



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](#)

이학석사 학위논문

원적외선 활성수가 조피볼락 (*Sebastes  
schlegeli*)의 자연발생된 지방간 예에  
미치는 병리조직학적 영향



2008년 2월

부경대학교 대학원

수산생명의학과

이 한 나

이학석사 학위논문

원적외선 활성수가 조피볼락 (*Sebastes  
schlegeli*)의 자연발생된 지방간 예에  
미치는 병리조직학적 영향

The seal of Bukyong National University is a circular emblem. It features a central design with a blue and grey color scheme, possibly representing a stylized 'B' or a similar symbol. The outer ring of the seal contains the text 'BUKYONG NATIONAL UNIVERSITY' in English at the top and '부경대학교' in Korean at the bottom.

지도교수 허 민 도

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2008년 2월

부경대학교 대학원

수산생명의학과

이 한 나

이한나의 이학석사 학위논문을 인준함

2008년 2월 26일



주 심 이학박사 강 주 찬 인  
위 원 약학박사 정 준 기 인  
위 원 농학박사 허 민 도 인

## 목 차

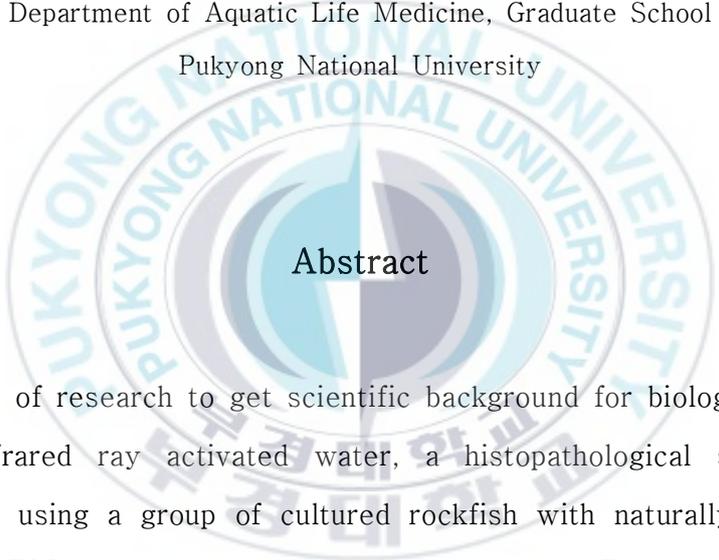
Abstract .....	i
I. 서론 .....	1
II. 재료 및 방법 .....	3
1. 실험동물의 확보 및 유지 .....	3
2. 원적외선 활성수의 조제 및 적용 .....	3
3. 육안 및 병리조직학적 검사 .....	4
(1) 임상관찰 .....	4
(2) 육안적 검사 및 생체량 측정 .....	4
(3) 병리조직학적 검사 .....	5
(4) 지방간의 판단 .....	6
III. 결과 .....	14
1. 임상관찰 .....	14
2. 육안적 소견 및 생체량 측정결과 .....	14
(1) 육안소견 .....	16
(2) 생체량 측정결과 .....	16
3. 병리조직학적 소견 .....	16
(1) 대조군의 간장 .....	16
(2) 실험 1주차 .....	16
(3) 실험 3주차 .....	17
(4) 실험 5주차 .....	18
(5) 간장의 특수염색 소견 .....	18
(6) 간장 외 기타장기 .....	19
IV. 고찰 .....	25
V. 요약 .....	33
VI. 결과그림 및 그림설명 .....	34
VII. 감사의 글 .....	61



Histopathological effect of far infrared ray activated water on  
naturally occurred fatty liver of rockfish,  
*Sebastes schlegeli*.

Han Na Lee

Department of Aquatic Life Medicine, Graduate School  
Pukyong National University



Abstract

As part of research to get scientific background for biological effect of far infrared ray activated water, a histopathological study was performed, using a group of cultured rockfish with naturally occurred fatty liver. DM bio functional seawater of a company, Daemyung Bio, was applied as far infrared ray activated water. By rearing the diseased fish with the functional seawater, the biological effect on the fatty liver was histopathologically evaluated one, three and five weeks after rearing. Naturally occurred fatty liver of rockfish grossly showed severely mottled appearance and microscopically severe vacuolation with large, cytoplasmic fat globules in HE stain. Each of hepatocytes had nuclei marginally dislocated. Sinusoidal capillaries and Disse space were barely recognizable.

As early as from one week after rearing, most of livers showed more even coloration on their surface and reduction of cytoplasmic fat globules in number and size. 5 weeks after, most of fish became to microscopically have hepatocytes very close to those of normal in morphology. The number and size of fat globules were markedly reduced. Sinusoidal area including Disse space was almost completely restored. Nuclei of hepatocytes returned to the center which was normal. Hyaline inclusions suggesting secondary lysosomes were nearly not recognizable in most of individuals one week after. Restoration of hepatocytes was consistently accompanied by infiltration of glycogen. On the other hand, all individuals of conventional sea water group used as control still had findings of fatty liver both grossly and microscopically even 5 weeks after.

From these results it is suggested that far infrared ray activated seawater apparently facilitates the recovery process toward normal from naturally occurred fatty liver of rockfish.

Key words: far infrared ray activated water · histopathological effect · rockfish · fatty liver

## I. 서론

포유류나 인간에 비해 하등한 척추동물인 어류는 그 생체방어 시스템이 다른 고등척추동물보다 간단하다. 병원체에 대한 동물의 생체방어 체계는 크게 특이적인 것과 비특이적인 것이 있다. 하등동물인 어류에서는 특이적 방어를 담당하는 조직의 발달이 고등동물보다 미비하여 비특이적 방어가 생체방어 체계의 주를 이룬다. 비특이적 방어체계에는 피부, 점막, 점액 등의 물리적 장벽과 항미생물인자, 포식세포 등이 속한다 (전, 2005). 어류의 비특이적 방어 체계는 어체의 상태에 따라 그 기능이 강해지기도 하고 약해지기도 한다. 즉, 어류의 기본 건강도가 방어력을 좌우하며 항상성 유지의 가장 기본이 되는 것이다.

현재 유통되는 어류의 대부분은 양식 생산물로, 양식 중 다양한 질병에 노출된다. 어류의 질병 해결을 위해 다양한 수산동물용 의약품을 사용하는데, 양식에서 항생제 사용은 소비자의 선호도를 줄이고, 환경 또는 인체에 이차적인 영향을 주거나 세균의 내성을 발현시키기 때문에 문제가 되고 있다. 따라서 항생제 등의 약품 사용을 최소화하는 동시에 어체의 생리활성 증강을 통해 내병성 높은 건강한 어류를 사육하는 것이 바람직하다. Kelp meal 첨가 사료를 투여하여 돌돔의 비특이면역을 증가시키거나, 식물성 생약재 열추출물을 사료첨가제로 사용하기도 하며 (원, 2004; 정, 2001), 과래 투여나 목재 탄화물을 이용하여 어체의 성장을 도모하거나 간기능을 향상시키는 연구들이 이와 관련있다 (최, 2003; 주, 2005). 어류는 다른 동물과 달리 수중생활을 하기에 생리활성성분의 투여가 쉽지 않다. 다양한 투여법이 있지만, 목표량만큼 투약되지 않거나 어류에 큰 스트레스로 작용할 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 특정성분의 인위적인 투여없이, 어류에 생리활성을 가져올 수 있는 제 3의 인자에 초점을 두고 건강을 개선할 수 있는

방법을 찾고자 하였다.

최근 인간을 포함한 고등동물과 식물에서, 물을 이용하여 생리활성 효과를 얻는 연구가 관심받고 있다. 그중에서도 물에 어떠한 공정을 가하여, 생체내에서 특수한 기능을 할 수 있게 된 기능수에 대한 관심이 크다. 국내에서도 스트레스로 인한 쥐의 생체 손상에 알칼리수를 적용하여 체내생리 보호효과를 확인하거나 (정 등, 1997), 전해환원수의 적용시 쥐의 간장에서 중성지방이 현저히 감소함을 생화학적으로 조명한 연구가 시행되었다 (이 등, 2003). 하지만, 기능수가 어류에 미치는 영향에 초점을 두고 그 효과를 병리조직학적으로 조명한 것은 세계적으로 이번이 처음이다. 현재까지 어류 생리활성에 관한 대부분의 연구는 특정성분의 투여가 어류 비특이면역 인자와 혈액성상에 미치는 생화학적 영향에 집중하고 있으며, 기능수 연구 대상은 고등동물이 대부분이다.

본 연구에 사용된 기능수는 (주)대명바이오의 원적외선 활성수 (이하 기능수)로, 어류에 미치는 효과를 더욱 확실하게 확인하기 위하여 병증을 나타내는 어류를 대상으로 선정하였는데, 병어에서는 기능수의 영향이 정상 어류에 비해 더욱 확실하게 나타나기 때문이다. 조피볼락의 자연발생된 지방간증은 양식어에서는 흔하게 발견되는 질병중 하나로, 표적장기인 간장에 대한 육안적 및 병리조직학적 효과 확인이 용이하다는 이점이 있어 실험모델로 선정하였다. 생체에 미치는 원적외선 활성수의 효과가 과학적으로 증명된 예는 극히 드물다. 본 연구에서, 기능수의 사육을 통해 지방간의 개선 효과가 확인된다면, 원적외선 활성수의 생체에 대한 효과를 과학적으로 증명할 수 있을 것이다.

본 연구는 원적외선 활성수를 어류에 적용하여 그 영향을 병리조직학적으로 조명한 최초의 연구라는 학문적 의의와 함께 원적외선 활성수의 실용적 적용을 위한 밑받침으로써 그 중요성을 가진다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물의 확보 및 유지

실험어는 국내 대표적인 해수 양식어종인 조피볼락(*Sebastes schlegeli*) 총 130마리를 통영 소재 양어장으로부터 분양받아 실험실로 입식하였다. 입식당일 10마리를 무작위 선정한 뒤, 부검하여 육안 및 현미경적으로 모든 개체가 전형적인 지방간증을 나타내고 있음을 확인하였다. 실험어는 6.0~7.5cm, 6~8g의 범위에 속하였으며, 매일 1회 체중의 2%의 사료 (우럭사료, 천하제일)를 공급하면서 각 60마리씩 두 군으로 나누었다 (Table 1). 실험기간 동안 수온은 18~21°C로 유지시켰으며, 지속적인 폭기로 산소를 충분히 공급하였다 (DO: 6.7~7.6mg O<sub>2</sub>/mL). 환수는 1일 1회 100% 실시하였다.

### 2. 원적외선 활성수의 조제 및 적용

기능수 전문 제조업체인 (주)대명바이오 (울산광역시 남구 신정2동 1639-29 지우프라자 2층 212호, 대표이사 이병걸)로부터 제공받은 대형 기능수 장치 1기 (DMD-1004, DMbio Co., Korea)를 사용하여 사육용 원적외선 활성해수 (이하 기능해수)를 조제하였다. 한편 일반 정수장치를 통하여 일반 불순물만 제거한 여과해수를 대조사육수로 하였다.

기능해수 조제장치의 외형은 Fig. 1-1,2와 같으며, 내부적으로는 3개의 필터가 장착되어있다 (Fig. 1-3). 원수는 3차의 정수 및 기능화 필터를 거쳐 기능해수로 생성된다. 제 1차 필터는 대형의 물리적 불순물을 제거용이며, 2차 필터는 원적외선 방사필터이고, 제 3차 필터는 음이온발생 작용이다. 원수로는 광안리 앞바다에서 운반되어 저수조에 저장된 것을 사용하였다.

실험어는 기능해수 및 여과해수에 각각 60마리씩 수용하여 사육하였다.

원수, 여과해수 및 기능해수의 pH는 7~8 사이였으며, 서로간의 차이는 인정할 수 없었다.

### 3. 육안 및 병리조직학적 검사

#### (1) 임상 관찰

총 5주간의 실험기간 중 임상증상 관찰은 오전 및 오후로 1회씩 관찰하였으며, 오후의 관찰은 환수직전에 행하였다.

#### (2) 육안적 검사 및 생체량 측정

실험시작 1, 3 및 5주후 각각 20개체씩 Benzocaine (E1501, SIGMA, USA)으로 수중 마취후 부검하였다. 간장색조를 중점으로 한 내부장기의 육안적 소견을 관찰하였다. 좌측 복벽을 절개 제거함으로써 간장을 포함한 내부장기를 노출시켜 일정한 조건하에 디지털사진기 (COOLPIX 8400, Nikon, Japan)로 촬영하였다.

각 개체의 내장지방의 육안적 축적정도를 판정하여 상, 중, 하로 기록하였다 (Fig. 2).

미량저울 (ISO 9001, Sartorius AG., Germany)을 이용하여 체중과 간장 무게를 측정하였다. 체장은 표준체장을 측정하였다. 간장체중비중량 (Hepatosomatic index, HSI)은 아래와 같이 구하였다.

$$\text{간체중비중량}(\%) = \text{간장무게}(g) / \text{체중}(g) \times 100$$

### (3) 병리조직학적 검사

실험 1, 3 및 5주차에 실시한 부검에서, 전장기를 육안관찰 한 후, 일정한 부위의 조피볼락 비장, 신장, 위, 심장, 아가미, 피부, 근육 조직을 절취하여 부완액(Bouin's solution)에 1차 고정하였다. 24시간 후 동 고정액에 2차 고정을 실시하였다. 다시 24시간 후 수세하고, 70%에서 100% 순차농도 알코올에 탈수하였다. Xylene 투명화 및 파라핀 친화를 거쳐 파라핀포매 후, microtome (Reichert-jung 820, Leica, Germany)을 사용하여 약 4 $\mu$ m 두께의 박절편을 얻었다. 절편은 H&E 염색표본으로 제작한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 필요한 부분에 대하여는 디지털 사진촬영장치 (Polaroid DMC-3, Polaroid, USA)를 사용하여 사진을 얻었다.

간장 조직에 대해서는 2가지 검사를 실시하였다. 부완액에 고정한 뒤 다른 장기와 동일한 수순을 거쳐 H&E 염색표본을 제작하여 광학현미경으로 관찰하였다. 디지털 사진촬영장치 (Polaroid DMC-3, Polaroid, USA)를 사용하여 400배의 현미경사진을 얻었다. 이 사진에서 1000 $\mu$ m<sup>2</sup>당 존재하는 세포를 계수하여 간장비대지수 (Hepatohypertrophic index, HHI)를 구하였다.

$$\text{Hepatohypertrophic index (HHI)} = 1 / \log(n)$$

$$* n = 1000\mu\text{m}^2 \text{ 당 세포수}$$

필요시, 세포내 미세구조의 변화를 검사하기 위하여 각 개체마다 일정부위의 간조직을 채취하여 전자현미경 표본을 위한 3% glutaldehyde 용액에 고정하였다.

간세포내 함량성분의 조직학적 조사도 실시하였다. 실험 3주차부터는, 간세포내 지질과 다당류의 함량 조사를 위한 특수염색 절편을 제작하였다. 파라핀 절편에서는 두 성분 모두가 소실되므로 동결절편을 만들었다. 간조

직의 일부를 채취하여  $-22^{\circ}\text{C}$ 에서 동결한 뒤 cryostate를 사용해  $8\mu\text{m}$ 로 박절하였다. 박절편은 젤라틴 처리한 슬라이드에 첨부하였다. 절편에 PAS, Oil red O 염색을 한 뒤 광학현미경하에서 상을 보았다.

PAS (Periodic acid Schiff)는 세포질내 다당류의 함량을 확인하기 위해 실시하였다. 동결절편을 메탄올고정 후 몇분간 수세하였다. 1% periodic acid에 10분간 반응 시켜 다시 5분의 수세과정을 거쳤다. 수세를 끝낸 조직은 Schiff's 시약에서 30분간 정색반응 시켰다. 반응시킨 뒤 0.52% sodium bisulfate에서 3번씩 각 2분간 두었다. 10분의 수세 후, Harris hamatoxylin에서 3분간 핵을 염색하였다. 마지막으로 수세한 뒤 수용성 봉입제로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

지방적의 존재를 확인하는 Oil red O 염색은, 수세한 조직을 100% prophyllene glycol에 5분간 처리하여 완전탈수 시키는 것으로 시작한다. 탈수 후,  $60^{\circ}\text{C}$ 의 oil red o 용액에 15분간 염색하였다. 다음, 85% prophyllene glycol에 3분간 처리해 감별하고 여러번 수세한다. 핵 염색을 위해 Harris hamatoxylin에 2분간 반응시키고 유수에 수세하여 핵을 정화한다. 증류수로 여러번 수세하여 수용성 봉입제로 봉입한다. 특수염색 절편에서도, 필요한 부분에 대하여는 디지털 사진촬영장치 (Polaroid DMC-3, Polaroid, USA)를 사용하여 조직사진을 얻었다.

#### (4) 지방간의 판단

실험전, 조직소견에서 지방간증 정도 판단의 균일성을 위해 심도 (severe), 중등도 (moderate), 경미 (mild), 정상 (normal) 간장을 임의로 선정하였다. 실험기간 중 간장의 광학현미경적 소견은 위의 기준으로 판단하였다 (Fig. 2).

**Table 1. Numbers of fish in control, conventional sea water and functional sea water group**

Week	Conventional sea water group	Functional sea water group
Control	5	5
1	20	20
3	20	20
5	20	20

\* functional sea water group: far infrared ray activated sea water group

Fig. 1

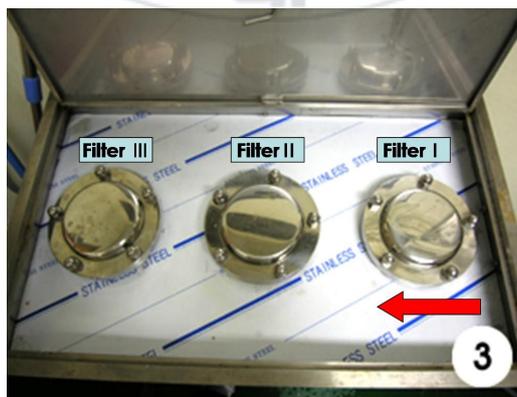
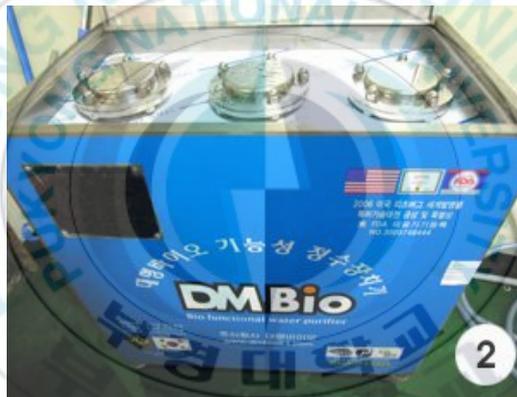


Fig. 1. Grossly aspect of DM bio functional water manufacture machine (DMD-1004).

Fig. 1-1. Side aspect of DMD-1004.

Fig. 1-2. Front aspect of DMD-1004.

Fig. 1-2. Inside of DMD-1004. Filter I, II and III was contained.  
Water flow from filter I to III (arrow).



Fig. 2

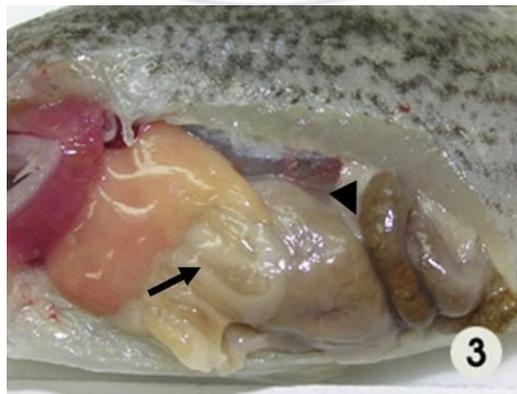
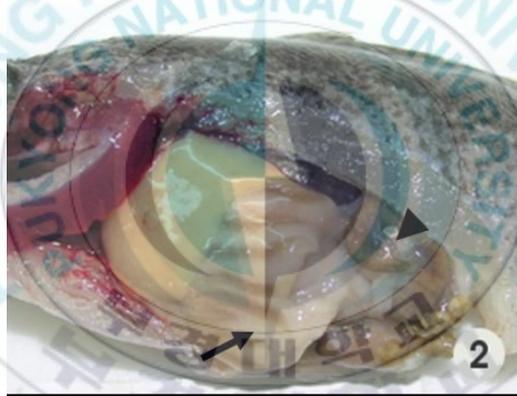
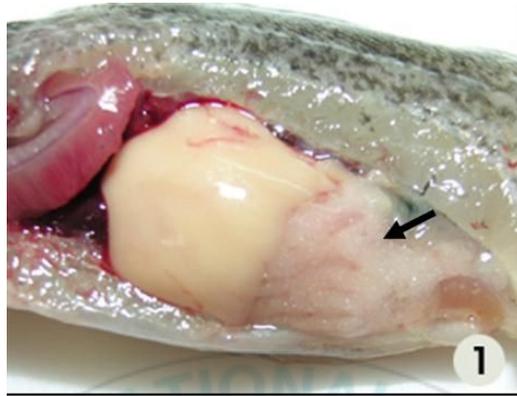


Fig. 2. Grossly grade of visceral fat

Fig. 2-1. Severe grade of visceral fat. Cause of visceral fat, it is very difficult to distinguish of each organ's boundary (arrow).

Fig. 2-2. Moderate grade of visceral fat. Amount of visceral fat is reduced than severe grade. But, fat still remained around of visceral organs (arrow). Can discriminate each organ's boundary, but not clear (arrow head).

Fig. 2-3. Mild grade of visceral fat. Easy to determinate the each organ's boundary (arrow head). Very little amount of visceral fat is observed (arrow).



Fig. 3

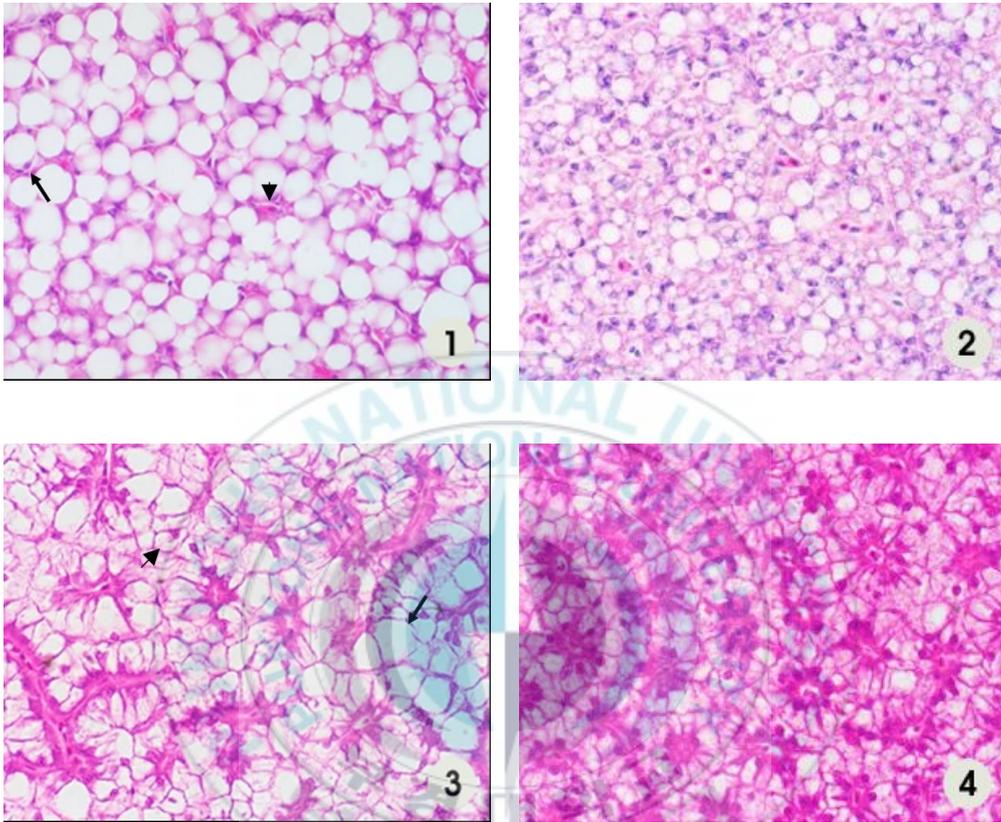


Fig. 3. Histological grade of fatty liver (H&E, ×400).

Fig. 3-1. Severe grade of fatty liver (H&E, ×400). Hepatocytes infiltrated remarkably with fatty droplets. Narrow and irregular sinusoids with vascular congestion (arrow head). The nuclei of hepatocytes are situated peripherally (arrow). Out line of hepatocyte is very rounding.

Fig. 3-2. Moderate grade of fatty liver (H&E, ×400). Hepatocytes infiltrated remarkably with fatty droplets. But size and number of fat droplets are reduced.

Fig. 3-3. Mild grade of fatty liver (H&E, ×400). Only a few fat droplets are observed (arrow). Most of hepatocytes get become normal size (arrow head). Out line of hepatocyte has many sides. Sinusoidal area is more extensive than severe and moderate grade.

Fig. 3-4. Normal grade of fatty liver (H&E, ×400). No more fat droplets in hepatocyte. The nuclei of hepatocytes are situated center. Sinusoids are classified very easy.

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 임상 관찰

실험기간 동안, 기능해수 사육군의 어류는 외부충격에 대해 비교적 안정되고, 행동적으로 활동적인 모습을 보였다. 급이시 어군전체가 급이자를 향해 늘어서고, 사료를 재촉하듯이 바라보는 등 먹이 인지도가 빨랐고, 비교적 온화한 성향으로 개체다툼없이 고루 먹이를 먹었다. 보통해수군의 어류는 외부자극에 날카로운 반응을 보였으며, 공격성향이 높아 개체 간 영역다툼이 심하였다. 급이시 일부 개체에 의한 먹이 독점이 빈번히 일어났다.

#### 2. 육안적 소견 및 생체량 측정결과

##### (1) 육안소견

###### ① 대조군

대조군의 간장 표면은 기름막을 입힌듯 윤기가 흘렀다. 간색조는 색조불균일을 보이는 개체가 많았다 (Table 4). 내장지방이 매우 많아, 개복시 각 장기간 영역구분이 어려웠다 (Table 5).

###### ② 실험 1주차

보통해수군의 간색조는 대부분 유백색을 나타내었다(Fig. 5-2, Table 3). 색조불균일을 보이는 개체가 기능해수군과 비교해 더 많았다 (Fig. 5-1, Table 3). 대조군에 비하면 다소 감소하였지만, 여전히 복강 내 내장지방의

양이 많았다 (Table 4).

기능해수군은 실험 1주차에 70% 이상의 개체가 연갈색의 간색조를 띄었다 (Fig. 5-3,4, Table 3). 간의 상태도 비교적 균일하여, 1개체만이 색조불균일 소견을 보였다. 내장지방의 경우, 20%가 매우 적은 지방을 갖고 있었지만, 전반적으로 보통해수군과 유의적인 차이는 없었다 (Table 4).

### ③ 실험 3주차

보통해수군의 간장은 연갈색과 유백색이 유사한 비율로 나타났다 (Fig. 6-2, Table 3). 30%의 개체가 색조불균일 소견을 나타내고 있었다 (Fig. 6-1). 간색조의 균일성에서는 1주차와 큰 차이가 나지 않았다. 대부분의 개체가 다량의 내장지방을 갖고 있었다 (Table 4).

기능해수군의 간장은 연갈색이 주를 이루었다 (Fig. 6-3,4, Table 3). 1주차의 연갈색과 비교했을 때, 조금 더 갈색에 가까운 짙은 연갈색이었다. 전체 중 15%의 색조불균일 개체가 있었고, 이는 보통해수군의 절반이다. 내장지방의 양은 보통해수군과 유의적 차이는 없었다 (Table 4).

### ④ 실험 5주차

5주차 두 군의 간색조는 더욱 확연한 차이가 났다. 보통해수군에서 유백색을 띄는 간장이 25%, 색조불균일 개체가 35%를 차지했다 (Table 3, Fig. 7-1,2).

반면, 기능해수군에서는 10%만이 유백색을 띄었다. 80%의 기능해수군 개체들이 연갈색 간색조를 나타내었다 (Table 3, Fig. 7-3,4). 1개체가 경미한 색조불균일 소견을 보였다.

보통해수군에서, 2개체를 제외한 나머지 모든 개체의 내장지방양이 매우 많았다 (Table 4). 기능해수군의 내장지방양은 3주차와 비교하여 다소 감소

하여, 내장지방이 적은 개체가 많아졌음을 알 수 있었다 (Table 4).

## (2) 생체량 측정결과

생체량 측정결과는 표에 명시하였다 (Table 2). 실험기간 중 실험어의 체중과 표준체장, 간무게는, 기능해수군에서 꾸준히 증가하였다. 모든 측정항목에서, 기능해수군의 표준편차는 보통해수군과 같거나 더 낮게 나타났지만, 두 군의 측정치 간에 유의차가 있다고 볼 수는 없었다.

## 3. 병리조직학적 소견

### (1) 대조군의 간장

심한 지방간 증상으로 광학현미경 관찰시 매우 밝게 나타났다. 각 간세포마다 큰 지방방울이 들어가있고, 세포의 가운데 있어야 할 핵이 가장자리로 밀려나가 있었다. 세포의 경계부가 둥글고, 세포하나의 크기가 매우 커져있었다. 커진 간세포에 압박되어, 간세포 사이의 모세혈관인 동모양혈관영역을 전혀 구분할 수 없었다 (Fig. 4-3,4). 간장의 비대지수는 2.102 ~ 3.346 범위로 심도의 지방간증을 보였다 (Table 5).

### (2) 실험 1주차

보통해수군 간세포내 지방방울의 수와 크기는 대조군과 큰 차이가 없다. 대다수 보통해수군의 간세포 내에 크고 작은 호산성봉입체가 쉽게 확인되었다 (Fig. 5-5,6). 봉입체는 세포 가장자리에 1개 또는 다수가 자리 잡고 있었다. 간장의 비대지수는 2.102 ~ 3.322로 심도의 지방간증 개체가 가장 많았다 (Table 5).

기능해수군 간세포내 지방적 수는 대조군과 크게 다르지 않았지만, 크기가 많이 줄어 있었다. 둥글고 매끈하던 세포의 테두리에 조금씩 각이 생기고 있었다. 핵은 여전히 세포가장자리에 위치하고 있었다. 전반적으로, 비대된 간세포 사이에 지방간세포가 섞여 있는 양상이었다. 동모양혈관영역도 확인할 수 있었다. 보통해수군과 비교했을 때 가장 큰 차이점은 세포질내의 붕입체였다. 한 두 개체를 제외하고, 기능해수군의 간세포 내에서는 붕입체가 확인되지 않았다. 붕입체가 확인된 개체에서도 붕입체의 수와 크기가 확연히 작았다 (Fig. 5-7,8). 간장의 비대지수는, 정상범위인 1.286 ~ 1.661의 범위에 속한 개체가 30%였다. 그 외의 대부분은 1.664 ~ 2.096의 범위로 정상수치에 가까워져있었다 (Table 5).

### (3) 실험 3주차

보통해수군의 간세포에서 지방방울의 크기가 다소 줄었다. 지방이 조금 줄면서 비대된 모습과 심한 지방간세포의 모습이 섞여서 나타났다. 동모양혈관영역도 조금씩 확인할 수 있었다. 붕입체는 거의 사라졌지만, 일부 개체에서는 소량으로 여전히 나타났다 (Fig. 6-5,6). 80%의 개체가 3.346이상의 간비대지수로 심도의 지방간증 개체였다 (Table 5).

기능해수군은 1주차보다 지방방울이 더욱 줄어, 지방간이라기보다는 비대에 가까운 양상이었다. 세포의 가장자리는 둥글지 않고, 다각형의 정상간세포 형태로 변하고 있었다. 일부 세포에서는 핵도 조금씩 세포 중심부로 이동하고 있었다 (Fig. 6-7,8). 간장의 비대지수 범위는 1.664 ~ 3.322로 경미 또는 중등도의 지방간증을 보였고, 정상간장인 1.432 ~ 1.661의 범위에 속하는 개체도 확인되었다 (Table 5).

#### (4) 실험 5주차

보통해수균 간세포내 지방방울의 수와 크기가 많이 줄어들었다. 테두리가 둥근 간세포의 수가 줄고 비대되거나 정상소견을 보이는 간세포가 늘어났다. 기능해수균과 비교해, 현미경하에서 매우 밝게 보였다. 지방적이 감소로 세포의 크기가 정상에 가까워졌지만, 핵의 위치는 여전히 가측으로 밀려나 있었다. 동모양혈관의 관찰이 용이하였다(Fig. 7-5,6). 간비대지수는 대부분 2.102 ~ 3.322로 중등도의 지방간증을 보였다 (Table 5).

기능해수균의 간세포는 대부분이 정상소견을 나타내고 있었다. 동모양혈관을 따라 다각형의 세포가 규칙적으로 배열되어 있었다. 세포질은 호산성으로 중심부에 핵이 있었다. 지방간소견을 보이는 세포는 없었으며, 경미비대세포만이 국소적으로 관찰되었다. 세포 크기가 매우 균일해졌고 (Fig. 7-7,8), 대다수 간장의 비대지수는 1.664 ~ 2.096으로 정상간장의 범위였다 (Table 5).

#### (5) 간장의 특수염색 소견

3주차, oil red o로 염색한 보통해수균의 간장에서는 선명한 오렌지색으로 염색된 둥근 부분을 관찰할 수 있었다 (Fig. 8-1,5). 기능해수균에 비해 오렌지색 부분은 더 넓고 많았다 (Fig. 8-1,5,3,7). 대조를 위해 동일부위를 동결절편으로 제작하여 H&E 염색을 한 표본에서, oil red o 염색시에 나타난 오렌지색 영역은 염색이 되지 않았다 (Fig. 8-2,6,4,8). 기능해수균에서 오렌지색 영역은 크기가 작고 적은 수였다. H&E 염색 표본에서도 염색되지 않은 빈 공간의 넓이와 숫자는 보통해수균보다 현저히 작았다 (Fig. 8-3,4,7,8). 5주차 결과도 3주차와 동일하였다.

PAS 염색 결과, 3주차와 5주차 모두에서 보통해수균에서는 염색되지 않고 빈공간으로 보이는 부분이 대부분이었다 (Fig. 8-9,11). 이 영역은 oil

red o에서 오렌지색으로 염색된 부분으로, 테두리가 둥글고 매끈하였다. 보통해수군에서는 빈공간의 가장자리에 붉게 PAS 양성 염색되는 부분이 소량 존재하였다. 기능해수군에서, 빈공간은 보통해수군 보다 적게 나타났고, 빈공간의 가장자리와 안쪽에 PAS 양성 염색부가 있었다 (Fig. 8-10,12).

#### (6) 간장 외 기타장기

아가미와 심장에서 특징적인 변화가 확인되었다. 대조군의 아가미 1차새변 상피내에 호염기성의 기생충이 확인되었다 (Fig. 9-1). 실험 1주차, 보통해수군과 기능해수군의 아가미에서는 트리코디나충이 확인되었다. 대조군에서 나타난 상피내 cyst와 같은 기생충도 있었지만, 대부분 보통해수군에서 발견되었고 기능해수군에서는 거의 확인할 수 없었다 (Fig. 9-2,3). 3주차, 보통해수군 2차 새변 사이에서 1주차보다 더 많아진 트리코디나충을 볼 수 있었다 (Fig. 9-4). 이시기에는 대조군에서 확인된 상피내 기생충과 트리코디나충이 복합적으로 나타났다. 대조적으로, 기능해수군에서는 트리코디나충이 없거나 아주 경미하게 존재했다 (Fig. 9-5). 5주차 보통해수군 아가미의 트리코디나충은 다소 감소했으나, 상피내 기생충은 더 늘어나 있었다 (Fig. 9-6). 기능해수군 아가미에서도 트리코디나충의 수는 감소하였고, 상피내 호염기성의 기생충은 확인할 수 없었다 (Fig. 9-7).

대조군의 심장은 심실, 심방, 동맥구에서 심외막염 소견이 확인되었다. 호염기성의 염증부위가 두꺼운 띠처럼 심장을 둘러싸고 있었다 (Fig. 10-1). 보통해수군의 경우 실험 3주차에 가장 심한 심외막염이 나타났고 (Fig. 10-4), 이후로는 조금씩 줄어들었다. 기능해수군의 경우, 대조군에서 심도로 나타난 심외막염이 1주차부터 경미하거나 나타나지 않았다 (Fig. 10-3). 보통해수군의 심외막염이 전반적으로 분포한 반면, 기능해수군의 심외막염은 국소적으로 경미하게 나타났다 (Fig. 10).

신장에서는 신세뇨관의 관강내에 존재하는 기생충을 확인할 수 있었다. 이는 대조군을 포함한 전 개체에서 확인된 소견으로, 실험기간중 수의 변화나 실험군별 차이는 확인되지 않았다. 신장에서, 관강내 기생충외 나머지는 정상소견이었다 (Fig. 12).

비장, 위장, 피부 및 근육 조직의 병리조직학적 소견은 모두 정상이었다. 실험기간동안, 세 군 모두에서 눈에 띄는 변화는 없었다 (Fig. 11, 13, 14).



**Table 2. Change of body weight (BW), body length (BL), liver weight (LW), and Hepatosomatic index (HSI) in each experimental groups**

Week	Conventional sea water group				Functional sea water group			
	BW(g)	BL(cm)	LW(g)	HSI(%)	BW(g)	BL(cm)	LW(g)	HSI(%)
Control	7.46±1.24	6.4±0.5	0.22±0.06	2.90±0.61				
1	8.20±1.65	6.7±0.4	0.23±0.05	2.88±0.60	8.83±1.43	6.7±0.39	0.22±0.05	2.54±0.38
3	9.87±2.14	7.0±0.5	0.36±0.07	3.74±0.63	10.30±1.88	7.0±0.5	0.33±0.06	3.14±0.53
5	10.53±3.43	6.7±0.8	0.34±0.15	3.37±1.16	12.79±3.02	7.5±0.63	0.36±0.06	2.95±0.8

\* functional sea water group: far infrared ray activated sea water group

**Table 3. Grossly color of liver in each experimental groups**

Week	Conventional sea water group			Functional sea water group		
	Milky white color(%)	Lightly brown color(%)	Uneven surface color(%)	Milky white color(%)	Lightly brown color(%)	Uneven surface color(%)
Control	30	20	50			
1	50	20	30	20	75	5
3	40	30	30	30	55	15
5	25	40	35	10	85	5

\* functional sea water group: far infrared ray activated sea water group

**Table 4. Visceral fat distribution in each experimental groups**

Week	Conventional sea water group			Functional sea water group		
	High(%)	Middle(%)	Low(%)	High(%)	Middle(%)	Low(%)
Control	50	30	20			
1	35	50	10	35	35	20
3	75	20	5	70	25	5
5	90	5	5	50	30	20

\* functional sea water group: far infrared ray activated sea water group

**Table 5. Hepatohypertrophic index (HHI) of each experimental groups**

Week	Conventional sea water group			Functional sea water group		
	1,286~ 1,431 (%)	1,664~ 2,096 (%)	2,102~ 3,322 (%)	1,286~ 1,431 (%)	1,664~ 2,096 (%)	2,102~ 3,322 (%)
Control						
1	5	10	15	10	20	30
3			20		5	50
5		15	60	25	45	30

\* functional sea water group : far infrared ray activated sea water group

## IV. 고 찰

본 실험에서는 양식어류에서 흔히 발생하는 지방간증에 미치는, (주)대명 바이오의 원적외선 활성수 사육의 영향을 병리조직학적으로 확인하고자 하였다.

물에 특수한 처리를 하여 특정한 기능을 가지게 된 활성수를 기능수라 한다 (조, 1999). 현재, (재)기능수연구단체가 있는 일본과 미국의 생리학회 등 세계 곳곳에서 기능수의 효능과 이용에 관한 연구가 진행되고 있다. 원적외선 활성수는 기능수의 한 종류로 원적외선이 방사되는 특수한 정수단계를 통해 생성된 물이다. 보통 태양광선 중 3~1000 $\mu$ m 사이의 파장영역을 원적외선 영역이라고 하고, 그 중 생체에 흡수되어 생육에 양성적으로 영향을 미치는 것으로 알려져 있는 4~14 $\mu$ m대의 파장영역을 원적외선이라고 한다 (지, 2001; Niwa, 1997). 원적외선은 육성광선이라고도 부르는데, 이는 원적외선이 다른 반사광이나 투과광선과는 달리 생물에 잘 흡수되어 성장 촉진 작용을 하기 때문이다. 또한, 미세혈관 확장, 조직활성화, 신진대사촉진, 혈액순환촉진 및 노폐물의 체외 배출촉진과 같은 생리활성 효과를 나타내며, 물을 활성화시킨다고 알려져 있다 (지, 2001; Niwa, 1992).

물과 물분자, 그리고 그 화학구조에 대하여는 잘 알려져 있으며 물의 생리생화학적 기능에 대하여도 잘 알려져 있다. 하지만 건강에 대한 물자체의 기여도 및 역할에 대하여는 잘 알려져 있지 않다. 그러나 이란계 미국 의학자인 Batmanghelidj는 만성탈수와 질병간 관계의 중요성에 대하여 역술하고 있다 (Batmanghelidj, ).

물분자는 포도의 줄기의 포도송이와 같이 50 ~ 60개가 합쳐서 중합형태로 존재하고 있는데, 이를 클러스터 (cluster : 덩어리)라 부르며 이 클러스

터의 크기는 기계로 측정이 가능하다 (장, 2002). 원적외선 활성수 제조시, 물분자는 원적외선에 의해 여기·진동되어 복잡한 결합사슬이 끊어진다. 물의 결합이 끊어질 때, 물분자 사이에 들어있던 산성 기체가 공기중으로 날아가 물이 청정해지며, 클러스터가 작아져 부피가 작고 비중이 큰 물이 된다 (Niwa Yukie, 1992). 이 물은 세포표면의 부착이 쉬워 세포의 장력 유지 및 세포내 침투력이 뛰어나고, 세포내로 들어갈 때  $Ca^{2+}$ 가 함께 들어가 세포를 활성화시킨다고 알려져 있다 (Niwa, 1992; Dombrowski, 2007). 또한 생체 내 완충액의 기능을 증가시켜서 생체대사를 지속적으로 유지시키며, 산화환원력이 높아 유리라디칼 (Free radical)이 감소한다 (장, 2002).

현재까지, 물의 클러스터가 작다는 것을 측정할 수 있는 정량방법은 많지 않다. 그러나 물의 클러스터를 정량하는 방법으로  $^{17}O$  핵자기 공명 (NMR ; Nuclear magnetic resonance)의 선폭을 측정하는 방법과 산화환원력을 측정하는 ORP (산화환원전위) 방법이 가장 많이 사용되고 있다 (Niwa, 1992; 장, 2002). 클러스터가 작고, 산화환원력이 높아 생리활성을 나타내는 물은  $^{17}O$  NMR의 선폭이 작고, ORP 값이 크다고 알려져 있다 (Niwa, 1992; 장, 2002).

본 연구에 적용된 원적외선 활성수(이하 기능수) 제조기는 (주)대명바이오 (DMbio Co., Korea)로부터 제공받아 사용하였다. (주)대명바이오는 1998년 6월에 개발완료된 이후 제조된 물 공급으로 사람에게 대하여 임상체험실험을 실시하고, 음식물조리, 신선도 및 안전성에 대한 영향을 조사하는 동시에 음이온발생, 육성광선 방출실험 등을 수행해 왔다. 또한, 본 실험실에서 각종 동물에대한 예비 임상실험을 병리학적 수법을 사용하여 실시해왔다. 그 결과 랫트, 돼지, 닭 및 소에 대하여 간장을 중심으로 한 각종장기 및 조직의 상태개선이 육안 및 조직학적으로 확인되었다.

본 연구에서는, 심한 지방간증을 보이는 양식 조피볼락을 기능수가 생체

에 미치는 효과를 검증하기 위한 하나의 질병모델로 선택하였다. 지방간이란 간세포내 중성지방이 축적되는 것으로 원인은 다양하다. 일반적으로, 독성물질, 만성 대사성 질환, 만성 저산소증, 지속적 고지혈증 등에 의해 간손상이 일어나 간기능장애가 오면, 지질대사 경로가 방해받아 지방간증이 나타난다. 본 조피볼락에서의 지방간증은 사료기인성으로 보이나 여기에서 지방간의 발생기전 보다는 이미 생긴 지방간증에 대한 기능수의 세포활성 영향을 평가하기 위하여 검토하고자 하였다. 지방간의 육안소견은 간이 크고, 밝은 색조를 나타낸다. 간장중대로 간엽의 모서리가 날카롭지 않고 뭉툭하다. 간표면에 기름막을 입힌 듯 윤기가 흐른다. 현미경적으로, 무수한 지방방울이 세포질내에서 확인된다. 대형의 지방방울이 세포질에 가득하여 핵이 가장자리로 밀려나 있어 확인이 잘 안되는 경우가 많다. 간세포와 동양혈관의 간세포색 (hepatic cord) 구조가 뒤틀려 있을 뿐아니라, 간세포질내 지방적이 가득차 있어 간세포색간 혈관의 관찰이 거의 되지않는다. 또한 간세포와 동양혈관의 사이 공간인 Disse space도 거의 없거나 압박되어 있다. H&E 염색 시 염색성이 없는 둥근 지방적 영역이 대부분을 차지하기 때문에 매우 밝게 보인다. 특수염색에서도 지방이 대부분으로 글리코젠은 거의 없는 상태이다.

가역적 변성의 하나인 지방간은 원인제거로 지방대사 경로가 정상화되면 정상적 간상태로 개선될 수 있다. 본 연구에서는 실험기간 중 기능해수군에서 지방간증의 개선을 보여주는 여러 가지 지표가 확인되었다.

첫째, 기능해수군의 HSI 수치는 3주차에 다소 증가하였다가 5주차에는 감소하였다. 일반적인 지방간의 육안관찰 시, 정상보다 크고 무거운 간을 확인할 수 있다 (진, 2006). 간내 지방의 증가시에 간 무게와 HSI 수치는 유의적으로 증가한다 (Jobling et al, 1988; D A Nanton et al, 2001; 김, 1999). 본 연구의 모든 실험군에서 어류의 일반적 HSI치인 1.5~2.0(%)를 다

소 윗도는 HSI 수치가 측정되었지만 (백 등, 2000), 기능해수군에서는 HSI가 점차 작아진 것으로 보아 간내 지방이 감소하고 있음을 알 수 있었다.

둘째, 실험기간 중 대부분의 기능해수군 개체가 연갈색조의 간을 나타냈고, 색조불균일 개체가 현저히 줄어들었다. 간장의 색조는 간내 함량물과 혈액량에 영향을 받는 것으로 보인다. 어류의 정상 간장은 적갈색을 보이는데 (Ostrander, 2000), 간장이 동모양혈관 구조로 되어 있어 혈액의 보유 능력이 크기 때문이다 (박 등, 1998). 동모양혈관은 간세포와 인접해있는 모세혈관으로 간세포와의 물질교환을 담당하는 장소이다 (Ballet, 1990). 지방간증시, 간장내미세순환에 손상을 입기 때문에 동모양혈관의 찌그러짐, 폐쇄, 울혈이 일어나 심한 색조불균일성을 더욱 다양하게 한다 (Hakamada et al, 1997; Caraceni et al, 1999; Shiraiishi et al, 1993; Sato et al, 1986; Teramoto et al, 1993).

한편, 지방간증에서 간색조는 간세포내 지질함량에 따라서도 달라진다 (Jones et al, 1997). 야생어류와 달리, 대다수 양식 어류의 간색조는 연갈색 또는 유백색인데, 이 부위를 현미경으로 확인한 결과, 간세포내에 다수의 지방적을 함유하고 있었다 (강, 2003). 간의 혈관 발달이 잘 된 상태에서는 전반적으로 갈색을 나타내지만 그렇지 않은 상태가 되면 울혈과 세포내 함유물의 정체로 국소적 또는 전반적인 색변화가 일어나는 것이다. 대조군의 동양혈관 (sinusoid) 영역은 실험기간 내내 확인이 어려웠다. 기능해수군에서는 실험 1주차부터 동양혈관 영역의 확인이 가능했다. 이는 기능해수에 의한 지방간세포의 기능활성화에 따른 세포용적·크기감소에 따른 현상일 수 있다. 게다가 간세포와 혈관사이의 산소를 중심으로한 물질교환이 활발해져 지방간증 완화의 진행속도는 더욱 빨라질 수 있었던 것으로 보인다. 보통해수군에서도 지방간소견이 다소 완화되고 있었는데, 양어장에서 반복 섭이를 하다가 실험조건에서 반복의 70~80%로 소량 급이하였기 때문에 자

연적인 지방간세포 용적감소에 따른 혈류개선과 함께 동반하는 자연치유과정을 거치는 것으로 보인다. 영양은 지방간과 매우 밀접한 관련이 있으며, 공급량과 내용에 따라 지방간증이 심화되기도 하고 개선되기도 한다 (Matthwe et al, 2007; 송 등, 2003). 그러나 실험 마지막 부검일인 5주차 까지도 울혈에 의한 색조불균일 소견이 경미하게 남아 있는 개체가 많은 것으로 보아, 보통해수군에서 지방간 소견이 기능해수군에 비해 개선이 지연적임을 알 수 있다.

셋째, 기능해수군 간세포내 지방방울의 수, 크기 감소 및 핵의 세포중앙부 이동도 지방간증 개선소견 중 하나다. 지방적의 크기는 세포내 축적된 지방의 양을 의미하고 크기가 작아진 것은, 세포내 지방대사 작용에 의해 간세포내 지방이 세포밖 혈액내로 방출되었음을 말한다. 지방적의 수적인 감소는, 지방간증을 보이는 간세포의 수가 줄어들음을 의미한다. 심한 지방간세포의 경우 세포윤곽이 둥글어, 세포 자체가 하나의 지방방울처럼 보이는 macrovesicular steatosis 상태이기 때문이다 (Ijaz e al, 2003). 실험기간 중 기능해수군의 지방방울이 더 신속하게 감소하였는데, 실험군 간 지방감소 차이는 특수염색에서 명확하게 확인할 수 있었다. Oil red O 양성염색부가 줄고, PAS 양성 염색부가 늘어나는 소견으로보아 기능해수군의 간세포질 내에는 지방이 줄면서 당류의 비율이 높아지고 있는 것으로 보인다.

지방방울의 수 및 크기감소와 함께, 기능해수군에서는 3주차부터 핵의 세포 중앙부로의 이동상이 관찰되기 시작하여 5주차에는 대부분 세포 중앙부로 돌아왔다. 반면, 보통해수군의 핵은 5주차까지도 세포가장자리로부터 위치이동이 확인되지 않았다. 이와 같은 소견은 세포질영역의 지방방울이 좀처럼 제거되지 않고 있다는 것을 의미한다. 이는 특수염색에서의 세포내 지방의 동태를 파악함으로써 더욱 분명히 할 수 있었다.

넷째, 기능해수군에서 폐색된 동양혈관영역이 확보되고, 울혈소견의 회복

이 명확하게 나타났다. 기능해수군에서는 3주차부터 동양혈관 영역이 매우 뚜렷하게 확인되었다. 울혈소견의 완화내지 제거는 동양혈관 영역의 확보에 따른 2차적인 현상으로 보는것이 타당하다.

다섯째, 기능해수군 간세포내에는 초자성의 봉입체가 매우 적거나 확인되지 않았다. 이는 간세포대사의 활성증가 상태를 뒷받침하는 매우 중요한 조직학적 증거가 될 수 있다. 초자성 봉입체 (hyaline droplet)는 단백질 물질이 endocytosis에 의해 과잉흡수 되거나 대사 및 제거단계에서의 문제로 인해 세포질내에 축적된 것으로 호산성의 방울형태로 나타나는 2차용해소체의 형태이다 (박, 2003). 지방산은 무과립형질내세망 (smooth endoplasmic reticulum, sER)에서 중성지방으로 형성되고, 과립형질내세망 (rough endoplasmic reticulum, rER)에서 나온 아포단백 (apoprotein)과 결합한 뒤, 지질단백 형태가 되어 세포밖으로 방출된다 (박, 2003). 지방간증에서 과도한 중성지방의 유입량에 비해 rER이 아포단백을 형성하는 능력은 정상시와 동일하기에, 잉여분의 중성지방이 지속 축적된다. 심도의 지방간증으로 세포골격에 혼란이 오면, 세포내 소기관인 rER과 sER의 대사가 마비되어 지단백의 형성과 분비도 일어나지 않는다 (정, 2003). 때문에 지단백으로 형성되지 못한 단백질 과립이 rER내에 과잉 축적되고, 광학현미경하에서 초자성 봉입체로 확인될 수 있다 (박, 2003).

또한, 세포질내 잉여 단백질과 기타 구성성분은 sER 막에 둘러싸여 자가포식소포 (autophagosome)가 된 후, secondary lysosome과 융합하여 소화된다 (Ross et al, 2004). Lysosome은 세포내 1차적인 제거·재생 기관으로 아미노산, 지방산, 당 등 세포내·외적으로 생산된 거대분자를 가수분해하여 대사하며, lysosome에 의한 가수분해는 높은 활성을 보이는 세포에서 더 활발하다 (Jones et al, 1997). Lysosome의 활성시에는 물질의 축적대신 세포외로의 수송과 세포내 소화가 활성화되어 세포내 inclusion이 생성되지

않는다.

본 연구의 1, 3주차 보통해수군에서 크고 강한 호산성을 보이는 초자성 붕입체가 나타나는 반면, 기능해수군에서는 1주차부터 붕입체의 출현이 거의 없다. 이는 rER, sER 및 secondary lysosome의 활성화에 의한 것으로 생각된다. rER과 sER의 활성화에 의해 지질단백의 합성과 분비가 증가하여 세포내 축적된 지방이 감소하고, secondary lysosome의 활성화로 과잉단백의 제거도가 높아졌을 것이다. 기능수에 의하여 일어나는 상세한 세포활성기전에 대하여는 많은 연구가 필요하지만, 원적외선의 생체세포에 대한 활성화는 세포전체적인 수준에서 일어날 것으로 예상되며, 지방량 감소나 붕입체의 세포내 행동특성은 이를 반증하는 중요한 형태학적 자료가 될 수 있다.

여섯 째, 간비대지수의 측면에서 기능해수군의 지방간증은 노출 1주차에 개선되기 시작되어 5주차에 정상화 단계로 진행되었다. 정상 간장의 간비대지수는 1.286 ~ 1.661 범위이다. 본 실험에서 간비대지수는 1.286 ~ 3.346 사이의 분포를 나타내었고, 조직소견에 나타난 지방적의 크기 및 수와 비교했을 때, 3.346 범위에 속한 개체는 심도의 지방간증을 나타내고 있었다. 2.102 ~ 3.322 범위는 중등도의 지방간증, 1.664 ~ 2.096 범위는 경미한 지방간증 그리고 1.286 ~ 1.661 범위에 속한 개체는 정상적인 간상태를 보이고 있었다. 1주차, 기능해수군의 개체는 경미 지방간증 개체가 가장 많았고 정상 간장 개체가 30%로, 0%인 보통해수군에 비해 지방간의 개선효과가 빠르고 강력하게 나타났다. 3주차, 두 군 모두에서 지방간증의 회복이 다소 주춤한 듯 보이나 기능해수군에서는 보통해수군에서 단 한 예도 관찰되지 않은 정상간장 개체가 확인되는 것으로 보아 지방간증의 회복이 경미하나마 지속되고 있는 것으로 보였다. 5주차, 활성화해수군은 경미한 지방간 개체나 정상 간소견의 개체가 전체의 60%를 차지하였고, 심도의 지방간증은 단 한 예도 확인되지 않았다. 반면, 보통해수군에서는 정상소견 개체를 전혀

확인할 수 없었고, 대부분 중등도나 심도의 지방간 소견 범위에 있었다.

이상의 소견을 통해, 활성해수군의 지방간증이 보통해수군에 비해 빠르고 강력하게 회복되고 있음을 알 수 있다. 기능해수는 어류 간장대사에 생리적 활성을 일으켜, 세포내 지방과 기타 축적 물질의 대사를 촉진하고 세포와 주변 조직의 상태를 정상화 시키는 것으로 나타났다.

본 연구에서 기능해수가 어류의 지방간증에 미치는 영향에 관하여 초점을 맞추었지만, 간장의 육안 및 조직소견 외 기타 장기의 조직에도 영향을 미쳤을 것으로 충분히 예상된다. 또한 임상소견에 있어서도 매우 좋은 결과가 인정되어 안정된 유행과 행동상을 보였다. 기능해수군의 아가미에서 기생충의 부착량이 적었고, 양식 조피볼락에서 항상 확인되는 심외막염이 보통해수사육군에 비하여 회복 내지 경미하게 나타났다.

본 연구의 모든 결과를 종합해볼 때, 원적외선 활성수는 양식 조피볼락의 자연발생 지방간증의 회복 또는 정상화에 큰 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

## V. 요약

본 연구는 고등동물에서 생체활성을 통해 건강개선 효과를 나타내는 원적외선 활성수(이하 기능수)가 어류에 미치는 영향을 과학적으로 증명하고자 실시하였다. 어류에서는 비특이적 방어 체계가 주를 이루는데, 이는 어류의 기본건강과 연관하여 그 효력이 강해지거나 약해진다. 본 연구에서는 기능수가 어류생체에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 자연발생된 지방간증을 보이는 양식 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)을 질병모델로 하여 기능수에서의 사육시 나타나는 영향을 집중 조명하였다. 기능수를 사육수로하여 5주 동안 조피볼락을 사육하며 임상증상을 관찰하였다. 실험기간 중 1주, 3주, 5주차에 실험어를 부검하여 간장을 중점적으로 육안적 및 병리조직학적 변화를 관찰하였다. 실험결과, 기능수의 적용을 통해 어류의 지방간증이 정상에 가깝게 개선되었으며, 아가미 및 심장과 같은 기타장기의 상태개선과 임상적으로 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 통해 원적외선 활성수가 어류간장의 지방간증을 개선하고, 어체를 건강하게 만드는 생리활성 작용을 한다는 결론을 얻었다.

## VI. 결과그림 및 그림설명

Fig. 4.

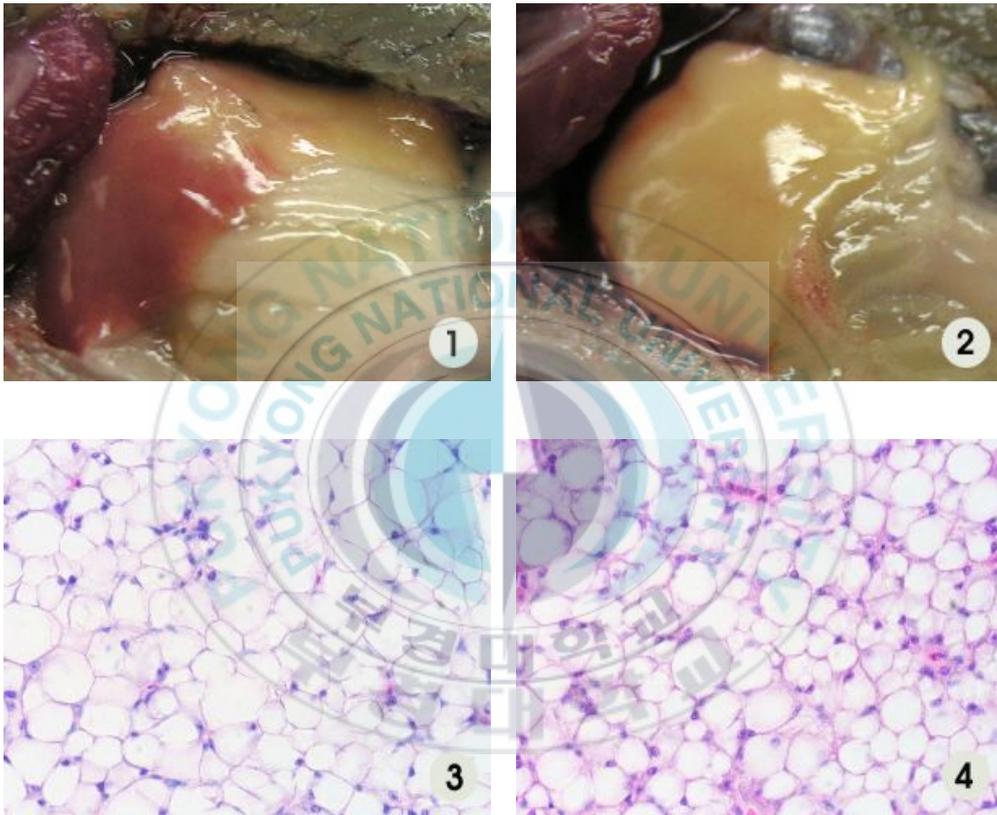


Fig. 4. Gross and microscopic findings of rockfish liver in control group.

Fig. 4-1. Gross finding of rockfish liver in control group. Liver shows severely uneven surface coloration due to congested and fatty parts.

Fig. 4-2. Gross finding of rockfish liver in control group. Liver shows milky white color.

Fig. 4-3,4. Microscopic finding of rockfish liver in control group. Hepatic parenchyma is severely vacuolated with intracellular large fat globules. It is very difficult to differentiate the boundary among hepatic cells. Nuclei of the cells are dislocated eccentrically. H&E, X400.

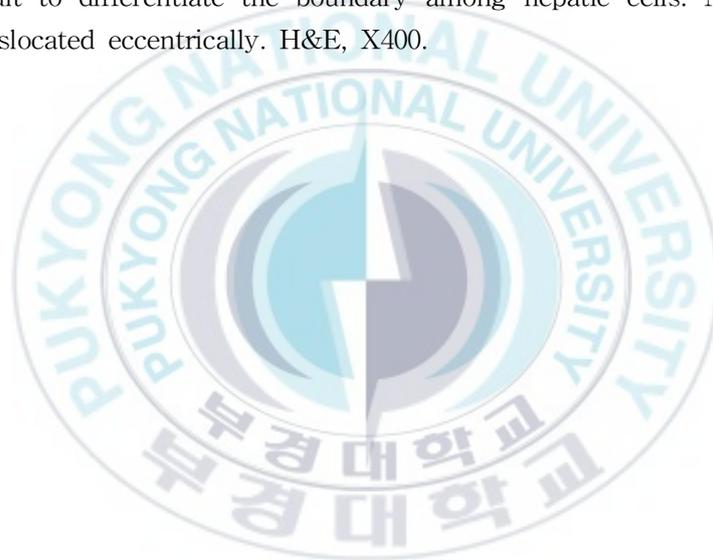
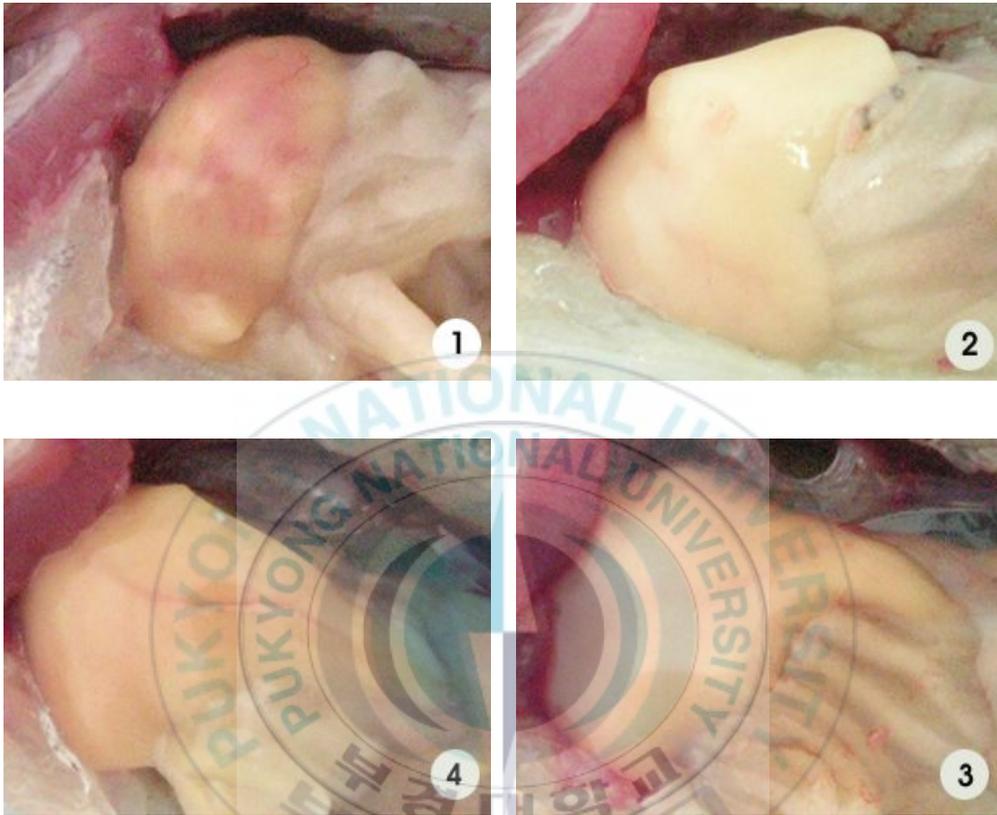


Fig. 5.



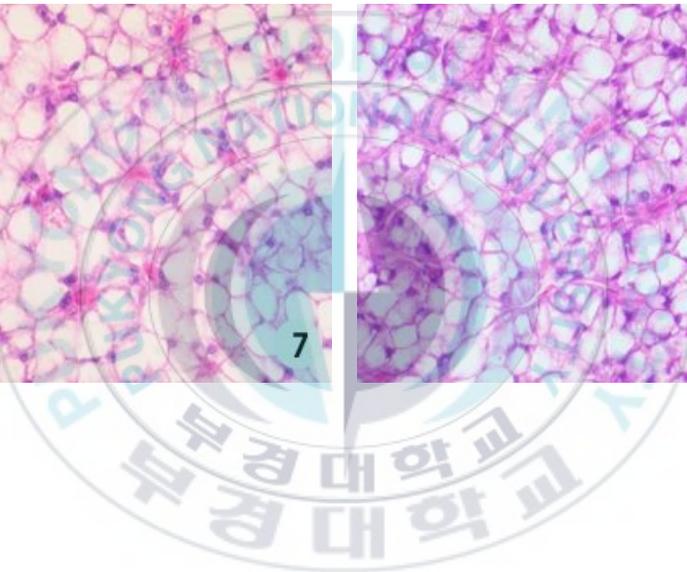
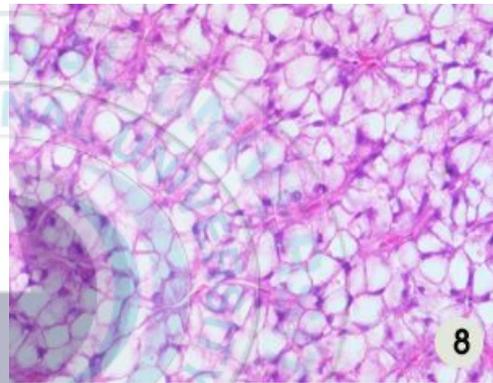
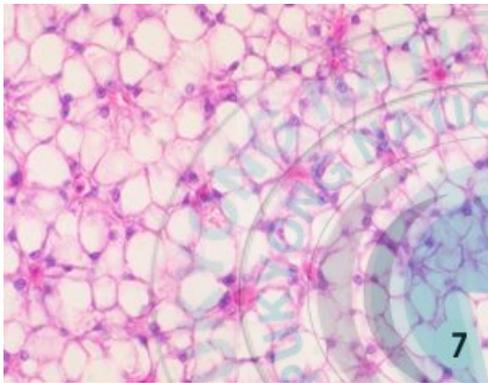
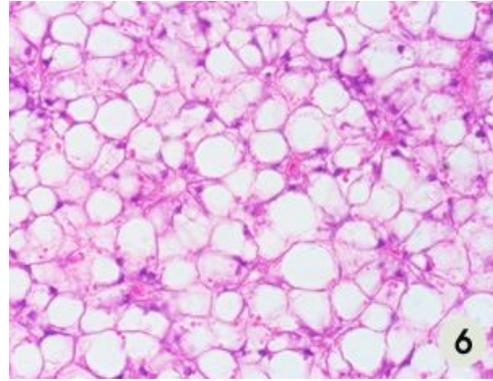
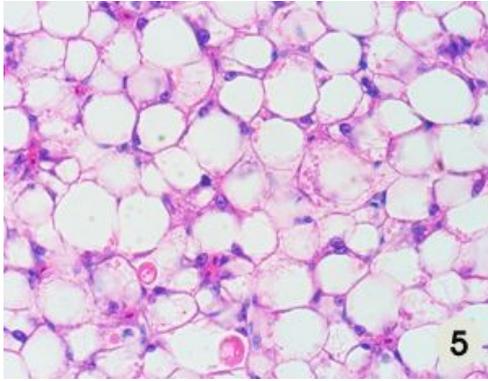


Fig. 5. Gross and microscopic findings of rockfish liver one week after rearing.

Fig. 5-1. Gross finding of rockfish liver in conventional sea water group. Liver shows uneven surface coloration due to severely fatty parts. Milky white area is part of fatty change and lightly brown area normal part. Reddish area is congested area.

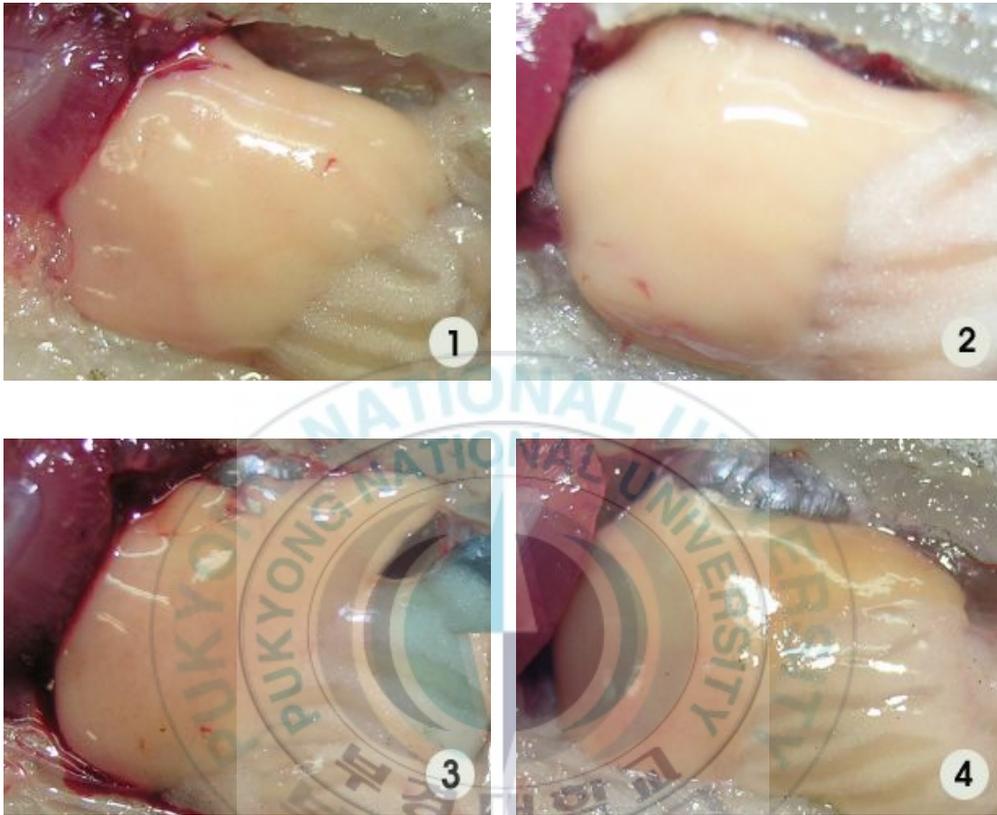
Fig. 5-2. Gross finding of rockfish liver in conventional sea water group. Liver shows milky white coloration, strongly.

Fig. 5-3,4. Gross finding of rockfish liver one week after rearing in functional sea water group. Liver shows nearly homogeneous coloration with minimal white milky area suggesting the area of fatty change. It looks almost lightly brown color.

Fig. 5-5,6. Microscopic finding of rockfish liver one week after rearing in conventional sea water group. Most of cells has large size inclusion in endoplasmic area. Inclusion is eosinophilic and granular. Sinusoidal capillaries cannot be easily differentiated. Nuclei of the cells are dislocated eccentrically. H&E, X400.

Fig. 5-7,8. Microscopic finding of rockfish liver one week after rearing in functional sea water group. The level of fatty change is little relieved. Size of fat globules decreased significantly. Sinusoidal area is easily differentiated. H&E, X400.

Fig. 6.



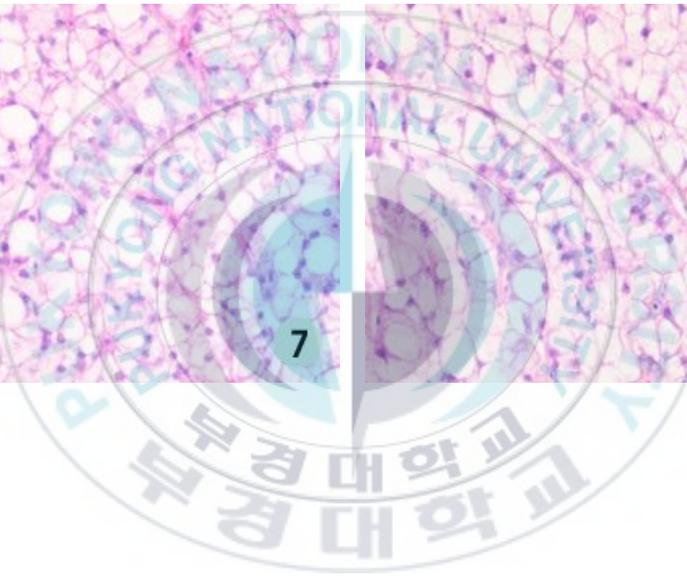
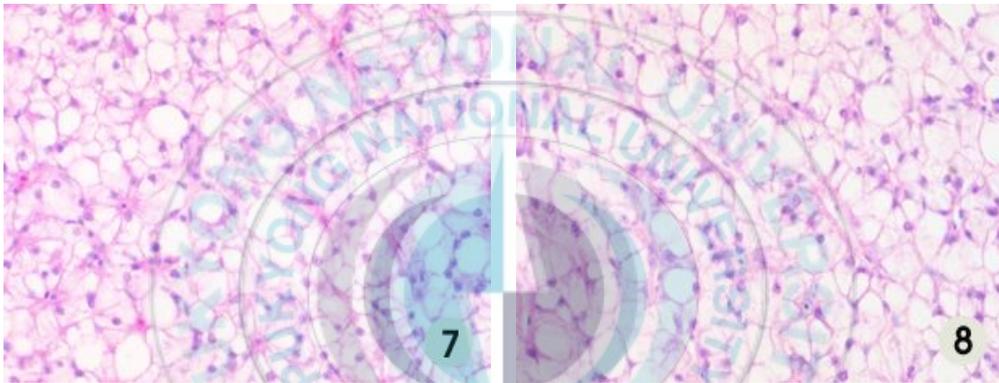
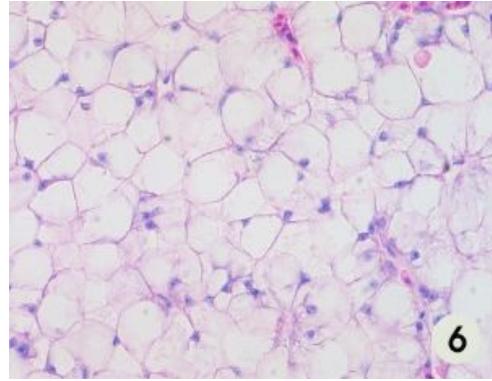
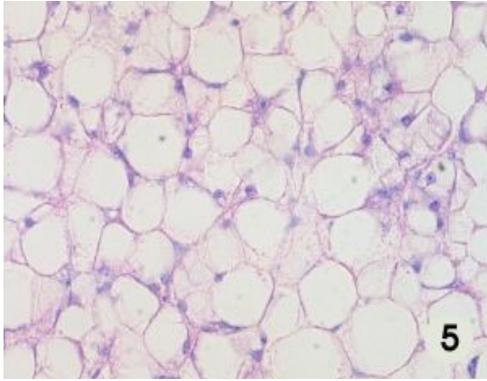


Fig. 6. Gross and microscopic findings of rockfish liver three weeks after rearing.

Fig. 6-1. Gross finding of rockfish liver in conventional sea water group. Liver shows uneven surface coloration due to severely fatty parts. Milky white area is part of fatty change and lightly brown area normal part.

Fig. 6-2. Gross finding of rockfish liver in conventional sea water group. Liver shows milky white coloration, but not stronger than Fig. 5-2.

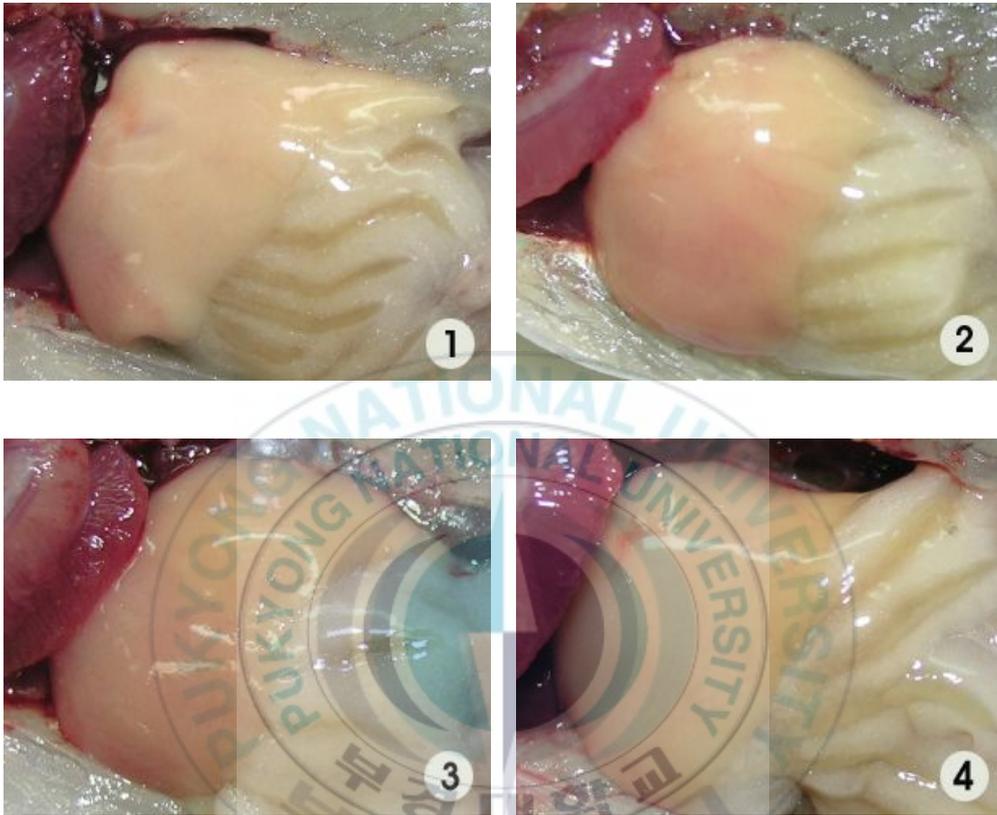
Fig. 6-3,4. Gross finding of rockfish liver in functional sea water group. Liver shows very homogeneous and almost lightly brown color.

Fig. 6-5. Microscopic finding of rockfish liver in conventional sea water group. Size and number of fat globules decreased a little. Sinusoidal area is slightly differentiated. Nuclei of the cells are dislocated eccentrically. H&E, X400.

Fig. 6-6. Microscopic finding of rockfish liver in conventional sea water group. Most of individuals shows a few amount of inclusion. Only one inclusion is observed in this stage. H&E, X400.

Fig. 6-7,8. Microscopic finding of rockfish liver in functional sea water group. The level of fatty change is prominently relieved. Size and number of fat globules decreased significantly. Most of cells look like hypertrophy stage. Sinusoidal area is easily differentiated. Nuclei of the cells are comback to the central location, slowly. H&E, X400.

Fig. 7.



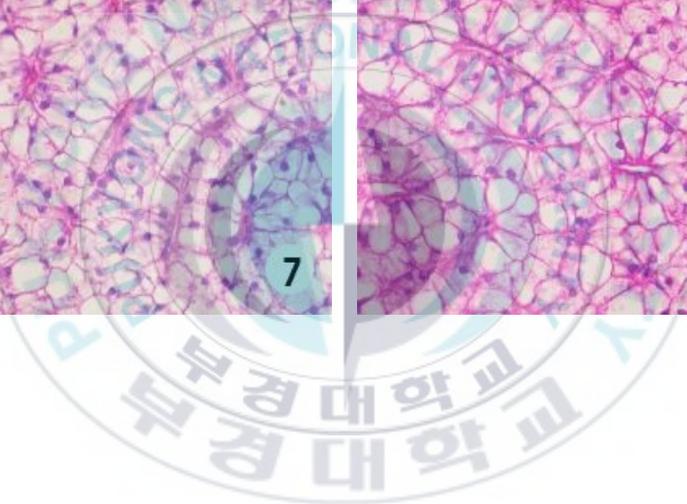
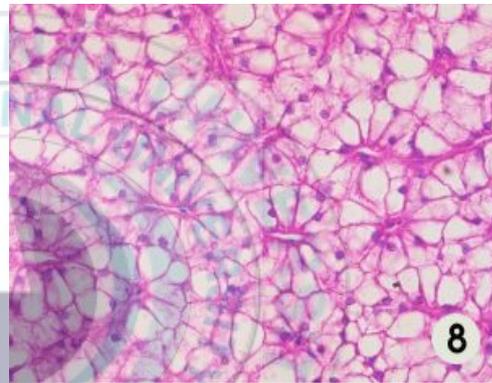
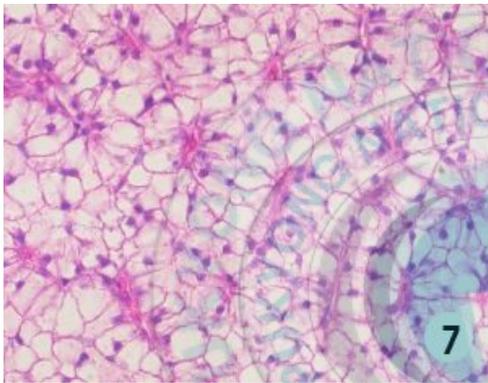
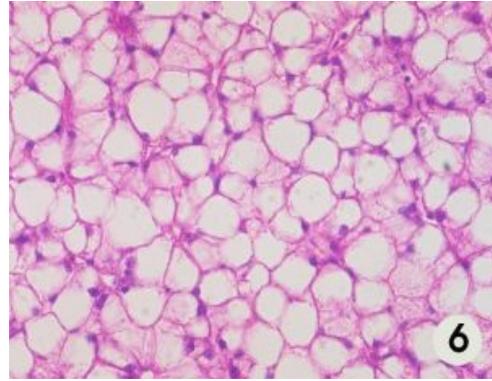
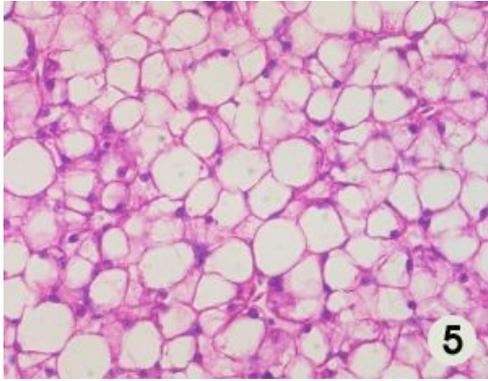


Fig. 7. Gross and microscopic findings of rockfish liver three weeks after rearing.

Fig. 7-1. Gross finding of rockfish liver in conventional sea water group. Liver shows still uneven surface coloration but it is very small part.

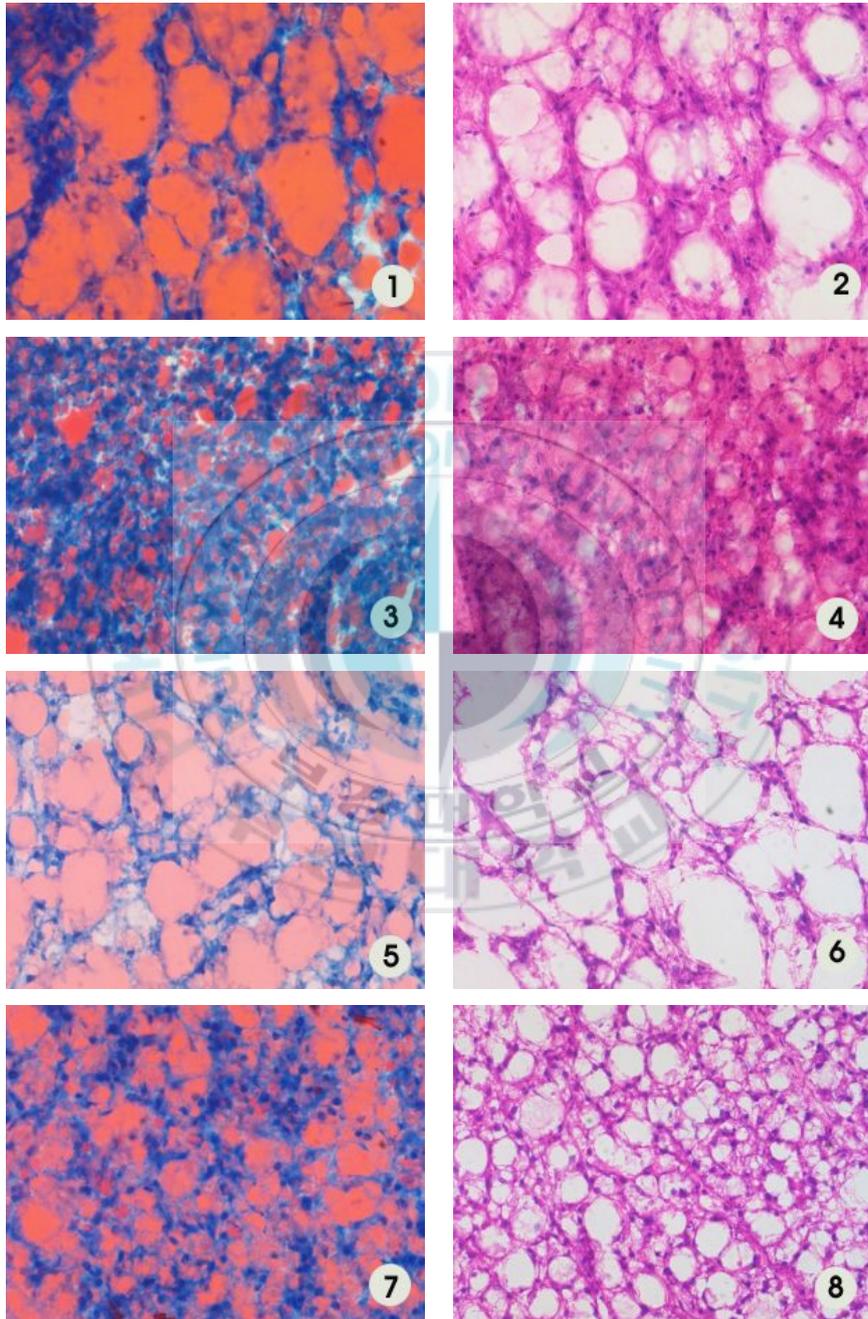
Fig. 7-2. Gross finding of rockfish liver in conventional sea water group. Liver shows lightly brown color like functional sea water group. Most fishes show this color in this group.

Fig. 7-3,4. Gross finding of rockfish liver in functional sea water group. Liver shows very homogeneous and almost lightly brown color.

Fig. 7-5,6. Microscopic finding of rockfish liver in conventional sea water group. Again, size and number of fat globules decreased a little. Sinusoidal area is slightly differentiated. Nuclei of the cells are dislocated eccentrically. But nuclei of the cells are still dislocated eccentrically. H&E, X400.

Fig. 7-7,8. Microscopic finding of rockfish liver in functional sea water group. Liver is almost normal. Nuclei of cells are located central area of cell. Cell boundary is many sided shape. Sinusoidal area is easily differentiated. H&E, X400.

Fig. 8



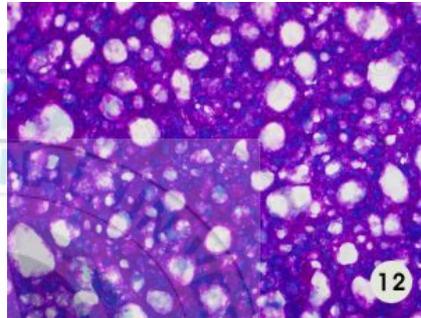
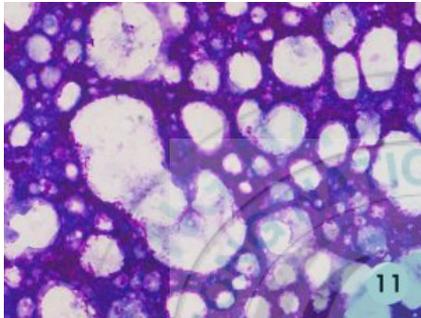
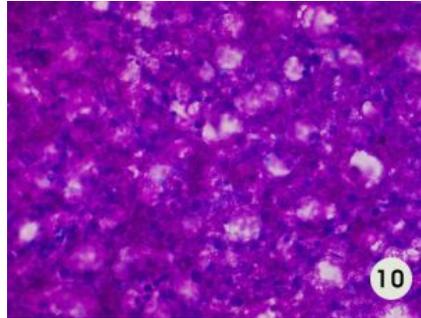
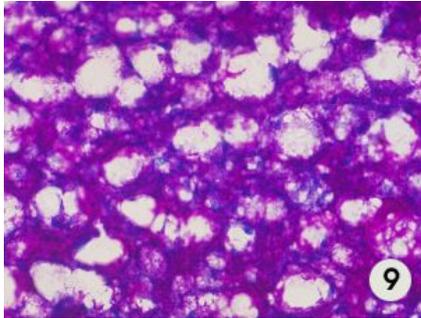


Fig. 8. Microscopic finding of rockfish liver stained by specific stain method.

Fig. 8-1. Microscopic finding of rockfish's oil red o stained liver that three weeks reared in conventional sea water group. oil red o, X400.

Fig. 8-2. Microscopic finding of rockfish liver that three weeks reared in conventional sea water group. H&E, X400.

Fig. 8-3. Microscopic finding of rockfish's oil red o stained liver that three weeks reared in functional sea water group. oil red o, X400..

Fig. 8-4. Microscopic finding of rockfish liver that three weeks reared in functional sea water group. H&E, X400.

Fig. 8-5. Microscopic finding of rockfish's oil red o stained liver that five weeks reared in conventional sea water group. oil red o, X400.

Fig. 8-6. Microscopic finding of rockfish liver that five weeks reared in conventional sea water group. H&E, X400.

Fig. 8-7. Microscopic finding of rockfish's oil red o stained liver that five weeks reared in functional sea water group. oil red o, X400..

Fig. 8-8. Microscopic finding of rockfish liver that reared for five weeks in functional sea water group. H&E, X400.

Fig. 8-9. Microscopic finding of rockfish's PAS stained liver that three weeks reared in conventional sea water group. PAS, X400.

Fig. 8-10. Microscopic finding of rockfish's PAS stained liver that three weeks reared in functional sea water group. PAS, X400.

Fig. 8-11. Microscopic finding of rockfish's PAS stained liver that five weeks reared in conventional sea water group. PAS, X400.

Fig. 8-7. Microscopic finding of rockfish's PAS stained liver that five weeks reared in functional sea water group. PAS, X400.



Fig. 9

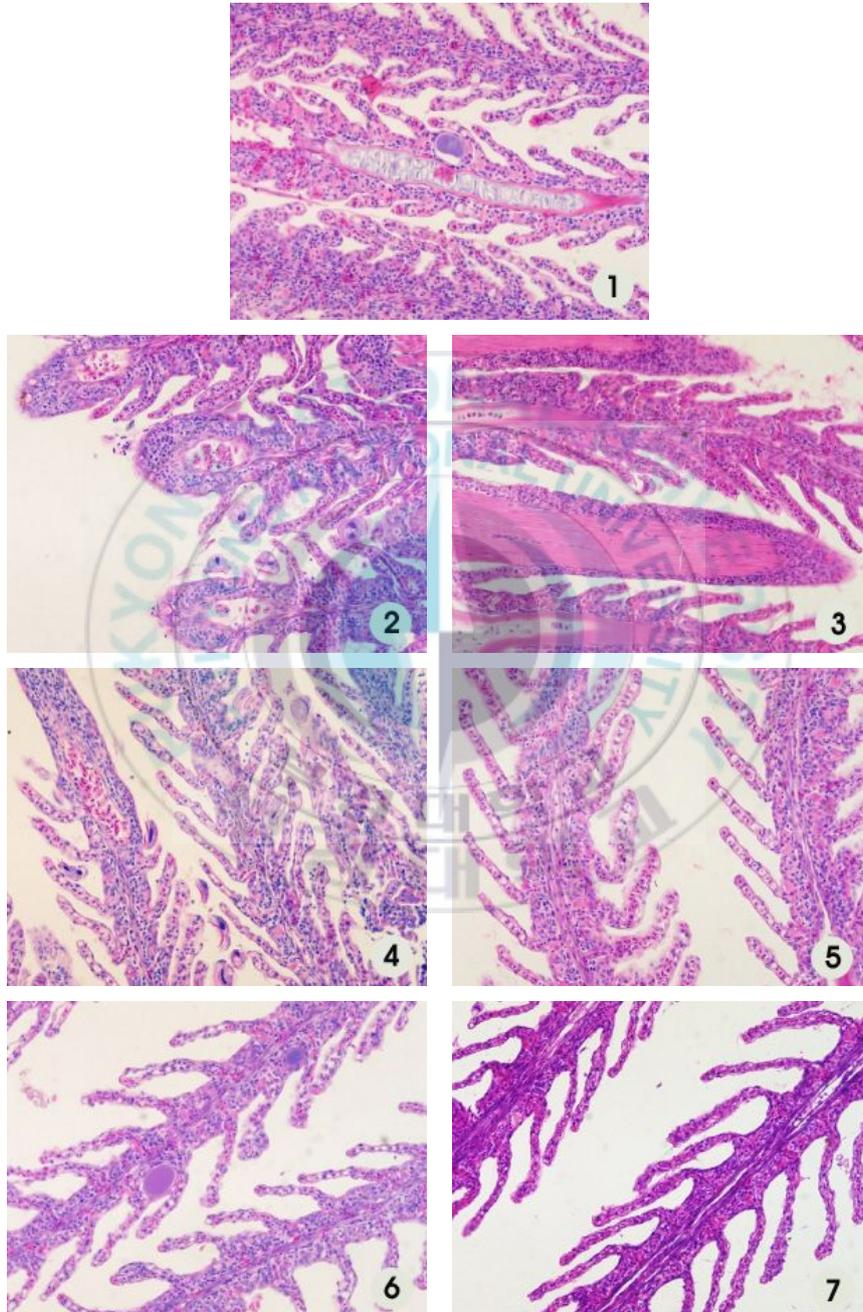


Fig. 9. Microscopic finding of rockfish gill.

Fig. 9-1. Microscopic finding of rockfish gill in control group. Parasite was observed in under epithelium of gill primary filament. H&E, X400.

Fig. 9-2. Microscopic finding of rockfish gill one week reared in conventional sea water group. Some tricotinas were observed between secondary gill filament. H&E, X400.

Fig. 9-3. Microscopic finding of rockfish gill one week reared in functional sea water group. Few tricotinas were observed between secondary gill filament. H&E, X400.

Fig. 9-4. Microscopic finding of rockfish gill three weeks reared in conventional sea water group. Many numbers of tricotina were observed between secondary gill filament. H&E, X400.

Fig. 9-5. Microscopic finding of rockfish gill three weeks reared in functional sea water group. Shows normal condition. H&E, X400.

Fig. 9-6. Microscopic finding of rockfish gill five weeks reared in conventional sea water group. Nember of tricotina was reduced significantly. But, parasite was observed in under epithelium of gill primary filament, remain. H&E, X400.H&E, X400.

Fig. 9-7. Microscopic finding of rockfish gill five weeks reared in functional sea water group. Shows normal condition. H&E, X400.

Fig. 10

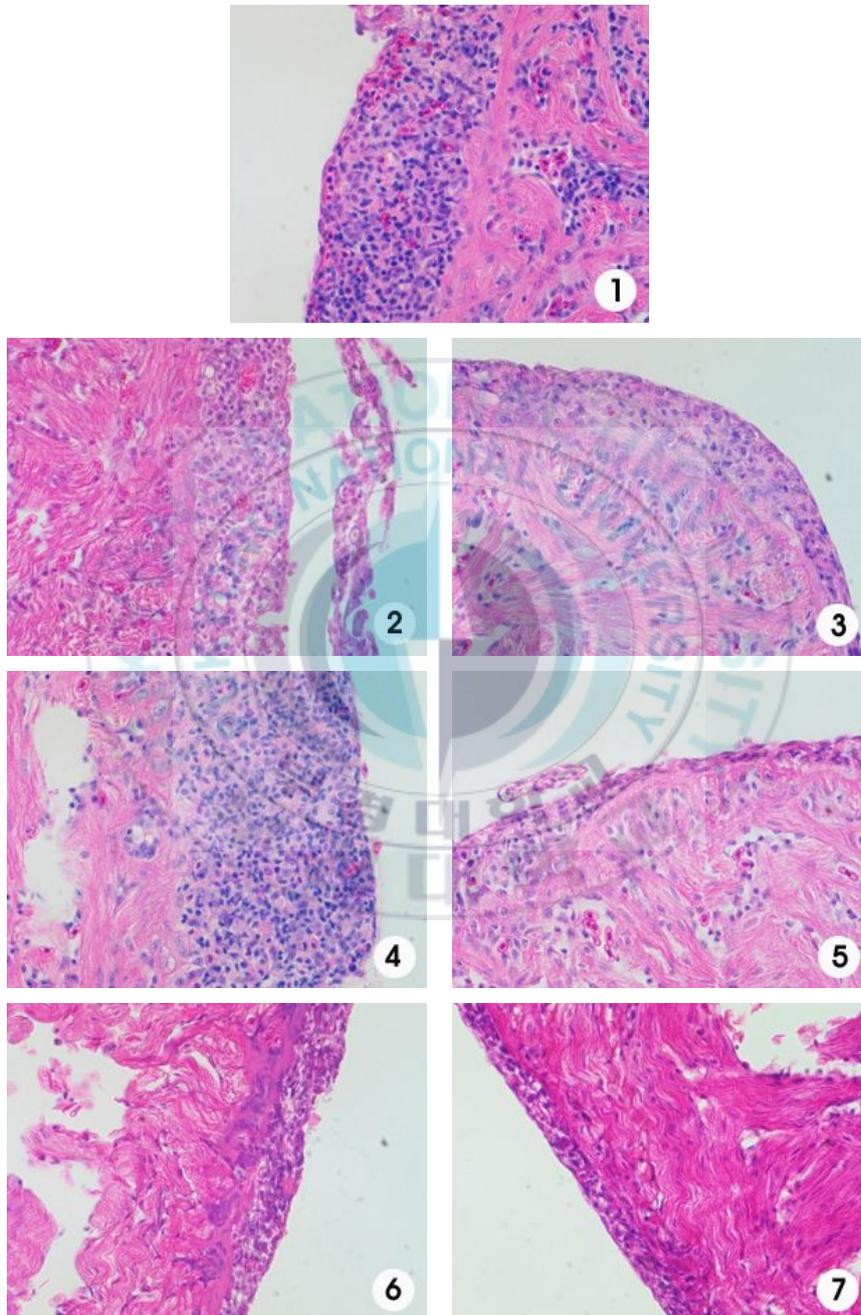


Fig. 10. Microscopic finding of rockfish heart.

Fig. 10-1. Microscopic finding of rockfish heart in control group. Area of black line means epicarditis. H&E, X400.

Fig. 10-2. Microscopic finding of rockfish heart one week reared in conventional sea water group. H&E, X400.

Fig. 10-3. Microscopic finding of rockfish heart one week reared in functional sea water group. H&E, X400.

Fig. 10-4. Microscopic finding of rockfish heart three weeks reared in conventional sea water group. H&E, X400.

Fig. 10-5. Microscopic finding of rockfish heart three weeks reared in functional sea water group. H&E, X400.

Fig. 10-6. Microscopic finding of rockfish heart five weeks reared in conventional sea water group. H&E, X400.

Fig. 10-7. Microscopic finding of rockfish heart five weeks reared in functional sea water group. H&E, X400.

Fig. 11

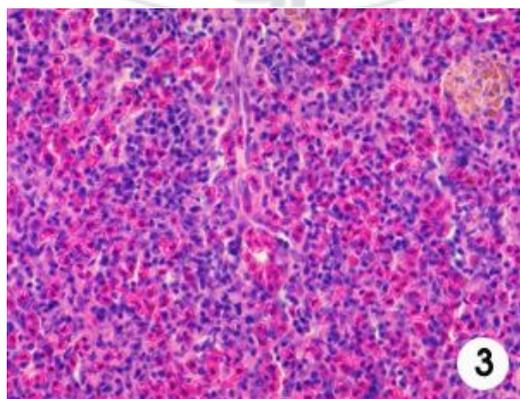
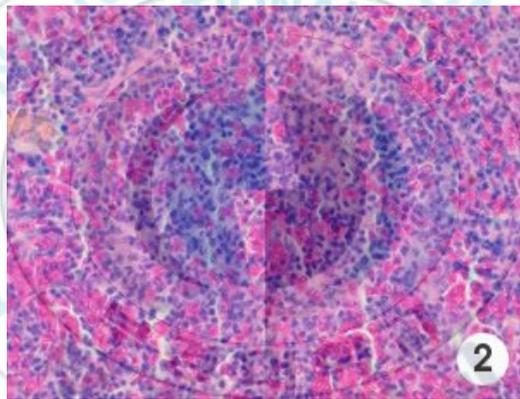
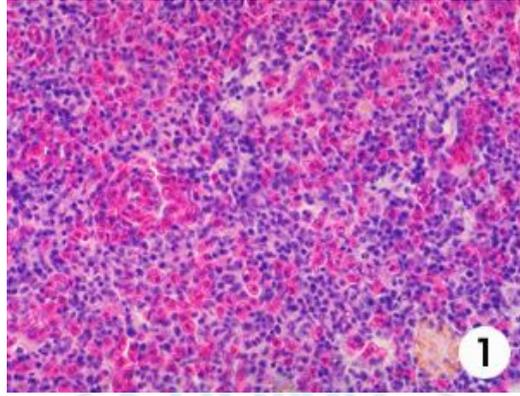


Fig. 11. Microscopic finding of rockfish spleen.

Fig. 11-1. Microscopic finding of rockfish spleen. in control group. H&E, X400.

Fig. 11-2. Microscopic finding of rockfish spleen. in conventional sea water group. H&E, X400.

Fig. 11-3. Microscopic finding of rockfish spleen. in functional sea water group. H&E, X400.



Fig. 12

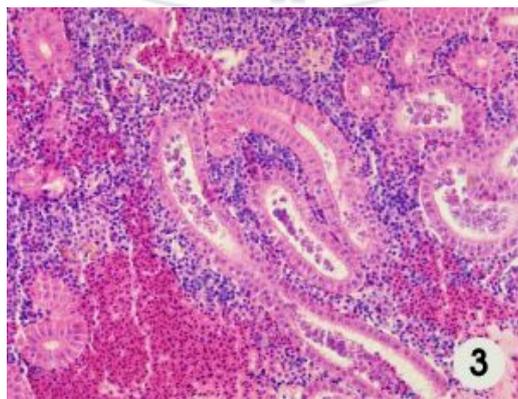
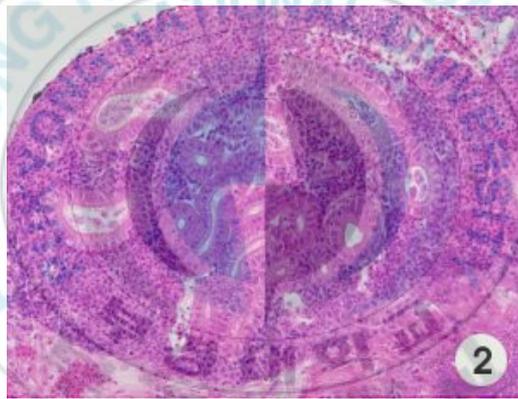
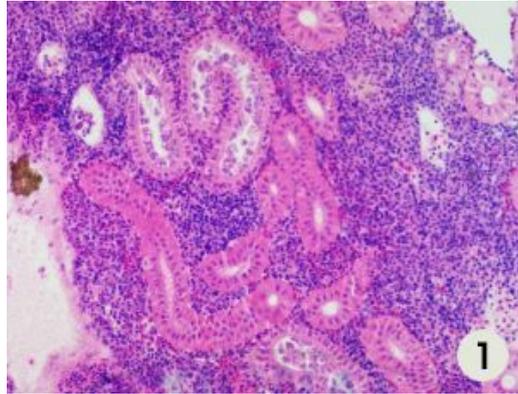


Fig. 12. Microscopic finding of rockfish kidney.

Fig. 12-1. Microscopic finding of rockfish kidney in control group .H&E, X200.

Fig. 12-2. Microscopic finding of rockfish kidney in conventional sea water group. H&E, X200.

Fig. 12-3. Microscopic finding of rockfish kidney in functional sea water group. H&E, X200.



Fig. 13

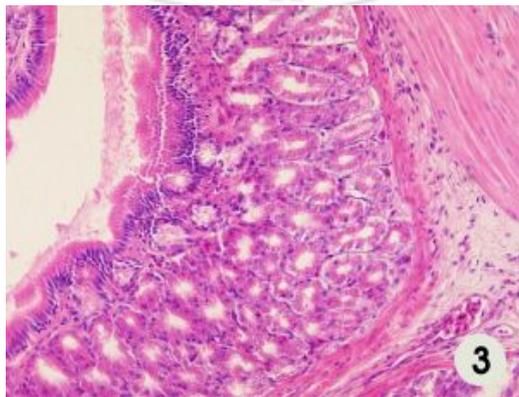
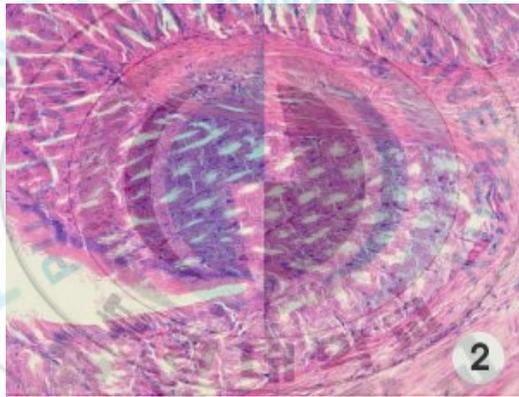
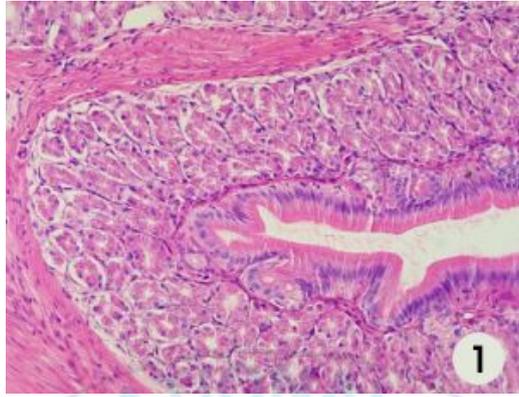


Fig. 13. Microscopic finding of rockfish stomach.

Fig. 13-1. Microscopic finding of rockfish stomach in control group .H&E, X200.

Fig. 13-2. Microscopic finding of rockfish stomach in conventional sea water group. H&E, X200.

Fig. 13-3. Microscopic finding of rockfish stomach in functional sea water group. H&E, X200.



Fig. 14. Skin and muscle

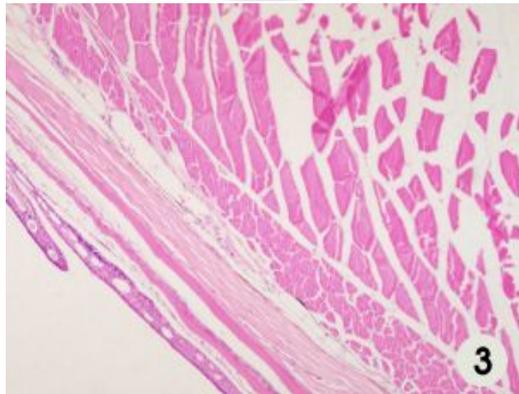
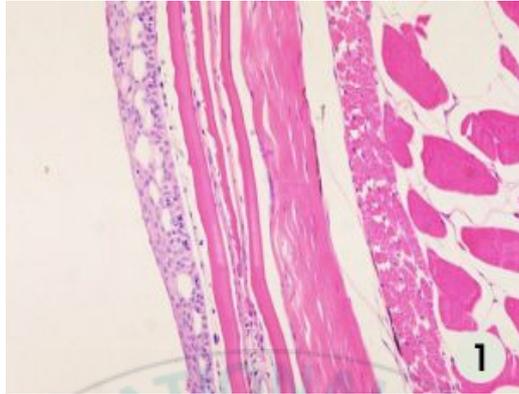


Fig. 14. Microscopic finding of rockfish skin and muscle.

Fig. 14-1. Microscopic finding of rockfish skin and muscle in control group .H&E, X100.

Fig. 14-2. Microscopic finding of rockfish skin and muscle in conventional sea water group. H&E, X100.

Fig. 14-3. Microscopic finding of rockfish skin and muscle in functional sea water group. H&E, X100.



## VII. 감사의 글

학위논문을 준비하면서 부족한 저를 여러모로 도와주신 모든분께 이장을 빌어 감사의 글을 올립니다. 정신적으로나 육체적으로 많이 힘들었던 시기를 무사히 넘길 수 있었던 것도 다 그분들 덕택이었습니다.

늘 실천하는 모습과 긍정적인 시각으로 따뜻하게 지도해주신 허민도 교수님 감사합니다. 조금은 생소한 주제로 힘들게 진행한 논문이었기에 강주찬 교수님의 칭찬과 관심이 매우 큰 힘이 되었습니다, 감사합니다. 바쁘신 와중에도 지도말씀 잊지 않으신 정준기 교수님, 늘 인자한 미소로 화답해주신 박수일 교수님, 실속있는 강의와 유머러스함으로 인기만점이신 정현도 교수님, 학부와 석사과정 동안 많은 가르침 주신 김기홍 교수님께 감사드립니다.

무사히 공부마칠 수 있도록 많은 가르침주신 이무근 선배님, 비맞으면서 고기 잡아주신 박재상 선배님, 동결절편 알아봐 주신 이남실 선배님, 수많은 부탁과 질문에 전혀 귀찮아하지 않고 언제나 성심껏 도와주신 한규식 선배님, 남성진 선배님, 박명한 선배님 감사합니다. 막내때부터 따뜻하게 챙겨주신, 이제는 새색시가 되신 최혜정 선배님 감사합니다. 실험실 병아리때부터 지금까지 말썹과 실수 참 많이 저질렀는데 묵묵히 바른길로 이끌어주신 이우승 선배님께 큰 감사드립니다. 실험기간 중 힘들고 소소한 일들 너무 많이 도와준 서문경 후배님과 한지선 후배님, 정동일 선배님, 신재형 동기님께 감사드리고 앞으로 더크게 나아가시길 바랍니다. 병리방의 새로운 마스크트가 된 우리버섯, 이현영 후배님, 최강센스 폭풍간지 자랑하시는 따라쟁이 이동규 동기님, 영원히 잊지 못할 텔미댄스 오현창 후배님, 능글한 소방관이 되실 김경민 선배님께도 감사의 마음 띄웁니다.

영원히 변치말자던 약속을 뒤로하고 지금은 국내외로 흩어져있는 사랑하는 우리 살과 12명 고은이, 귀운이, 아영이, 은수, 병우, 예지, 혜란이, 현지, 정민이, 보라, 영란이 정신적 지주가 되어준 그대들에게도 감사의 글을 날립니다. 지금처럼 각자의 자리에서 언제나 화이팅!!

내 학부생활의 핵심이 되었던 열대어 브리딩 동아리 파크! 너무나 즐거웠습니다. 민균선배, 종윤선배, 현애언니, 경현선배, 혜정이, 아방이, 은선이, 미영이, 홍근이, 상업이, 용민이에게 감사의 말 전합니다. 새로운 파크 끌고간다고 무지무지 고생하시는 내동생 이한민 회장님께도 격려와 감사의 마음 함께 전합니다. 이쁜 각송이랑 행복하세요!

힘든시기 함께지낸 졸업동기 봄이 언니, 수진이 언니, 예재오빠께도 감사드리고, 야식도 수다도 함께 나눈 우리 02 동기 소혜랑 혜진이, 모두 고생하셨고 감사합니다. 이제는 매일 안만나는게 더 어색해진 동진이, 자네와 마시는 커피가 세상에서 가장 맛있고 속시원하였다오! 힘든일도 기쁜일도 함께 나눌 수 있어 행복했

습니다.

언제나, 동생 돌보듯 묵묵히 도와주고, 놀아주고, 격려해주고 챙겨주었던 best of best 난로씨 태훈이에게도 큰 감사의 마음을 전합니다.

어려움이 닥칠 때마다, 기쁜일이 생길 때마다 한번도 잊지않고 곁에서 큰도와움과 진심담은 축하 보내주신 송나영 선배님께 정말 감사하다는 인사 거듭 올리고 싶습니다. 사랑하는 송쌤덕분에 견뎌냈습니다!!

긴 시간동안 변함없는 모습으로 큰 사랑갖고 꼼꼼히 보살펴주시는 우리 준모 오빠, 언제나 고맙습니다. 오빠가 있었기에 철들고, 웃고, 앞으로 나아갈 수 있었습니다. 늘 감사하고 또 미안합니다.

사랑하는 우리가족들에게 느끼는 감사의 마음은 감히 말로표현 할 수 없습니다. 늘 사랑했고, 사랑하고 언제나 사랑합니다. 아버지 어머니 늘 건강하시고 힘내세요! 사랑하는 한성이오빠, 함께 학위받을 수 있어서 무척 기쁘고, 졸업후 더 크게 도약하자! 감사합니다.



## VII. 참고문헌

- Ballet F. (1990) Hepatic circulation: potential for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther.* 47: 281–328.
- D A Nanton, S P Lall, M A McNiven (2001), Effects of dietary lipid level on liver and muscle lipid deposition in juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L., *Aquaculture Research*, 32(1): 225–234.
- F. Batmanghelidj (1997) Your body's many cries for water, Global Health Solution INC., USA.
- Gary K Ostrander (2000) *The Laboratory Fish*, Academic Press, USA, pp. 222.
- James E. Dombrowski, Daniel R. Bergey (2007) Calcium ions enhance systemin activity and play an integral role in the wound response, *Plant Science* 172: 335–344.
- Jobling, M. (1988) A review of the physiological and nutritional energetics of cod, *Gadus morhua* L., with particular reference to growth under farmed conditions, *Aquaculture* 70: 1–9.
- Matthew Cave, Ion Deaciuc, Christian Mendez, Zhenyuan Song, Swati Joshi–Barve, Shirish Barve, Craig McClain (2007) Nonalcoholic fatty liver disease: predisposing factors and the role of nutrition, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18: 184–195.
- Michael H. Ross, Wojciech Pawlina (2004) *Histology a text and atlas fifth edition*, Lippincott Williams&Wilkins, USA.

- Niwa Yukie (1992) 물, 생명과 건강의 과학, pp.81~187.
- Thomas Carlyle Jones, Ronald Duncan Hunt, Norval William King (1997)  
 Veterinary pathology six edition, Williams&Wilkins, USA, vol.: I, II.
- 강효주 (2003) 양식 승어(*Mugil cephalus*)의 간 거대 세포증에 대한 병리조직학적 관찰, 학위논문.
- 김정대 (1999) 사료내 지방 수준이 대구(*Melanogrammus aeglefinus*)의 성장과 간 지방축적에 미치는 영향, Kor. J. Anim. Nutr. Feed. 23(1): 1-6.
- 박남용 외역 (1998) 수의병리학 각론, 수의병리학편찬위원회, 전남대학교출판부, 광주.
- 박남용 (2003) 수의병리학 총론, 수의병리학편찬위원회, 전남대학교출판부, 광주.
- 백재민, 한창희, 김대중, 박철원 (2000) 조피볼락의 생식주기, J. Kor. Fish. Soc. 33(5): 431-438.
- 송미경, 홍성길, 황성주, 박옥진, 박미현 (2003) 생식 섭취가 지방간 개선 및 지질 대사에 미치는 영향, The Korean journal nutrition, 36(8): 834-840.
- 원경미, 김병기, 박수일, 유병서 (2004) Kelp (*Ascophyllum nodosum*) meal 첨가 사료가 돌돔 (*Oplegnathus fasciatus*)의 성장과 비특이적 면역 반응에 미치는 영향, J. Kor. Fish. Soc. 37(4): 275-280.
- 이규재, 김수기, 김진원, 김현원 (2003) 동물실험을 통해 살펴 본 미네랄 알칼리수의 다양한 효과, Journal of the Korean Jungshin Science Society, 17(2): 27-35.
- 장감용, 박성하, 임경묵 (2002) 조류성장억제에 미치는 원적외선 활성수의

- 효과, 에너지청정기술논문집, 3(1): 37-50.
- 전세규 (2001) 넙치의 질병과 치료. 한국수산신문사. pp. 25-36
- 정규원 (2003) 만성간질환의 미세구조-간세포의 세포골격, 대한 간학회지, 9(2): 153-166.
- 정승희, 손영찬, 김이청 (2001) 식물성 생약재 열수추출물이 어병원인세균에 대한 항균활성 및 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 식세포의 활성산소 생산에 미치는 in vitro 효과, J. Fish Pathol., 14(1): 3-10
- 정호권, 강상모, 정선호, 홍성길, 김현표 (1997) 스트레스로 인한 생체 손상에 있어 알칼리수에 의한 생체내 보호효과,
- 조영수, 이영춘, 차재영, 김경숙 (1999) 식품과 건강정보, pp. 152
- 주영석 (2005) 목재탄화물 첨가 사료가 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성장, 체성분 및 생리활성에 미치는 영향, 학위 논문
- 지철근 (2001) 원적외선의 특성, 한국조명전기설비학회지, 15(1): 4-13.
- 진소영 (2006) 지방간, 대한간학회지, 12(1): 112-115.
- 최민순, 박관하, 최상훈, 김종연, 김종면, 조정곤, 장선일 (1995) 과래투여에 의한 잉어류의 생리활성에 관한 연구, J. Fish Pathol., 8(2): 149-156.