

들깨유, 옥수수수의 섭취가 2-Acetylaminofluorene을 투여한 쥐 간에서 소포체막의 지방산 조성과 Cytochrome P-450 함량, Glutathione S-transferase 활성도에 미치는 영향*

김 경 민 · 최 혜 미
서울대학교 가정대학 식품영양학과

Effects of Perilla and Corn Oil Diets on the Hepatic Microsomal Fatty Acid
Composition, Cytochrome P-450 Contents, and Glutathione S-transferase
Activities in 2-Acetylaminofluorene Treated Rats

Kim, Kyungmin · Choi, Haymie
Department of Food and Nutrition, College of Home Economics, Seoul National University

ABSTRACT

This paper examines the effects of dietary fats on the fatty acid composition and marker enzyme activities during liver damage in 2-acetylaminofluorene treated rats. Weaning Sprague-Dawley male rats were fed the diets of beef tallow(BT, source of saturated fatty acid), corn oil(CO, source of n-6 fatty acid) and perilla oil(PO, source of n-3 fatty acid) at the level of 15% fat. Ten days after feeding, 2-acetylaminofluorene(2-AAF) was injected intraperitoneally twice every week at the level of 50mg/kg body weight for 7 weeks.

Liver microsomal and cytosolic fractions were collected to determine the microsomal fatty acid composition, lipid peroxide(malondialdehyde, MDA) contents, glucose 6-phosphatase(G6Pase) activity, cytochrome(Cyt) P-450 contents, and cytosolic glutathione S-transferase(GST) activity. The fatty acid composition in microsomal fraction was reflected by different dietary fats. By 2-AAF treatment, linoleic acids were increased, regardless of the diet. MDA contents were higher in CO group than it was in BT group. However, 2-AAF treatment decreased MDA contents in all dietary groups. G6Pase activity of BT group was higher than those of the other groups. CO group had the highest Cyt P-450 contents, and 2-AAF treatment lowered Cyt P-450 contents only in CO group. GST activities were higher in CO than in BT group, whereas the enzyme activities were increased by 2-AAF treatment in all dietary groups.

These results suggest that dietary fats and 2-AAF treatment affect microsomal fatty acid composition. The enzyme activities concerned with liver damage were influenced differently

*이 논문은 1990년도 한국과학재단 목적기초 연구비 지원의 일부로 수행되었음.
채택일자 : 1992년 1월 30일

by dietary fats and 2-AAF treatment. Although PO diet contains much more polyunsaturated fatty acids than CO diet, PO diet doesn't cause more oxidant stress compared with CO diet in these data.

KEY WORDS : dietary fatty acids · endoplasmic reticulum · lipid peroxide · cytochrome P-450 · glutathione S-transferase.

서 론

현대인의 식생활이 점차적으로 서구화되면서 식사중의 지질비율이 많아짐에 따라 식이지방의 적절한 섭취에 관한 관심이 높아지게 되었고, 지방 영양에 관한 연구도 지방의 양적인 측면과 더불어 지방산 비율에 대한 질적인 측면에 관하여 많이 연구되어 왔다¹⁾. 최근 여러연구에서 n-3계열의 지방산을 혈청지질구성에 변화를 초래하여 관상심장계질환(coronary heart disease), 혈전증, 동맥경화를 예방하는 효과가 있다고 알려져왔는데 그 기전으로는 prostaglandin(PG)과 연관되어 설명되고 있다. Linoleic acid(n-6, LA)로부터는 응집을 촉진시키는 thromboxane(TXA)₂과 항 혈소판 응집작용을 나타내는 prostacyclin(PGI)₂이 합성되는데 어유등에 많이 포함된 n-3계열의 지방산으로부터 합성되는 eicosanoids의 3번째 계열인 PGI₃와 TXA₃는 인지질로부터 arachidonate(AA)가 분해되어 나오는 것과 생성되는 것을 저해하고 활성의 균형이 혈소판응집을 감소시키는 방향으로 전환시킨다고 알려져왔다²⁾³⁾.

그러나 동물실험 결과 고도의 불포화지방산의 섭취는 포화지방산에 비하여 종양세포의 성장을 촉진시키는 것으로 보고되었는데⁴⁾, 식이 지방산의 종류에 따라 막 인지질의 변화를 초래하게 되고 이것이 식이지방산의 종양 촉진 효과와 연관될 것으로 생각되어 왔다. 고도의 불포화지방산은 생체막의 유동성을 증가시키고 막 수송체거나 막 부착효소, 수용체 등의 활성도를 변화시키며, 한편으로는 지질과산화반응을 통해 영향을 미치는 것으로 생각되어지고 있다⁵⁾⁶⁾. 특히 간의 소포체(endoplasmic reticulum)는 여러 약물과 발암물질의 산화과정이 일어나는 곳으로 막의 integrity는 이들의 산화과정에 필수적이다. 간 소포체에서 막의

투과성과 안정성은 그것을 구성하고있는 지방산의 영향을 크게 받아, 연구에 따라 차이는 있으나 고 불포화지방산의 섭취는 쥐간에서 막에 부착된 효소계의 활성도를 증가시키는 것으로 보고되어 왔다⁷⁻⁹⁾. 그러나 들깨유나 어유는 그 구성되어 있는 지방산이 고도의 불포화지방산임에도 불구하고 종양발생율을 오히려 억제하는 것으로 보고되었다^{10) 11)}. 이러한 현상은 식이지방산과 세포막의 유동성과의 관계와 지질과산화반응만으로는 설명하기 어려운 문제이다. 최근에는 n-6계열의 지방산이 n-3계열의 지방산 보다 세포증식의 신호 변환 체계(signal-transduction system)를 종양세포의 증식을 촉진하는 방향으로 변화시킬 수 있다는 가정으로 설명하려고 하는데 그 결과가 주목되고 있다¹²⁾.

식물성 유지에 포함된 n-3계열 지방산인 linolenic acid(LnA)는 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA)의 전구체로 EPA, DHA로 전환이 가능하지만 능력은 제한되어 있으며 항 혈액 응집성, 항 고혈압성 효과는 EPA나 DHA에 비하여 낮다고 보고되었으나³⁾ 종양세포의 증식을 억제할 수 있는지에 대하여는 어유와 함께 그 효과에 대한 관심이 높아지고 있다. 본 실험에서 간 손상을 일으킬 수 있는 약물로 사용된 2-acetylaminofluorene(2-AAF)은 Sprague-Dawley종의 쥐에서 민감한 반응을 보이는 간암 유발물질로 간의 소포체(endoplasmic reticulum)의 약물대사효소계에서 hydroxylation이 된 후 sulfo-transferase에 의해 N-sulfoxy-2-AAF가 되어 활성화되기도 하고 glutathione과 conjugation하여 비활성화되기도 한다¹³⁾.

이에 본 연구에서는 필수 지방산이지만 불포화도가 높은 n-3계열 LnA를 다량 함유하고있으며 우리나라에서 많이 섭취되고 있는 들깨유가 쇠기름, 옥수수유와 비교하여 간암 유발물질인 2-AAF를 투여하였을 때 쥐 간 소포체막에서 지방산조성을

어떻게 변화시키는지 살펴보고, 지질과산화물 함량과 막 부착효소인 glucose 6-phosphatase의 활성도, cytochrome P-450 함량, cytosol에서 해독과정에 관계하는 효소인 glutathione S-transferase 활성도에 대한 영향을 알아 보고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물 사육

이유한 Sprague-Dawley종 숫쥐 40~80g된 것을 서울대학교 실험동물 사육장에서 공급받아 10마리씩 6군으로 나누어 정상조건 하에서 식이지방의 급원을 달리한 실험식으로 생후 3주부터 식이를 공급하여 7주 동안 사육 하였다. 이 때 온도, 습도, 채광은 각각 20±℃, 55±1%, 7:00~19:00로 조절하였으며, 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 쥐의 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다.

2. 실험식이 및 발암물질 투여

실험식의 지방수준은 식이의 15%(w/w)로 하였고 식이지방의 종류를 달리하여 포화 지방산의 급원으로 쇠기름, n-6계 불포화 지방산의 급원으로 옥수수유, n-3계열 불포화 지방산의 급원으로 들깨유를 각각 넣은 실험식을 공급하였다(Table 1). 모든 식이재료는 냉장보관하였다가 사용하였으며 매일 식이를 교환하여 공급하였다.

실험식을 먹이기 시작하여 10일 되는 날부터 간암 유발물질인 2-acetylaminofluorene(2-AAF)을 polyethylene glycol(PEG) 300에 녹여(1.67g 2-AAF/dl PEG), 50mg 2-AAF/kg BW의 수준으로 주 2회씩 총 11회 복강주사하였고, 대조군에는 PEG 300만을 주사하였다.

3. 시료의 수집

2-AAF를 최종적으로 처지한 3일후, 즉 쥐가 실험식을 공급한지 7주 되었을 때 12시간 금식시킨 후 decapitation에 의해 희생시켰다. 간을 절제하고 액체 질소로 급속 냉동시킨후 -70℃에서 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다.

간의 microsome과 cytosol분획은 Fleischer와 Kervina의 방법¹⁴⁾으로 분리하였다. 간 약 5g을 잘게

Table 1. Composition of experimental diets

Component/Diet	Beef tallow	Corn oil	Perilla oil
Corn starch	54.7	54.7	54.7
Vitamin-free casein	20.0	20.0	20.0
α-cellulose	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture ⁽¹⁾	1.0	1.0	1.0
Salt mixture ⁽²⁾	4.0	4.0	4.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3
Beef tallow	15.0	-	-
Corn oil	-	15.0	-
Perilla oil	-	-	15.0

(1) Nutritional Biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland, Ohio.

Vitamin mixture is composed of ; Vit.A Acetate (500,000 IU/g) 1.8g, Vit.D conc.(850,000 IU/g) 0.125g, α-Tocopherol(250 IU/g) 22.0g, Ascorbic acid 45.0g, Inositol 5.9g, Choline Chloride 75.0g, Menadione 2.25g, p-Aminobenzoic acid 5.0g, Niacin 4.25g, Riboflavin 1.0g, Pyridoxine hydrochloride 1.0g, Calcium pantothenic acid 3.0g, Biotin 0.02g, Folic acid 0.09g, Vitamin B₁₂ 0.00135g, and Dextrose to 1kg.

(2) Composition of Salt mixture, g/kg mixture : Ca-HPO₄ 500g, NaCl 74g, K₂SO₄ 52g, Potassium citrate monohydrate 22g, MgO 24g, Manganese Carbonate(43~48% Mn) 3.5g, Ferric Citrate (16~17% Fe) 6.0g, Zinc Carbonate 1.6g, Cupric Carbonate(53~55% Cu) 0.3g, KIO₃ 0.01g, Chromium Potassium Sulfate 0.55g, Na₂ScO₃ · 5H₂O 0.91g, Sucrose, finely powdered 118.0g.

다진 후 ice-cold homogenizing media(154mM KCl, 50mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, pH 7.) 25ml를 넣고 4℃에서 균질화 한 다음 4℃, 12,000xg에서 20분 동안 원심분리하였다. 세포조각들(cell debris)을 제거하고 상층액을 모아 다시 4℃, 105,000xg에서 1시간 동안 원심분리하여 cytosol과 microsome분획을 분리하고 microsome은 5ml의 homogenizing media로 부유시켜 소량씩 나누어 -70℃에서 냉동 보관하였다

4. 소포체막 지방질 분석

1) 지방질 추출

Bligh과 Dyer의 방법¹⁵⁾에 의하여 지질을 추출하

간 소포체막 지방산 조성과 Cyt P-450, GST 활성도

였다. Screw-cap tube에 methanol:chloroform: microsome solution(2:1:0.8, v/v)을 담은후 chloroform 1volume을 섞어 수용성 물질에서 지방이 분리되게 한 다음 물 1 volume을 첨가한 후 3000 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 chloroform 층만 취하였는데 2번 반복하였다. 마지막으로 하층액을 N₂로 증발 건조 시킨 후 소량의 chloroform으로 부유시켜 -70°C에서 냉동보관 하였다.

2) 지방산 조성의 분석

Chloroform에 부유시켰던 지질은 질소로 건조 시킨 후 0.5N methanolic NaOH 0.4ml를 첨가시켜 20분 동안 끓는 상온으로 시켰다. 여기에 0.5ml의 boron fluoride-methanol reagent를 첨가시킨 후 100 °C 끓는 물로 25분간 가열시킨 다음 얼음에서 식히고 물 1ml를 첨가시켜 반응을 정지시켰다. 생성된 methyl ester는 2ml의 petroleum ether를 첨가한 후 5분동안 3000rpm에서 원심분리하여 ether층(위층)을 취하여 N₂로 건조시켜 농축 시켰다.

지방산 함량은 GP 10% SP-2330 100/120 AW chromatocorb으로 입혀진 직경 0.25mm, 길이 30m의 capillary column을 장착하여 gas liquid chromatography(Hewlett Packard 5890)로 측정하였다. 결과는 standard fatty acid ester들의 retention time과 비교 측정하여 분석하였고 함량은 % total area로 계산 하였다.

5. 간 microsome에서의 지질과산화물 측정

간 microsome의 지질과산화물은 thiobarbituric acid(TBA) 방법을 이용하여 Vaca와 Harms-Ringdahl 등¹⁶⁾의 방법으로 malondialdehyde(MDA)의 양을 측정하였다. 회석시킨 microsome을 1ml 취하여 37°C에서 90분간 진탕가온하였다. 여기에 30% (v/v) trichloroacetic acid 1ml을 가하고 1% thiobarbituric acid 2ml을 첨가하여 끓는 물에서 10분간 중탕하였다. 이것을 빙수에 급격히 냉각시키고 4000rpm에서 10분간 원심분리하여 그 상층액을 532nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준 용액으로는 tetraethoxypropane(TEP)를 하용하였다.

6. Glucose 6-phosphatase 활성도 측정

간 microsome에서 Baginski 등¹⁷⁾의 방법으로 glucose 6-phosphatase 활성도를 측정하였다. Sucrose/EDTA(0.25M/1mM) 0.1ml, glucose 6-phosphate(0.1M) 0.1ml, cacodylate buffer(0.1M, pH 6.5) 0.1ml을 차례로 섞은 후 3mg protein/ml농도로 회석시킨 microsome을 0.1ml 넣고 37°C수조에서 5분간 활성화시켰다. Ascorbic acid/trichloroacetic acid용액(2%/10%, w/v)을 2.0ml를 첨가한 다음 3,000×g에서 3분간 원심분리 하여 상층액 1.0ml에 ammonium molybdate(1.0, w/v) 0.5ml와 arsenic/citrate 용액(each 2%, w/v) 1.0ml를 차례로 첨가하고 840nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

7. 간 microsome cytochrome P-450 함량 측정

간 microsome cytochrome P-450 함량은 Omura와 Sato¹⁸⁾의 방법으로 reduced carbon monoxide complex를 450nm와 490nm에서 spectrophotometer로 측정하였다.

Microsome 용액을 회석시켜 약 1mg/ml의 단백질 농도로 만든다음 CO gas로 1분간 bubbling 시켰다. CO gas로 처리한 회석용액을 3~5분 지난 후 base line을 측정하였다. 이어 sodium dithionite를 넣고 3분 후에 450nm와 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 이에 molar extinction coefficient는 91 mM⁻¹cm⁻¹로 하였다.

8. Glutathione S-transferase 활성도 측정

간 cytosol에서 glutathione S-transferase의 활성도는 Habig 등¹⁹⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. Cytosol을 1.5mg protein/ml 정도가 되도록 회석한 후 회석액 0.5ml에 1mM 환원형 glutathione(GSH) 1ml와 1mM CDNB(chlorodinitrobenzene) 1ml를 가하여 340nm에서 2분간 흡광도의 변화를 측정하였다. CDNB의 molar extinction coefficient는 9.6 mM⁻¹cm⁻¹로 하여 효소의 활성도를 계산하였다.

9. 단백질 함량 측정

간 cytosol 및 microsome의 단백질 농도는 bovine

Table 2. Fatty acid composition in hepatic microsomal membrane in 2-AAF treated rats

Fatty acid	Beef tallow (BT)	BT+2-AAF	Corn oil (CO)	CO+2-AAF	Perilla oil (PO)	PO+2-AAF
16 : 0	19.6±0.5 ^b	18.8±1.2 ^b	21.5±0.9 ^b	22.2±1.7 ^c	19.0±0.6 ^b	16.2±0.7 ^a
16 : 1	1.4±0.5 ^{ab}	2.3±0.3 ^{abc}	0.3±0.1 ^a	0.6±0.1 ^a	0.5±0.04 ^a	0.6±0.1 ^a
18 : 0	25.0±0.5 ^b	20.7±0.5 ^a	23.2±1.1 ^{ab}	25.1±2.0 ^b	25.3±1.2 ^b	22.7±0.9 ^{ab}
18 : 1	18.3±0.2 ^c	27.1±1.8 ^d	6.5±0.8 ^a	8.0±0.8 ^a	7.5±0.5 ^a	10.9±0.8 ^b
18 : 2	8.9±0.4 ^a	12.8±0.7 ^b	19.1±1.6 ^c	23.3±2.0 ^d	18.9±0.7 ^c	24.0±1.4 ^d
20 : 0	—	—	—	—	6.6±0.6 ^a	7.0±0.6 ^a
20 : 4	21.5±0.5 ^c	14.5±0.5 ^b	26.2±0.7 ^d	19.0±1.3 ^c	10.4±0.6 ^a	8.9±0.7 ^a
20 : 5	—	—	—	—	7.9±1.0 ^a	6.1±0.7 ^a
22 : 6	6.0±0.5 ^b	4.0±0.3 ^{ab}	3.5±0.2 ^{ab}	2.1±0.5 ^a	4.4±0.3 ^{ab}	3.8±0.4 ^{ab}
SFA	44.6±0.7 ^{ab}	39.5±1.4 ^a	44.7±3.7 ^{bc}	47.3±3.7 ^{bc}	50.8±0.9 ^c	45.9±1.1 ^{bc}
PUFA	36.4±0.6 ^b	31.3±0.5 ^a	48.7±1.4 ^d	44.3±3.1 ^{cd}	41.6±0.8 ^c	42.7±1.0 ^c
SFA/PUFA	1.2±0.0 ^b	1.3±0.0 ^b	0.9±0.1 ^a	1.1±0.2 ^c	1.2±0.1 ^b	1.1±0.1 ^{ab}

1) Values are mean±SE.

2) Means in a row with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test(P<0.05).

SFA : Saturated fatty acids

PUFA : Polyunsaturated fatty acids

serum albumin을 표준용액으로 하여 Lowry 등²⁰⁾의 방법으로 측정하였다.

10. 통계처리

실험결과는 SPSS를 이용하여 각 실험군 마다 평균과 표준오차를 계산하였고, p<0.05 수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의차를 검증하였다²¹⁾.

결과 및 고찰

간 microsomal의 지방산 조성에서(Table 2) 2-AAF를 투여하지 않았을 때의 세 군을 비교하면 식이의 지방산조성이 다른 것이 쥐 간의 microsomal의 지방산 조성에 잘 반영되어 18 : 3(n-3) 지방산이 많은 들기름을 섭취시킨 군은 다른 군과는 달리 20 : 0과 20 : 5 지방산이 측정되었다. 또한 BT군에 비하여 CO, PO군에서 18 : 2 지방산이 많이 나타났으며 특히 18 : 2(n-6) 지방산이 많은 옥수수유를 섭취시킨 CO군에서 20 : 4 지방산함량이 높게 나타났다. 발암물질의 투여가 간 microsomal의 지방산 조성에 미치는 영향을 살펴보면, 모든 식이지방산에서 2-AAF를 투여한 경우 투여하지 않은 군보다

18 : 2 지방산이 유의적으로 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 이는 phenobarbitone과 같은 약물이 쥐 간 소포체막에서 18 : 2 지방산함량을 증가시켰다는 보고⁵⁾²²⁾와 일치하는 결과로서 세포체막의 18 : 2 지방산이 증가할수록 막의 유동성과 투과성이 증가한다는 보고들¹²⁾²³⁾과 연관하여 외부로부터 투입된 화학물질을 대사시키는데 필요한 세포내 물질 통과를 좀 더 용이하게 하려는 세포내 조절작용의 하나로 추측된다. 또한 Hietanen 등은²⁴⁾ 유방암 환자의 종양조직에서는 정상 조직에 비하여 불포화지방산인 oleic(18 : 1) linoleic(18 : 2), eicosatrienoic(20 : 3), arachidonic acid(20 : 4)가 많았고 포화지방산인 stearic(18 : 0), palmitic acid(16 : 0)는 적었으며 증식되고있는 유방암 세포에서 정상세포에서 보다 linoleic acid(18 : 2) 함량이 높았다고 보고하였는데 종양세포에서는 세포증식을 위해 필수 지방산의 필요성이 높아지고 linoleic acid가 이 역할을 담당할 것으로 생각된다. 이러한 보고들은 고도의 불포화지방산이 종양세포의 증식을 촉진시키는 기전 중의 하나로서 간 소포체막의 지방산 조성의 변화, 즉 불포화지방산의 증가가 세포증식을 촉진할 것이라는 가정을 뒷받침한다. 그러나 이

간 소포체막 지방산 조성과 Cyt P-450, GST 활성도

Table 3. Effects of dietary fats and 2-AAF on the hepatic microsomal lipid peroxide contents and glucose 6-phosphatase activities

Group	lipid peroxide (nmoles malondialdehyde/ mg protein)	Glucose 6-phosphatase (nmoles Pi liberated/ min/mg protein)
Beef tallow(BT)	0.091± 0.006 ^{ab}	450.78± 25.33 ^c
BT+2-AAF	0.072± 0.014 ^a	263.06± 24.27 ^a
Com oil(CO)	0.129± 0.012 ^c	354.11± 32.03 ^b
CO+2-AAF	0.070± 0.008 ^a	202.22± 20.12 ^a
Perilla oil(PO)	0.117± 0.010 ^{bc}	217.80± 7.35 ^a
PO+2-AAF	0.070± 0.012 ^a	212.70± 6.98 ^a

1) Values are mean± SE.

2) Means in a column with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test(P<0.05).

실험결과로는 PO군과 CO군에서 18:2 지방산의 함량에 유의적인 차이가 없어 n-3계 지방산의 증양억제효과는 또다른 요인이 작용할 것으로 생각된다.

Microsome의 지질과산화물의 함량은 2-AAF를 투여하지 않은 식이군에서 비교하면(Table 3) CO군이 BT군 보다 높게 나타났고 2-AAF를 투여한 경우는 모든 식이군에서 감소하는 경향을 보였다. 이러한 경향은 다른 연구에서 발암물질의 투여에 의해 세포내 지질과산화물이 증가한다는 결과²⁵⁾와 일치하지 않는 것으로 본 실험의 경우는 발암물질의 투여횟수가 많아(주 2회) 지속적으로 발암물질에 노출된 세포의 막구조 자체가 손상되었거나 발암물질로 인하여 지속적으로 증가된 지질과산화물이 세포의 방어기전을 오히려 지질과산화물을 제거하는 방향으로 적응시켰을 가능성을 생각할 수 있지만 이 실험결과만으로는 추측하기 어려운 문제이다. 이 실험에서 식이 지방산의 불포화도는 옥수수유(p/s 2.92)보다 들깨유(p/s 9.67)가 높은데도²⁶⁾ 불구하고 간 microsome의 지질과산화물 함량에는 두 식이지방군 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않아 지질과산화반응은 단순한 식이지방의 불포화도의 문제가 아니라 식이지방의 종류에 따라 달라질 수 있음을 시사한다.

Glucose 6-phosphatase(G6Pase)는 간 소포체막에 부착되어 간 세포가 손상되거나 종양생성시 활성도가 감소한다고 알려져 있는데²⁷⁾ 본 실험결과(Ta-

ble 3)에서는 G6Pase의 활성도가 2-AAF를 투여하지 않은 경우 쇠기름, 옥수수유, 들깨유군의 순으로 낮아져 들기름 옥수수유에 비하여 간손상을 방지하는 효과를 나타내지는 않았다. 이와달리 본 실험실의 다른 실험결과²⁸⁾에서는 들기름식이군의 G6Pase활성도가 옥수수유나 쇠기름식이군과 유의적인 차이를 보이지 않아 앞으로도 계속적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

Cytochrome P-450
(µmoles/mg protein)

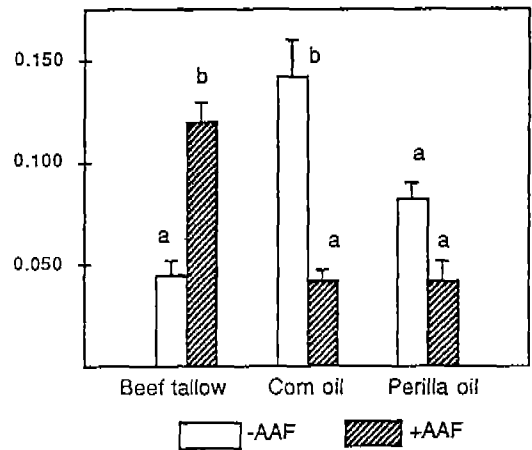


Fig. 1. Effects of dietary fats and 2-AAF on the hepatic microsomal cytochrome P-450 contents. Means with the same letter are not significantly different at P<0.05 level by Duncan's multiple range test.

Cytochrome P-450의 함량(Fig. 1)은 BT군에서 2-AAF의 투여에 의해 유의적으로 증가하였는데 이것은 외부물질의 투여가 cytochrome P-450의 합성을 유도한다는 보고¹³⁾와 일치하나 CO군에서는 2-AAF의 투여시 오히려 감소하는 경향을 보였고 PO군에서는 유의적인 변화가 없었다. 이 결과는 발암물질의 지속적인 투여가 n-6계 지방산이 풍부한 CO군에서만 이 약물대사효소단백질을 손상시킨 것인지 이 실험결과 만으로는 단정하기 어렵다. 2-AAF를 투여하지 않은 세식이군 사이에서는 CO군에서는 PO군이나 BT군 보다 Cytochrome P-450의 함량이 높게 나타났는데 이는 불포화지방산 식이가 약물대사활성도를 높인다는 다른 보고들⁷⁾⁸⁾과 일치하나 PO군과 BT군사이에 유의적인 차이가 없어 Cytochrome P-450의 함량도 지방산의 종류에 영향을 받을 수 있는 것으로 나타났다.

Glutathione S-transferase(GST)는 1단계 약물대사효소계에서 활성화된 친전자성 물질에 glutathione을 conjugation시켜 수용성 물질로 배설시키는 데 관여하는 효소로서 발암물질의 투여에 의한 발암과정에서도 GST활성도가 증가된다고 보고되

었다²⁸⁾. 이 실험에서 GST 활성도(Fig. 2)는 세식이군 모두 2-AAF에 의해 증가하였다. 이 결과는 본 실험실의 다른 실험들³⁰⁾³¹⁾과도 일치하는 것으로 막의 지질과산화물을 효과적으로 제거하는데 효과적으로 작용하였을 것이다. 한편 2-AAF를 투여하지 않은 식이군에서도 CO군에 비하여 유의적으로 GST 활성도가 높게 나타났고 PO군은 BT군이나 CO군에 비하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이 결과에서도 들깨유군에서 옥수수유군에 비하여 GST 활성도가 높아지지 않은 것은 불포화지방산으로 인한 oxidant stress 역시 단순한 불포화도의 문제가 아니라 식이지방의 종류에 따라 달라질 수 있음²²⁾을 보여준다.

들깨유는 n-3계열 지방산의 좋은 공급원으로 종양발생을 억제하는 효과에 관여하는 것으로 지속적인 연구가 필요하다고 생각되며 불포화지방산의 과량섭취는 식품을 저장하는 동안 뿐 아니라 섭취 후 세포막 조직에서도 지질과산화를 초래하여 세포기능을 파괴시킬 수 있으므로 n-3계열의 지방이라도 지속적인 섭취는 주의하여야 할 것이다.

결론

Glutathione S-transferase
(nmoles CDNB conjugated/min/mg protein)

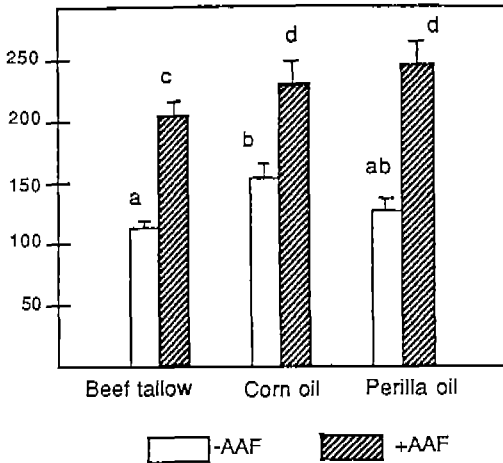


Fig. 2. Effects of dietary fats and 2-AAF on the hepatic microsomal glutathione S-transferase activity. Means with the same letter are not significantly different at $P < 0.05$ level by Duncan's multiple range test.

Sprague-Dawley 숫쥐를 식이지방의 공급원을 쇠기름(beef tallow), 옥수수유(corn oil), 들깨유(perilla oil)로 달리하여 이유 후 7주 동안 섭취시킨 후 microsome의 지방산조성과 지질과산화를 함량, cytochrome P-450 함량, glucose 6-phosphatase, glutathione S-transferase의 활성도를 측정하였다.

간 microsome의 지방산 조성은 2-AAF를 투여하지 않은 세 군을 비교하면 식이지방산 조성이 잘 반영되어 BT군에 비하여 CO, PO군에서 18:2 지방산이 많이 나타났으며 특히 18:2(n-6)가 많은 CO군이 20:4함량이 높게 나타났다.

Microsome의 지질과산화물의 함량은 2-AAF를 투여하지 않은 식이군에서 비교하면 CO군이 BT군 보다 높게 나타났고 2-AAF를 투여한 경우는 모든 식이군에서 감소하는 경향을 보였다.

Glucose 6-phosphatase(G6Pase)의 활성도는 간 세포가 손상되거나 종양생성시 감소한다고 알려져

있는데 본 실험에서 G6Pase의 활성도는 BT, CO, PO군 순으로 낮아졌다.

Cytochrome P-450의 함량은 BT군에서는 2-AAF의 투여에 의해 유의적으로 증가하였고 CO군에서는 2-AAF의 투여시 오히려 감소하는 경향을 보였으며 2-AAF를 투여하지 않은 세 식이군 중에서는 CO군에서는 가장 높게 나타났다.

Glutathione S-transferase(GST) 활성도는 세 식이군 모두 2-AAF에 의해 증가하였고 2-AAF를 투여하지 않은 식이군에서도 CO군이 BT군에 비하여 유의적으로 GST 활성도가 높게 나타나 구성지방산의 종류에 따라 식이지방 자체만으로도 oxidant stress가 다르게 증가할 수 있음을 시사한다.

<본 연구에 사용한 쇠기름은 (주)롯데제과, 들깨유는 (주)풀무원, 옥수수유는 (주)하인즈에서 one-batch type을 기증하여 주셨습니다.>

Literature cited

- 1) Bersot TP, Mahley RW. Mechanism of atherogenesis in diet-induced hyperlipidemia. In: Perkins, EG, Visek, WJ, ed. Dietary fats and health pp. 550-653, Am Oil Chemists Soc, 1983
- 2) 대한가정학회편, 가정학연구의 최신정보 III pp. 13-36, 교문사, 서울, 1990
- 3) Hennekens CH, Buring JE, Mayrent SL. Clinical and epidemiological data on the effect of fish oil in cardiovascular disease. In: Lees RS, Karel M, ed. Omega-3 fatty acids in health and disease pp. 71-86, Marcel Dekker, New York and Basel, 1990
- 4) Hopkins GJ, Kennedy TG, Carrol KK. Polyunsaturated fatty acids as promoters of mammary carcinogenesis induced in Sprague-Dawley rats by 7, 12-dimethyl-benz(a)anthracene. *J Natl Cancer Inst* 66 : 517-522
- 5) Hammer CT, Wills ED. The effect of dietary fats on the composition of the liver endoplasmic reticulum and oxidative drug metabolism. *Br J Nutr* 41 : 465-475, 1979
- 6) Lai CS, Hopwood LE, Swartz HM. Electron spin resonance studies of changes in membrane fluidity of chinese hamster ovary cells during the cell cycle. *Biochim Biophys Acta* 602 : 117-126, 1980
- 7) Norred WP, Wade AE. Effect of dietary lipid ingestion on the induction of drug metabolizing enzymes by phenobarbital. *Biochem Pharmacol* 22 : 432-436, 1973
- 8) Wade AE, Norred WP. Effect of dietary lipid on drug metabolizing enzymes. *Fed Proc* 335 : 2475-2479, 1976
- 9) Hopkins GJ, West CE. Effect of dietary fats on pentobarbitone-induced sleeping times and hepatic microsomal cytochrome P-450 in rats. *Lipids* 11 : 736-740, 1976
- 10) Hirose M, Masuda A, Ito N, Kanano K, Okuyama H. Effects of dietary perilla oil, soybean oil and safflower oil on 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) and 1, 2-dimethylhydrazine-induced mammary gland and colon carcinogenesis in female SD rats. *Carcinogenesis* 11731-735, 1990
- 11) Karmall RA, Marsh J, Fuchs C. Effects of omega-3 fatty acids on growth of a rat mammary tumor. *J Natl Cancer Inst* 73 : 457-461, 1981
- 12) Williams CM, Dickerson WT. Nutrition and cancer-some biochemical mechanisms. In: Smith RH ED. Nutrition research reviews pp 84-86, Cambridge University Press, 1990
- 13) Astrom A, DePierre JW. Characterization of the induction of drug metabolizing enzymes by 2-acetylaminofluorene. *Biochim Biophys Acta* 673 : 225-233, 1981
- 14) Fleischer S, Kervina M. Subcellular fractionation of rat liver. *Method Enz* 31 : 6-13, 1974
- 15) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
- 16) Vaca CE, Harms-Ringdahl M. Lipid peroxidation on the rat liver S9 fraction: Influence of membrane lipid composition. *Mutation Res* 162 : 21-32, 1986
- 17) Baginski ES, Foa PP, Zak B. Glucose 6-phosphatase. *Method Enz Anal* 2 : 876-880, 1974
- 18) Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J Biol Chem* 29 : 2370-2378, 1964
- 19) Habig WH, Pabst MJ, Jakboy WB. Glutathione S

- transferease. *J Biol Chem* 249 : 7130-7139, 1974
- 20) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 21) 송일성. SPSS/PC⁺ 기초통계분석. 자유아카데미, 1990
- 22) Davison SC, Wills ED. Studies on the lipid composition of the rat liver endoplasmic reticulum after induction with phenobarbitone and 20-methylcholanthrene. *Biochem J* 140 : 461-468, 1974
- 23) Brun CP, Luttenegger DG, Dudley DT, Buettner GR, Spector AA. Effect of modification of plasma membrane fatty acid composition on fluidity and methotrexate transport in L1210 murine leukemia cells. *Cancer Res* 39 : 1726-1732, 1979
- 24) Hietanen E, Punnonen K, Punnonen R, Auvinen O. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids and lipid peroxidation in human breast cancer. *Carcinogenesis* 7 : 1965-1969, 1986
- 25) Ames BB. Dietary carcinogenesis and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative disease. *Science* 221 : 1256-1264, 1984
- 26) 황성자, 고영수. 한국산 식물 식용유지의 성분에 관한 연구. *한국영양학회지* 15 : 15-27, 1982
- 27) Wills ED. Effects of lipid peroxidation on membrane-bound enzyme of the endoplasmic reticulum. *Biochem J* 123 : 983-991, 1971
- 28) 짝충실. 식이지방이 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐 간에서 지질과산화물, 약물대사효소 및 eicosanoid 생성에 미치는 영향. 서울대학교 대학원 이학박사 학위논문, 1991
- 29) Kitahara A, Satoh K, Nishimura K, Ishikawa T, Ruike K, Sato K, Tsuda H, Ito N. Changes in molecular forms of rat hepatic glutathione S-transferase during chemical hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 44 : 2698-2703, 1984
- 30) Kim HA, Choi H. Effects of 2-acetylaminofluorene and choline deficiency on lipid peroxidation, glucose 6-phosphatase and glutathione S-transferase activities in rats fed different dietary fats. *Koreana J Nutr* 23 : 418-426, 1990
- 31) Kim HA, Kim HD, Choi H, Lee JH. Effects of fatty acid composition and butylated hydroxytoluene on the lipid peroxide metabolizing enzyme activities in 2-acetylaminofluorene treated rat liver. *Korean Biochem J* 23 : 302-307, 1990
- 32) Kuratko C, Pence BC. Changes in colonic antioxidant status in rats during long-term feeding of different high fat diet. *J Nutr* 121 : 1562-1569, 1991