

## 쥐에서 2-Acetylaminofluorene의 투여시기에 따라 식이지방이 간의 지질과산화물 대사 및 Cytochrome P450 함량에 미치는 영향\*

유정순 · 김초일 · 장경자

인하대학교 식품영양학과

Effects of 2-Acetylaminofluorene Injection Time on the Hepatic Lipid Peroxide Metabolism and Cytochrome P450 Contents in Rats Fed Different Dietary Fats

You, Jeong Soon · Kim, Cho-il · Chang, Kyung Ja

*Department of Food and Nutrition, Inha University, Incheon, Korea*

### ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effects of 2-AAF injection time on hepatic lipid peroxide metabolism and cytochrome P450 content in Sprague-Dawley rats fed diets containing high amounts of vegetable oils or animal fats(15%, w/w). Fifty mg of 2-AAF/kg of body weight/day was injected in PEG 300 intraperitoneally for 3 consecutive days after 4 or 8 weeks to rats fed corn oil(CO) or lard(LA) diet. The contents of lipid peroxide and cytochrome P450, and the activities of superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-peroxidase) and glutathione S-transferase(GSH-S-transferase) were determined in hepatic microsomal or cytosolic fraction. Microsomal thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) and cytochrome P450 contents increased in CO group injected 2-AAF after 4weeks. Cytosolic SOD activity increased in CO group injected 2-AAF after 4 weeks and in LA group injected 2-AAF after 4 or 8 weeks. Cytosolic GSH-peroxidase activity increased in CO group injected 2-AAF after 4 weeks and in LA group injected 2-AAF after 8 weeks. Cytosolic GSH-S-transferase activity increased in LA group compared to CO group without 2-AAF injection. GSH-S-transferase activity increased in CO group injected 2-AAF after 4 or 8 weeks and in LA group injected 2-AAF after 4 weeks. Therefore, it may be suggested that 2-AAF injection increase the contents of lipid peroxide or cytochrome P450, and detoxifying enzyme activities in rats fed CO diet for short period and in rats fed LA diet for longer period.

**KEY WORDS** : dietary fats · 2-AAF · carcinogenesis · lipid peroxide · cytochrome P450.

채택일 : 1994년 4월 26일

\*본 연구는 1991년도 한국과학재단 신진연구비 지원에 의하여 수행되었음.

## 서 론

최근에 우리 나라에서도 소득의 향상과 함께 육류의 섭취가 증가되었으며, 이로 인한 포화지방산의 섭취증가는 심장혈관질환의 위험요소가 되고 있다. 심장혈관질환에 대한 우려에서 포화지방산의 함량이 높은 동물성 지방대신 불포화지방산의 함량이 높은 식물성유지 등의 섭취가 증가되었는데, 이로 인한 과도한 불포화지방산의 섭취는 암발생을 촉진시킨다고 보고되었다<sup>1)2)</sup>.

불포화지방산의 섭취는 생체내의 지질과산화반응과 관련되고, 이로부터 과도하게 생성된 유리 radical이 단백질이나 DNA같은 세포내 거대분자에 손상을 줌으로써 암발생과 밀접한 관계가 있다고 알려져 왔다<sup>3)4)</sup>. 지질 과산화 반응은 세포막 인지질의 불포화지방산의 함량이 높을수록 더 잘 발생하게 되며, 세포막의 지방산조성은 식이지방에 의해 영향을 받는다<sup>5)</sup>. 실험동물에 발암물질을 투여하여 암을 유발시키는 경우에는 포화지방산에 비해 linoleic acid등의 불포화지방산이 중요한 역할을 한다고 보고되었다<sup>6-8)</sup>.

활성화된 산소( $O_2^-$ ,  $OH\cdot$ ,  $\cdot O_2$ ,  $\cdot OOH$ )가 세포내에서 증가하면 세포막의 불포화지방산의 과산화반응을 촉진시켜 암의 개시와 성장에 관여한다<sup>9)</sup>. 정상적인 경우에 유리 radical은 radical scavenger 및 해독효소들에 의해 제거된다<sup>10)11)</sup>. 동물실험을 통해 알려진 radical scavenger로는  $\alpha$ -tocopherol, vitamin A, vitamin C, glutathione, selenium등이 있으며, 지질 과산화 반응으로부터 생체를 보호하는 해독효소체계에는 superoxide dismutase(SOD)<sup>11)</sup>, catalase<sup>11)12)</sup>, glutathione peroxidase(GSH peroxidase)<sup>13)</sup>, glutathione S-transferase(GSH S-transferase)<sup>13-15)</sup>등이 있다.

2-acetylaminofluorene(2-AAF)같은 간에 대한 강력한 발암물질을 투여하여 유발되는 암은 불포화지방산을 포함하는 지질 과산화 반응을 통한 유리 radical 생성과 관련되어 나타나게 된다<sup>16-18)</sup>. 체외에서 들어오는 환경물질을 대사하는 과정은 주로 간 소포체에서 이루어지며, 이 과정중에 산소 radi-

cal이나  $H_2O_2$ 를 생성하는 cytochrome P450 의존성 mixed function oxidase(MFO)계의 활성도도 생체막조성에 따른 유연도에 영향을 받아서, 불포화지방산을 계속 섭취하면 증가되는 경향을 보인다고 한다<sup>19-24)</sup>. 식이지방의 지방산 조성에 따라 세포막 인지질의 지방산 조성, 지질 과산화 반응, 효소의 활성도 등이 다르게 나타나며, 이로 인해 2-AAF의 발암성에 영향을 미칠 수 있다.

식이지방은 주로 간의 암화과정의 개시단계에 영향을 주며, 간의 발암물질을 투여하기 전에 불포화지방산이 풍부한 식이를 먹은 쥐에서 간 종양 발생이 증가하였지만 발암물질을 투여한 후에는 식이지방에 의한 영향은 나타나지 않았다<sup>21)25)</sup>. 그러므로, 본 연구에서는 linoleic acid와 같은 불포화지방산 함량이 높은 식물성 유지와 상대적으로 포화지방산 함량이 높은 동물성 지방을 식이로 공급하여, 강력한 간암 유발물질인 2-AAF의 투여 시기를 달리했을 때 간 조직의 지질 과산화물 함량, cytochrome P450 및 과산화물 대사 관련효소인 SOD, GSH peroxidase, GSH-S-transferase의 활성도를 살펴보고자 한다.

## 실험방법

2-AAF의 발암성에 가장 민감한 Sprague-Dawley 숫쥐를 이유기(50~60g)에 공급받아 각 군당 8마리씩 6군으로 나눈 다음 정상조건에서(온도, 습도, 채광을 각각  $20 \pm 1^\circ C$ ,  $55 \pm 1\%$ , 7:00~19:00) 식이지방을 달리한 실험식으로 사육하였다. 각 식이군을 대조군과 처치군으로 하여 처치군은 corn oil과 lard로 구성된 식이로 각각 4주 사육후와 8주 사육후에 2-AAF를 PEG 300에 녹여 복강주사로 체중 kg당 50mg의 수준으로 3일간 매일 1회씩 투여했으며, 4주후에 투여한 군은 2-AAF 처치이후 실험 식이로 사육했다(Table 1). 식이중에 지방의 함량은 corn oil(P/S; 4.00)과 lard(P/S; 0.26)로 각각 총 무게당 15% 수준으로 하고, 에너지 및 다른 영양소의 함량은 모두 같게 semisynthetic diet를 만들어 사용하였다(Table 2).

각 실험군을 9주 사육후 12시간 이상 금식시키고

2-AAF와 지질과산화물 대사

Table 1. Experimental design(n<sup>1</sup>=8)

Group	Subgroup	Diet	Treatment
Corn oil (CO) (P/S <sup>2</sup> ) : 4.00	CO 1	Diet I	-
	CO 2	Diet I	AAF 50mg/kg B.W after 4 wks
	CO 3	Diet I	AAF 50mg/kg B.W after 8 wks
Lard (LA) (P/S : 0.26)	LA 1	Diet II	-
	LA 2	Diet II	AAF 50mg/kg B.W after 4 wks
	LA 3	Diet II	AAF 50mg/kg B.W after 8 wks

- 1) Number of animals in each subgroup  
2) P/S : polyunsaturated fatty acid/saturated fatty acid

Table 2. Composition of experimental diet(g/100g diet)

Ingredient	Group	
	Diet I	Diet II
Corn starch	54.7	54.7
Casein	20.0	20.0
Cellulose	5.0	-
Corn oil	15.0	-
Lard	-	15.0
Vitamin mixture <sup>1)</sup>	1.0	1.0
Salt mixture <sup>2)</sup>	4.0	4.0
DL-methionine	0.3	0.3

- 1) Nutritional Biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland, Ohio. Vitamin mixture is composed of ; Vit. A acetate(500,000 IU per g) 1.8g, Vit. D conc.(850,000 IU per g) 0.125g,  $\alpha$ -Tocopherol (250 IU per g) 22.0g, Ascorbic acid 45.0g, Inositol 5.0g, Choline chloride 75.0g, Menadione 2.25g, p-Aminobenzoic acid 5.0g, Niacin 4.25g, Riboflavin 1.0g, Pyridoxine hydrochloride 1.0g, Calcium Pantothenate 3.0g, Biotin 0.02g, Folic acid 0.09g, Vitamin B<sub>12</sub> 0.00135g, and Dextrose to 1kg.  
2) Composition of salt mixture, g/kg mixture ; Ca-HPO<sub>4</sub> 500g, NaCl 74g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g, Potassium Citrate Monohydrate 220g, MgO 24g, Manganous Carbonate(43-48% Mn) 3.5g, Ferric Citrate(16-17% Fe) 6.0g, Zinc Carbonate 1.6g, Cupric Carbonate(53-55% Cu) 0.3g, KIO<sub>3</sub> 0.01g, Chromium Potassium sulfate 0.55g, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.01g, Sucrose finely powdered 118.0g.

decapitation하여 즉시 간을 절제하고 ice-cold saline solution으로 세척한 다음 여과지에 놓아 여분의 물을 흡수시키고 중량을 측정하였다. Homogenizer를 사용하여 150mM KCl, 10mM phosphate buf-

fer(pH 7.4) 완충용액으로 20% 균질용액을 만든 후, high-speed centrifuge를 이용하여 4℃, 105000 xg에서 1시간동안 원심분리한 후, 상층액을 cytosol 분획으로 하였고, microsomal 분획은 150mM KCl, 10mM phosphate buffer(pH 7.4) 완충용액 5ml로 부유시켜 일정량씩 microtube에 담아 -70℃에서 냉동보관하였다가 실험에 사용하였다.

간 microsomal의 지질 과산화물은 thiobarbituric acid 방법을 이용하여 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)의 양을 측정하였다<sup>26)</sup>.

간 microsomal의 cytochrome P450 함량은 Omura와 Sato의 방법<sup>27)</sup>을 개선한 방법으로 측정하였다<sup>28)</sup>.

간 cytosol의 SOD의 활성도는 riboflavin 환원에 의해 생성된 O<sub>2</sub>에 의한 nitrobluetetrazolium의 환원을 SOD가 억제하는 정도를 측정하는 Winterbourn의 방법으로 측정하였다<sup>29)</sup>.

간 cytosol의 GSH peroxidase의 활성도는 Paglia와 Valentine의 방법을 개선한 Tappel의 방법을 이용하였다<sup>30)</sup>.

간 cytosol의 GSH S-transferase 활성도 측정은 chlorodinitrobenzene(CDNB)을 기질로 사용하는 Habig등의 방법을 이용하였다<sup>31)</sup>.

간 cytosol 및 microsomal의 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준용액으로 사용하여 Lowry등의 방법을 이용하였다<sup>32)</sup>.

실험 결과는 SAS를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준오차를 계산하였으며,  $\alpha=0.05$  수준에서 ANOVA Duncan's multiple range test에 의하여 실험군간의 유의차를 검증하였다<sup>33)</sup>.

결 과

2-AAF의 투여전에 linoleic acid와 같은 불포화지방산 함량이 높은 식물성 유지와 상대적으로 포화지방산 함량이 높은 동물성 지방을 식이로 공급한 기간에 따른 지질 과산화물 대사 및 cytochrome P 450 함량에 미치는 영향을 살펴보고자, corn oil과 lard로 구성된 식이로 각각 4주 사육후와 8주 사육후에 2-AAF를 PEG 300에 녹여 복강주사로 체중 kg당 50mg의 수준으로 3일간 매일 1회씩 투여했으며, 4주 후에 투여한 군은 2-AAF 처리후 실험 식이로 사육했다.

간 microsome의 지질 과산화물로서 TBARS 함량을 측정된 결과(Table 3), 2-AAF를 투여하지 않은 lard군(LA 1)에서 corn oil군(CO 1)에서 보다 증가하는 경향을 보이나 유의적인 차이는 아니었다. 4주후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 2)에서는 대조군(CO 1)에 비해 유의적으로 TBARS 함량이 증가했으며, 8주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 3)에서는 TBARS 함량이 증가하는 경향은 보이나 유의적이 아니었고, lard군에서는 2-AAF의 투여는 투여시기에 상관없이 TBARS 함량에 영향을 미치지 않았다.

간 microsome의 cytochrome P450 함량은 2-

AAF를 투여하지 않은 lard군(LA 1)에서 corn oil군(CO 1)에서보다 증가하는 경향을 보이나 유의적인 차이는 아니었다(Table 4). 4주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 2)에서 대조군(CO 1)에 비해 유의적으로 cytochrome P450 함량이 증가하였으며, 8주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 3)에서는 대조군(CO 1)에 비해 증가하는 경향을 보이나 유의적인 차이는 아니었다. 4주 후에 2-AAF를 투여한 lard군(LA 2)에서는 cytochrome P450 함량의 변화가 없었고, 8주 후에 2-AAF를 투여한 lard군(LA 3)에서는 대조군(LA 1)에 비해 오히려 감소하는

**Table 4.** Effects of 2-AAF injection time on hepatic microsomal cytochrome P450 content in rats fed different dietary fats

Group	Subgroup (n <sup>1</sup> )=8)	Cytochrome P450 content (nmol mg protein)
Corn oil (CO)	CO 1	0.292±0.038 <sup>b2)3)</sup>
	CO 2	0.488±0.045 <sup>a</sup>
	CO 3	0.361±0.038 <sup>ab</sup>
Lard (LA)	LA 1	0.372±0.039 <sup>ab</sup>
	LA 2	0.346±0.039 <sup>ab</sup>
	LA 3	0.289±0.050 <sup>b</sup>

1) Number of animals in each subgroup

2) Values are mean±S.E.

3) Mean with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

**Table 3.** Effects of 2-AAF injection time on hepatic microsomal lipid peroxide content in rats fed different dietary fats

Group	Subgroup (n <sup>1</sup> )=8)	Lipid peroxide content (nmol TBARS/mg protein)
Corn oil (CO)	CO 1	0.097±0.009 <sup>b2)3)</sup>
	CO 2	0.206±0.038 <sup>a</sup>
	CO 3	0.132±0.002 <sup>ab</sup>
Lard (LA)	LA 1	0.149±0.015 <sup>ab</sup>
	LA 2	0.149±0.013 <sup>ab</sup>
	LA 3	0.152±0.027 <sup>ab</sup>

1) Number of animals in each subgroup

2) Values are mean±S.E.

3) Mean with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

**Table 5.** Effects of 2-AAF injection time on hepatic cytosolic superoxide dismutase(SOD activity in rats fed different dietary fats)

Group	Subgroup (n <sup>1</sup> )=8)	SOD activity (unit/mg protein)
Corn oil (CO)	CO 1	385.36±79.54 <sup>b2)3)</sup>
	CO 2	775.71±137.90 <sup>a</sup>
	CO 3	578.19±16.80 <sup>ab</sup>
Lard (LA)	LA 1	266.42±21.46 <sup>c</sup>
	LA 2	649.42±95.57 <sup>a</sup>
	LA 3	698.24±67.49 <sup>a</sup>

1) Number of animals in each subgroup

2) Values are mean±S.E.

3) Mean with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

경향을 보이거나 유의적인 차이는 아니었다.

간 cytosol의 SOD의 활성도는 단백질 농도를 기준으로 nitrobluetetrazolium의 최대환원을 50% 저지한 SOD 양을 1 unit로 표시하였다. 2-AAF를 투여하지 않은 corn oil군(CO 1)에서 lard군(LA 1)에서 보다 SOD 활성도가 증가하는 경향을 보이거나 유의적인 차이는 아니었으며, 2-AAF 투여시 두 군 모두에서 SOD 활성도가 증가하였다(Table 5). 4주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil(CO 2)에서 8주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 3)에 비해 SOD 활성도는 증가하는 경향을 보이거나 유의적인 차이는 아니었으며, lard군(LA 2와 LA 3)에서는 2-AAF의 투여시기에 의한 영향은 없었다.

간 cytosol의 GSH-peroxidase의 활성도는 mg protein당 1분 동안 산화되는 NADPH의 nmol 수로 나타내었다. 2-AAF를 투여하지 않은 lard군(LA 1)에서 corn oil군(CO 1)에 비해 GSH-peroxidase 활성도는 유의적으로 증가하였다(Table 6). 4주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 2)에서 대조군(CO 1)에 비해 유의적으로 GSH-peroxidase의 활성도가 증가하였으며, 8주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 3)에서는 대조군(CO 1)에 비해 약간 증가하는 경향은 있으나 유의적인 차이는 아니었다. 4주 후에 2-AAF를 투여한 lard군(LA 2)에서는 대조군(LA 1)에 비해 GSH-peroxidase의 활성도가 영향을 받지

**Table 6.** Effects of 2-AAF injection time on hepatic cytosolic glutathione peroxidase activity in rats fed different dietary fats

Group	Subgroup (n <sup>1</sup> )=8	Glutathione peroxidase activity (nmol NADPH/mg protein/min)
Corn oil (CO)	CO 1	9.066± 1.757 <sup>d2)3)</sup>
	CO 2	22.520± 3.541 <sup>c</sup>
	CO 3	11.649± 0.293 <sup>d</sup>
Lard (LA)	LA 1	35.362± 6.502 <sup>b</sup>
	LA 2	34.147± 4.433 <sup>b</sup>
	LA 3	101.030± 15.186 <sup>a</sup>

- 1) Number of animals in each subgroup
- 2) Values are mean± S.E.
- 3) Mean with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

**Table 7.** Effects of 2-AAF injection time on hepatic cytosolic glutathione S-transferase activity in rats fed different dietary fats

Group	Subgroup (n <sup>1</sup> )=8	Glutathione S-transferase activity (nmol CDNB conjugated/mg protein/min)
Corn oil (CO)	CO 1	234.67± 32.57 <sup>d2)3)</sup>
	CO 2	545.91± 13.34 <sup>c</sup>
	CO 3	634.96± 14.89 <sup>abc</sup>
Lard (LA)	LA 1	594.16± 25.99 <sup>bc</sup>
	LA 2	784.24± 43.90 <sup>a</sup>
	LA 3	746.33± 116.16 <sup>ab</sup>

- 1) Number of animals in each subgroup
- 2) Values are mean± S.E.
- 3) Mean with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple range test.

않았지만, 8주 후에 2-AAF를 투여한 lard군(LA 3)에서는 대조군(LA 1)에 비해 유의적으로 증가하였다.

간 cytosol의 GSH-S-transferase의 활성도는 2-AAF를 투여하지 않은 lard군(LA 1)에서 corn oil군(CO 1)에 비해 유의적으로 증가하였다(Table 7). 4주 후에 2-AAF 투여시 두 식이지방군 모두(CO 2와 LA 2)에서 식이만 공급한 대조군(CO 1와 LA 1)보다 GSH-S-transferase의 활성도가 유의적으로 증가하였다. 8주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 3)에서는 식이만 공급한 대조군(CO 1)보다 GSH-S-transferase의 활성도가 유의적으로 증가하였으며, 8주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군(CO 3)과 4주 후에 투여한 corn oil군(CO 2)간에는 GSH-S-transferase의 활성도에 있어서 유의적인 차이를 보이지 않았다.

## 고 찰

Thiobarbituric acid에 반응하는 지질 과산화물은 직접 DNA에 손상을 주어 발암물질로 작용하거나, 손상된 DNA의 복원을 방해하여 암생성을 도와준다<sup>33)34)</sup>. 발암물질 처리시 TBARS 함량에 미치는 영향에 대해서는 결과가 일치하지 않는다. 발암물질

처리시 TBARS 함량이 증가한다고 보고되었거나<sup>19)</sup><sup>36)37)</sup>, 감소한다고 보고되었다<sup>22)</sup>. 본 실험에서는, 4주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군에서는 식이만 준 대조군에 비해 TBARS 함량이 증가되었으나, 8주 후에 2-AAF를 투여하면 TBARS 함량이 증가되지 않았다. 이것은 8주동안 불포화지방산의 함량이 높은 고지방식이의 섭취에 의해 활성도가 증가된 해독효소가 발암물질로 인하여 증가된 지질 과산화물을 제거했거나, 8주 후에 2-AAF를 투여한 후 발암물질이 지질 과산화물을 증가시킬 시간이 충분하지 않았을 가능성도 배제할 수 없다.

식이 지방 및 발암 물질 투여에 의한 cytochrome P450 함량에 대한 영향은 일치하지 않으며, cytochrome P450 함량은 연령, 간의 손상정도 및 막의 구조변화 등에 의해서도 영향을 받을 수 있다. 연령의 증가에 따라 cytochrome P450 함량이 감소하며 2-AAF 투여에 의해 간에 이상이 심해지면 활성도가 떨어진다고 보고되었다<sup>22)37)38-40)</sup>. Cytochrome P450 함량측정시 CO와 결합량을 측정하는데 효소의 양적인 변화없이도 생체막의 구조적 변화로 cytochrome P450의 위치가 달라져서 CO와의 결합량이 달라질 수 있다고 한다<sup>41)42)</sup>. Phenobarbital을 투여한 후 무지방 식이, 10% lard 또는 10% corn oil 식이를 주었을 때 cytochrome P450 함량이 corn oil 식이군 > lard 식이군 > 무지방 식이군 순서로 나타났다<sup>43)</sup>. 그러나, 불포화도가 높은 safflower oil이나 soybean oil이 beef tallow보다 cytochrome P450 함량을 감소시킨다고 보고되었으며<sup>39)44)</sup>, 4%와 28% 지방식이 섭취시 cytochrome P450 함량은 차이가 없다고 보고되었다<sup>45)</sup>. 본 실험에서는, 4주 후에 2-AAF를 투여한 corn oil군에서는 식이만 준 대조군에 비해 cytochrome P450 함량이 증가되었으나, 8주 후에 2-AAF를 투여하면 cytochrome P450 함량이 증가되지 않았다. 이것은 4주 후에 투여한 발암물질에 의해 증가된 cytochrome P450 함량이 연령의 증가에 따른 영향을 극복했거나, 이미 연령이 증가됨에 따라 감소된 cytochrome P450 함량이 8주 후에 발암물질의 투여로 인한 cytochrome P450 함량의 증가를 상쇄함으로써 8주 후에 2-AAF를

투여하면 cytochrome P450 함량이 증가되지 않는 결과를 나타내었을 수도 있다.

GSH-peroxidase 활성도는 2-AAF를 투여하지 않은 corn oil군에 비해 lard군에서 증가하였으나, 2-AAF 투여에 의해서는 두 식이군 모두에서 GSH-peroxidase 활성도가 증가함으로써 발암물질의 투여로 인해 해독체계 효소가 유도되었다는 보고와<sup>13)30)37)38)46)</sup> 일치한다.

GSH-S-transferase 활성도는 2-AAF를 투여하지 않은 corn oil군에 비해 lard군에서 증가하였다. 2-AAF의 투여에 의해서는 두 식이군 모두에서 GSH-S-transferase 활성도가 증가하였으며, corn oil군에서는 투여시기에 의한 영향은 나타나지 않았다. 본 실험의 결과는 발암물질의 투여에 의해 GSH-S-transferase 활성도가 증가하였다는 여러 보고들과<sup>23)36)47)48)</sup> 일치한다.

GSH-S-transferase는 MFO계에서 활성화된 친전자성물질에 환원형의 glutathione을 conjugation시켜 수용성물질로 배설시키는 해독작용에 중요한 역할을 하는 효소로서 발암과정중에 증가한다<sup>37-39)</sup>. GSH-S-transferase에는 여러 isozyme 형태가 있으며, 발암물질 투여시 간세포에서  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase-positive foci가 증가되는 단계에서 GSH-S-transferase A와 P의 활성도가 증가되었으며, 이는 발암과정중에 해독작용에 관여하는 효소의 활성을 증가시켜 생체를 보호하려는 적응의 일부라 여겨진다<sup>49)</sup>.

본 실험의 결과를 요약해 보면, 불포화지방산이 다량 함유된 식이를 먹은 corn oil군에서는 4주 후 2-AAF를 투여한 경우에 TBARS와 cytochrome P450 함량, SOD와 GSH peroxidase의 활성도가 증가하였으며, GSH-S-transferase의 활성도는 4주 후와 8주 후에 2-AAF를 투여한 경우에 증가하였다. 포화지방산이 많이 함유된 식이를 먹은 lard군에서는 8주 후에 2-AAF를 투여한 경우에 SOD와 GSH peroxidase의 활성도가 증가하였으며, GSH-S-transferase의 활성도는 4주 후에 2-AAF를 투여한 경우에 증가하였다.

## Literature cited

- 1) Carroll KK, Hopkins GT. Dietary polyunsaturated fat versus saturated fat in relation to mammary carcinogenesis. *Lipids* 14 : 155-158, 1979
- 2) Carrol KK, Khor HT. Effects of level and type of dietary fat on incidence of mammary tumors induced in female Sprague-Dawley rats by 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene. *Lipids* 6 : 415-420, 1971
- 3) Freeman BA, Cropo JD. Biology of disease : Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47 : 412-426, 1982
- 4) Weiss SJ, Lobuligo AF. Phagocyte generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 47 : 1-16, 1982
- 5) Norred WP, Wade AE. Dietary fatty acid-induced alterations of hepatic microsomal drug metabolism. *Biochem Pharmacol* 21 : 2887-2897, 1972
- 6) Kidwell WR, Monaco ME, Wicha MS, Smith GS. Unsaturated fatty acid requirements for growth and survival of a rat mammary tumor cell line. *Cancer Res* 38 : 4091-4100, 1978
- 7) Hopkins GJ, Kennedy TG and Carroll KK. Polyunsaturated fatty acids as promoters of mammary carcinogenesis induced in Sprague-Dawley rats by 11, 12-dimethylbenz(a)anthracene. *J Natl Cancer Inst* 66 : 517-522, 1981
- 8) Chan PC, Ferguson KA, Dao TL. Effects of different dietary fats on mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 43 : 1079-1083, 1983
- 9) Ames BB. Dietary carcinogenesis and anticarcinogenesis : Oxygen radicals and degenerative disease. *Science* 221 : 1256-1264, 1984
- 10) Birnboim HC. Factors which effect DNA strand breakage in human leukocytes exposed to tumor promotor, phobol myristate acetate. *Can J Physiol Pharmacol* 60 : 1359-1366, 1982
- 11) McCord JM, Fridovich K. Superoxide dismutase : An enzymatic function for erythrocyupreine(hemocupreine). *J Biol Chem* 224 : 6049-6055, 1969
- 12) Xu G, Diplock AT. Glutathione peroxidase(EC 1. 11. 1. 9), glutathione S-transferase(EC 2. 5. 1. 13), superoxide dismutase(EC 1. 15. 1. 1) and catalase(EC 1. 11. 1. 6.) activities in tissues of ducklings deprived of vitamin E and selenium. *Br J Nutr* 50 : 437-444, 1983
- 13) Tappel AL. Vitamin E and selenium protection from in vivo lipid peroxidation. *Ann NY Acad Sci* 355 : 18-31, 1980
- 14) Prohaska JR, Ganther HE. Glutathione peroxidase activities and glutathione S-transferase purified from rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 76 : 437-445, 1977
- 15) Reddy CC, Ju, CP, Burges JR, Ho, Cy, Scholz RW, Massaro EJ. Evidence for the occurrence of selenium-independent glutathione peroxidase activities in rat liver microsomes. *Biochem Biophys Res Commun* 101 : 970-978, 1981
- 16) Workoff AW, Ketley JN, Waggoner JG. Hepatic accumulation and intercellular binding of conjugated bilirubin. *J Clin Invest* 61 : 142-149, 1978
- 17) Burk RF, Trumble MJ, Lawrence RA. Rat hepatic cytosolic glutathione dependent enzyme protection against lipid peroxidation in the NADPH-microsomal lipid peroxidation system. *Biochim Biophys Acta* 618 : 35-41, 1980
- 18) Kensler TW, Trush MA. Role of oxygen radicals in tumor promotion. *Enviro. Mutagenesis* 6 : 573-593, 1984
- 19) 김숙희. 식이지방의 종류와 2-AAF 투여가 쥐 연령에 따라 간의 생체막변화와 지질과산화물 생성에 미치는 영향. 서울대학교 석사논문, 1992
- 20) Marshall WJ, Mclean AEM. A requirement of dietary lipids for induction of cytochrome P450 by phenobarbitone in rat liver microsomal fraction. *Biochem J* 122 : 569-573, 1979
- 21) Newberne PM, Weigert J, Kula N. Effects of dietary fat on hepatic mixed function oxidases and hepatocellular carcinoma induced by Aflatoxin B in rats. *Cancer Res* 39 : 3986-3991, 1979
- 22) 한영신. 포화, n-3, n-6 지방식이이 쥐간에 있는 1 단계 약물대사 효소계에 미치는 영향. 서울대학교 석사논문, 1992
- 23) 김경민 · 최혜미. 들깨유, 옥수수유의 섭취가 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐간의 소포체막의 지방산 조성과 cytochrome P450함량, Glutathione S-

- transferase에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25 : 3-11, 1992
- 24) Astrom A, Maner S, Depierre JW. Induction of cytochrome P450 and related drug metabolizing activities in the livers different rodent species by 2-acetylaminofluorene by 3-methylcholanthrene. *Biochem Pharmacol* 35 : 2703-2713, 1986
- 25) Glauert HP, Lay LT, Kennan WS, Pitot HC. Effect of dietary fat on the initiation of hepatocarcinogenesis by diethylnitrosamine of 2-acetylaminofluorene in rats. *Carcinogenesis* 12 : 991-994, 1991
- 26) Bidlack WT, Tappel AL. Damages to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids* 8 : 177-182, 1973
- 27) Omura T, Sato R. The Carbon monoxide-building pigment of liver microsomes. *J Biol Chem* 239 : 2379-2388, 1964
- 28) Matsubara T, Koike M, Touchi A, Yoshihiro T, Sufenu K. Quantitative determination of cytochrome P450 in rat liver homogenate. *Anal Biochem* 75 : 596-603, 1976
- 29) Winterbourn CC, Hawkins RE, Brison M, Carrill RW. The Estimation of the red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 85 : 337-341, 1975
- 30) Paglia ED, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70 : 158-169, 1967
- 31) Habig WH, Phobst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase : The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249 : 7130-7139, 1974
- 32) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randahl RT. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 256-275, 1951
- 33) Ott L. An introduction to statistical methods and data analysis. 2nd ed. Duxbury press. pp376-379, 1984
- 34) Tappel AL. Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed Proc* 32 : 1870-1874, 1973
- 35) Voca CE, Harms-Ringdahl M. Nuclear membrane peroxidation products bind to nuclear macromolecule. *Arch Biochem Biophys* 269 : 548-554, 1989
- 36) 박충실 · 최혜미. 들기름, 옥수수기름의 섭취와 2-acetylaminofluorene투여가 지질과산화물 및 PGE 2, TXB2 생성에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25 : 351-359, 1992
- 37) 임경숙. 식이지방과 butylated hydroxytoluene이 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐 간의 지질과산화도 및 과산화물대사효소에 미치는 영향. 서울대학교 이학박사논문, 1988
- 38) 김현아 · 김현덕 · 최혜미 · 이주희. 지방산 조성과 butylated hydroxytoluene이 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐 간의 지질과산화물 방어효소체계에 미치는 영향. *한국생화학학회지* 23 : 302-307, 1990
- 39) 김현아 · 최혜미. 2-acetylaminofluorene과 choline 결핍이 서로 다른 지방을 섭취한 쥐간의 지질과산화 반응 및 glucose 6-phosphatase, glutathione S-transferase 활성도에 미치는 영향. *한국영양학회지* 23 : 418-426, 1990
- 40) 김현아 · 최혜미 · 조은영 · 김경민 · 김현덕 · 변기원 · 윤은영. 메틸기 결핍이 diethylnitrosoamine과 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐 간의 지질과산화도에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25 : 116-122, 1992
- 41) Cheng KC, Ragland WL, Wade AE. Effect of lipid ingestion on the induction of drug metabolizing enzymes of nuclear envelope and microsomes by phenobarbital. *J Environ Pathol Toxicol* 4 : 219-235, 1980
- 42) Cheng KC, Ragland WL, Wade AE. Dietary fats and 3-MC induction of hepatic nuclear and microsomal cytochrome P450. *Drug-Nutr Interact* 1 : 163-174, 1981
- 43) Rowe L, Wills ED. The effect of dietary lipids and vitamin E on lipid peroxide formation, cytochrome P450 and oxidative demethylation in the endoplasmic reticulum. *Biochem Pharmacol* 25 : 175-179, 1976
- 44) Hopkins GJ, Hard GC, West CE. Carcinogenesis induced by 7, 12-DMBA in C3H FB mice : Influence of different dietary fats. *JNCI* 60 : 849-853, 1976
- 45) Sitar DS, Gordon ER. Effect of diet and drug on the qualitative and quantitative distribution of cytochrome P450 in rat liver. *Can J Physiol Pharmacol* 58 : 331-335, 1980

2-AAF와 지질과산화물 대사

- 46) Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59 : 529-605, 1979
- 47) Lankin VZ, Polyakov VM, Arkhangel'skaya AV, Gurevich SM. Metabolism of lipid peroxide during chemical carcinogenesis. *Bull Exp Biol Med* 87 : 270-273, 1979
- 48) Astrom A, DePirre JW. Characterization of the induction of drug metabolizing enzymes by 2-acetylaminofluorene. *Biochim Biophys Acta* 673 : 225-233, 1981
- 49) 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