 ($r=0.23$, $p=0.048$)를 나타내었다.

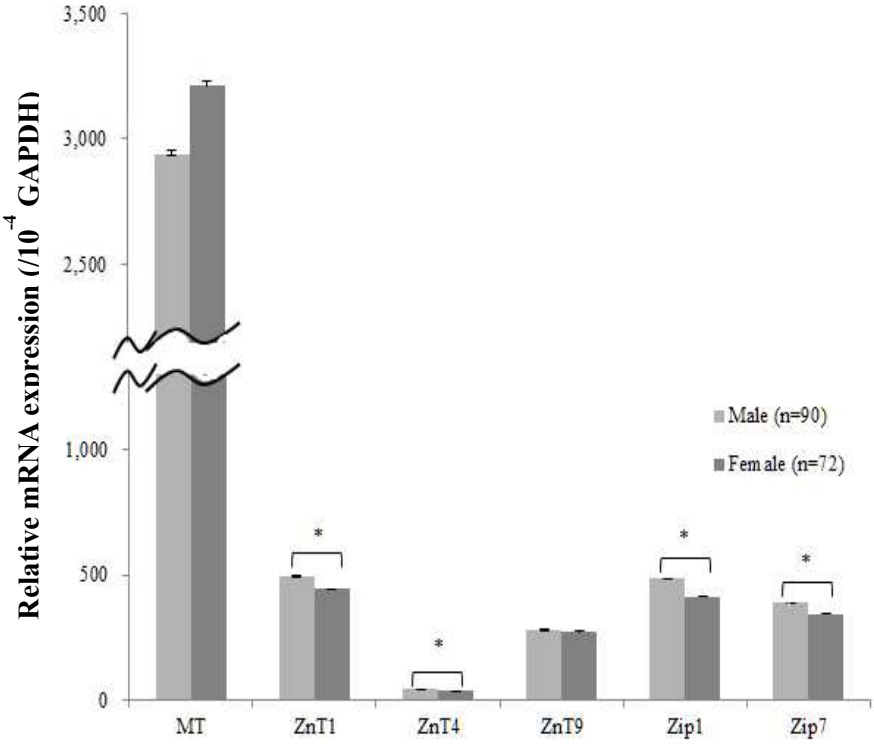


Figure 10. The expression levels of leukocyte metallothionein and zinc transporters mRNAs in male(n=90) and female(n=72) subjects.

The relative expression level was examined by using GAPDH as reference gene. The significant difference between male and female was examined by student's t-test. $*p<0.05$

Table 18. Pearson's coefficients of correlation[a] for the leukocyte mRNA levels of metallothionein and zinc transporters with zinc nutritional status and nutrient intake in the study subjects

	Serum zinc (umol/L)	Total zinc intake (mg/1000kcal)	Available zinc intake (mg/1000kcal)
***Male* (n=90)**			
MT	-0.11	0.20	0.19
ZnT1	-0.16	0.19	0.18
ZnT4	0.07	0.08	0.11
ZnT9	0.02	0.19	0.16
Zip1	-0.07	0.16	0.16
Zip7	0.05	0.09	0.10
***Female* (n=72)**			
MT	-0.13	-0.09	-0.10
ZnT1	-0.28*	0.18	0.15
ZnT4	-0.06	0.13	0.07
ZnT9	-0.10	0.10	0.09
Zip1	-0.13	-0.08	-0.12
Zip7	-0.31**	0.23*	0.20

a. The correlation analysis of the leukocyte mRNA level of MT & zinc transporters with zinc nutritional status and nutrient intake was conducted using Pearson's correlation in male and female subjects after natural logarithm transformation of variables.*$p<0.05$, **$p<0.01$

3.4 대상자의 짠맛 인지 및 선호도에 따른 아연 영양 상태

아연 영양상태에 따른 짠맛 인지 및 선호도의 관계를 알아보기 위하여, 짠맛 인지 및 선호도에 따라 두 그룹으로 나누어 두 그룹 간의 식이 아연 및 이용 가능한 아연 (available zinc) 그리고 혈청 아연 농도의 차이를 비교하였다 (Table 19 & Table 20). 여성의 경우, 짠맛 인지가 낮은 그룹의 식이 아연의 섭취(4.2±0.1mg/1000 kcal)가 높은 그룹의 식이 아연의 섭취(4.6±0.2mg /1000 kcal)보다 유의적이지는 않았으나 낮은 경향을 보였다 (p= 0.08). 또한, 이용 가능한 아연(available zinc)의 섭취는 짠맛 인지가 높은 그룹에서(2.1±0.1mg /1000 kcal) 보다 짠맛 인지가 낮은 그룹(1.8±0.1mg /1000 kcal)에서 유의적으로 낮았다 (p = 0.02). 남성의 경우, 짠맛 인지에 따른 그룹 내의 식이 아연 섭취 및 이용 가능한 아연의 섭취의 차이는 존재하지 않았다. 전체 대상자에서 짠맛 인지 및 혈청 아연 수준 간의 유의적인 관계는 존재하지 않았고, 단 남성 대상자에서 짠맛 선호도와 혈청 아연 사이에 유의적인 관계가 존재하였다 (p = 0.03). 짠맛 선호도가 높은 그룹에서 혈청 아연 수준이 유의적으로 높은 것으로 나타났다.

Table 19. Zinc nutritional status by the salty taste acuity in male and female subjects

	Salty taste acuity				P^a
	Low		High		
	Mean	SEM	Mean	SEM	
Male					
n	51		53		
Threshold (mM)	28.5	1.4	10.3	0.6	
Dietary zinc intake					
Total zinc (mg)	8.8	0.3	9.0	0.4	NS
(mg/1000kcal)	4.2	0.1	4.2	0.1	NS
Available zinc (mg)	3.8	0.2	3.9	0.2	NS
(mg/1000kcal)	1.8	0.1	1.8	0.1	NS
Serum Zn (μmol/L)	14.2	0.4	14.6	0.4	NS
Female					
n	50		53		
Threshold (mM)	22.0	1.2	9.2	0.4	
Dietary zinc intake					
Total zinc (mg)	6.9	0.2	7.2	0.3	NS
(mg/1000kcal)	4.2	0.1	4.6	0.2	0.08
Available zinc (mg)	3.0	0.1	3.2	0.1	NS
(mg/1000kcal)	1.8	0.1	2.1	0.1	0.02
Serum Zn (μmol/L)	13.8	0.3	13.5	0.4	NS

NS, not significant

a. Difference of variables between the low and the high of salty taste acuity were examined by student's t-test after natural logarithm transformation of variables.

Table 20. Zinc nutritional status by salty taste preference in male and female subjects

	Salty taste preference				P^a
	Low		High		
	Mean	SEM	Mean	SEM	
Male					
n	66		38		
Preference (mM)	62.2	3.0	127.3	4.5	
Dietary zinc intake					
Total zinc (mg)	9.0	0.4	8.7	0.3	NS
(mg/1000kcal)	4.3	0.1	4.1	0.1	NS
Available zinc (mg)	3.9	0.2	3.8	0.1	NS
(mg/1000kcal)	1.9	0.1	1.8	0.0	NS
Serum Zn (μmol/L)	13.9	0.3	15.2	0.4	0.03
Female					
n	52		51		
Preference (mM)	51.8	2.5	99.4	2.6	
Dietary zinc intake					
Total zinc (mg)	7.0	0.2	7.1	0.3	NS
(mg/1000kcal)	4.5	0.2	4.3	0.1	NS
Available zinc (mg)	3.1	0.1	3.1	0.1	NS
(mg/1000kcal)	2.0	0.1	1.9	0.1	NS
Serum Zn (μmol/L)	13.6	0.4	13.6	0.3	NS

NS, not significant

a. Difference of variables between the low and the high of salty taste preference were examined by student's t-test after natural logarithm transformation of variables

3.5 대상자의 짠맛 인지 및 선호도에 따른 leukocyte metallothionein 및 아연 운반체 유전자 발현

대상자의 leukocyte MT 및 아연 운반체 RNA 발현 정도와 짠맛 인지 및 선호도 간의 상관관계를 본 결과 (Table 21), 남성 대상자에서는 ZnT9 ($r=-0.22$, $p=0.04$)의 발현이, 여성 대상자에서는 Zip7($r=-0.33$, $p=0.005$)의 발현이 짠맛 역치와 유의적인 음의 상관관계를 나타내었다. 또한, 짠맛 인지 및 선호도에 따라 두 그룹으로 나누어 두 그룹 간의 leukocyte MT 및 아연 운반체 mRNA 수준을 비교한 결과 (Table 22 & Table 23), 남성 대상자의 경우 leukocyte ZnT1의 mRNA 수준이 짠맛 역치가 높은 그룹에서 유의적으로 높았다 ($p=0.04$). 여성 대상자에서는 Zip1의 mRNA 수준은 짠맛 인지가 높은 그룹에서 유의적으로 낮았으며 ($p=0.01$), Zip7의 mRNA 수준은 아연 인지가 높은 그룹에서 유의적으로 높았다 ($p<0.05$). 또한 짠맛 선호도에 따른 leukocyte MT 및 아연 운반체 mRNA 수준을 비교한 결과 짠맛에 대한 선호도가 높은 그룹에서 ZnT4 mRNA 수준이 유의적으로 낮았다.

Table 21. Pearson's coefficients of correlation for the leukocyte mRNA levels of metallothionein and zinc transporters with salty taste threshold and preference in male and female study subjects

	Threshold		Preference	
	r	*p*	r	*p*
Male (n=90)				
MT	-0.13	NS	-0.13	NS
ZnT1	-0.09	NS	-0.17	NS
ZnT4	-0.10	NS	-0.18	0.09
ZnT9	-0.22	0.04	-0.05	NS
Zip1	-0.15	NS	-0.19	0.07
Zip7	-0.13	NS	-0.07	NS
Female (n=72)				
MT	0.03	NS	0.00	NS
ZnT1	-0.15	NS	-0.08	NS
ZnT4	-0.07	NS	0.08	NS
ZnT9	-0.12	NS	0.11	NS
Zip1	0.14	NS	-0.01	NS
Zip7	-0.33	<.01	-0.08	NS

NS, not significant

All variables were natural logarithmically transformed.

Table 22. The leukocyte mRNA levels of metallothionein and zinc transporters by salty taste acuity in male and female study subjects

	Salty taste acuity				P^a
	Low		High		
	Mean	SEM	Mean	SEM	
Male					
n	43		47		
Threshold (mM)	27.8	1.6	9.6	0.6	
MT	2731.2	176.0	3163.5	241.4	NS
ZnT1	473.0	12.8	515.5	15.2	0.04
ZnT4	40.8	1.8	45.7	2.5	NS
ZnT9	270.0	7.9	290.3	9.5	NS
Zip1	458.4	21.4	513.2	26.4	0.08
Zip7	370.4	11.9	407.9	16.1	0.09
Female					
n	34		38		
Threshold (mM)	22.2	1.3	9.2	0.5	
MT	3445.5	238.6	2951.1	159.8	NS
ZnT1	429.4	19.6	459.2	22.3	NS
ZnT4	37.1	2.7	38.0	3.4	NS
ZnT9	264.6	11.6	280.6	15.2	NS
Zip1	445.3	20.4	376.6	18.9	0.01
Zip7	320.8	24.8	371.7	21.9	<.05

NS, not significant

a. Difference of variables between the low and the high of salty taste acuity were examined by student's t-test after natural logarithm transformation of variables

Table 23. The leukocyte mRNA level of metallothionein and zinc transporters by salty taste preference in male and female study subjects

	Salty taste preference				P^a
	Low		High		
	Mean	SEM	Mean	SEM	
Male					
n	57		33		
Preference (mM)	62.1	3.2	125.6	5.0	
MT	3045.0	189.0	2752.6	239.6	NS
ZnT1	502.0	12.5	478.4	16.9	NS
ZnT4	45.8	1.9	38.7	2.2	0.02
ZnT9	287.8	8.1	265.8	9.1	NS
Zip1	497.4	21.2	462.6	28.4	NS
Zip7	398.0	12.6	371.6	16.4	NS
Female					
n	53		19		
Preference (mM)	64.2	3.1	117.0	3.8	
MT	3166.9	149.1	3338.1	387.9	NS
ZnT1	459.0	17.8	400.2	24.0	0.08
ZnT4	37.1	2.6	38.8	3.2	NS
ZnT9	273.6	12.3	268.2	10.6	NS
Zip1	416.4	16.0	403.0	32.7	NS
Zip7	356.6	20.0	312.1	30.9	NS

NS, not significant

a. Difference of variables between the low and the high of salty taste preference were examined by student's t-test after natural logarithm transformation of variables

3.6 대상자의 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향

대상자의 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향을 전반적으로 관찰하기 위하여 공변수로 BMI를 넣은 회귀 모델 (regression model)을 이용하여 혈청 아연, 식이 아연 및 이용 가능한 아연 섭취 및 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 정도가 짠맛 인지에 미치는 영향을 분석한 결과 (Table 24), 남성 대상자의 경우 leukocyte ZnT9 mRNA 수준이 짠맛 역치와 유의적인 음의 관계를 나타내었고 (Standardized $\beta = -0.048$, $p=0.03$), 혈청 아연 수준과 식이 아연 섭취와는 유의적인 관계가 나타나지 않았다. 여성 대상자의 경우, 이용 가능한 식이 아연 섭취와 leukocyte Zip7 mRNA 수준이 짠맛 역치와 유의적인 음의 관계를 나타내었다 (Standardized $\beta = -0.467$, $p=0.04$; Standardized $\beta = -0.479$, $p=0.003$). 또한 여성 대상자의 leukocyte Zip7 유전자 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향에 대한 회귀 모델의 R^2가 0.12 ($p=0.01$)로 다른 아연 상태 지표가 짠맛 역치에 미치는 영향보다 설명력이 높은 것으로 나타났다.

Table 24. Simple regression models[a] of predicting salty taste threshold with zinc parameter in male and female study subjects

Predictors	R^2	*p*	Threshold (mM)		
			β	SE	*p*
Male					
Serum zinc	0.03	NS	0.217	0.39	NS
Total dietary zinc	0.05	0.09	-0.478	0.37	NS
Available dietary zinc	0.04	NS	-0.347	0.33	NS
ZnT9	0.07	0.05	-0.048	0.04	0.03
Female					
Serum zinc	0.03	NS	0.489	0.31	NS
Total dietary zinc	0.02	NS	-0.378	0.25	NS
Available dietary zinc	0.04	NS	-0.467	0.22	0.04
Zip7	0.12	0.01	-0.479	0.16	<.01

NS, not significant

a. Each regression models were adjusted for BMI as a potential confounder
All variables were natural logarithmically transformed.

4 고찰

본 연구에서는 한국 젊은 성인의 아연 영양상태를 혈청 아연, 식이 아연 섭취뿐 아니라 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현을 통해 평가하고, 이를 통해 평가된 아연 영양상태가 짠맛 인지 및 선호도에 미치는 영향을 살펴보았다. 그 결과 남성의 경우 leukocyte ZnT9 유전자 발현과 짠맛 인지가 유의적인 양의 관계를 나타내었고, 여성의 경우 이용 가능한 식이 아연 섭취와 leukocyte Zip7 유전자 발현과 짠맛 인지가 유의적인 양의 관계를 나타내었다.

동물 모델 또는 특정 집단을 대상으로 한 기존 연구에서도 아연 영양상태가 짠맛 인지에 영향을 줌을 확인하였다. Goto *et al.* (2001)의 연구에서 아연 결핍 식이를 섭취한 rat의 짠맛에 대한 선호도 및 예민도가 감소하였다. 또한 미각 기능이 손상된 환자(Takeda *et al.*, 2004)나 노인(Stewart-Knox *et al.*, 2008)을 대상으로 한 연구에서, 아연 영양상태와 짠맛 인지가 유의적인 양의 관계를 가지는 것으로 나타났다. 본 연구에서도 여성 대상자에게서는 식이 아연 섭취와 짠맛 인지가 양의 관계를 나타내었다. 여성 대상자에서 이용 가능한 식이 아연 섭취와 짠맛 인지와 유의적인 양의 상관관계를 나타내었고, 짠맛 인지가 낮을수록, 식이 아연 섭취가 낮은 경향을 보였다. 즉, 건강하고 젊은 여성의 경우, 식이아연 섭취가 짠맛 인지에 긍정적인 영향을 가지는 것으로 보인다. 그에 반하여, 남성의 경우 식이 아연과 짠맛 인지와는 관련성이 나타나지 않았다.

본 연구에서는 혈청 아연 및 식이 아연 섭취와 짠맛 인지 간의 관련성 외에도 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현과 짠맛 인지 간의 관련성도 살펴보았다. 기존의 여러 연구에서 체내 아연 상태에 따라 아연 운반체 유전자의 발현이 조절되는 것으로 나타났다 (Lichten *et al.*, 2009). 사람의 leukemia 세포인 MOLT-4와 THP-1 세포에 아연을 처리한 경우, ZnT1 mRNA 수준이 유의적으로 증가하였다 (Overbeck *et al.*, 2008). 또한 20-24세 젊은 여성(n=15)과 64-75세 노인 여성(n=10)을 대상으로 27일간 zinc gluconate 형태로 하루에 22mg 아연을 보충한 결과, leukocyte Zip1 유전자 발현이 각각 17%, 21% 유의적으로 감소하였고 (Andree *et al.,* 2002), 19-31세 젊은 건강한 남성(n=9)을 대상으로 하루에 15mg의 아연을 Zinc Sulfate ($ZnSO_4$)의 형태로 10일간 제공하며 leukocyte 아연 운반체를 관찰한 결과, ZnT1와 Zip3 mRNA 수준이 유의적으로 증가 또는 감소하였다(Aydemir *et al.*, 2006). 따라서 체내 아연 상태를 반영하는 아연 운반체 유전자의 발현이 짠맛 인지와도 관련이 있을 것으로 보았다. 따라서 본 연구에서는 연구 2에서 비만인을 대상으로 아연 보충제 섭취 후 발현이 유의적으로 증가하였던 leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT9, Zip7과 기존의 연구에서 체내 아연 상태 변화에 민감하게 반응하는 것으로 보고된 leukocyte MT 및 Zip 아연 운반체를 이용하여 본 연구 대상자들의 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 수준을 살펴보고, 그에 따른 짠맛 인지 및 선호도의 차이를 보았다. 우선 남녀 대상자 간의 leukocyte 아연 운반체 발현에 유의적인

차이가 존재하였다. 남성 대상자의 leukocyte 아연 운반체 (ZnT1, ZnT4, Zip1, Zip7) 유전자 발현이 유의적으로 높게 나타났다.

혈청 아연, 식이 아연 섭취 및 이용 가능한 아연의 절대 섭취량도 남성이 여성보다 유의적으로 높았으므로 이로 인한 결과로 보여진다. 아연 운반체 발현과 혈청 아연 및 식이 아연 섭취의 상관관계를 살펴보았을 때, 여성 대상자에게서 식이 아연 섭취와 Zip7의 발현이 유의적인 양의 상관관계를 나타내었다. 하지만 여성의 혈청 아연 농도와 leukocyte ZnT1과 Zip7 mRNA 수준은 유의적인 음의 상관관계를 나타내었다. 남녀 대상자의 짠맛 인지와 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 수준과의 관계를 살펴보았을 때, 남성에서는 ZnT9 mRNA 수준과 짠맛 역치가 유의적인 음의 상관관계를 나타내었고, 여성에서는 Zip7 mRNA 수준과 짠맛 역치가 유의적인 음의 상관관계를 나타내었다. Zip7의 경우는 아직까지 in vivo 실험에 대해서는 보고된 바가 없고, 단 전립선 상피 세포인 RWPE-1 cell을 이용한 in vitro 실험에서 아연 처리 후, Zip7 유전자 발현의 변화는 없는 것으로 보고하였다 (Huang *et al.*, 2005). ZnT9도 체내 아연 상태에 따른 유전자 발현에 대한 연구가 보고된 바 없다. 따라서 leukocyte Zip7 및 ZnT9 유전자 발현과 식이 아연 섭취 및 짠맛 인지 간의 관계에 대한 추가적인 기작에 대한 연구가 필요하다 하겠다.

또한 식이 아연 섭취와 아연 운반체 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향을 종합적으로 보기 위해 회귀 모델을 이용하여 분석하였다.

남성의 경우 ZnT9 유전자 발현이 짠맛 역치와 음의 관계를 갖는 것으로 나타났고 (standardized β=−0.775), 여성의 경우 이용 가능한 식이 아연 (standardized β=−0.617) 과 Zip7 유전자 발현 (standardized β=−0.462)이 짠맛 역치와 유의적인 음의 관계를 갖는 것으로 나타났다. 따라서 한국 젊은 성인 남녀의 아연 운반체 유전자 발현 및 식이 아연 섭취 수준에 따른 짠맛 인지의 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 또한 여러 요인 중 여성 대상자의 짠맛 역치에 대해 leukocyte Zip7의 설명력이 가장 높은 것으로 나타났다. 즉 여성에서 다른 요인보다 leukocyte 아연 운반체 Zip7이 짠맛 역치와 밀접한 관련이 있음을 확인 할 수 있었다.

본 연구에서는 혈청 아연은 짠맛 인지 및 선호도와의 상관관계가 나타나지 않았다. 혈청 아연은 아연영양상태 평가에 가장 널리 사용되는 생화학 지표이고 (Lowe *et al.*, 2009), 짠맛 인지와 아연 영양상태 간의 관계에 대한 기존 연구에서도 아연 영양상태 지표로 주로 혈청 아연을 사용하였다 (Stewart-Knox *et al.*, 2008, Takeda *et al.*, 2004, Yamagata *et al.*, 2003). 그러나 혈청 아연은 항상성 메커니즘의 효율적인 조절 아래에 심각한 아연 제한 (<2-3mg/d)이 발생하지 않는 한 상대적으로 안정하게 유지된다 (Gibson *et al.*, 2008). 이런 이유로 건강한 일반 성인을 대상으로 한 관찰 연구(observational study)에서는 혈청 아연과 짠맛 인지 간의 관계가 약하게 나타날 수 밖에 없다. 본 연구 결과에서는 건강한, 독립적인

생활을 하는 대상자의 아연 영양상태와 짠맛 인지의 관련성을 결정하는데 혈청 아연보다는 식이 아연 섭취, 특히 이용 가능한 아연 섭취 및 아연 운반체 유전자가 더 민감한 지표로 보여진다.

본 연구에서는 짠맛 선호도와 아연 영양상태의 관계가 뚜렷하게 나타나지 않았는데, 맛 선호도에 영향을 주는 요인은 영양적인 요소 외에도 여러 사화경제적, 행동 및 심리적 요인들이 영향을 줄 수 있다 (Drewnowski, 1997). 따라서 여러 요인들을 고려한 짠맛 선호도와 아연 영양상태의 관계를 종합적인 연구가 필요하다 하겠다.

5 결론

본 연구에서는 한국 20대 젊은 성인의 혈청 아연, 식이 아연 섭취 및 아연 운반체 유전자 발현 수준이 짠맛 인지 및 선호도에 미치는 영향을 살펴 보았다. 그 결과, 남성 대상자의 경우 leukocyte ZnT9 유전자 발현이 짠맛 인지와 유의적인 관계를 가지는 것으로 나타났고, 여성 대상자의 경우 이용 가능한 식이 아연 섭취와 leukocyte Zip7 유전자 발현이 짠맛 인지와 유의적인 관계를 가지는 것으로 나타났다. 또한 여러 요인 중 leukocyte Zip7 유전자 발현이 여성의 짠맛 역치를 잘 설명하는 지표임을 확인 할 수 있었다. 이를 통하여 한국 젊은 성인의 식이 아연 섭취와 특정 아연 운반체 유전자 발현이 짠맛 인지와 관련이 있음을 확인 할 수 있었고, 성별에 따른 차이도 존재함을 확인할 수 있었다. 하지만 본 연구는 20대 성인 남녀로 대상자가 제한되어

있으므로 결과의 일반화를 위해 더 다양한 연령층에 대한 연구가 필요하겠고, 또한 본 연구의 결과를 토대로 짠맛 인지와 아연 운반체의 관계에 대한 추가적인 메커니즘 연구도 필요한 것으로 보인다.

VI. 연구 4: 한국 젊은 성인의 αENaC A663T 유전자 다형성이 아연 영양상태와 짠맛 인지 간의 관계에 미치는 영향

1. 서론

2010 국민건강통계에 따르면 (KCDC, 2011), 한국인의 나트륨 섭취는 충분 섭취량 대비 남성은 403%, 여성은 289%로 과잉 섭취하고 있다 (KNS, 2010). 이러한 나트륨 과잉 섭취는 고혈압, 심혈관계 질환 및 신장 질환 등의 만성 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다 (He *et al.*, 2007, Meneton *et al.*, 2005). 관련 기관의 나트륨 섭취 제한을 위한 지속적인 노력에도 불구하고, 나트륨 과잉 섭취는 여전히 주요 보건 문제 중 하나로 남아있다. 나트륨 섭취는 개인의 짠맛 인지에 영향을 받는다 (Hayes *et al.*, 2010).

최근 여러 연구에서 맛 수용체의 유전적 변이가 맛 인지에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다. 특히 사람의 쓴맛과 단맛에 대한 연구는 많이 보고 되고 있는데, Kim *et al.* (2003)의 연구에서 쓴맛 수용체인 T2R 단백질 관련 유전자인 taste 2 receptor 38 (*TAS2R38*)의 유전적 변이가 phenylthiocarbamide(PTC)와 같은 쓴맛 물질에 대한 감지 인지에 영향을 주는 것이 확인되었다. 또한 T1R2와 T1R3 heterodimer 단백질이 주로 단맛 수용체의 역할을 담당하는데, 해당 유전자인 TAS1R2와 TAS1R3의 변이가 설탕 섭취 및

서당(sucrose)에 대한 맛 감지에 영향을 주는 것으로 보고되었다 (Fushan *et al.*, 2009, Eny *et al.*, 2010).

짠맛의 경우는 epithelial sodium channel (ENaC)가 영향을 줄 것으로 보고되고 있다 (Shigemura *et al.*, 2008, Chandrashekar *et al.*, 2010). ENaC는 포유류의 sodium-specific taste receptor로 알려져 있다. 특히 미뢰 세포에서는 α- subunit이 가장 많이 발현되는 것으로 알려져 있다 (DeSimone *et al.*, 2006). 여러 포유류를 대상으로 한 연구에서, 이뇨제인 amiloride가 ENaC의 차단제로 작용하며 amiloride에 의해 ENaC가 차단되면 미각세포 내 나트륨의 흐름의 변화되고, 염화 나트륨에 대한 맛 감지를 억제하는 것으로 보고되고 있다 (Hellekant *et al.*, 1988, Hellekant *et al.*, 1991, Lin *et al.*, 1999). Xenopus oocytes에서도 ENaC의 발현이 나트륨 이동을 증진시키는 것으로 나타났다 (Stähler *et al.*, 2008). 사람에게는 여러 ENaC 유전자 다형성이 존재하는 것으로 알려져 있는데, 특히 αENaC A663T의 유전자 다형성이 여러 인종에서 빈번하게 나타나는 것으로 보고되었다 (Ambrosius *et al.*, 1999). 최근 실험 동물 모델에서 αENaC 유전자 다형성에 따른 짠맛 인지에 차이가 있음을 확인하였고, 사람의 맛 인지에도 αENaC 유전자 다형성이 관여 할 가능성이 있음을 시사하였다 (Shigemura *et al.*, 2008). 하지만 현재까지 한국인을 대상으로 αENaC 유전자 다형성 분석한 연구는 전무하며, 사람을 대상으로 αENaC 유전자형이 짠맛 인지에 미치는 영향에 대한

연구는 전무한 실정이다.

또 다른 짠맛 인지 능력에 영향을 주는 요인 중 하나는 체내 아연 영양상태이다. 아연은 타액에 존재하는 아연금속효소인 gustin(carbonic anhydrase VI)의 기능 활성에 필수적인 성분이다. 아연이 결핍되면, gustin의 분비 및 활성이 감소하여 미각 기능의 손상을 초래하는 것으로 알려져 있다(Henkin *et al.,* 1999). 미각 기능이 저하된 노인이나 환자를 대상으로 한 연구에서(Stewart-Knox *et al.*, 2008, Takeda *et al.*, 2004, Yamagata *et al.*, 2003), 아연 보충제 섭취 후 미각 기능이 크게 향상되는 결과를 보였다. 건강한 젊은 성인을 대상으로 한 연구(연구 3)에서도 식이 아연, 특히 이용 가능한 식이 아연 섭취 및 일부 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 짠맛 인지에 영향을 주는 것으로 확인되었다.

따라서, 본 연구에서는 한국 20대 젊은 성인을 대상으로 αENaC A663T 유전자 다형성을 분석하고, αENaC A663T 유전자형에 따른 아연 영양상태와 짠만 인지 간의 관계의 차이를 보고자 하였다.

2. 연구방법

2.1 연구 디자인 및 대상자

본 연구에서는 연구 3과 동일한 대상자인 정기적으로 약물 및 식이 보충제를 섭취하지 않고, 비 흡연자인 건강한 20대 젊은 성인 207명 (남자 104명, 여자 103명) 모집하였다. 첫 번째 방문 때, 짠맛 역치 및 선호도에 대한 관능평가를 실시하였고, 24시간 회상법을 이용한 면접을 통하여 대사자의 전 날 섭취한 음식을 조사하고 추가적으로 2일치 식이조사를 위해 식이기록지 작성법에 대한 교육을 실시하였다. 두 번째 방문에서는, 12시간 공복 혈액을 채취하고 신체 계측을 실시하였다. 그리고 대상자로부터 추가적으로 2일 식이기록지를 받았다. 아연 운반체 관련 분석 시, 전체 대상자 중 아연 운반체 발현 자료가 있는 대상자 162명 (남자 90명, 여자 72명)에 대한 자료만 연구에 이용하였다. 본 연구의 모든 과정은 서울대 생명윤리심의위원회의 승인을 받아 진행하였고 (IRB NO.0812/001~001), 모든 대상자에게 연구 진행에 대한 모든 사항을 알리고 이에 대한 동의를 받았다. 대상자들의 모집과 참여 대상자 특성은 연구 3에 제시되었다.

2.2 유전자 다형성 분석

대상자의 αENaC A663T 유전자 다형성은 PCR-restriction fragment length polymorphism(RFLP) 방법을 이용하여 분석하였다.

QIAamp DNA blood mini kits (Qiagen, USA)를 이용하여 200ul 전혈에서 total genomic DNA를 추출하였다. Genomic DNA 50ng을 주형으로 αENaC 유전자를 PCR을 이용하여 증폭시켰다 (A663T Primer를 이용하여 MJ mini gradient thermal cycler, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) PCR 반응에 사용한 primer sequence는 다음과 같다 (Sugiyama *et al.*, 2001); 5'-TCCCTCTCCAGCCTTGACAGC-3' (sense) and 5'-TTGCTTCCCCTCCAC ACATCA-3' (antisense). 이때 생성된 PCR product(251bp)는 ethidium bromide로 염색한 2% agarose gel에서 전기영동으로 확인하였다. αENaC A663T genotype을 확인하기 위하여, PCR product를 10unit AciI (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA)로 37℃ 에서 16시간 처리한 후, ethidium bromide로 염색한 acrylamide gel에서 전기영동으로 band를 분리하고, Gel Doc XR system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 생성된 밴드의 크기를 확인하였다. αENaC A663T 유전자형 RFLP fragment 크기는 A allele 125+38bp /T allele163bp (51+37)으로 Figure 11에 나타내었다.

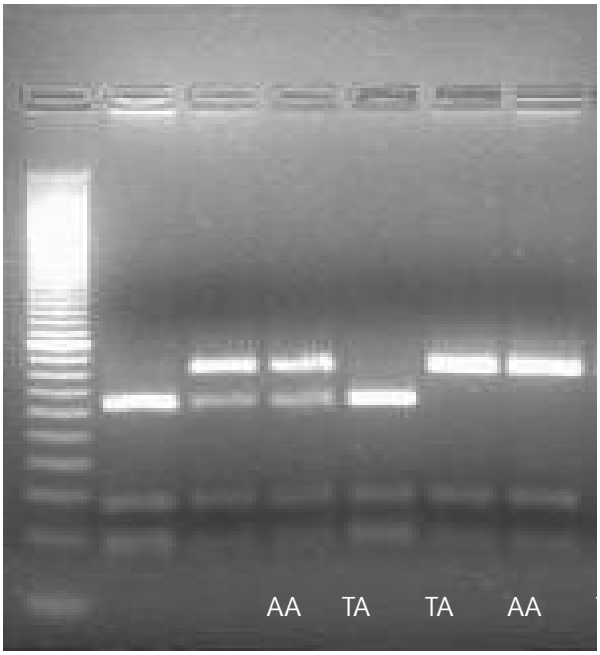


Figure 11. Three type of α ENaC A663T polymorphism

The RFLP fragment size of A allele is 125+38bp and RFLP fragment size of T allele is 163bp

2.3 관능평가

연구 3에서 서술한 바와 같이, 짠맛 인지는 변형된 'up-down' 방법 (Bartoshuk, 1978)을 이용하여 짠맛에 대한 인지 역치(recognition threshold)로 측정하였다 (Meligaard *et al.*, 1991). 농도가 0.85mM에서 63.38mM까지의 총 15개의 염화 나트륨 용액을 준비하였다. 짠맛 인지 역치는 총 2회 측정하여 그에 대한 평균을 추후 분석에 이용하였다. 또한, 한국인이 상용하는 맑은 국인 콩나물국을 이용하여 짠맛 선호도 측정 하였다. 콩나물국은 표준 레시피에 따라 제조하였다. 1L의 정제수에 동일한 제조사의 콩나물 400g 넣고 다른 양념을 넣지 않고 20분간 끓여 만들었다. 대상자에게 제공될 때는 평소 먹는 온도를 고려하여 50~60℃ 정도로 식혀 제공하였고, 이 때 콩나물국의 염도는 항상 6.85mM(0.04%)로 유지하도록 하였다. 대상자에게 콩나물국을 맛보게 한 뒤, 식염을 함께 제공하여 본인의 기호에 맞게 간을 맞추도록 하였다. 대상자가 간을 맞춘 콩나물국을 수거하여 염도계 (TDS, Daeyoon Scale Industrial Co., Korea)를 이용하여 두 번 측정하고 그에 대한 평균값을 대상자의 짠맛 선호도로 여겨 추후 분석을 진행하였다. 관능평가 12시간 전부터 모든 대상자의 술 섭취를 제한하였고, 최소한 2시간 전부터는 음식의 섭취와 양치질을 제한하였다.

2.4 신체 계측 및 혈액 지표 분석

연구 3에서 서술한 바와 같이, 대상자들의 신장, 체중 및 BMI를 BMI 측정 기기 (BSM 330, Biospace, Korea)를 이용하여 훈련 받은 조사원이 측정하였다. 12시간 공복 정맥혈을 수집 후, 혈청아연, 헤모글로빈 및 혈청 알부민 수준을 분석하였다. 혈액 지표 분석은 이원검사센터에 의뢰하였으며, 혈청 아연 수준은 atomic absorption spectrometry (AAS 600, Perkin Elmer)을 이용하여 분석되었고, 헤모글로빈 및 혈청 알부민 수준은 automatic analyzer (ADVIA 2400, Bayer Diagnostics)를 이용하여 분석 되었다.

2.5 식이섭취평가

대상자의 식이섭취조사는 24시간 회상법과 식사 기록법을 이용하여 비연속적인 주중 2일, 주말 1일 총 3일간의 식이를 조사하였다. 연구 3에 서술한 바와 같이, 훈련 받은 조사원이 면접을 통하여 그 전날 섭취한 모든 음식을 조사하였고, 이 때 식이기록지 작성법에 대한 교육도 같이 시행하였다. 대상자에게 비연속적인 이틀 동안의 끼니 별 섭취한 모든 음식의 양 및 재료 등을 자세히 기록하도록 하였고, 섭취한 음식의 양의 정확한 기술을 위하여 밥, 국, 반찬 및 음료의 실물크기 사진 및 격자 및 원 등의 보조 도구를 함께 제공하였다. 또한, 기록지 수거 시 훈련 받은 조사원이 기록내용을 검토하였다. 조사된

대상자의 식이섭취자료는 한국영양학회 데이터베이스와 영양소 섭취량 계산 프로그램인 DS24를 이용하여 분석하였다 (Paik *et al.*, 1997). 이를 통하여 대상자의 아연 영양소 섭취량을 계산하였고, 에너지 섭취량 보정을 위하여 영양소 밀도, 1000kcal 에너지 섭취 당 아연 섭취량(mg/1000kcal)을 계산 하였다. 또한 식이 아연의 생체이용률에 피틴산이 영향을 주는 것으로 알려져 있으므로 (Lonnerdal, 2000), 피틴산-아연 몰비율 (phytate:zinc molar raio)을 이용하여 '이용 가능한 아연(available zinc)'의 섭취도 계산하였다(Gibson *et al.*, 2008, WHO, 1996).

2.6 Leukocyte total RNA 추출 및 real-time PCR 분석

연구 3에서 서술한 바와 같이, 1.5ml 전혈에서 QIAamp RNA blood kit (Qiagen, USA)을 이용하여 total RNA를 추출하였다 (Andree *et al.*, 2004). 추출한 RNA의 농도 및 순도는 분광광도계 Nanodrop (Thermo, USA)을 이용하여 260nm와 280nm 파장에서 흡광도를 측정하여 구하였고, 260nm/280nm ratio가 1.8 이상인 샘플만을 사용하였다 (남자 90명, 여자 72명). 0.25ug total RNA와 PrimeScriptTM RT reagent kit (Takara, Japan)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 연구 2에서 비만 대상자의 아연 보충제 섭취 후 유의적으로 그 발현도가 변화한 ZnT1, ZnT4, ZnT9, Zip7 아연

운반체와 기존 연구에서 체내 아연 영양상태에 민감하게 반응하는 것으로 알려진 MT와 Zip1을 분석에 이용하였다. 분석에 이용한 MT, 아연 운반체 및 GAPDH primer sequence는 Table 10에 나타내었다. MT 및 아연 운반체의 상대적인 발현도는 GAPDH를 reference gene으로 하여, 우선 ΔCt ($Ct_{target}-Ct_{ref}$, Ct:cycle number)를 계산하고 $2^{-\Delta Ct} \times 10^4$ 를 이용하여 10^{-4} GAPDH 당 해당 gene의 상대적인 발현도로 나타내었다 (Andree *et al.*, 2004).

2.7 통계분석

모든 통계분석은 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., USA)으로 수행하였다. 남녀 간의 일반적 특성, 아연 영양상태, 짠맛 인지 및 선호도의 차이는 Student's t-test를 이용하였고, αENaC A663T 유전자형의 분포 및 식이 아연 섭취 및 혈청 아연에 따른 남녀 간의 아연 결핍군 분포는 카이제곱검정 (χ^2-test)를 이용하였다. αENaC A663T 유전자형에 따른 짠맛 인지 및 선호도의 차이는 일반선형모델(General linear model; GLM)을 이용하였고, αENaC A663T 유전자형에 따른 아연 영양상태 및 아연 운반체 발현이 짠맛 인에 미치는 영향에 대해 보고자 BMI를 공변수로 넣은 회귀모델을 이용하였다.

3. 결과

3.1 대상자의 일반적 특성, 아연 영양상태, 짠맛 인지 및 선호도

대상자의 일반적 특성, 아연 영양상태, 짠맛 인지 및 선호도를 Table 25 에 나타내었다. 남, 녀 대상자의 평균 BMI 는 각각 23.0±0.2 kg/m^2, 20.9 kg/m^2 로 남성 대상자가 유의적으로 높았다 (p<0.001). 혈청 알부민 및 헤모글로빈 수치 모두 남성 대상자가 유의적으로 높게 나타났으나 (p<0.05) 정상 범위 내에 들었다.

혈청 아연 농도 역시 여성 (13.6±0.3 μmol/L)이 남성 (14.4±0.2 μmol/L) 보다 유의적으로 낮았으나(p=0.04), 혈청 아연 수준을 기존에 제시된 기준(남 <11.3 μmol/L, 여 <10.7 μmol/L) (Gibson *et al.*, 2008)을 이용하여 평가하였을 때, 아연 결핍 수준의 성별에 따른 차이는 존재하지 않았다. 식이 아연 섭취량은 남성 8.9±0.2mg, 여성 7.0±0.2mg 였고, 아연의 생체 이용률을 고려한 이용 가능한 식이 아연 섭취량은 남성은 3.9±0.1mg, 여성은 3.1±0.1mg 였다. 남성의 식이 아연 섭취량과 이용 가능한 식이 아연 섭취량 모두 여성에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (p<0.001). 하지만 에너지 섭취량으로 보정을 위하여 1000kcal 당 식이 아연 및 이용 가능한 아연 섭취량의 성별에 따른 유의적인 차이는 존재하지 않았다. 성별에 따른 아연 적정 섭취 정도를 비교하기 위해 평균필요량(EAR) 미만으로 섭취하는 대상자의 비율을 살펴보면,

여성은 56.3%, 남성은 38.5%로, 여성의 비율이 유의적으로 높았다 (p<0.01). 짠맛 역치는 남성 (19.3±1.2mM)이 여성 (15.8±0.29mM)보다 유의적으로 높은 것으로 나타났고 (p=0.02), 짠맛 선호도도 여성 (75.4±3.0mM)보다 남성 (86.0±4.0mM)이 유의적으로 높았다 (p=0.03).

Table 25. Characteristics of the study subjects

	Male (n=104)		Female (n=103)		p^a
	Mean	SEM	Mean	SEM	
General characteristics					
Age (yr)	23.6	0.2	23.6	0.2	NS
BMI (kg/m^2)	23.0	0.2	20.9	0.2	<0.001
Albumin (g/dl)	4.9	0.0	4.8	0.0	0.02
Hemoglobin (g/dl)	15.8	0.1	13.4	0.1	<0.001
Energy intake (kcal/day)	2116.2	44.1	1630	35.1	<0.001
Zinc nutritional status					
Dietary zinc intake					
Total zinc (mg)	8.9	0.2	7.0	0.2	<0.001
(mg/1000kcal)	4.2	0.1	4.4	0.1	NS
Available zinc (mg)	3.9	0.1	3.1	0.1	<0.001
(mg/1000kcal)	1.8	0.0	1.9	0.1	NS
< EAR[b] (%)	40	(38.5)	58	(56.3)	0.01
Serum zinc (μmol/L)	14.4	0.3	13.6	0.2	0.04
Deficiency[c] (%)	13	(12.5)	11	(10.7)	NS
Salty taste					
Salty taste acuity (mM)	19.3	1.2	15.8	0.9	0.02
Salty taste preference (mM)	86.0	4.0	75.4	3.0	0.03

NS, not significant

a. Differences between male and female were examined by Student's t-test or χ^2-test

b. EAR(Estimated average requirements) for zinc: Men - 8.1 mg/day, Women - 7 mg/day

c. Men - <11.3 μmol/L, Women - <10.7 μmol/L (Gibson *et al.*, 2008)

3.2 αENaC A663T 유전자형 분포 및 유전자형에 따른 짠맛 인지 및 선호도

대상자의 αENaC A663T 유전자 다형성을 분석한 결과 (Table 26), AA, AT 그리고 TT 유전자형의 분포 비율이 남성은 각각 34.6%, 48.1%, 17.3%, 여성은 각각 35.9, 51.5, 12.6%로, 성별에 따른 유의적인 차이는 존재하지 않았다 (p=0.64). 남녀 대상자 모두에서 주 allele은 A allele 이었으며, A allele의 빈도는 남성에서 0.59, 여성에서 0.62로 나타났다. 대상자의 αENaC A663T 유전자형에 따른 짠맛 인지 및 선호도의 차이를 비교한 결과 (Table 27), 유전자형에 따른 유의적인 차이는 존재하지 않았다.

Table 26. The distribution of α ENaC A663T genotypes in male and female subjects

αENaC A663T genotypes	Total (n=207)		Male (n=104)		Female (n=103)		p^a
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
AA	73	(35.2)	36	(34.6)	37	(35.9)	
AT	103	(49.8)	50	(48.1)	53	(51.5)	NS
TT	31	(15.0)	18	(17.3)	13	(12.6)	
Frequency A allele	0.60		0.59		0.62		

NS, not significant

a. The distribution of The αENaC genotypes between male and female subjects was examined by χ^2-test

Table 27. Salty taste acuity and preference by α ENaC A663T genotypes in male and female [a]

αENaC A663T genotypes	AA	AT	TT	p^b
Male	n=36	n=50	n=18	
Salty taste threshold (mM)	20.3 ± 12.0	18.6 ± 12.6	19.0 ± 11.0	NS
Salty taste preference (mM)	81.9 ± 40.0	89.3 ± 40.0	85.0 ± 45.1	NS
Female	n=36	n=50	n=18	
Salty taste threshold (mM)	18.0 ± 11.5	14.7 ± 7.5	14.0 ± 6.1	NS
Salty taste preference (mM)	71.7 ± 31.7	79.8 ± 28.3	67.6 ± 31.2	NS

NS, not significant

a. Data are expressed as means ± SEM

b. Trend of change in variables of male or female across αENaC A663T genotypes was examined by GLM

3.3 αENaC A663T 유전자형에 따른 아연 영양상태 및 아연운반체 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향.

대상자의 αENaC A663T 유전자형에 따른 혈청 아연과 식이 아연 섭취 및 아연 운반체 발현에 따른 체내 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향에 어떻게 관계하는 지를 보기 위해 대상자를 유전자형에 따라 나누어 회귀분석을 한 결과 (Table 28 & Table 29), αENaC AA homozygotes한 유전자형을 보유한 여성 대상자에게 이용 가능한 아연(available zinc) 섭취와 짠맛 역치가 유의적인 음의 관계 (standardized β = -0.833, p=0.02) 를 보이는 것으로 나타났다. 반면에, T allele를 가진 여성 대상자에게서는 이러한 관계가 나타나지 않았다. 또한 남성 대상자에게서는 αENaC A663T 유전자형에 따른 식이 아연 섭취가 짠맛 인지에 미치는 영향의 차이는 보이지 않았다. 또한, 대상자의 αENaC A663T 유전자형에 따른 MT 및 아연운반체 발현이 짠맛 인지 에 미치는 영향을 본 결과, 남, 녀 대상자 모두 αENaC A663T 유전자형에 따른 아연 운반체 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향에는 뚜렷한 차이는 보이지 않았다.

Table 28. Simple regression models[a] of predicting salty taste threshold with zinc status and the leukocyte mRNA levels of zinc transporters according to αENaC A663T genotypes in male subjects

Predictor	αENaC A663T genotypes									
	AA					AT / TT				
	R^2	*p*	standardized β	SE	*p*	R^2	*p*	standardized β	SE	*p*
Dietary zinc intake										
Total zinc	0.15	0.07	0.040	0.50	NS	0.06	NS	-0.947	0.51	0.07
Available zinc	0.15	0.07	0.038	0.44	NS	0.04	NS	-0.731	0.47	NS
Serum zinc	0.15	0.07	0.044	0.56	NS	0.02	NS	0.562	0.55	NS
Zinc transporters										
MT	0.11	NS	0.143	0.31	NS	0.05	NS	-0.389	0.22	0.08
ZnT1	0.18	0.09	1.110	0.75	NS	0.05	NS	-0.792	0.47	0.09
ZnT4	0.17	0.10	0.631	0.47	NS	0.03	NS	-0.339	0.29	NS
ZnT9	0.13	NS	-0.572	0.63	NS	0.06	NS	-0.864	0.46	0.06
Zip1	0.11	NS	0.022	0.48	NS	0.06	NS	-0.548	0.30	0.07
Zip7	0.13	NS	0.458	0.57	NS	0.06	NS	-0.737	0.38	0.06

NS, not significant

a. Each regression models were adjusted for BMI as a potential confounder

All variables were natural logarithmically transformed.

Table 29. Simple regression models[a] of predicting salty taste threshold with zinc status and the leukocyte mRNA levels of zinc transporters according to αENaC A663T genotypes in female subjects

Predictor	αENaC A663T genotypes									
	AA					AT / TT				
	R^2	*p*	standardized β	SE	*p*	R^2	*p*	standardized β	SE	*p*
Dietary zinc intake										
Total zinc	0.11	NS	-0.765	0.41	0.07	0.03	NS	-0.19	0.32	NS
Available zinc	0.16	0.05	-0.833	0.35	0.02	0.04	NS	-0.261	0.28	NS
Serum zinc	0.05	NS	0.545	0.54	NS	0.03	NS	0.314	0.37	NS
Zinc transporters										
MT	0.05	NS	-0.283	0.42	NS	0.01	NS	0.131	0.21	NS
ZnT1	0.06	NS	-0.419	0.53	NS	0.04	NS	-0.337	0.27	NS
ZnT4	0.04	NS	0.130	0.29	NS	0.05	NS	-0.256	0.18	NS
ZnT9	0.04	NS	0.028	0.47	NS	0.05	NS	-0.400	0.27	NS
Zip1	0.04	NS	-0.241	0.48	NS	0.08	NS	0.452	0.25	0.08
Zip7	0.17	0.10	-0.551	0.27	0.06	0.08	NS	-0.363	0.20	0.07

NS, not significant

a. Each regression models were adjusted for BMI as a potential confounder

All variables were natural logarithmically transformed.

4. 고찰

본 연구에서는, 한국 젊은 성인의 αENaC A663T 유전자 다형성을 분석하고, αENaC A663T 유전자형에 따라 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향에 어떻게 관계하는 지를 살펴보았다. 전체 대상자의 αENaC A663T 유전자형의 빈도는 AT 형 (49.8%)이 가장 높았고, 그 다음 AA (35.2%), TT (15.0%) 순으로 나타났고 성별에 따른 차이는 존재하지 않았다. αENaC A663T 유전자형에 따른 짠맛 역치 및 선호도의 차이는 존재하지 않았으나, 유전자형에 따라 아연 영양상태가 짠맛 인지 미치는 영향에 차이가 존재하였다. 여성의 이용 가능한 식이 아연 섭취와 짠맛 인지 간의 유의적인 관계가 αENaC AA 유전자형을 보유한 여성에게서만 더 강하게 나타났다.

최근 여러 연구에서 맛 수용체의 유전적 변이가 맛 감지에 영향을 줄 가능성이 높다고 보고되었다. TAS2R38 유전자의 유전적 변이는 phenylthiocarbamide 또는 propylthiouracil 와 같은 쓴맛을 내는 물질에 대한 맛 감지에 영향을 주고 (Kim *et al.*, 2003, Mennella *et al.*, 2005), Taste receptor 1 (TAS1R) family인 맛 수용체 유전자 TAS1R2와 TAS1R3에 의해 코드화된 G-coupled protein이 단맛에 대한 감지를 조절하고, TAS1R3의 유전적 변이와 sucrose에 대한 단맛 인지가 강한 상관관계를 가진다 (Fushan *et al.*, 2009). 하지만 상대적으로 짠맛 인지에 대한 유전적 변이에 대한 영향에 대해서는 알려진 바가 적다. 기존 연구(Shigemura *et al.*, 2008, Stähler *et al.*,

2008)에서 αENaC A663T 유전자 다형성에 의해 ENaC의 활성이 달라져, αENaC A663T유전자 다형성이 고혈압 발생 요인으로 작용한다고 보고하였다. 또한, ENaC는 신장뿐 아니라 미뢰 세포에서도 발현도가 높아 sodium-specific taste를 조절할 가능성이 있음을 시사하였다. 그러나 αENaC A663T 다형성이 짠맛 인지에 미치는 영향에 대한 연구는 전무하다.

따라서 본 연구에서는 한국 20대 젊은 성인의 αENaC A663T 유전자 다형성을 분석하고 유전자형에 따른 짠맛 인지 및 선호도의 차이를 보았다. 한국 젊은 성인의 αENaC A663T 유전자형은 다른 인종에서와 마찬가지로 세 가지 유전자형이 모두 존재하였고, 남녀 모두에게서 A allele 의 평균 빈도가 0.60으로 주요 allele인 것으로 나타났다. 이 결과는 일본 (Sugiyama *et al.*, 2001)을 비롯한 다른 아시아 국가의 결과와 유사하였다. 기존 동물(mice)연구에서는 ENaC α-subunit의 유전적 변이가 짠맛 인지에 관련이 있는 것으로 나타났으나 (Shigemura *et al.*, 2008), 본 연구에서는 αENaC A663T 유전자형에 따른 짠맛 인치 및 선호도의 차이는 존재하지 않았다. ENaC는 최소한 3개의 subunit으로 구성되어 있기 때문에 α-subunit 외에도 β- 또는 γ- subunit이 짠맛 인지에 영향을 줄 수도 있다. βT594M and βG442V와 같은 ENaC β-subunit이 ENaC 활성의 기능적 변화에 관여하는 것으로 보고 되었다 (Pratt, 2005). 그러나 βENaC 유전자 변이는 주로 흑인에게 많이 나타나고 아시아인 또는

백인에게서는 드물게 나타나므로(Sugiyama *et al.*, 2001), 적어도 아시아인에게서는 βENaC 유전자 변이가 짠맛 인지에 관여할 가능성은 적은 것으로 보인다. 또한 다른 맛 수용체가 짠맛 인지에 관여할 수도 있다. ENaC는 오직 sodium-specific taste receptor로만 알려져 있지만, 미뢰세포 내에 존재하는 또 다른 수용체인 transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)의 경우는 Na^+, K^+, NH_4^+, Ca^{2+}를 포함한 여러 양이온에 대해 반응하므로 짠맛 인지에도 영향을 줄 수 있다. 따라서 더 많은 사람들을 대상으로 짠맛 인지에 미치는 ENaC와 TRPV1 두 유전자 변이의 상호작용에 대한 연구가 필요하다 하겠다.

*α*ENaC A663T 유전자형에 따른 직접적인 짠맛 인지의 차이는 존재하지 않았으나, 유전자형에 따라 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향이 다르게 작용하는 것으로 나타났다. 연구 3에서 여성 대상자의 식이 아연, 특히 이용 가능한 아연의 섭취와 짠맛 인지 간의 유의적인 관계를 갖는 것을 확인하였다. 그런데 본 연구에서는 이러한 식이 아연 섭취와 짠맛 인지와의 관계가 *α*ENaC A663T 유전자형에 따라 다르게 나타났다. ENaC AA homozygotes를 보유한 여성 대상자에게서 이용 가능한 식이 아연의 섭취와 짠맛 역치가 유의적인 음의 관계(standardized $\beta = -0.833$)를 가지는 것으로 나타났고, 이런 관계가 T allele을 보유한 여성 대상자에서는 나타나지 않았다. 기존 연구에서, ENaC α-subunit COOH 말단에 존재하는 *α*ENaC A663T 유전자형이 ENaC의 활성에 관여하는 것으로 보고하였다. 특히, wild-

type인 αA663-ENaC에 비하여 mutant-type인 αT663-ENaC가 존재하는 경우, 표면 발현이 증가되고, 나트륨의 이동이 유의적으로 증가되는 것으로 보고되었다 (Samaha *et al.*, 2004, Yan *et al.*, 2006, Tong *et al.*, 2006). 그러므로, αENaC T663 allele 보유한 사람이 αENaC AA homozygotes 보유한 사람보다 높은 ENaC 활성을 가지는 것으로 보인다. 이 모든 점을 미루어 볼 때, 본 연구 결과는 αENaC A663T의 유전적 변이에 따라 미뢰 세포 내의 ENaC의 기능적 활성 변하고, 이 변화가 아연 상태와 짠맛 인지에 미치는 영향에 관여하는 것으로 보인다. 따라서 이러한 관계를 뒷받침 해 줄 수 있는 메커니즘 연구가 필요하다 하겠다.

또한 본 연구에서는 결과는 αENaC A663T의 유전적 변이에 따른 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현과 짠맛 인지 관계의 차이는 보이지 않았다. 연구 3에서 남성 대상자의 경우 leukocyte ZnT9 유전자 발현과 짠맛 인지 간의 유의적인 양의 관계를 보였고, 여성 대상자의 경우 leukocyte Zip7 유전자 발현과 짠맛 인지 간의 유의적인 양의 관계를 보였다. 하지만 αENaC A663T 유전자형에 따른 차이는 보이지 않았다. 또한 남성 대상자에서는 αENaC A663T 유전자형에 따른 체내 아연 상태와 짠맛 인지와의 관계가 나타나지 않았다. 따라서 이러한 영향에도 성별에 따른 차이가 존재하는 것으로 보인다. 따라서 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다 하겠다. 따라서 여성에서만 αENaC 유전자형 따라 식이 아연 섭취가 짠맛 인지에

미치는 영향에 다르게 관계 함을 확인 할 수 있었고, 아연 운반체 발현과 짠맛 인지 간의 관계에 대한 αENaC 의 영향은 없는 것으로 나타났다.

5. 결론

본 연구에서는 한국 20대 젊은 성인의 αENaC A663T 유전자 다형성의 분포를 살펴보고, αENaC 유전자형이 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향에 어떻게 관계하는 지를 살펴보았다. 한국 젊은 성인의 αENaC 유전자형을 분석한 결과, 주요 allele은 A allele로 그 빈도가 0.60으로 가장 높았고 이는 다른 아시아 지역의 결과와 유사하였고, 성별에 따른 분포의 차이는 존재하지 않았다. αENaC A663T 유전자형에 따른 짠맛 인지 및 선호도의 직접적인 차이는 존재하지 않았으나, αENaC AA 유전자형을 보유한 여성 대상자에서 이용 가능한 식이 아연 섭취와 짠맛 인지 간의 유의적인 관계가 존재하였고, T allele을 보유한 여성 대상자에게서는 이런 관계가 나타나지 않았다. 즉, αENaC A663T 유전자형에 따라 아연 섭취 상태가 짠맛 인지에 미치는 영향에 다르게 관계함을 확인 할 수 있었다. 본 연구는 αENaC A663T 유전적 변이가 사람의 짠맛 인지에 미치는 영향을 처음으로 확인하였다는 점에서 의의를 가지나, 앞으로 이를 뒷받침 해 줄 수 있는 메커니즘 연구 및 더 다양한 연령층을 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 보인다.

VII. 종합 고찰

본 연구에서 한국 젊은 비만 여성의 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현을 측정하고, 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 변화를 살펴보았다. 또한 식이 아연 섭취, 혈청 아연 및 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현을 이용하여 한국 젊은 성인의 아연 영양상태를 확인하고, αENaC A663T 유전자 다형성을 분석하여, 아연 영양상태 및 αENaC A663T 유전자 다형성과 짠맛 인지와의 관계에 대해 보고자 하였다.

18-28세 비만 여성과 정상 체중 여성의 leukocyte 아연 운반체 mRNA 수준을 비교한 결과 두 그룹 간의 유의적 차이가 존재하였다. 비만군에서 leukocyte 대부분의 아연 운반체 유전자 발현이 낮게 나타났으며, 특히 ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6 유전자가 정상 체중군에 비해 유의적으로 낮게 발현 되었으며 이 아연 운반체와 BMI 및 체지방률 간에 유의적인 음의 상관관계를 보였다. 기존의 Smidt *et al.* (2007)의 연구에서도 비만 여성의 지방 조직에서의 아연 운반체 유전자 발현이 유의적으로 낮은 결과를 보였다. 따라서 본 연구 결과도 이에 상응하는 연구 결과로 보여진다. 또한 역학 연구에서 체내 아연 농도가 낮은 아이들의 체중 및 체지방량이 체내 아연 농도가 높은 아이들에 비해 더 높은 것으로 나타났다. 성인 대상 연구에서도 아연 결핍이 체지방 비율 증가 및 복부 비만의 위험을 높이는 것으로 보고하였다. 하지만 아직까지 아연과 비만에 대한 정확한 메커니즘에

대해서는 알려진 바가 없다. 더 나아가 아연 운반체와 비만에 대한 메커니즘 연구도 알려진 바가 없다. 따라서 이에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 보인다.

반면 비만군에서 leukocyte ZnT7 유전자만 정상 체중군에 비해 유의적으로 높게 발현되었다. ZnT7은 골지 소포체 또는 세포 소낭 세포막에 존재 하며, 아연을 세포질에서 골지 소포체 또는 소낭 내로 이동 시키는 것으로 알려져 있다 (Kirschke *et al.*, 2003). Huang *et al.* (2007)의 연구에서 ZnT7 knockout mice의 체중 증가 및 체지방량이 유의적으로 낮은 결과를 보였다. 따라서 ZnT7은 체구성을 조절하는 데 관여하는 것으로 보여진다. 본 연구에서도 전체 대상자의 ZnT7 mRNA 수준과 BMI 및 체지방률이 유의적인 양의 상관관계를 보였다. 즉 비만군에서 ZnT7 유전자 발현이 유의적으로 증가하는 것은 기존 연구 결과와 마찬가지로 ZnT7이 체구성 조절과 관련이 있기 때문으로 보인다.

전반적인 leukocyte 아연 운반체 발현이 낮은 비만 여성을 대상으로 8주간 30mg/d 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 변화를 살펴 본 결과, 아연 보충군 내 leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7 유전자 발현이 대조군과 비교하여 유의적으로 증가하였다. 기존 연구에서도 아연 보충제 섭취 후 일부 아연 운반체 유전자 발현이 유의적으로 증가하였다. Andree *et al.* (2004)와 Aydemir *et al.* (2006)의 연구에서 아연 보충제 섭취 후, leukocyte

MT와 ZnT1 mRNA 수준이 유의적으로 증가하였고, Zip1 mRNA 수준은 유의적으로 감소하였다. 본 연구에서도 비만 대상자의 아연 보충제 섭취 후 ZnT1 유전자의 발현이 유의적으로 증가함을 확인하였다.

하지만 그 외의 아연 운반체(ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7)의 경우 인체를 대상으로 아연 결핍 또는 아연 보충에 따른 유전자 발현 변화를 본 연구가 보고된 바 없다. ZnT4는 동물 모델(rat)을 이용하여 아연 결핍 또는 아연 보충에 따른 소장, 신장, 간 조직의 ZnT4 유전자 발현의 변화를 살펴 보았으나 유의적인 변화가 나타나지 않는 것으로 보고하였다 (Liuzzi *et al.*, 2001). ZnT5와 Zip7의 경우는 in vivo 연구는 보고된 바 없고, 세포를 이용한 in vitro 연구만 보고되었는데, ZnT5는 소장 세포인 Caco-2 cell을 이용하여 아연 처리 후 ZnT5 mRNA 수준이 2배 증가하는 것을 확인하였다 (Cragg *et al.*, 2002). ZnT7은 전립선 상피 세포인 RWPE-1 cell을 이용하여 아연 처리 후 Zip7 유전자 발현의 변화는 관찰되지 않았으나, 단백질 수준은 감소하는 경향을 보였다 (Huang *et al.*, 2005). ZnT9는 아연 결핍 또는 보충에 대한 in vitro 및 in vivo에 대한 연구가 아직 보고된 바 없다 (Lichten and Cousins, 2009). 따라서 본 연구에서는 아직 인체 실험에 대한 연구가 미비한 leukocyte 아연 운반체의 아연 보충 후 유전자 발현의 변화를 보았다는 것에서 의의를 지닌다. 그리고 leucocyte ZnT4, ZnT5, Znt9 및 Zip7이 체내 아연 상태 변화에

반응하는 아연 운반체로 보여지나, 본 연구의 결과 해석 시 대상자가 비만이었다는 점을 유념해야 할 것이고, 이 연구 결과를 일반화하기 위해서는 건강한 사람을 대상으로 한 추후 연구가 필요할 것으로 보인다.

한국 젊은 성인의 아연 영양상태가 짠맛 인지에 미치는 영향을 보고자, 20대 성인 (남 n=104, 여 n=103)을 대상으로 식이 아연 및 이용 가능한 식이 아연 (available zinc) 섭취, 혈청 아연 및 leukocyte 아연 운반체 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향을 본 결과, 남성의 경우 leukocyte ZnT9 mRNA 수준과 짠맛 역치 간의 유의적인 음의 관계 (standardized β=−0.048)를 보였고, 여성의 경우, 이용 가능한 식이 아연 (available zinc)섭취와 leukocyte Zip7 mRNA 수준이 짠맛 역치와 각각 유의적인 음의 관계를 갖는 것으로 나타났다 (standardized β=−0.467; standardized β=−0.479). 또한 Zip7 mRNA 수준이 여성의 짠맛 역치를 가장 잘 설명하는 요인인 것을 확인하였다 (R^2=0.12, p=0.01). 미각 기능이 저하된 환자(Takeda *et al.*, 2004)나 노인(Stewart-Knox *et al.*, 2008)을 대상으로 한 기존 연구에서도 아연 영양상태와 짠맛 인지가 유의적인 양의 관계를 가지는 것으로 나타났었다. 본 연구 결과를 통해서 이러한 아연과 짠맛 인지 간의 관계가 젊은 건강한 성인에서도 확인 할 수 있었다. 하지만 본 연구에서는 혈청 아연과 짠맛 인지와의 유의적인 관계는 나타나지 않았다. 혈청 아연은 아연영양상태 평가에 가장 널리 사용되는 생화학

지표이고 짠맛 인지와 아연 영양상태 간의 관계에 대한 기존 연구에서도 아연 영양상태 지표로 주로 혈청 아연을 사용하였다. 그러나 혈청 아연은 항상성 메커니즘의 효율적인 조절 아래에 심각한 아연 제한 (<2-3mg/d)이 발생하지 않는 한 상대적으로 안정하게 유지된다 (Gibson *et al.*, 2008). 이런 이유로 건강한 일반 성인을 대상으로 본 연구에서 혈청 아연과 짠맛 인지 간의 관계가 약하게 나타날 수 밖에 없다. 본 연구 결과에 따르면, 건강한 대상자의 아연 영양상태와 짠맛 인지의 관련성을 결정하는데 혈청 아연보다는 식이 아연 섭취, 특히 피틴산-아연 몰 비율을 고려한 이용 가능한 아연 섭취 및 아연 운반체 유전자가 더 민감한 지표로 보여진다.

또한 이러한 아연 영양상태와 짠맛 인지 간의 관계에 미치는 αENaC A663T 유전자 다형성의 영향을 본 결과, αENaC A663T 유전자형에 따라 아연 영양상태가 짠맛 인지 미치는 영향에 차이가 존재하는 것을 확인 할 수 있었다. 여성의 경우, 이용 가능한 식이 아연 (available zinc)섭취와 짠맛 인지 간의 유의적인 양의 관계가 존재함을 확인하였는데, 이러한 짠맛 인지와 이용 가능한 식이 아연 (available zinc) 섭취 간의 관계가 αENaC AA 유전자형을 보유한 여성에서 더 강하게 나타났고 (standardized β=-0.833), T allele을 보유한 여성에서는 나타나지 않았다. 기존 연구에서 αENaC A663T 유전자형이 ENaC의 활성에 관여하는 것으로 보고되었다. 특히, mutant-type인 αT663-ENaC가 존재하는 경우, 표면 발현이

증가되고, 나트륨의 이동을 유의적으로 높이는 것으로 보고되었다 (Samaha *et al.*, 2004, Yan *et al.*, 2006, Tong *et al.*, 2006). 그러므로, αENaC T663 allele 보유한 사람이 αENaC AA homozygotes 보유한 사람보다 높은 ENaC 활성을 가지는 것으로 보인다. 이 모든 점을 미루어 볼 때, 본 연구 결과는 ENaC의 유전적 변이에 따라 미뢰 세포 내의 ENaC의 기능적 활성 변하고, 이 변화가 아연 상태와 짠맛 인지에 미치는 영향에 관여하는 것으로 보인다. 하지만 아연 운반체 발현과 짠맛 인지와의 관계에서는 αENaC 유전자형에 따른 차이는 보이지 않았다.

본 연구에서는 기존의 동물 연구와 달리 αENaC A663T 유전자형에 따른 직접적인 짠맛 인지의 차이는 존재하지 않았다. 그 원인으로, 여러 다른 요인이 짠맛 인지에 관여할 수 있기 때문이다. 예를 들어 ENaC는 오직 sodium-specific taste receptor로만 알려져 있지만, 미뢰세포 내에 존재하는 또 다른 수용체인 transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)의 경우는 Na^+, K^+, NH_4^+, Ca^{2+}를 포함한 여러 양이온에 대해 반응하기 때문에 짠맛 인지에 영향을 줄 수 있다. 따라서 더 많은 사람들을 대상으로 짠맛 인지에 미치는 ENaC와 TRPV1 두 유전자 변이의 상호작용에 대한 연구가 필요하다 하겠다.

또한 짠맛 인지와 달리, 본 연구에서는 짠맛 선호도와 아연 영양상태 및 αENaC A663T 유전자형 간의 관계가 뚜렷하게 나타나지 않았다. 맛 선호도에 영향을 주는 요인은 영양 및 유전 요소 외에도 여러 사회,

경제적, 행동 및 심리적 요인들이 영향을 줄 수 있다 (Drewnowski, 1997). 따라서 여러 요인들을 고려한 짠맛 선호도와 아연 영양상태 및 αENaC A663T 유전자형 관계에 대한 종합적인 연구가 필요하다 하겠다.

VIII. 요약 및 결론

본 연구에서 한국 젊은 비만 여성의 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현 수준을 확인하고, 아연 보충제 섭취 후 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현의 변화를 살펴보고자 하였다. 또한 식이 아연 섭취, 혈청 아연 및 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현을 이용하여 한국 젊은 성인의 아연 영양상태를 확인하고, αENaC A663T 유전자 다형성을 분석하여, 아연 영양상태 및 αENaC A663T 유전자 다형성과 짠맛 인지와의 관계에 대해 보고자 하는 목적으로 수행하였는데, 주요 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 비만 여성의 leukocyte ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6 유전자가 정상 체중 여성에 비해 유의적으로 낮게 발현 되었으며 이 아연 운반체 mRNA 수준과 BMI 및 체지방률 간에 유의적인 음의 상관관계를 보였다. 반면 비만 여성의 leukocyte ZnT7 유전자는 정상 체중군에 비해 유의적으로 높게 발현되었고, leukocyte ZnT7 mRNA 수준과 BMI 및 체지방률 간에 유의적인 양의 상관관계를 보였다.

2) 전반적인 아연 운반체 유전자 발현이 낮은 비만 여성을 대상으로 8주간 30mg/d 아연 보충제 섭취 후, leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9 및 Zip7 mRNA 수준이 유의적으로 증가하였다.

3) 한국 젊은 성인의 식이 아연 및 이용 가능한 식이 아연 (available zinc) 섭취, 혈청 아연 및 leukocyte 아연 운반체 발현이 짠맛 인지에

미치는 영향을 본 결과, 남성의 경우 leukocyte ZnT9 mRNA 수준과 짠맛 역치 간의 유의적인 음의 관계 (standardized $\beta = -0.048$)를 보였고, 여성의 경우, 이용 가능한 식이 아연 (available zinc)섭취 (standardized $\beta = -0.467$)와 leukocyte Zip7 mRNA 수준 (standardized $\beta = -0.479$)이 짠맛 역치와 각각 유의적인 음의 관계를 갖는 것으로 나타났다. 또한 Zip7 mRNA 수준이 여성의 짠맛 역치를 가장 잘 설명하는 요인이었다($R^2=0.12$, $p=0.01$).

4) 또한 이러한 아연 영양상태와 짠맛 인지 간의 관계에 미치는 αENaC A663T 유전자 다형성의 영향을 본 결과, 여성의 짠맛 인지와 이용 가능한 식이 아연 (available zinc)와의 관계가 αENaC AA 유전자형을 보유한 여성에서 더 강하게 나타났고 (standardized $\beta = -0.833$). T allele을 보유한 여성에서는 나타나지 않았다.

본 연구는 주로 횡단적 연구 설계로 비만과 아연 운반체 발현 간의 관계, 식이 아연 섭취 및 아연 운반체 발현과 짠맛 인지 간의 관계 그리고 αENaC A663T 유전자형에 따른 영향의 선후 관계를 알 수 없다는 한계점을 가진다. 또한 아연 보충제 섭취 후 비만 여성의 일부 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 증가하는 것을 확인하였는데, 이는 대상자 수가 적고 비만인을 대상으로 하였다는 점에서 결과 해석 시 주의가 필요하다.

하지만 이상의 결과에서, 비만 젊은 여성의 전반적인 leukocyte 아연 운반체 유전자 발현이 정상 체중 여성에 비해 유의적으로 낮았고, 이런

비만 여성을 대상으로 아연 보충제 섭취 후 leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9 및 Zip7 아연 운반체 발현이 유의적으로 증가함을 확인하였다. 또한 한국 젊은 성인의 이용 가능한 식이 아연(available zinc) 섭취 및 leukocyte ZnT9와 Zip7 유전자 발현과 짠맛 인지 간의 유의적인 관계가 존재함을 확인하였고 이런 관계가 성별 및 αENaC A663T 유전형에 따라 달라짐도 확인하였다. 또한 아연 영양 상태와 짠맛 인지와의 관계에 있어 여성의 Zip7 아연 운반체가 혈청 아연 및 식이 아연 섭취 보다 더 밀접한 관련이 있는 요인임을 확인하였다. 본 연구의 연구 결과를 일반화하기 위해 연령 및 체내 상태가 다른 다양한 집단을 대상으로 한 연구가 필요하며, 또한 비만에서 아연 운반체 유전자 발현 변화와 아연 운반체 발현이 짠맛 인지에 미치는 영향에 대한 메커니즘 연구도 뒷받침 되어야 할 것이다.

IX. 참고문헌

Aggett, P. J. & Mills, C. F. (1989). *Zinc in human biology. In: Zinc in human biology,* New York, Springer-Verlag.

Allan, A. K., Hawksworth, G. M., Woodhouse, L. R., Sutherland, B., King, J. C. & Beattie, J. H. (2000). Lymphocyte metallothionein mRNA responds to marginal zinc intake in human volunteers. *Br J Nutr,* 84, 747-56.

Ambrosius, W. T., Bloem, L. J., Zhou, L., Rebhun, J. F., Snyder, P. M., Wagner, M. A., Guo, C. & Pratt, J. H. (1999). Genetic variants in the epithelial sodium channel in relation to aldosterone and potassium excretion and risk for hypertension. *Hypertension,* 34, 631-7.

Andree, K. B., Kim, J., Kirschke, C. P., Gregg, J. P., Paik, H., Joung, H., Woodhouse, L., King, J. C. & Huang, L. (2004). Investigation of lymphocyte gene expression for use as biomarkers for zinc status in humans. *J Nutr,* 134, 1716-23.

Aydemir, T. B., Blanchard, R. K. & Cousins, R. J. (2006). Zinc supplementation of young men alters metallothionein, zinc transporter, and cytokine gene expression in leukocyte populations. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 103, 1699-704.

Bae, Y. J., Kim, M. H. & Yeon, J. Y. (2012). Evaluation of dietary zinc, copper, manganese and selenium intake in female university students. *Korean J Community Nutr. ,* 17, 146-155.

Baker, E. H., Dong, Y. B., Sagnella, G. A., Rothwell, M., Onipinla, A. K., Markandu, N. D., Cappuccio, F. P., Cook, D. G., Persu, A., Corvol, P., Jeunemaitre, X., Carter, N. D. & Macgregor, G. A. (1998). Association of hypertension with T594M mutation in beta subunit of epithelial sodium channels in black people resident in London. *Lancet,* 351, 1388-92.

Bartoshuk, L. M. (1978). The psychophysics of taste. *Am J Clin Nutr,* 31, 1068-77.

Begin-Heick, N., Dalpe-Scott, M., Rowe, J. & Heick, H. M. (1985). Zinc supplementation attenuates insulin secretory activity in pancreatic islets of the ob/ob mouse. *Diabetes*, 34, 179-84.

Begum, N. A., Kobayashi, M., Moriwaki, Y., Matsumoto, M., Toyoshima, K. & Seya, T. (2002). Mycobacterium bovis BCG

cell wall and lipopolysaccharide induce a novel gene, BIGM103, encoding a 7-TM protein: identification of a new protein family having Zn-transporter and Zn-metalloprotease signatures. *Genomics,* 80, 630-45.

Bibbins-Domingo, K., Chertow, G. M., Coxson, P. G., Moran, A., Lightwood, J. M., Pletcher, M. J. & Goldman, L. (2010). Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease. *N Engl J Med,* 362, 590-9.

Brown, K. H., Peerson, J. M., Rivera, J. & Allen, L. H. (2002). Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr,* 75, 1062-71.

Brown, K. H., Rivera, J. A., Bhutta, Z., Gibson, R. S., King, J. C., Lonnerdal, B., Ruel, M. T., Sandtrom, B., Wasantwisut, E. & Hotz, C. (2004). International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull,* 25, S99-203.

Cao, J., Bobo, J. A., Liuzzi, J. P. & Cousins, R. J. (2001). Effects of intracellular zinc depletion on metallothionein and ZIP2 transporter expression and apoptosis. *J Leukoc Biol,* 70, 559-66.

Caterson, I. D., Hubbard, V., Bray, G. A., Grunstein, R., Hansen, B. C., Hong, Y., Labarthe, D., Seidell, J. C. & Smith, S. C., Jr. (2004). Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: Group III: worldwide comorbidities of obesity. *Circulation,* 110, e476-83.

Cavan, K. R., Gibson, R. S., Grazioso, C. F., Isalgue, A. M., Ruz, M. & Solomons, N. W. (1993). Growth and body composition of periurban Guatemalan children in relation to zinc status: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr,* 57, 334-43.

Chandrashekar, J., Kuhn, C., Oka, Y., Yarmolinsky, D. A., Hummler, E., Ryba, N. J. & Zuker, C. S. (2010). The cells and peripheral representation of sodium taste in mice. *Nature,* 464, 297-301.

Chen, M. D. & Lin, P. Y. (2000a). Zinc-induced hyperleptinemia relates to the amelioration of sucrose-induced obesity with zinc repletion. *Obes Res,* 8, 525-9.

Chen, M. D., Lin, P. Y., Cheng, V. & Lin, W. H. (1996). Zinc

supplementation aggravates body fat accumulation in genetically obese mice and dietary-obese mice. *Biol Trace Elem Res,* 52, 125-32.

Chen, M. D., Song, Y. M. & Lin, P. Y. (2000b). Zinc may be a mediator of leptin production in humans. *Life Sci,* 66, 2143-9.

Chimienti, F., Devergnas, S., Favier, A. & Seve, M. (2004). Identification and cloning of a beta-cell-specific zinc transporter, ZnT-8, localized into insulin secretory granules. *Diabetes,* 53, 2330-7.

Choi, M. K., Kim, H. S., Lee, W. Y., Lee, H., Ze, K. R. & Park, J. D. (2005). Comparative evaluation of dietary intkaes of calcium, phosphorus, iron, and zinc in rural coastal, and urban distirct. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* 34, 659-666.

Cousins, R. J. (1994). Metal elements and gene expression. *Annu Rev Nutr,* 14, 449-69.

Cousins, R. J., Blanchard, R. K., Popp, M. P., Liu, L., Cao, J., Moore, J. B. & Green, C. L. (2003). A global view of the selectivity of zinc deprivation and excess on genes expressed in human THP-1 mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 100, 6952-7.

Cragg, R. A., Christie, G. R., Phillips, S. R., Russi, R. M., Kury, S., Mathers, J. C., Taylor, P. M. & Ford, D. (2002). A novel zinc-regulated human zinc transporter, hZTL1, is localized to the enterocyte apical membrane. *J Biol Chem,* 277, 22789-97.

Cragg, R. A., Phillips, S. R., Piper, J. M., Varma, J. S., Campbell, F. C., Mathers, J. C. & Ford, D. (2005). Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. *Gut,* 54, 469-78.

De Benoist, B., Darnton-Hill, I., Davidsson, L., Fontaine, O. & Hotz, C. (2007). Conclusions of the Joint WHO/UNICEF/IAEA/IZiNCG Interagency Meeting on Zinc Status Indicators. *Food Nutr Bull,* 28, S480-4.

Desimone, J. A. & Lyall, V. (2006). Taste receptors in the gastrointestinal tract III. Salty and sour taste: sensing of sodium and protons by the tongue. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,* 291, G1005-10.

Dos Santos Rocha, P. B., De Castro Amorim, A., De Sousa, A. F., Do Monte, S. J., Da Mata Sousa, L. C., Do Nascimento Nogueira, N.,

Neto, J. M. & Do Nascimento Marreiro, D. (2011). Expression of the zinc transporters genes and metallothionein in obese women. *Biol Trace Elem Res,* 143, 603-11.

Drewnowski, A. (1997). Taste preferences and food intake. *Annu Rev Nutr,* 17, 237-53.

Dufner-Beattie, J., Kuo, Y. M., Gitschier, J. & Andrews, G. K. (2004). The adaptive response to dietary zinc in mice involves the differential cellular localization and zinc regulation of the zinc transporters ZIP4 and ZIP5. *J Biol Chem,* 279, 49082-90.

Dufner-Beattie, J., Wang, F., Kuo, Y. M., Gitschier, J., Eide, D. & Andrews, G. K. (2003). The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice. *J Biol Chem,* 278, 33474-81.

Ennes Dourado Ferro, F., De Sousa Lima, V. B., Mello Soares, N. R., Franciscato Cozzolino, S. M. & Do Nascimento Marreiro, D. (2011). Biomarkers of metabolic syndrome and its relationship with the zinc nutritional status in obese women. *Nutr Hosp,* 26, 650-4.

Eny, K. M., Wolever, T. M., Corey, P. N. & El-Sohemy, A. (2010). Genetic variation in TAS1R2 (Ile191Val) is associated with consumption of sugars in overweight and obese individuals in 2 distinct populations. *Am J Clin Nutr,* 92, 1501-10.

Ferguson, E. L., Gibson, R. S., Thompson, L. U. & Ounpuu, S. (1989). Dietary calcium, phytate, and zinc intakes and the calcium, phytate, and zinc molar ratios of the diets of a selected group of East African children. *Am J Clin Nutr,* 50, 1450-6.

Fushan, A. A., Simons, C. T., Slack, J. P., Manichaikul, A. & Drayna, D. (2009). Allelic polymorphism within the TAS1R3 promoter is associated with human taste sensitivity to sucrose. *Curr Biol,* 19, 1288-93.

Gaither, L. A. & Eide, D. J. (2001). The human ZIP1 transporter mediates zinc uptake in human K562 erythroleukemia cells. *J Biol Chem,* 276, 22258-64.

Garcia, O. P., Long, K. Z. & Rosado, J. L. (2009). Impact of micronutrient deficiencies on obesity. *Nutr Rev,* 67, 559-72.

Gibson, R. S., Ferguson, E. F., Vanderkooy, P. D. & Macdonald, A. C. (1989). Seasonal variations in hair zinc concentrations in Canadian and African children. *Sci Total Environ,* 84, 291-8.

Gibson, R. S., Hess, S. Y., Hotz, C. & Brown, K. H. (2008). Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *Br J Nutr,* 99 Suppl 3, S14-23.

Gibson, R. S. & Huddle, J. M. (1998). Suboptimal zinc status in pregnant Malawian women: its association with low intakes of poorly available zinc, frequent reproductive cycling, and malaria. *Am J Clin Nutr,* 67, 702-9.

Gibson, R. S., Skeaff, M. & Williams, S. (2000). Interrelationship of indices of body composition and zinc status in 11-yr-old New Zealand children. *Biol Trace Elem Res,* 75, 65-77.

Gibson, R. S., Smit Vanderkooy, P. D. & Thompson, L. (1991). Dietary phytate x calcium/zinc millimolar ratios and zinc nutriture in some Ontario preschool children. *Biol Trace Elem Res,* 30, 87-94.

Goto, T., Komai, M., Suzuki, H. & Furukawa, Y. (2001). Long-term zinc deficiency decreases taste sensitivity in rats. *J Nutr,* 131, 305-10.

Grider, A., Bailey, L. B. & Cousins, R. J. (1990). Erythrocyte metallothionein as an index of zinc status in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 87, 1259-62.

Guillard, O., Piriou, A., Gombert, J. & Reiss, D. (1979). Diurnal variations of zinc, copper and magnesium in the serum of normal fasting adults. *Biomedicine,* 31, 193-4.

Halsted, J. A., Hackley, B. M. & Smith, J. C., Jr. (1968). Plasma-zinc and copper in pregnancy and after oral contraceptives. *Lancet,* 2, 278-9.

Hambidge, K. M., Goodall, M. J., Stall, C. & Pritts, J. (1989). Post-prandial and daily changes in plasma zinc. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis,* 3, 55-7.

Hambidge, M. (2000). Human zinc deficiency. *J Nutr,* 130, 1344S-9S.

Hayes, J. E., Sullivan, B. S. & Duffy, V. B. (2010). Explaining variability in sodium intake through oral sensory phenotype, salt sensation and liking. *Physiol Behav,* 100, 369-80.

He, F. J. & Macgregor, G. A. (2007). Salt, blood pressure and cardiovascular disease. *Curr Opin Cardiol,* 22, 298-305.

Hellekant, G., Dubois, G. E., W., R. T. & H., V. D. W. (1988). On the gustatory effect of amiloride in the monkey (Macaca mulatto) *Chem. Senses,* 13, 89-93.

Hellekant, G. & Ninomiya, Y. (1991). On the taste of umami in chimpanzee. *Physiol Behav,* 49, 927-34.

Henkin, R. I., Martin, B. M. & Agarwal, R. P. (1999). Decreased parotid saliva gustin/carbonic anhydrase VI secretion: an enzyme disorder manifested by gustatory and olfactory dysfunction. *Am J Med Sci,* 318, 380-91.

Hobisch-Hagen, P., Mortl, M. & Schobersberger, W. (1997). Hemostatic disorders in pregnancy and the peripartum period. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl,* 111, 216-7.

Huang, L., Kirschke, C. P. & Gitschier, J. (2002). Functional characterization of a novel mammalian zinc transporter, ZnT6. *J Biol Chem,* 277, 26389-95.

Huang, L., Kirschke, C. P., Zhang, Y. & Yu, Y. Y. (2005). The ZIP7 gene (Slc39a7) encodes a zinc transporter involved in zinc homeostasis of the Golgi apparatus. *J Biol Chem,* 280, 15456-63.

Huang, L., Yu, Y. Y., Kirschke, C. P., Gertz, E. R. & Lloyd, K. K. (2007). Znt7 (Slc30a7)-deficient mice display reduced body zinc status and body fat accumulation. *J Biol Chem,* 282, 37053-63.

Jacobs, R. M., Lumsden, J. H., Taylor, J. A. & Grift, E. (1991). Effects of interferents on the kinetic Jaffe reaction and an enzymatic colorimetric test for serum creatinine concentration determination in cats, cows, dogs and horses. *Can J Vet Res*, 55, 150-4.

Joung, H., Nam, G., Yoon, S., Lee, J., Shim, J. E. & Paik, H. Y. (2004). Bioavailable zinc intake of Korean adults in relation to the phytate content of Korean foods. *Journal of Food Composition and Analysis,* 17, 713-724.

Kambe, T., Narita, H., Yamaguchi-Iwai, Y., Hirose, J., Amano, T., Sugiura, N., Sasaki, R., Mori, K., Iwanaga, T. & Nagao, M. (2002). Cloning and characterization of a novel mammalian zinc transporter, zinc transporter 5, abundantly expressed in pancreatic beta cells. *J Biol Chem,* 277, 19049-55.

Kaplan, G. B., Sethi, R. K., Mcclelland, E. G. & Leite-Morris, K. A. (1998). Regulation of G protein-mediated adenylyl cyclase in striatum and cortex of opiate-dependent and opiate withdrawing mice. *Brain Res,* 788, 104-10.

Kay, R. G., Tasman-Jones, C., Pybus, J., Whiting, R. & Black, H. (1976). A syndrome of acute zinc deficiency during total parenteral alimentation in man. *Ann Surg,* 183, 331-40.

Kcdc 2011. Korea Health Statistics 2010 : Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES V-1).

Kelleher, S. L. & Lonnerdal, B. (2003). Zn transporter levels and localization change throughout lactation in rat mammary gland and are regulated by Zn in mammary cells. *J Nutr,* 133, 3378-85.

Kim, C. H., Paik, H. Y. & J., J. H. (1999). Evaluation of Zinc and Copper Status in Korean College Women. *Korean J. Nutr.,* 32, 277-286.

Kim, J., Paik, H. Y., Joung, H., Woodhouse, L. R., Li, S. & King, J. C. (2004). Zinc supplementation reduces fractional zinc absorption in young and elderly korean women. *J Am Coll Nutr,* 23, 309-15.

Kim, U. K., Jorgenson, E., Coon, H., Leppert, M., Risch, N. & Drayna, D. (2003). Positional cloning of the human quantitative trait locus underlying taste sensitivity to phenylthiocarbamide. *Science,* 299, 1221-5.

Kimmons, J. E., Blanck, H. M., Tohill, B. C., Zhang, J. & Khan, L. K. (2006). Associations between body mass index and the prevalence of low micronutrient levels among US adults. *MedGenMed,* 8, 59.

King, J. C. (1990). Assessment of zinc status. *J Nutr,* 120 Suppl 11, 1474-9.

King, J. C., Shames, D. M., Lowe, N. M., Woodhouse, L. R., Sutherland, B., Abrams, S. A., Turnlund, J. R. & Jackson, M. J. (2001). Effect of acute zinc depletion on zinc homeostasis and plasma zinc kinetics in men. *Am J Clin Nutr,* 74, 116-24.

Kirschke, C. P. & Huang, L. (2003). ZnT7, a novel mammalian zinc transporter, accumulates zinc in the Golgi apparatus. *J Biol Chem,* 278, 4096-102.

Kitamura, H., Morikawa, H., Kamon, H., Iguchi, M., Hojyo, S., Fukada, T., Yamashita, S., Kaisho, T., Akira, S., Murakami, M. & Hirano, T. (2006). Toll-like receptor-mediated regulation of zinc homeostasis influences dendritic cell function. *Nat Immunol,* 7, 971-7.

Kns (2010). *Dietary reference intakes for Koreans, 1st revision, 2010*, The Korean nutrition society.

Kwon, C. S., Kountouri, A. M., Mayer, C., Gordon, M. J., Kwun, I. S. & Beattie, J. H. (2007). Mononuclear cell metallothionein mRNA levels in human subjects with poor zinc nutrition. *Br J Nutr,* 97, 247-54.

Kwun, I. S. & Kwon, C. S. (2000). Dietary molar ratios of phytate:zinc and millimolar ratios of phytate x calcium:zinc in South Koreans. *Biol Trace Elem Res,* 75, 29-41.

Langmade, S. J., Ravindra, R., Daniels, P. J. & Andrews, G. K. (2000). The transcription factor MTF-1 mediates metal regulation of the mouse ZnT1 gene. *J Biol Chem,* 275, 34803-9.

Lee, S. L., Yoon, J. S., Kwon, C. S., Beattie, J. H. & Kwun, I. S. (2004a). Zinc Status Assessment by Analysis of Mononuclear Cell Metallothionein mRNA Using Competitive-Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Journal of Food Science and Nutrition,* 9, 276-282.

Lee, W. L., Kwak, E. H., Yoon, J. S., Kwon, C. S., Beattie, J. H. & Kwun, I. S. (2004b). Zinc Nutritional Status in Korean Adults from Rural, Urban and Metropolitan Areas. *Journal of Food Science and Nutrition,* 9, 174-182.

Lichten, L. A. & Cousins, R. J. (2009). Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr,* 29, 153-76.

Lin, W., Finger, T. E., Rossier, B. C. & Kinnamon, S. C. (1999). Epithelial Na+ channel subunits in rat taste cells: localization and regulation by aldosterone. *J Comp Neurol,* 405, 406-20.

Liuzzi, J. P., Blanchard, R. K. & Cousins, R. J. (2001). Differential regulation of zinc transporter 1, 2, and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats. *J Nutr,* 131, 46-52.

Liuzzi, J. P., Bobo, J. A., Lichten, L. A., Samuelson, D. A. & Cousins, R. J. (2004). Responsive transporter genes within the murine intestinal-pancreatic axis form a basis of zinc homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 101, 14355-60.

Lonnerdal, B. (2000). Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr,* 130, 1378S-83S.

Lowe, N. M., Fekete, K. & Decsi, T. (2009). Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr,*

89, 2040S-2051S.
Lowe, N. M., Woodhouse, L. R., Sutherland, B., Shames, D. M., Burri, B. J., Abrams, S. A., Turnlund, J. R., Jackson, M. J. & King, J. C. (2004). Kinetic parameters and plasma zinc concentration correlate well with net loss and gain of zinc from men. *J Nutr,* 134, 2178-81.
Ma, Z., Gingerich, R. L., Santiago, J. V., Klein, S., Smith, C. H. & Landt, M. (1996). Radioimmunoassay of leptin in human plasma. *Clin Chem,* 42, 942-6.
Manning, D. L., Daly, R. J., Lord, P. G., Kelly, K. F. & Green, C. D. (1988). Effects of oestrogen on the expression of a 4.4 kb mRNA in the ZR-75-1 human breast cancer cell line. *Mol Cell Endocrinol,* 59, 205-12.
Marreiro, D. N., Fisberg, M. & Cozzolino, S. M. (2004). Zinc nutritional status and its relationships with hyperinsulinemia in obese children and adolescents. *Biol Trace Elem Res,* 100, 137-49.
Mccall, K. A., Huang, C. & Fierke, C. A. (2000). Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J Nutr,* 130, 1437S-46S.
Mcdaid, O., Stewart-Knox, B., Parr, H. & Simpson, E. (2007). Dietary zinc intake and sex differences in taste acuity in healthy young adults. *J Hum Nutr Diet,* 20, 103-10.
Mcmahon, R. J. & Cousins, R. J. (1998). Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 95, 4841-6.
Meligaard, M., Civille, G. V. & Carr, B. T. (1991). *Sensory evaluation techniques (2nd edition)*, Boca Raton : CRC Press.
Meneton, P., Jeunemaitre, X., De Wardener, H. E. & Macgregor, G. A. (2005). Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases. *Physiol Rev,* 85, 679-715.
Mennella, J. A., Pepino, M. Y. & Reed, D. R. (2005). Genetic and environmental determinants of bitter perception and sweet preferences. *Pediatrics,* 115, e216-22.
Murgia, C., Vespignani, I., Cerase, J., Nobili, F. & Perozzi, G. (1999). Cloning, expression, and vesicular localization of zinc transporter Dri 27/ZnT4 in intestinal tissue and cells. *Am J Physiol,* 277, G1231-9.

Murphy, S. P., Beaton, G. H. & Calloway, D. H. (1992). Estimated mineral intakes of toddlers: predicted prevalence of inadequacy in village populations in Egypt, Kenya, and Mexico. *Am J Clin Nutr,* 56, 565-72.

Nishi, Y. (1996). Zinc and growth. *J Am Coll Nutr,* 15, 340-4.

Overbeck, S., Uciechowski, P., Ackland, M. L., Ford, D. & Rink, L. (2008). Intracellular zinc homeostasis in leukocyte subsets is regulated by different expression of zinc exporters ZnT-1 to ZnT-9. *J Leukoc Biol,* 83, 368-80.

Ozata, M., Mergen, M., Oktenli, C., Aydin, A., Sanisoglu, S. Y., Bolu, E., Yilmaz, M. I., Sayal, A., Isimer, A. & Ozdemir, I. C. (2002). Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin Biochem,* 35, 627-31.

Padmavathi, I. J., Kishore, Y. D., Venu, L., Ganeshan, M., Harishankar, N., Giridharan, N. V. & Raghunath, M. (2009). Prenatal and perinatal zinc restriction: effects on body composition, glucose tolerance and insulin response in rat offspring. *Exp Physiol,* 94, 761-9.

Paik, H. & Kim, K. 1997. DS24. Seoul Nation University, Human Nutrition Lab. & Sook Myung University, AI/DB Lab. .

Palmiter, R. D., Cole, T. B., Quaife, C. J. & Findley, S. D. (1996). ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 93, 14934-9.

Palmiter, R. D. & Findley, S. D. (1995). Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc. *EMBO J,* 14, 639-49.

Palmiter, R. D. & Huang, L. (2004). Efflux and compartmentalization of zinc by members of the SLC30 family of solute carriers. *Pflugers Arch,* 447, 744-51.

Persu, A., Barbry, P., Bassilana, F., Houot, A. M., Mengual, R., Lazdunski, M., Corvol, P. & Jeunemaitre, X. (1998). Genetic analysis of the beta subunit of the epithelial Na+ channel in essential hypertension. *Hypertension,* 32, 129-37.

Pickering, T. G., Hall, J. E., Appel, L. J., Falkner, B. E., Graves, J., Hill, M. N., Jones, D. W., Kurtz, T., Sheps, S. G. & Roccella, E. J. (2005). Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: Part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from

the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Hypertension,* 45, 142-61.

Pilch, S. M. & Senti, F. R. (1985). Analysis of zinc data from the second National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES II). *J Nutr,* 115, 1393-7.

Pinna, K., Woodhouse, L. R., Sutherland, B., Shames, D. M. & King, J. C. (2001). Exchangeable zinc pool masses and turnover are maintained in healthy men with low zinc intakes. *J Nutr,* 131, 2288-94.

Pratt, J. H. (2005). Central role for ENaC in development of hypertension. *J Am Soc Nephrol,* 16, 3154-9.

Rofe, A. M., Philcox, J. C. & Coyle, P. (1996). Trace metal, acute phase and metabolic response to endotoxin in metallothionein-null mice. *Biochem J,* 314 (Pt 3), 793-7.

Salvetti, G., Santini, F., Versari, D., Virdis, A., Fierabracci, P., Scartabelli, G., Pucci, A., Galli, G., Piaggi, P., Taddei, S., Vitti, P., Salvetti, A. & Pinchera, A. (2008). Fat distribution and cardiovascular risk in obese women. *Obesity and Metabolism-Milan,* 4, 202-207.

Samaha, F. F., Rubenstein, R. C., Yan, W., Ramkumar, M., Levy, D. I., Ahn, Y. J., Sheng, S. & Kleyman, T. R. (2004). Functional polymorphism in the carboxyl terminus of the alpha-subunit of the human epithelial sodium channel. *J Biol Chem,* 279, 23900-7.

Sandstrom, B. (1997). Bioavailability of zinc. *Eur J Clin Nutr,* 51 Suppl 1, S17-9.

Saydam, N., Adams, T. K., Steiner, F., Schaffner, W. & Freedman, J. H. (2002). Regulation of metallothionein transcription by the metal-responsive transcription factor MTF-1: identification of signal transduction cascades that control metal-inducible transcription. *J Biol Chem,* 277, 20438-45.

Schroeder, J. J. & Cousins, R. J. (1990). Interleukin 6 regulates metallothionein gene expression and zinc metabolism in hepatocyte monolayer cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 87, 3137-41.

Shigemura, N., Ohkuri, T., Sadamitsu, C., Yasumatsu, K., Yoshida, R., Beauchamp, G. K., Bachmanov, A. A. & Ninomiya, Y. (2008).

Amiloride-sensitive NaCl taste responses are associated with genetic variation of ENaC alpha-subunit in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,* 294, R66-75.

Shim, Y. J. & Paik, H. Y. (2009). Reanalysis of 2007 Korean National Health and Nutrition Examination Survey (2007 KNHANES) Results by CAN-Pro 3.0 Nutrient Database. *Korean J. Nutr.,* 42, 577-595.

Singh, A., Smoak, B. L., Patterson, K. Y., Lemay, L. G., Veillon, C. & Deuster, P. A. (1991). Biochemical indices of selected trace minerals in men: effect of stress. *Am J Clin Nutr,* 53, 126-31.

Singh, R. B., Beegom, R., Rastogi, S. S., Gaoli, Z. & Shoumin, Z. (1998). Association of low plasma concentrations of antioxidant vitamins, magnesium and zinc with high body fat per cent measured by bioelectrical impedance analysis in Indian men. *Magnes Res,* 11, 3-10.

Smidt, K., Pedersen, S. B., Brock, B., Schmitz, O., Fisker, S., Bendix, J., Wogensen, L. & Rungby, J. (2007). Zinc-transporter genes in human visceral and subcutaneous adipocytes: lean versus obese. *Mol Cell Endocrinol,* 264, 68-73.

Solomons, N. W. (1979). On the assessment of zinc and copper nutriture in man. *Am J Clin Nutr,* 32, 856-71.

Son, S. M. & Sung, S. I. (1999). Zinc and Copper Intake with Food Analysis and Levels of Zinc and Copper in Serum, Hair and Urine of Female College Students. *Korean J. Nutr.,* 32, 705-712.

Stähler, F., Riedel, K., Demgensky, S., Neumann, K., Dunkel, A., Täubert, A., Raab, B., Behrens, M., Raguse, J.-D., Hofmann, T. & Meyerhof, W. (2008). A Role of the Epithelial Sodium Channel in Human Salt Taste Transduction? *Chemosensory Perception,* 1, 78-90.

Stewart-Knox, B. J., Simpson, E. E., Parr, H., Rae, G., Polito, A., Intorre, F., Andriollo Sanchez, M., Meunier, N., O'connor, J. M., Maiani, G., Coudray, C. & Strain, J. J. (2008). Taste acuity in response to zinc supplementation in older Europeans. *Br J Nutr,* 99, 129-36.

Stewart-Knox, B. J., Simpson, E. E., Parr, H., Rae, G., Polito, A., Intorre, F., Meunier, N., Andriollo-Sanchez, M., O'connor, J. M., Coudray, C. & Strain, J. J. (2005). Zinc status and taste acuity

in older Europeans: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr,* 59 Suppl 2, S31-6.

Sugiyama, T., Kato, N., Ishinaga, Y., Yamori, Y. & Yazaki, Y. (2001). Evaluation of selected polymorphisms of the Mendelian hypertensive disease genes in the Japanese population. *Hypertens Res,* 24, 515-21.

Takeda, N., Takaoka, T., Ueda, C., Toda, N., Kalubi, B. & Yamamoto, S. (2004). Zinc deficiency in patients with idiopathic taste impairment with regard to angiotensin converting enzyme activity. *Auris Nasus Larynx,* 31, 425-8.

Tallman, D. L. & Taylor, C. G. (2003). Effects of dietary fat and zinc on adiposity, serum leptin and adipose fatty acid composition in C57BL/6J mice. *J Nutr Biochem,* 14, 17-23.

Taylor, K. M., Morgan, H. E., Smart, K., Zahari, N. M., Pumford, S., Ellis, I. O., Robertson, J. F. & Nicholson, R. I. (2007). The emerging role of the LIV-1 subfamily of zinc transporters in breast cancer. *Mol Med,* 13, 396-406.

Taylor, K. M. & Nicholson, R. I. (2003). The LZT proteins; the LIV-1 subfamily of zinc transporters. *Biochim Biophys Acta,* 1611, 16-30.

Thompson, R. P. (1991). Assessment of zinc status. *Proc Nutr Soc,* 50, 19-28.

Tong, Q., Menon, A. G. & Stockand, J. D. (2006). Functional polymorphisms in the alpha-subunit of the human epithelial Na+ channel increase activity. *Am J Physiol Renal Physiol,* 290, F821-7.

Torgerson, J. S., Peltonen, M., Hauptman, J., Arlinger, K. & Sjostrom, L. (2002). Prevalence of undetected diabetes and impaired glucose tolerance in an obese population. *Diabetes,* 51, A240-A240.

Tungtrongchitr, R., Pongpaew, P., Phonrat, B., Tungtrongchitr, A., Viroonudomphol, D., Vudhivai, N. & Schelp, F. P. (2003). Serum copper, zinc, ceruloplasmin and superoxide dismutase in Thai overweight and obese. *J Med Assoc Thai,* 86, 543-51.

Vallee, B. L. & Auld, D. S. (1990). Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry,* 29, 5647-59.

Wang, F., Kim, B. E., Petris, M. J. & Eide, D. J. (2004). The

mammalian Zip5 protein is a zinc transporter that localizes to the basolateral surface of polarized cells. *J Biol Chem,* 279, 51433-41.

Wang, K., Zhou, B., Kuo, Y. M., Zemansky, J. & Gitschier, J. (2002). A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. *Am J Hum Genet,* 71, 66-73.

Wang, X., Lu, X., Lin, R., Wang, S., Zhang, L., Qian, J., Lu, D., Wen, H. & Jin, L. (2008). Lack of Association of Functional Variants in Alpha-ENaC Gene and Essential Hypertension in Two Ethnic Groups in China. *Kidney and Blood Pressure Research,* 31, 268-273.

Weisstaub, G., Hertrampf, E., Lopez De Romana, D., Salazar, G., Bugueno, C. & Castillo-Duran, C. (2007). Plasma zinc concentration, body composition and physical activity in obese preschool children. *Biol Trace Elem Res,* 118, 167-74.

Who 1996. Trace elements in human nutrition and health: 5. Zinc. Geneva.

Who 2000a. The Asia Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment.

Who (2000b). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser,* 894, i-xii, 1-253.

Who 2002. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases : report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. World Health Organization.

Who 2008. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation.

Wimmer, U., Wang, Y., Georgiev, O. & Schaffner, W. (2005). Two major branches of anti-cadmium defense in the mouse: MTF-1/metallothioneins and glutathione. *Nucleic Acids Res,* 33, 5715-27.

Wright, A. L., King, J. C., Baer, M. T. & Citron, L. J. (1981). Experimental zinc depletion and altered taste perception for NaCl in young adult males. *Am J Clin Nutr,* 34, 848-52.

Yamagata, T., Nakamura, Y., Yamagata, Y., Nakanishi, M., Matsunaga, K., Nakanishi, H., Nishimoto, T., Minakata, Y., Mune, M. & Yukawa, S. (2003). The pilot trial of the prevention of the increase in electrical taste thresholds by zinc containing fluid

infusion during chemotherapy to treat primary lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res,* 22, 557-63.

Yan, W., Suaud, L., Kleyman, T. R. & Rubenstein, R. C. (2006). Differential modulation of a polymorphism in the COOH terminus of the alpha-subunit of the human epithelial sodium channel by protein kinase Cdelta. *Am J Physiol Renal Physiol,* 290, F279-88.

Yoon, J. S., Lee, J. H. & Park, P. S. (2000). Zinc Status and Taste Acuity of Old and Young Women. *Korean J Community Nutr.,* 5, 484-492.

Abstract

The relationship among zinc nutritional status, αENaC A663T gene polymorphism and salty taste acuity in Korean young adults

Hwayoung Noh

Food and Nutrition

The Graduate School

Seoul National University

Excess dietary salt intake is a well-known risk factor for the development of hypertension, cardiovascular disease and renal disease and one of major public health concerns in Korea. Dietary salt intake can be affected by individual salty taste perception. Zinc has been reported to be associated with taste perception. Zinc is required for the enzymatic function of gustin (carbonic anhydrase VI), a zinc metalloprotein in parotid saliva. Zinc deficiency leads to the decrese of salivary gustin secretion, which is related to a reduced or distorted taste function. The zinc intake has been insufficient in Korean population and zinc deficiency has been reported in obese individuals. In addition, genetic polymorphism of

epithelial sodium channel (ENaC), which is known as a major sodium-specific taste receptor in mammals, may also contribute to the salty taste perception among individuals. A recent study has found that a genetic variation in αENaC is associated with the difference in amiloride-sensitive taste responses to sodium chloride in mice, suggesting that αENaC polymorphisms may play a role in modifying salty taste perception. The role of αENaC polymorphisms on salty taste perception in humans has not been reported. In the present study, we evaluated the gene expressions of leukocyte zinc transporters and their changes after zinc supplementation in Korean young obese women. Also, we examined the relationship among zinc nutritional status indicators -zinc intake, serum zinc and the gene expression of zinc transporters-, αENaC A663T genotypes and salty taste acuity in healthy young adults.

In non-obese (n=25) and obese (n=40) women aged 18-28 yrs, the levels of leukocyte ZnT9, Zip1, Zip4, Zip6 mRNA in the obese were significantly lower than those in the non-obese. The levels of these leukocyte zinc transporters had significant negative correlations with BMI and the percentage of body fat in total subjects. On the other hands, the level of leukocyte ZnT7 mRNA was significantly higher in the obese than in the non-obese, and it

has significant positive correlation with BMI and the percentage of body fat in total subjects. After 8-week zinc supplementation (30mg/d) in obese subjects, the expression levels of leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9, Zip7 genes increased.

In 207 healthy adults aged 20-29 yrs, the expression level of leukocyte ZnT9 gene was negatively associated with the threshold of salty taste in males (standardized $\beta=-0.048$, $p=0.03$), the available zinc intake (standardized $\beta=-0.467$, $p=0.04$) and the expression level of leukocyte Zip7 gene (standardized $\beta=-0.479$, $p<0.01$) was negatively associated with the threshold of salty taste in females. Among these, level of leukocyte Zip7 mRNA was shown to be the significant factor of salty taste threshold ($R^2=0.12$, $p=0.01$). When female subjects were stratified according to the αENaC A663T genotype, a significant negative association between available zinc intake and salty taste threshold was found in AA homozygotes (standardized $\beta=-0.833$, $p=0.02$) but not in subjects with T alleles.

In the present study, we identified the low expression levels of overall leukocyte zinc transporters in obese young women, and the increase of expression levels of leukocyte ZnT1, ZnT4, ZnT5, ZnT9 and Zip7 gene after zinc supplementation. Also, we identified the association between available zinc intake, the expression levels

of leukocyte ZnT9 and Zip7 and salty taste acuity in Korean healthy, young adults, and this association was altered by sex and αENaC A663T. The present study has significance for the first work on relationship between zinc nutritional status, αENaC A663T polymorphism and salty taste acuity in Korea. However, to confirm these results, further studies with various age and status population and mechanism studies on change of leukocyte zinc transporters in obesity and the effect of zinc transporters on salty taste acuity are required.

Keywords: zinc nutritional status, zinc transporters, αENaC A663T, salty taste acuity, obesity

Student Number: 2008-30455