

비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 사양성적 및 지방·혈관 생성 관련 유전자 발현에 미치는 영향

엄경환, 진실, 문성진, 박명선, 백열창, 장선식
국립축산과학원 한우연구센터
e-mail:umkh9969@korea.kr

Effect of Vitamin A Administration Level on Growth Performance and Adipogenic and Angiogenic Gene Expression in Hanwoo Calves

Kyung-Hwan Um, Shil Jin, Sung Jin Moon, Myungsun Park, Youl-Chang Baek and Sun-Sik Jang
Hanwoo Research center, National Institute of Animal Science, RDA, Pyeongchang 25340, Korea

요약

본 연구는 비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 성장 성적, 혈중 대사물질 및 유전자 발현에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행되었다. 생후 한우 송아지 22두(31.32 ± 4.90 kg)를 공시하여 대조구(비타민 A 무처리), T1(300,000 IU), T2(600,000 IU), T3(900,000 IU)로 구분하였으며, 비타민 A는 생후 5일령에 근육 주사로 투여하였다. 연구 결과, 비타민 A 투여는 체중, 일당증체량, 사료섭취량 및 사료요구율 등 성장 성적에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 혈중 인슐린 농도는 3개월령에서 T2구에서 낮은 경향을 보였으며($P < 0.10$), 렙틴 농도는 6개월령에서 T2 및 T3구에서 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 성장 관련 유전자 발현에서는 MYOG 발현량이 T3구에서 유의적으로 감소하였고($P < 0.05$), PAX3 및 PAX7은 처리구에서 감소 경향을 보였다. 또한 PG1A 발현량은 T2 및 T3구에서 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 지방 관련 유전자에서는 FABP3 발현량이 처리구에서 증가하였으며($P < 0.05$), 특히 T2구에서 가장 높게 나타났다. 반면 KLF2와 STAT6 발현량은 처리구에서 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). SREBF1 발현량은 처리구에서 감소하는 경향을 보였으며($P < 0.10$). 혈관 생성 관련 유전자에서는 VEGFA 발현량이 T2 및 T3구에서 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 이상의 결과를 종합하면, 비타민 A 투여는 성장 성적에는 영향을 미치지 않았으나 근육 발달, 지방 대사 및 혈관 생성과 관련된 유전자 발현에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 따라서 초기 비타민 A 투여는 성장 촉진보다는 근육 및 지방 발달과 관련된 분자적 조절 기전에 영향을 미칠 가능성이 있는 것으로 판단된다.

1. 서론

한우 산업에서 근내지방도는 도체 품질을 결정하는 핵심 요인으로, 소비자 선호도와 경제적 가치에 큰 영향을 미치기 때문에 이를 향상시키기 위한 다양한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다[1]. 근내지방 형성은 유전적 요인뿐만 아니라 영양적 요인에 의해서도 크게 영향을 받으며, 특히 성장 초기의 영양 관리가 이후 지방 축적 능력에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 비타민 A는 동물의 건강 유지와 면역 기능에 필수적인 영양소로 잘 알려져 있을 뿐만 아니라[2], 근육 생성 및 성장·발달 과정[3, 4], 그리고 지방세포의 분화와 지질 대사를 조절하는 중요한 인자로 보고되고 있다[5]. 특히 비육기 소에서 비타민 A 수준을 제한할 경우 지방세포 분화가 촉진되어 근내지방도가 증가한다는 연구 결과가 보고된 바 있어, 비타민 A가 근내지방 형성 조절에 중요한 역할을 할 수 있음이 제시되고 있다. 최근에는 이유 전 송아지 시기에 비타민 A를 투

여할 경우 근육 성장과 더불어 지방 생성 및 혈관 생성 발달에 긍정적인 영향을 미칠 가능성이 제시되고 있다[6]. 혈관 생성은 지방세포로의 영양분 공급과 밀접하게 연관되어 있어 근내지방 형성 과정에서 중요한 역할을 하며, 이러한 생리적 변화는 지방생성 및 혈관생성 관련 유전자 발현 조절과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다[6, 7]. 그럼에도 불구하고 현재까지 한우 송아지를 대상으로 비타민 A 주사 수준이 성장 특성뿐만 아니라 지방생성 및 혈관생성 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 체계적으로 분석한 연구는 매우 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 한우 송아지에 있어 비타민 A 주사 수준이 사양성과 함께 지방생성 및 혈관생성 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 구명함으로써, 초기 영양 관리 전략 수립을 위한 기초자료를 제공하고자 수행되었다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시동물, 시험구 배치 및 사양관리

본 연구는 국립축산과학원 동물실험윤리위원회 운영규정 (NIAS-2022-0543)의 검토 및 승인을 받았으며, 실험동물의 관리 및 실험 절차는 동물실험윤리위원회의 규정을 준수하였다. 신생 한우 수송아지 22두(31.32 ± 4.90 kg)를 대조구(비타민 A 주사 없음)과 비타민 A 수준에 따라 (T1: 비타민 A 300,000 IU 주사, T2: 600,000IU, T3: 900,000IU) 총 4처리구로 구분 하였다. 비타민 A 주사는 생후 5일령에 근육 주사를 실시하였다. 표 1은 실험 사료의 화학적 조성을 나타냈다. 사료의 레티놀과 베타카로틴은 BIGS솔루션(주)(대전, 한국)에 보내 분석을 하였다. 농후사료와 조사료는 하루 두 번(오전 8시와 오후 3시) 급여했으며, 물은 자유롭게 공급하였다. 이유 시기는 생후 1개월령에 진행했으며, 기타 사료 관리는 국립축산과학원 한우연구센터의 시험 우사에서 사용하는 방식에 따라 실시되었다.

[표 1] 시험 사료의 화학적 조성

Items ¹	Concentrate feed		Timothy
	0-3 month	4-6 month	0-6 month
DM	91.35	91.50	91.51
OM	92.72	89.47	94.53
CP	24.40	21.50	6.00
SOLP	4.30	5.70	2.20
NDICP	1.69	3.35	0.93
ADICP	1.65	1.62	0.75
aNDF	23.90	30.70	66.60
ADF	10.10	13.70	45.00
Lignin	2.59	3.67	7.42
EE	3.81	4.94	1.38
Ash	7.28	10.53	5.47
Ca	1.27	1.86	0.20
P	0.60	0.62	0.16
K	1.20	1.22	1.31
Na	0.22	0.35	0.01
Cl	0.30	0.30	0.73
S	0.39	0.42	0.09
Mg	0.29	0.33	0.13
Retinol, IU/kg	149,000	4,200	-
Beta carotene (IU/kg)	-	-	5,055
TDN _{IX}	75.72	70.79	53.55
NEm, Mcal/kg	1.93	1.75	1.06
NEg, Mcal/kg	1.28	1.13	0.50
Carbohydrates	64.51	63.03	87.15
NFC	42.30	35.70	21.40
Carbohydrate fraction (% CHO)			
CA	14.26	15.55	15.72
CB1	49.45	38.71	1.03
CB2	1.86	2.38	7.80
CB3	24.79	29.42	54.92
CC	9.64	13.97	20.43
Protein fraction (% Protein)			
PA+PB1	17.62	26.51	36.67
PB2	75.45	57.91	47.83
PB3	0.16	8.05	3.00
PC	6.76	7.53	12.50

¹DM: dry matter, OM: organic matter, CP: crude protein, SOLP: soluble CP, NDICP: neutral de-tergent insoluble CP, ADICP: acid detergent insoluble CP, aNDF: neutral detergent fiber analyzed using a heat-stable amylase and

expressed inclusive of residual ash, ADF: acid detergent fiber, ADL: acid detergent lignin, TDN_{IX}: total digestible nutrients, NEm: net energy for maintenance, NEg: net energy for growth, NFC: non-fiber carbohydrate, CA: carbohydrate A fraction; ethanol soluble carbohydrate, CB1: carbohydrate B1 fraction; starch, CB2: carbohydrate B2 fraction; soluble fiber, CB3: carbohydrate B3 fraction; available insoluble fiber, CC: carbohydrate C fraction; unavailable carbohydrate, PA+PB1: protein A and B1 fractions; soluble CP, PB2: protein B2 fraction; intermediate degradable CP, PB3: protein B3 fraction; slowly degradable fi-ber-bound CP, PC: protein C fraction; unavailable CP.

2.2 사양성적

공시동물은 농후사료와 조사료 섭취량은 매일 사료 잔량을 측정하였다. 체중은 매일 측정하고, 총 체중증가량을 실험일수로 나누어 일당증체량(ADG) 계산하였다. 사료요구율(FCR)은 건물섭취량(DMI) 및 ADG 값을 나누어 계산하였다.

2.3 혈중 대사물질 및 호르몬

공시 동물의 경정맥에서 아침 사료 급여 전 10 mL vacutainer (Becton Dickinson, New Jersey, USA)를 사용하여 혈액을 채취하였다. 혈중 대사물질을 분석하기 위해 헤파린이 첨가된 혈액을 3000RPM에서 15분간 원심분리를 하였다. 대사물질은 자동 혈액 분석기(Hitachi 7020, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 분석을 진행하였다.

혈중 인슐린 호르몬 수치는 Cattle Insulin ELISA Kit (ELK7291; ELK Biotechnology Co., Ltd., Denver, USA)를 사용하였고, 혈중 렙틴 수치는 Bovine Leptin ELISA 키트 (CSB-E06771b; Cusabio LLC, Houston, USA)를 사용하여 마이크로플레이트 리더를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.4 조직 샘플 채취 및 유전자 발현 분석

생후 6개월령에 체중 측정 및 거세와 동시에 제13흉추와 제1요추 사이의 허리 부위에서 샘플을 채취하였다. 클리퍼를 이용하여 털과 이물질을 제거한 후, 리도카인을 이용하여 국소 마취를 시행하고, 포비돈-요오드와 70% 에탄올을 이용하여 해당 부위를 철저히 소독하였다. 메스를 이용하여 약 1cm의 절개를 한 후, 6mm Bergstrom 생검용 바늘(Samyong, Korea)을 이용하여 약 2g의 근육 조직을 채취하였다. 샘플은 -80°C의 초저온 냉동고에 보관하였다. RNA 추출은 제조사의 지침에 따라 RNazol RT(Monarch Total RNA Miniprep Kit, Molecular Research Center; Cincinnati, OH)를 사용하여 수행하였다. RNA 검체의 유전자 발현 분석은 Nanostring 기술과 nCounter Analysis System을 이용하여 분석하였다. RNA 샘플은 디지털 분석기(Nanostring, nCounter Prep Station, NCT-PREP-120)로 카트리지에 고정하고, 각 프로브에 부착된 형광 바코드는 디지털 분석기(Nanostring,

nCounter Digital Analyzer, NCT-DIGT-120) 내부에 장착된 현미경을 사용하여 측정하였다. 프로브 세트를 사용하여 5개의 하우스키핑 유전자와 28개의 mRNA 분자의 발현을 측정하였다.

2.5. 통계 분석

본 연구에서는 모든 결과에 대한 통계 분석은 SPSS/Windows 26 (Statistical package for the social science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하였다. 통계적 유의성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 하여 Duncan의 다중검정법을 사용하여 95% 신뢰 수준에서 검증하였다(p<0.05).

2. 결과

비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 사양성적에 미치는 영향은 표 2와 같다. 비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 체중, 일당증체량 및 사료 섭취량에 미치는 영향은 적은 것으로 나타났다.

[표 2] 비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 사양성적

Item ¹	Control	T1	T2	T3	P-value
Initial BW (kg)	31.00±6.51	30.17±5.67	33.00±1.58	31.40±4.98	0.837
Final BW (kg)	172.7±25.70	170.2±20.47	160.0±17.66	175.6±10.62	0.629
ADG (kg/day)	0.73±0.13	0.74±0.08	0.67±0.09	0.75±0.06	0.571
Intake (Dry matter kg/steer/day)					
Formula feed	3.37±1.37	3.36±1.37	3.37±1.37	3.38±1.37	0.997
Timothy	0.88±0.52	0.85±0.46	0.87±0.49	0.88±0.52	1.000
DMI	4.25±1.64	4.22±1.61	4.23±1.63	4.25±1.65	0.944
FCR	6.03±1.16	5.76±0.60	6.41±0.96	5.71±0.50	0.553

¹BW: body weight, ADG: average daily gain, DMI: dry matter intake, FCR: feed conversion ratio.

비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 혈중 인슐린 및 렙틴 농도 변화에 미치는 영향은 표 3과 같다. 한우 송아지의 인슐린 농도는 3개월령에 다른 처리구보다 T2구에서 낮은 경향을 보였으며(P<0.10), 렙틴 농도는 6개월령에 대조구에 비해 T2 및 T3구에서 낮은 결과를 보였다(P<0.05).

[표 3] 비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 혈중 인슐린 및 렙틴 농도

Item	Control	T1	T2	T3	P-value
Insulin (pg/ml)					
1 months old	38.64±17.42	40.72±22.28	30.19±21.32	18.11±8.40	0.210
2 months old	44.74±25.74	48.18±36.63	31.25±18.49	39.37±16.50	0.739
3 months old	38.01±20.38	40.17±18.48	14.35±7.54	42.33±20.70	0.074
6 months old	24.04±12.07	25.73±16.82	32.61±27.91	34.44±19.71	0.773
Leptin (ng/ml)					
1 months old	7.82±0.47	8.05±0.48	7.90±1.05	8.24±1.08	0.898

2 months old	8.15±0.78	8.39±0.93	8.32±0.68	8.35±0.62	0.834
3 months old	8.48±0.71	7.97±0.93	8.32±1.69	7.61±1.21	0.499
6 months old	7.66±0.81 ^a	7.06±0.54 ^{ab}	6.43±0.51 ^b	6.43±0.92 ^b	0.033

^{ab}Means followed by different letters in the same row are significantly different (p < 0.05).

비타민 A 투여 수준이 6개월령 한우 송아지의 성장 관련 유전자 발현량에 미치는 영향은 표 4와 같다. MYOG 유전자 발현량은 다른 처리구에 비해 T3구에서 낮은 결과를 보였으며 (P<0.05), PAX3 유전자 발현량은 T1구에 비해 T2 및 T3구에서 낮은 경향을 보였다(P<0.10). PAX7 유전자 발현량은 다른 처리구에 비해 T2구에서 낮은 경향을 보였으며 (P<0.10), PGC1A 유전자 발현량은 T1구에 비해 T2 및 T3구에서 낮은 결과를 보였다(P<0.05).

[표 4] 비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 성장 관련 유전자 발현량

Item	Control	T1	T2	T3	P-value
Growing (6 months of age)					
MYF5	35.99±12.15	35.39±3.71	40.14±8.02	42.57±25.85	0.820
MYOD	126.8±86.09	93.53±22.01	97.35±17.35	69.57±32.44	0.330
MYOG	392.0±51.14 ^a	367.9±71.45 ^a	317.5±99.5 ^a	209.5±88.0 ^b	0.006
PAX3	3.17±1.17	4.67±1.75	2.40±1.52	2.60±1.14	0.062
PAX7	54.00±6.93	53.10±28.12	26.16±12.91	35.96±14.71	0.051
PGC1A	165.6±38.89 ^{ab}	200.9±45.58 ^a	110.42±47.40 ^b	124.4±57.36 ^b	0.021

^{ab}Means followed by different letters in the same row are significantly different (p < 0.05).

비타민 A 투여 수준이 6개월령 한우 송아지의 지방 관련 유전자 발현량에 미치는 영향은 표 5와 같다. FABP3 유전자 발현량은 대조구에 비해 처리구들에서 높게 나타났으며(P<0.05), T1구에 비해 T2구에서 높게 나타났으며(P<0.05). KLF2 유전자 발현량은 대조구에 비해 처리구들에서 낮은 결과를 보였으며(P<0.05), SREBF1 유전자 발현량은 대조구에 비해 처리구들에서 낮은 경향을 보였다(P<0.10). STAT6 유전자 발현량은 대조구에 비해 처리구들에서 낮은 결과를 보였으며 (P<0.05), T3구에 비해 T2구에서 낮은 결과를 보였다 (P<0.05).

[표 5] 비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 지방 관련 유전자 발현량

Item	Control	T1	T2	T3	P-value
Growing (6 months of age)					
ACACA	48.89±12.53	55.47±11.81	104.8±98.89	72.83±40.74	0.311
ANGPTL3	10.83±3.66	11.83±8.95	12.00±3.16	11.00±5.00	0.982
CEBPA	23.09±5.23	24.03±5.29	25.67±10.05	19.80±0.45	0.532
DGAT1	112.4±19.22	106.2±17.49	102.5±29.11	114.3±21.32	0.806
EPK2	363.6±57.88	426.3±58.29	340.9±87.33	352.7±110.3	0.300
FABP3	895.4±227.6 ^c	1551±378.2 ^b	2181±671.3 ^a	1698±376.8 ^{ab}	0.001

FABP4	309.8±255.5	369.7±196.2	2698±4317	1455±1078	0.241
FASN	60.38±30.95	62.85±30.84	273.1±430.9	86.91±69.94	0.315
KLF2	259.8±111.1 ^a	121.7±50.79 ^b	120.8±12.09 ^b	126.5±17.15 ^b	0.004
LPL	1042±251.2	1593±389.8	2182±1698	1592±307.1	0.215
MAP2K6	169.1±29.52	144.9±45.21	108.3±20.47	171.6±78.28	0.155
PPARA	394.6±89.48	391.9±22.17	321.7±124.1	270.8±67.71	0.067
PPARG	13.50±1.87	13.33±4.27	35.20±55.36	15.34±12.05	0.504
PREP1	63.03±34.27	97.25±48.10	104.7±30.42	108.3±35.49	0.206
SCD1	246.9±137.3	261.6±97.33	782.6±1021	512.0±317.2	0.303
SREBF1	165.6±45.34	117.4±32.18	119.7±9.72	113.3±38.06	0.063
STAT6	97.04±21.84 ^a	66.30±13.67 ^{b,c}	55.85±8.64 ^c	77.18±12.61 ^b	0.002
WNT	3.67±1.63	3.50±1.87	3.00±2.35	2.80±1.64	0.855
WNT10B	2.67±1.63	2.50±0.84	3.60±1.82	2.20±1.10	0.436
ZNF423	119.4±34.56	100.8±35.29	79.51±35.46	78.77±17.02	0.144

^{a,b,c}Means followed by different letters in the same row are significantly different (p < 0.05).

비타민 A 투여 수준이 6개월령 한우 송아지의 혈관 생성 관련 유전자 발현량에 미치는 영향은 표 6과 같다. PDGFRA 유전자 발현량은 대조구에 비해 처리구들에서 높게 나타났으며 (P<0.05), VEGFA 유전자 발현량은 대주구에 비해 T2 및 T3구에서 낮은 결과를 보였다(P<0.05)

[표 6] 비타민 A 투여 수준이 한우 송아지의 혈관 생성 관련 유전자 발현량

Item	Control	T1	T2	T3	P-value
Growing (6 months of age)					
PDGFRA	171.9±80.24 ^b	295.6±68.78 ^a	345.7±54.25 ^a	352.0±150.9 ^a	0.016
VEGFA	326.2±83.04 ^a	280.2±79.42 ^{ab}	197.2±61.59 ^b	211.0±52.21 ^b	0.025

^{a,b}Means followed by different letters in the same row are significantly different (p < 0.05).

4. 결론

본 연구에서 생후 초기 비타민 A 투여는 한우 송아지의 성장 성적에는 유의적인 영향을 미치지 않았으나, 근육 발달, 지방 대사 및 혈관 생성과 관련된 유전자 발현에는 영향을 미치는 것으로 나타났다. 특히 높은 수준의 비타민 A 투여는 MYOG, PGC1A 및 VEGFA 발현을 감소시키고, FABP3, KLF2 및 STAT6와 같은 지방 관련 유전자 발현을 변화시키는 경향을 보였다. 이러한 결과는 비타민 A가 성장 성적을 직접적으로 향상시키기보다는 근육 분화 및 지방 형성과 관련된 분자적 조절에 관여할 가능성을 시사한다. 따라서 초기 비타민 A 투여는 장기적인 생산성 및 육질 형성에 영향을 미칠 수 있는 발달 프로그래밍 요인으로 작용할 가능성이 있다. 향후 연구에서는 비타민 A 투여가 도체 특성 및 육질에 미치는 장기적인 영향을 규명할 필요가 있다.

사사

본 연구는 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원 과정 지원 사업과 연구과제 “거세한우 근내지방 섬세도 향상을 위한 영양조절 및 적정출하체중 구명 연구 (PJ016781)” 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

[1] K. Y. Chung, S. H. Lee, S. H. Cho, E. G. Kwon, J. H. Lee, “Current situation and future prospects for beef production in South Korea—A review” *Asian–Australas J. Anim. Sci.* Vol.31, No.7, pp.951–60, May. 2018.

[2] L. R. McDowell, “Vitamins in animal and human nutrition” USA, Iowa State University Pres, 2000

[3] T. Ryan, J. Liu, A. Chu, L. Wang, A. Blais, I. S. Skerjanc, “Retinoic acid enhances skeletal myogenesis in human embryonic stem cells by expanding the premyogenic progenitor population” *Stem Cell Rev.* Vol.8, pp.482–93, Jul. 2012.

[4] B. Wang, W. Nie, X. Fu, J. M. de Avila, Y. Ma, M. J. Zhu, M. Maquivar, S. M. Parish, J. R. Bussboom, M. L. Nelson, M. Du, “Neonatal vitamin A injection promotes cattle muscle growth and increases oxidative muscle fibers” *J. Anim. Sci. Biotechnol.* Vol.9, No.82, pp.1–10, Nov. 2018.

[5] C. F. Campos, T. C. Costa, R. T. Rodrigues, S. E. Guimarães, F. H. Moura, W. Silva, M. L. Chizzotti, P. V. R. Paulino, P. D. B. Benedrti, F. F. Silva, M. S. Duarte, “Proteomic analysis reveals changes in energy metabolism of skeletal muscle in beef cattle supplemented with vitamin A” *J. Sci. Food Agric.* Vol.100, No.8, pp.3536–43, Jun. 2020.

[6] B. Wang, X. Fu, X. Liang, Z. Wang, Q. Yang, T. Zou, W. Nie, J. Zhao, P. Gao, M. J. Zhu, J. M. D. Avila, J. Maricelli, B. D. Rodgers, M. Du, “Maternal retinoids increase PDGFra+ progenitor population and beige adipogenesis in progeny by stimulating vascular development” *EBioMedicine* Vol.18, pp.288–299, Apr. 2017.

[7] R. K. Gupta, R. J. Mepani, S. Kleiner, J. C. Lo, M. J. Khandekar, P. Cohen, A. Frontini, D. C. Bhowmick, L. Ye, S. Cinti, B. M. Spiegelman, “Zfp423 expression identifies committed preadipocytes and localizes to adipose endothelial and perivascular cells” *Cell Metab.* Vol.15, No.2, pp.230–239, Feb. 2012.