

2-Acetylaminofluorene의 투여와 나이에 따른 쥐의 세포막 지방산 조성 및 지질과산화물 생성의 변화

윤은영 · 최혜미* · 김현아** · 김숙희*

대전대학교 이과대학 식품영양학과 *서울대학교 가정대학 식품영양학과

**목포대학교 생활과학대학 식품영양학과

(95. 8. 2 접수)

Age Related Changes of Microsomal Fatty Acid Composition and Lipid Peroxidation in 2-acetylaminofluorene Treated rats.

Eun Young Yoon, Haymie Choi*, Hyeon-A Kim**, Sookhee Kim*

Dept. of Food & Nutrition, College of Science, Taejon University

*Dept. of Food & Nutrition, College of Home Economics, Seoul National University

**Dept. of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Mokpo National University

ABSTRACT : For studying the effect of different dietary fats on carcinogenesis, fatty acid composition of membrane and lipid peroxidation were measured. Male Sprague-Dawley rats were fed on diet containing 15% (w/w) beef tallow or soybean oil. A single dose of 50 mg 2-AAF/kg B.W. was injected i.p. in each diet group 10 times. Rats were sacrificed after 1, 5, 10, and 15 weeks from the first injection. By 2-AAF injection, lipid peroxidation increased slightly compared to control group. The rats fed on different fats had similar MDA production and those fed on soybean oil had slightly higher free radical concentration measured by ESR. In young rats, lipid peroxidation level was high and hydroxy radical production was higher in soybean oil group than in beef tallow group. With age, the lipid peroxidation values were decreased initially then increased. The fatty acid composition in microsomal membrane was reflected by dietary fatty acid composition. In soybean oil group, monoenoic acid was lower and polyunsaturated fatty acid was higher than beef tallow group. Linoleic acid contents showed the most discrepancy among groups. By 2-AAF treatment, linoleic acid content and unsaturation index increased in soybean oil group. But in beef tallow group, there was no difference in fatty acid contents.

Keywords : lipid peroxidation · fatty acid composition · carcinogenesis · dietary fat · ESR

서 론

인간은 환경에서(industrial, medical, social exposure 등) 다양한 종류의 발암물질과 접하고 있으며 발암물질도 대부분 지용성으로서 세포막 지질 성분을 통하여 체내에 흡수된 후 주로 간에서 대사된다(Wade *et al.*, 1986). 간은 영양소의 분배 저장을 담당하며 식이성분의 변화에 민감하게 반응하여 식이성분의 변화에 따라 소포체막의 지방산 조성이 영향을 받는다(Hammer *et al.*, 1979). 또한 지방산 조성의 변화는 지질과산화

물 생성에 영향을 준다.

생체 내에서는 여러 반응의 중간산물로 radical이 생성된다. Radical은 생성된 즉시 연쇄반응을 유도하고 conjugated double bond가 있는 불포화지방산과 주로 반응하여 지질과산화 반응을 일으키게 된다. 정상적인 세포 내에서는 지질의 과산화 반응이 높아질 경우 radical scavenger나 free radical 제거에 관여하는 효소를 증가시켜 과산화 반응으로부터 세포를 보호한다(Freeman *et al.*, 1982). 그러나 세포내외의 생물리적 환경이 매우 변하게 되어 세포의 항상성 능력 범주를 초과하게 되

면 과산화지질의 생성과 분해간에 균형이 깨지고 따라서 세포 내에서 불포화지방산이 많은 세포막 인지질이 공격을 받아 소포체(microsome)에 과산화물이 축적하게 되며 이 과산화물은 세포막에 존재하는 단백질(효소, 수용체, 운반체 등)을 공격하여 기능적, 구조적 손상을 줄 뿐 아니라 DNA나 RNA 등 핵산도 공격하여 돌연변이 및 발암의 가능성도 부여 하게된다 (Summerfield *et al.*, 1984).

지질과산화의 initiator 역할을 하는 것은 활성화된 산소(O₂, OH·, O₂, ·OOH)로서 그중에서 지질을 직접 공격하는 것은 OH·로 알려져 있다 (Koster *et al.*, 1980). 간 microsome에서는 MFO계 효소 중 하나인 NADPH cytochrome P-450 reductase에 의해 OH·가 생성된다. 이러한 OH·는 세포막 인지질의 linoleic acid와 arachidonic acid를 주로 공격하여 radical (R·)을 형성한다.

지질의 과산화물을 측정하는 방법으로 간접적으로 malondialdehyde(MDA)를 측정하는 것이 보편화되어 왔으나 이는 반응과정에서 다른 aldehyde나 그 전구체와도 반응하거나(Shridhar *et al.*, 1984) MDA가 nucleic acid나 protein과 cross link를 형성하여 MDA의 정확한 측정이 어려운 등 여러 난점이 발견되었다(Tuner *et al.*, 1987). 최근 free radical을 직접 측정할 수 있는 Electron Spin Resonance spectroscopy(전자스핀 공명 분광법)를 이용한 연구가 생체계에도 많이 적용되고 있고(Cammack *et al.*, 1985) ESR을 이용하여 발암물질 대사과정 중의 free radical intermediates도 확인하였다(Mason *et al.*, 1987).

ESR을 이용한 여러 보고에서 (Dodd *et al.*, 1980, Swartz *et al.*, 1977) 암과 free radical의 관계에 대해 연구한 결과를 보면 발암의 초기단계에서는 radical이 증가했고 말기에는 radical이 감소한다고 하였고, Swartz와 Gutierrez(1977)의 연구에 의하면 암조직은 정상조직보다 radical 농도의 증감은 없었으나 signal의 모양이 변화했다고 하였다(Dodd *et al.*, 1980).

쥐에서 불포화지방산 함량이 높은 옥수수 기름이나 어유의 섭취를 증가시키면 포화지방산을 섭취한 군에 비해 간의 지질과산화물의 생성량이 증가하였고(Mouri *et al.*, 1984) 또 발암물질 투여에 의해 간소포체에서 불포화지방산의 비율이 증가하였으며(Davison *et al.*, 1974) 지질과산화물 생성량 또한 증가하였다(Kim, 1989). 간 발암물질을 투여한 쥐에게 고불포화지방산을 과다하게 섭취시켰을 때 간의 preneoplastic lesion을 증가시켰을 뿐 아니라 (Baldwin *et al.*, 1986) 간 종양의 발생률도 증가시켰다(McCay *et al.*, 1980). 또한 간 종양세포는 정상세포보다 더 많은 지질과산화물과 불포화지방산을 갖고 있었다(Odeleye *et al.*, 1991).

따라서 본 논문에서는 지방의 종류를 달리하고 발암물질을

투여하여, 간의 지방산 조성이 변화가 있었는지 보고, 그에 따라 radical 형성에 영향을 주었는 지를 검토하여 발암물질대사와 관계가 있는 지 알아보려고 하였다.

실험 재료 및 방법

실험동물의 사육 및 처치

이유한 Sprague-Dawley종 숫쥐 50~80 g된 것을 실험식으로 사육하였다.

실험 식이의 지방 수준은 식이의 15%(w/w)로 하였고 포화지방산 식이에는 쇠기름(P/S: 0.08)을, 불포화지방산 식이에는 콩기름(P/S: 4.0)을 사용하였다. 식이와 물은 무제한으로 섭취케 하였다.

실험 식이를 먹이기 시작하여 3주 되는 날부터 간암 유발물질인 2-acetylaminofluorene(AAF)을 주 1회씩 복강 주사하였다. 이 때 각 군을 다시 I, II, III, IV군으로 나누는 데 첫 번 AAF를 주사한 다음 24시간 후, 희생시킨 군을 I군(생후 6주된 군), 주 1회씩 5번 주사하고 희생시킨 군을 II군(생후 10주된 군), 주 1회씩 10번 주사하고 희생시킨 군을 III군(생후 15주된

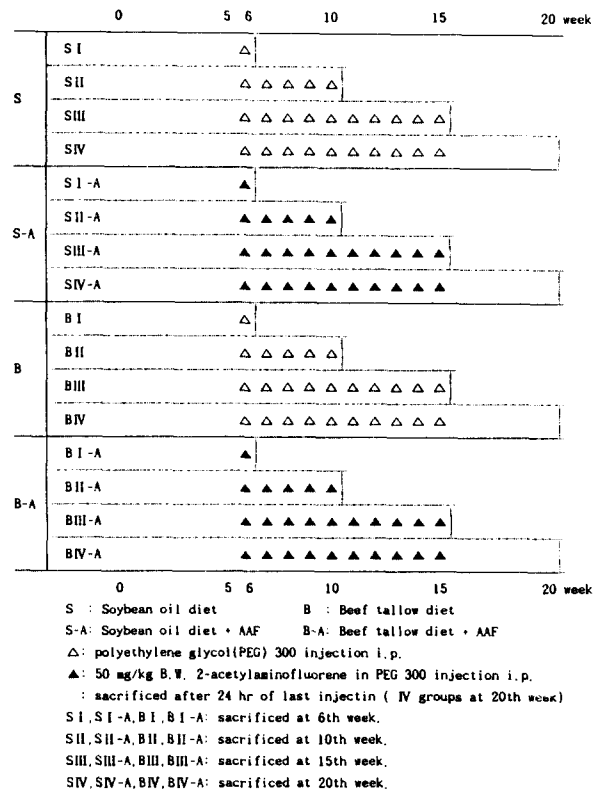


Fig. 1. Scheme of experimental design.

군), 주 1회씩 10번 주사하고 실험식으로 5주 더 사육한 군을 IV군(생후 20주된 군)이라한다(Figure 1).

희생 전 12시간을 금식시키고 AAF를 주사한 24시간 후 de-capitation에 의하여 희생시킨 다음 간을 원심분리하여 mitochondria와 cytosol로 분리하여 -70°C에서 냉동보관하였다.

지질과산화물 측정

간 mitochondria의 지질과산화물은 thiobarbituric acid(TBA) 방법을 이용하여(Vaca et al., 1986) malondialdehyde(MDA)의 양을 측정하였다.

ESR spectroscopy를 이용한 free radical intensity 측정

간을 절제한 즉시 액체 질소로 급속냉동시켜 진공동결건조기에서 건조시킨 다음 ESR tube에 넣고 Varian E9 100 KHz modulation X-banded spectrometer를 이용하여 측정하였다. Diphenylpicryl hydrazil(DPPH, $g=2.0036$)의 peak를 기준으로 삼고 modulation amplitude는 3.2×1 G, receiver gain은 1.6×10^3 , scan range는 200 G로 하였다. Microwave power는 2mW에서 사용하였고, field는 3260 G, microwave frequency는 9.01 GHz로 고정하였다 (Dodd et al., 1980, Yim et al., 1988).

Spin trapping을 이용한 hydroxy radical 생성량 측정은 간 mitochondria를 buffer (0.15M KCl in 0.005 M phosphate buffer, pH 7.4)로 희석하는데 이 때 2.2×10^{-5} M Fe^{2+} , 4.4×10^{-5} M EDTA, 0.12 M N-butylphenylnitron, 0.74 mM NADPH가 첨가 되도록 하였다(Lai et al., 1977). 4-OH-Tempo를 peak의 기준으로 삼았으며 modulation amplitude는 10.1 G, receiver gain 2×10^4 , scan range 200 G, Microwave power 7.96 mW, field 3360 G, microwave frequency 9.42 GHz로 고정하였다. Bruker 100 KHz modulation X-band spectrometer를 사용하여 측정하였다.

간 microsomal NADPH cytochrome P-450 reductase 활성도 측정

Masters 등의 방법에 의해 측정하였다. DCIP의 molar extinction coefficient는 $21 \text{ nM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 하여 효소의 활성도를 계산하였다.

소포체막 지방질 분석

Bligh와 Dyer 방법(1957)에 의하여 지질을 추출한 다음 Morrison (1964) 방법에 의해 지방산을 methylation시켜 N_2 로

건조 농축시킨 후 GLC로 지방산 함량을 측정하였다.

통계처리

실험의 결과는 SAS를 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고, $p < 0.05$ 수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의차를 검증하였다.

결과 및 토의

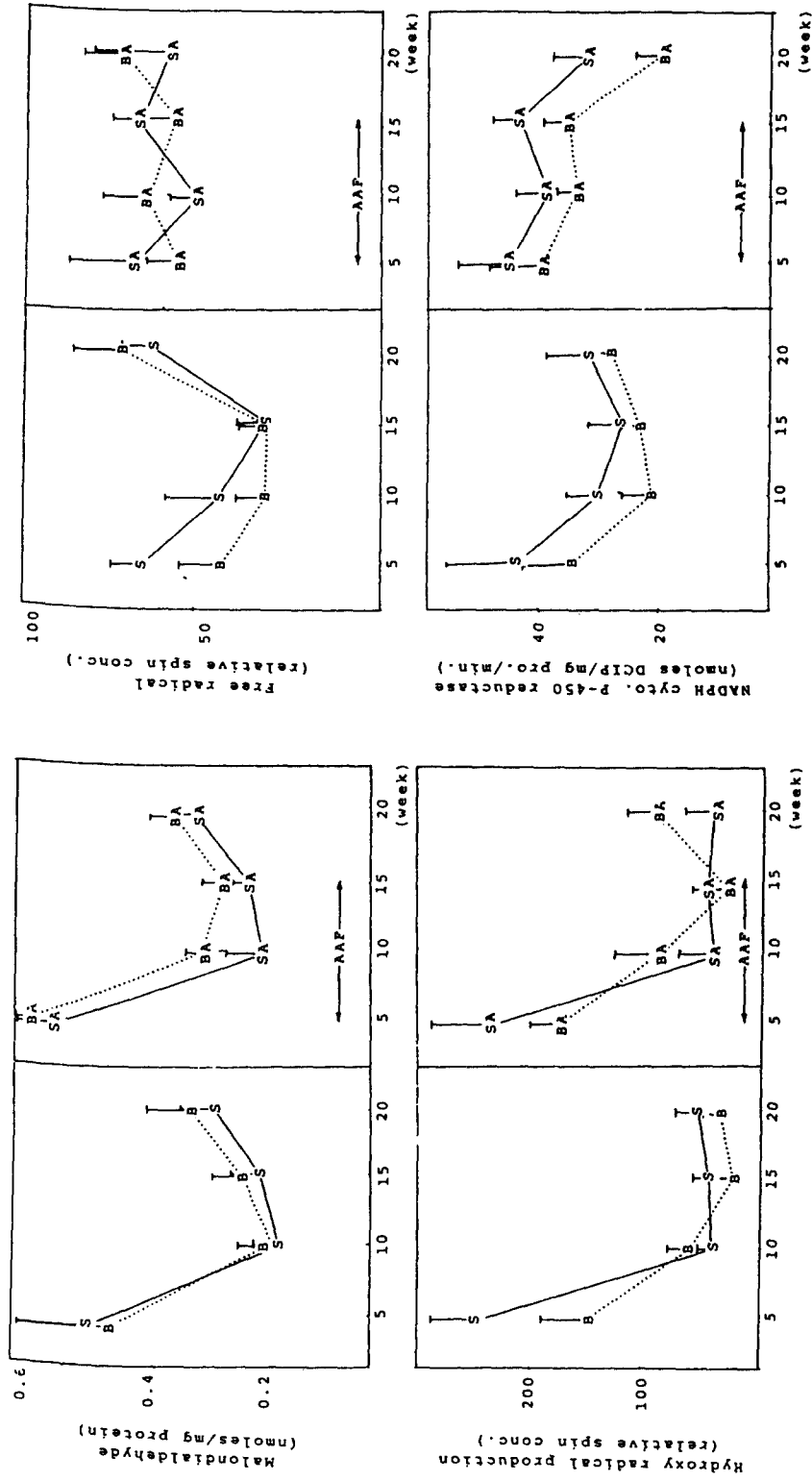
식이지방에 따른 지질과산화 반응의 변화

소포체막 지질과산화 반응의 정도를 알아보기 위하여 지질과산화물의 분해산물인 MDA 생성량을 측정하였는데 쇠기름 군과 콩기름 군 간에 차이가 없었다. 이 결과는 불포화도가 높은 식이지방을 섭취시키면 생체막의 지질과산화 반응이 증가한다는 여러 보고와(Mouri et al., 1984, Vaca et al., 1986) 일치하지 않았으며, 불포화도가 다른 지방을 섭취시켜도 지질과산화 반응에도 영향이 없었다는 Kwak(1991)의 보고와 같은 결과였다.

소포체에서 OH·는 지질과산화반응을 시작하는 radical로서 세포막 인지질의 불포화지방산을 공격하므로 OH· 생성능력이 크면 지질과산화반응도 많이 일어날 것이다(Lai et al., 1977). 본 실험에서 OH· 생성능력을 측정한 결과 콩기름 군과 쇠기름 군 사이에 큰 차이가 없었으므로 지질과산화반응도 큰 차이가 없으리라 생각된다.

지질과산화 반응에 관여하는 3가지 결과를 종합해보면(Figure 2) 6주된 쥐에서 지질과산화 반응 정도가 높게 나타났으나 차차 감소하여 15주정도까지는 급격히 감소하다가 15주에서 20주 사이에 다시 증가하는 현상을 볼 수 있다. Player (1982)에 의하면 자라면서 anti-oxidant/pro-oxidant capacity가 계속 변화한다고 하였으므로 연령에 따라 지질과산화 반응에 변동이 있다는 것을 알 수 있다. Player (1982)는 radical scavenger로 중요한 역할을 하는 superoxide dismutase는 어린 쥐에서 매우 낮다고 하였고, 본 실험에서도 어린 쥐에서 NADPH 의존형 지질과산화 반응을 일으키는 NADPH cytochrome P-450 reductase의 활성이 매우 높으므로 어린 쥐에서 과산화 반응이 활발할 것으로 사료된다.

간에서 불포화도가 다른 콩기름(P/S: 4.0)과 쇠기름(P/S: 0.08)을 섭취시켰을 때 지질과산화물이 예상했던 것보다 차이가 없었던 이유는 다른 조직에 비해 간은 천연 항산화제(vitamin E, vitamin A, ascorbic acid, glutathione, selenium 등)가 다량 존재하고 과산화물 제거 효소계가 잘 발달되어 있기 때문이라



Malondialdehyde : measured in microsomes
 Hydroxy radical : measured in microsomes
 Free radical : measured in whole liver
 NADPH cytochrome P-450 reductase : measured in microsomes

—S— : Soybean oil diet —SA— : Soybean oil diet + AAF
 —B— : Beef tallow diet —BA— : Beef tallow diet + AAF

Fig. 2. Lipid peroxidation and NADPH cytochrome P-450 reductase activity in liver of the rats fed different fats and 2-AAF treatment.

고 생각된다(Freeman *et al.*, 1982).

OH· radical을 생성하는 NADPH cytochrome P-450 reductase의 활성도는 그 형태가 OH· radical 생성 정도와 free radical spin 농도를 평균해 놓은 듯한 양상을 띄어 지질과산화 반응과 밀접한 관계가 있음을 말해 주었다. 이 결과는 MDA로 측정된 지질과산화 정도와 NADPH cytochrome P-450 reductase와 상관관계가 매우 높았다고 하였던 Player(1982)의 연구와 일치한다. 이것으로 보아 NADPH cytochrome P-450 reductase 활성도가 지질과산화 반응에 중요한 역할을 차지함을 알 수 있으며, 이 효소의 활성이 높으면 OH· 생성이 많아지고 따라서 체내 지질과산화 반응도 증가함을 알 수 있다. 따라서 OH·, MDA, free radical의 농도와 약물대사 효소는 밀접한 관계가 있으리라 추측된다. 뿐만아니라 생후 20주에 지질과산화 반응의 initiator로서 microsomal에서 측정된 OH·농도의 증가보다 ESR을 이용하여 전체 간에서 측정된 free radical의 농도가 더욱 증가한 것으로 보아 microsomal과 더불어 cytosol에도 radical이 상당량 존재할 가능성을 부여하고 있다. Cheeseman (1982)의 보고에 의하면 정상간조직과 간암조직에서 인지질이 주로 존재하는 소포체막에서 측정된 MDA값보다 cytosol까지 포함하는 분획에서 측정된 MDA 값이 더 큰 차이가 있었다고 하였다. 특히 지질과산화 반응의 제거인자가 cytosol에 존재하여 hepatoma에 다른 영향을 미칠 것이라고 하였다.

AAF 투여후 지질과산화 반응에 미치는 영향

실험군에서 AAF를 투여한 경우 콩기름군과 쇠기름군 사이에 MDA 양은 차이가 없었다. 통계적으로 유의하지는 않았으나 대조군보다는 AAF 투여군이 약간씩 지질과산화물이 증가함을 알 수 있었다. 일반적으로 발암물질이 투여되면 간의 지질과산화 반응이 증가하는 것으로 알려졌는데 (Davison *et al.*, 1974) 이는 약물에 의해 microsomal에서 MFO계의 활성도가 증가하는 과정에서 O₂나 H₂O₂를 증가시켜서 혹은 AAF 투여시 superoxide dismutase(SOD)의 활성도가 낮아졌기 때문이라고 (Kim, 1989) 생각된다. 그런데 ESR로 측정된 free radical 농도는 대조군에 비해 AAF 투여군의 free radical spin 농도가 매우 높았다. 특히 AAF가 투여된 후인 생후 10주와 15주가 경과했을 때 AAF에 의해 free radical이 많이 증가하였으며, 그 양상이 AAF가 투여되지 않을 때와 매우 달랐다. 이것은 AAF 투여가 과산화물 대사계를 섭동(perturbation)시켰을 가능성을 시사해 주었다. 따라서 ESR로 측정된 결과는 radical의 변조와 발암물질 대사는 밀접한 관계가 있음을 암시해 주었다.

그런데 ESR로 측정된 결과, AAF에 의한 free radical 유도 효과는 증가한데 비해 지질과산화물을 반영하는 MDA 생성량

이나 OH· 생성량은 별로 크게 증가하지 않았다는 것은 첫째로, AAF에 의하여 유도된 free radical은 모두 지질에 의해 유도, 생성된 것이라기 보다는 다른 종류의 radical, 즉 AAF가 대사되는 과정의 중간물질이나 그 대사과정의 부산물로 생기는 radical일 가능성이 있다. 그중 하나는 AAF 대사물 중 가장 독성이 강한 N-acetoxy AAF가 생성되는 과정의 중간물질인 radical이 ESR법으로 규명되었다(Stier *et al.*, 1972). 두번째 가능성으로는 MDA나 OH·는 microsomal에서 측정하는데 비해 free radical은 전체 간에서 측정하였다. 따라서 microsomal 이외에 세포내 다른 분획에서도 지질과산화물이 많이 축적되었을 가능성이 있다. 그러므로 이러한 결과를 종합해 볼 때 지질과산화물을 여러 분획에서 비교 측정하여 볼 필요성도 있겠다.

Table 1. Fatty acid composition in liver microsomal membrane of rats sacrificed at 6th week.

Group Fatty acid	SI	SI-A	BI	BI-A
~C16	1.8±0.7 ^a	0.4±0.1 ^c	1.9±0.4 ^a	1.6±0.4 ^{ab}
16:0	21.1±0.2 ^{ac}	19.5±1.9 ^c	25.0±3.2 ^a	25.6±2.5 ^a
16:1	0.3±0.5 ^d	0.2±0.3 ^d	4.7±0.9 ^b	5.7±1.1 ^b
18:0	26.8±1.4 ^a	25.3±3.9 ^{ab}	19.7±3.4 ^{cd}	18.7±2.1 ^d
18:1	11.0±0.7 ^{ac}	11.6±1.2 ^{ac}	29.4±5.5 ^b	33.9±0.8 ^b
18:2	24.0±0.9 ^{ac}	24.1±2.7 ^{ac}	7.7±2.5 ^d	7.0±1.1 ^d
20:0	-	0.1±0.1 ^c	-	0.1±0.1 ^c
20:2	0.5±0.1 ^{cd}	0.5±0.4 ^{cd}	2.1±1.1 ^{ab}	0.8±0.7 ^{cd}
20:3	0.3±0.0 ^f	0.3±0.3 ^d	0.6±0.6 ^e	0.6±0.1 ^c
20:4	13.4±2.6 ^{acd}	17.3±2.4 ^{ab}	8.4±2.3 ^{ef}	5.9±1.3 ^f
22:5	0.1±0.2 ^b	0.1±0.3 ^b	0.1±0.2 ^b	-
22:6	0.5±0.9 ^{ac}	0.7±1.1 ^{bc}	0.5±0.8 ^{de}	-
24:1	0.1±0.1 ^d	0.1±0.1 ^d	0.1±0.1 ^d	0.1±0.2 ^d
SFA	49.7±2.2 ^{ab}	45.2±5.3 ^{bc}	46.5±3.7 ^{abc}	45.9±0.9 ^{abc}
MUFA	11.5±1.1 ^{ac}	11.8±1.0 ^{ac}	34.1±5.9 ^b	39.5±1.5 ^a
PUFA	38.8±2.8 ^b	42.9±6.4 ^{ab}	19.3±5.9 ^{de}	14.3±1.6 ^e
DBI/SFA	2.4±0.4 ^{cd}	3.1±0.8 ^{bc}	2.0±0.5 ^{ef}	1.8±0.1 ^f
SFA/PUFA	1.3±0.1 ^{de}	1.1±0.3 ^{de}	2.6±0.8 ^{ab}	3.2±0.4 ^a

Values are mean±SD.

Values in a row not sharing a common superscript are significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

- SFA : Saturated fatty acid
- MUFA : Monounsaturated fatty acid
- PUFA : Polyunsaturated fatty acid
- DBI/SFA : $\Sigma(\%$ each unsaturated fatty acid x # of double bonds of the same fatty acid) $\Sigma(\%$ saturated fatty acid)
- : not detected
- SI : Soybean oil diet, sacrificed at 6th week.
- SI-A : Soybean oil diet+AAF, sacrificed at 6th week
- BI : Beef tallow diet, sacrificed at 6th week.
- BI-A : Beef tallow diet+AAF, sacrificed at 6th week.

식이지방 및 AAF의 투여가 소포체막 지방산 조성에 미치는 영향

콩기름 군(S,S-A)은 쇠기름군(B,B-A)보다 monoenoic acid 함량이 낮았으며 unsaturation index가 높았고 포화지방산/고불포화지방산(SFA/PUFA) 함량이 낮았다(Table 1, 2, 3, 4). 개별적인 지방산 구성을 보면 linoleic acid 함량이 높고 oleic acid 함량은 낮았다. 따라서 식이지방이 상당히 소포체 막의 지방산 조성에 반영되었음을 알 수 있었고 식이내 지질의 종류 및 함량에 따라 세포막 내 조성의 변화가 있었다는 여러 보고와 일치하였다(Christon, 1988).

AAF가 투여된 경우, 콩기름군에서는 대조군에 비해 포화지방산 함량이 낮아졌고 고불포화지방산의 함량이 높아졌다. 그

러나 쇠기름군에서는 AAF 투여에 의해 고불포화지방산의 비율이 높아지는 뚜렷한 현상이 보이지 않았다. 이는 약물반응에 대한 민감성의 차이가 지방산 조성에 따라 달랐다는 보고(Singh, 1991)와 일치하였다고 본다. 생체막에서 불포화지방산의 증가는 막의 유동성을 증가시켜 외부물질의 유입을 및 전자전달을 용이하게 한다고 하였다(Spiegel *et al.*, 1981). AAF 투여시 인지질/콜레스테롤(P/C)이 증가했다는 Kim(1989)의 보고에 의하면 AAF 투여에 의해 막의 유동성도 증가되었다고 보여진다. 이는 발암물질이 투여된 경우 세포막의 유동성이 증가되어 AAF가 대사되도록 소포체막으로 유입되기 쉽고 전자전달 등 그 상호 작용을 더 용이하게 할 뿐아니라 phase I계를 거친 물질은 phase II계 효소로 쉽게 이동시킬 수 있으므로 필수지방산이 충분한 콩기름 군의 경우, 생체가 발

Table 2. Fatty acid composition in liver microsomal membrane of rats sacrificed at 10th week.

Group Fatty acid	SII	SII-A	BII	BII-A
~C16	0.5±0.2 ^c	0.4±0.1 ^c	0.4±0.3 ^c	0.9±0.7 ^{bc}
16:0	18.4±0.6 ^c	17.5±1.6 ^c	21.7±2.4 ^{abc}	22.6±2.2 ^{abc}
16:1	0.5±0.0 ^d	0.2±0.3 ^d	2.6±0.0 ^f	1.2±0.1 ^d
18:0	23.7±0.2 ^{abc}	20.3±2.6 ^{cd}	26.2±0.2 ^e	23.8±0.7 ^{abc}
18:1	7.9±0.2 ^c	11.9±0.8 ^{de}	22.1±2.2 ^e	22.5±0.7 ^e
18:2	21.9±1.2 ^c	26.8±5.1 ^{ab}	9.0±1.0 ^d	8.9±0.1 ^d
20:0	0.1±0.2 ^{bc}	0.1±0.2 ^{bc}	-	0.1±0.1 ^c
20:2	0.7±0.4 ^{cd}	1.6±1.1 ^{bcd}	1.3±0.5 ^{bcd}	3.0±0.4 ^e
20:3	0.6±0.1 ^d	2.1±2.2 ^a	0.9±0.3 ^{bc}	1.3±0.2 ^{bc}
20:4	21.6±0.8 ^a	15.8±2.2 ^{bc}	14.6±0.8 ^{bc}	13.1±0.9 ^{bcd}
22:5	0.5±0.1 ^b	1.6±1.7 ^a	0.1±0.2 ^b	0.7±1.0 ^b
22:6	2.9±0.4 ^a	1.3±0.9 ^{bcd}	1.0±0.3 ^{bcd}	1.6±0.8 ^{abcd}
24:1	0.9±0.9 ^{ab}	0.5±0.0 ^{bcd}	-	0.3±0.5 ^{abcd}
SFA	42.6±1.0 ^{def}	38.3±4.1 ^{ef}	48.4±2.9 ^{abc}	47.3±3.5 ^{abc}
MUFA	9.3±0.7 ^e	12.6±0.9 ^{de}	24.7±2.2 ^c	24.1±0.1 ^c
PUFA	48.1±1.8 ^a	49.1±3.2 ^a	26.9±0.7 ^{cd}	28.7±3.7 ^{cd}
DBI/SFA	3.8±0.2 ^{ab}	4.1±0.6 ^a	2.3±0.3 ^{def}	2.5±0.5 ^{def}
SFA/PUFA	0.9±0.1 ^{fg}	0.8±0.1 ^g	1.8±1.6 ^{cd}	1.7±0.3 ^{def}

Valuse are mean ± SD.

Values in a row not sharing a common superscript are significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

- SFA : Saturated fatty acid
- MUFA : Monounsaturated fatty acid
- PUFA : Polyunsaturated fatty acid
- DBI/SFA : Σ(% each unsaturated fatty acid x # of double bonds of the same fatty acid)/Σ(% saturated fatty acid)
- : not detected
- SII : Soybean oil diet, sacrificed at 10th week.
- SII-A : Soybean oil diet+AAF, sacrificed at 10th week.
- BII : Beef tallow diet, sacrificed at 10th week.
- BII-A : Beef tallow diet+AAF, sacrificed at 10th week.

Table 3. Fatty acid composition in liver microsomal membrane of rats sacrificed at 15th week.

Group Fatty acid	SIII	SIII-A	BIII	BIII-A
~C16	0.7±0.4 ^c	0.4±0.2 ^c	0.6±0.3 ^c	0.6±0.2 ^c
16:0	20.5±2.3 ^{abc}	18.6±2.9 ^c	19.7±0.1 ^{bc}	21.7±2.2 ^{abc}
16:1	0.8±0.2 ^d	0.2±0.3 ^d	3.2±0.2 ^e	3.0±0.3 ^e
18:0	22.9±0.9 ^{abcd}	19.6±2.7 ^{cd}	27.4±1.6 ^e	21.5±1.3 ^{bcd}
18:1	10.2±1.3 ^c	11.9±1.4 ^{de}	20.5±1.5 ^e	30.7±2.3 ^{ab}
18:2	22.0±3.5 ^c	30.0±3.9 ^a	8.5±1.5 ^d	8.9±1.1 ^d
20:0	0.3±0.1 ^{ab}	0.1±0.2 ^{bc}	-	-
20:2	0.7±0.2 ^{cd}	0.6±0.1 ^{cd}	2.3±0.5 ^{ab}	2.2±0.8 ^{ab}
20:3	0.6±0.1 ^d	0.5±0.1 ^d	1.8±0.3 ^{ab}	1.1±0.4 ^{abc}
20:4	17.7±4.2 ^{ab}	16.0±3.8 ^{bc}	14.2±0.8 ^{bcd}	9.3±2.2 ^{def}
22:5	0.4±0.1 ^b	0.3±0.1 ^b	1.1±0.1 ^b	0.2±0.2 ^b
22:6	2.0±0.9 ^{abc}	1.3±0.7 ^{bcd}	1.0±0.2 ^{bcd}	0.3±0.5 ^{de}
24:1	1.0±0.3 ^a	0.4±0.2 ^{abcd}	0.7±0.2 ^{abc}	0.5±0.5 ^{abcd}
SFA	44.5±2.5 ^{bc}	38.8±0.2 ^{def}	47.7±1.4 ^{abc}	43.9±1.9 ^{bcd}
MUFA	12.0±0.8 ^{bc}	12.5±0.9 ^{de}	24.4±1.5 ^c	34.2±2.8 ^b
PUFA	43.5±3.2 ^{ab}	48.8±0.7 ^a	27.9±0.1 ^{cd}	21.9±4.0 ^d
DBI/SFA	3.3±0.6 ^{abc}	3.8±0.3 ^{ab}	2.4±0.0 ^{def}	2.3±0.3 ^{def}
SFA/PUFA	1.0±0.1 ^{de}	0.8±0.0 ^g	1.7±0.0 ^{de}	2.0±0.5 ^{bcd}

Values are mean ± SD.

Values in a row not sharing a common superscript are significantly different each (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

- SFA : Saturated fatty acid
- MUFA : Monounsaturated fatty acid
- PUFA : Polyunsaturated fatty acid
- DBI/SFA : Σ(% each unsaturated fatty acid x # of double bonds of the same fatty acid)/Σ(% saturated fatty acid)
- : not detected
- SIII : Soybean oil diet, sacrificed at 15th week.
- SIII-A : Soybean oil diet + AAF, sacrificed at 15th week.
- BIII : Beef tallow diet, sacrificed at 15th week.
- BIII-A : Beef tallow diet + AAF, sacrificed at 15th week.

Table 4. Fatty acid composition in liver microsomal membrane of rats sacrificed at 20th week.

Group	SIV	SIV-A	BIV	BIV-A
~C16	0.5±0.3 ^c	0.7±0.7 ^c	0.8±0.5 ^c	0.9±0.0 ^c
16:0	24.8±4.0 ^{ab}	17.4±0.6 ^c	18.3±1.1 ^c	24.8±5.7 ^{ab}
16:1	0.5±0.7 ^d	0.3±0.1 ^d	2.3±0.3 ^c	-
18:0	23.9±1.5 ^{abc}	18.9±1.6 ^d	26.7±0.3 ^a	26.8±0.3 ^a
18:1	10.4±0.1 ^c	14.8±1.1 ^d	21.4±1.6 ^c	23.2±1.4 ^c
18:2	21.9±3.4 ^c	28.9±1.8 ^a	7.5±0.9 ^d	9.2±0.4 ^d
20:0	0.1±0.1 ^c	0.4±0.0 ^b	-	0.1±0.1 ^c
20:2	0.4±0.2 ^d	0.4±0.3 ^d	2.1±0.5 ^{ab}	1.7±0.3 ^{bc}
20:3	0.5±0.0 ^d	0.6±0.0 ^d	1.4±0.2 ^{bc}	1.0±0.1 ^{abc}
20:4	15.2±0.9 ^{bc}	15.6±2.2 ^{bc}	16.9±0.9 ^{abc}	12.0±5.1 ^{cde}
22:5	-	0.3±0.1 ^b	0.3±0.0 ^b	-
22:6	1.6±0.5 ^{abcd}	1.5±0.4 ^{abcd}	2.2±0.3 ^{ab}	0.7±1.0 ^{bcde}
24:1	0.3±0.1 ^{abcd}	0.2±0.2 ^{cd}	0.3±0.0 ^{cd}	-
SFA	49.4±3.0 ^{ab}	37.4±0.9 ^d	45.7±0.8 ^c	52.2±5.4 ^a
MUFA	11.1±0.7 ^{bc}	15.3±1.2 ^d	23.9±1.9 ^c	23.2±1.4 ^c
PUFA	39.5±3.7 ^b	47.2±1.1 ^a	30.3±2.7 ^c	24.6±6.8 ^{cde}
DBI/SFA	2.6±0.3 ^{def}	4.0±0.2 ^{ab}	2.8±0.2 ^{ak}	2.0±0.7 ^{ef}
SFA/PUFA	1.3±0.2 ^{defg}	0.8±0.0 ^g	1.5±1.2 ^{defg}	2.2±0.8 ^{bc}

Values are mean ± SD.

Values in a row not sharing a common superscript are significantly different each other ($p < 0.05$) by Duncon's multiple range test.

SFA : Saturated fatty acid

MUFA : Monounsaturated fatty acid

PUFA : Polyunsaturated fatty acid

DBI/SFA : $\Sigma(\%$ each unsaturated fatty acid x # of double bonds of the same fatty acid) $\Sigma(\%$ saturated fatty acid)

- : not detected

SIV : Soybean oil diet, sacrificed at 20th week.

SIV-A : Soybean oil diet+AAF, sacrificed at 20th week.

BIV : Beef tallow diet, sacrificed at 20th week.

BIV-A : Beef tallow diet+AAF, sacrificed at 20th week.

암물질 대사를 위한 적응기전이라 보여진다. 그러나 Chan (1983)의 보고에 의하면 식이로 불포화지방산을 많이 먹인 경우 암 발생시 유사분열 속도를 더욱 증가시켰다고 하였는 바 linoleic acid는 암의 증진 효과도 있으므로 linoleic acid가 발암 과정에 어떠한 영향을 미쳤는 지 단정짓기는 어렵다. 쇠기름 균은 AAF 투여에 의해 대조군보다 포화지방산의 함량과 SFA/PUFA 비율이 약간 증가하고 oleic acid 함량이 약간 증가했으나 큰 차이는 없었다.

감사의 말씀

이 연구는 한국과학재단 특정 기초 연구비(KOSEF: 90-0700-12)와 1993년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비

지원으로 수행되었기에 감사드립니다.

참고문헌

- Baldwin, S. and R.S. Parker, (1986): The effects of dietary fat and selenium on the development of preneoplastic lesions in rat liver, *Nutr. Cancer* **8**: 273-282.
- Cammack, R., P.K. Knowles, and W.J. Ingeledew, (1985): The application of Electron Spin Paramagnetic Resonance in Biochemistry, *Biochem. Soc. Trans.* **13**(3): 548-603.
- Chan, P.C., K.A. Ferguson, and T.L. Dao, (1983): Effects of different dietary fats on mammary carcinogenesis, *Cancer Res.* **43**: 1079-1083.
- Cheeseman, K.H., (1982): Effects of scavengers and Inhibitors on lipid peroxidation in rat liver microsomes: In free radicals, lipid peroxidation and cancer. Ed. McBrien DCH and Slater TF. Academic Press pp.197-214.
- Christon, R., Y. Fernandez, C. Cambon-Gros, A. Periquet, P. Deltour, C.L. Leger, and S. Mitjavita, (1988): The effect of dietary essential fatty acid deficiency on the composition and properties of the liver microsomal membrane of rats, *J. Nutr.* **118**: 1311-1318.
- Davison, S.C. and E.D. Wills, (1974): Studies on the lipid composition of the rat liver endoplasmic reticulum after induction with phenobarbitone and 20-methylcholanthrene, *Biochem. J.* **140**: 461-468
- Dodd, N.J.F. and J.M. Silcodk, (1980): Electron spin resonance study of changes in implanted muscle: a model for implanted tumours, *Clin. Phys. Physiol. Meas.* **1**: 229-232.
- Freeman, B.A. and J.D. Crapo, (1982): Biology of Disease, free radicals and tissue injury, *Lab. Invest.* **47**: 412-426.
- Hammer, C.T. and E.D. Wills, (1979): The effect of dietary fats on the composition of the liver endoplasmic reticulum and oxidative drug metabolism, *Br. J. Nutr.* **41**: 465-475.
- Kim, H., (1989): Effects of 2-acetylaminofluorene levels and butylated hydroxytoluene on the hepatic lipid peroxide metabolizing enzymes in rats fed different dietary fats. M.S. Thesis. Seoul National University.
- Koster, J.F. and R.G. Slec, (1980): Lipid peroxidation of rat liver microsomes, *Biochim. Biophys. Acta* **620**: 489-499.
- Kuratco, C. and B.C. Pence, (1991): Changes in colonic antioxidant status in rats during long-term feeding of different high fat diets, *J. Nutr.* **121**: 1562-1569.
- Kwak, C., (1991): Effects of dietary fats on lipid peroxidation, drug-metabolizing enzyme activities eicosanoid productions in 2-acetylaminofluorene treated rats. Ph.D. dissertation Seoul National University
- Lai C.S. and L.H. Piette, (1977): Hydroxy radical pro-

- duction involved in lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Com.* **78**(1): 51-59.
15. Mason, R.P., K. Stolze, and K.M. Morehous, (1987): Electron Spin Resonance studies of the free radical metabolites of toxic chemicals, *Br. J. Cancer* **55** Suppl: 163-171.
 16. McCay, P.B., M.N. King, L.E. Rikans, and J.V. Pitha, (1980): Interactions between dietary fats and antioxidants on DMBA-induced mammary carcinomas, and on AAF-induced hyperplastic nodules and hepatomas, *J. Environ. Pathol. Toxicol.* **3**: 451-456.
 17. Mouri, K., H. Ikesu, T. Esaka, and O. Igarashi, (1984): The influence of marine oil intake upon levels of lipids. α -Tocopherol and lipid peroxidation in serum and liver of rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **30**: 307-318.
 18. Odeleye, O.E., (1991): Lipid peroxidation in the ethiology of alcohol liver injury and cancer: modulatory role of vitamin E. Ph.D. dissertation. The university of arizona.
 19. Player, T.J., (1982): Lipid peroxidation in rat liver, hepatomas and regenerating liver: In free radicals, lipid peroxidation and cancer. Ed. McBrien DCH and Slater TF. Academic Press. pp. 173-195.
 20. Shridhar, R., (1984): Spin trapping agents protect against microsomal lipid peroxidation. Oxygen radical in chemical biology. pp. 309-315.
 21. Singh, Y., (1991): The role of xenobiotic metabolism and lipid peroxidation in hepatotoxicity in the rat and trout. Ph.D. Dissertation. The university of california, Davis.
 22. Spiegel, R.J., I.T. Mgrath, and J.A. Shutta, (1981): Role of cytoplasmic lipids in altering diphenylhexatriene fluorescence polarization in malignant cells. *Cancer Res.* **41**: 452-458.
 23. Stier, A., I. Reitz, and E. Sackmann, (1972): Radical accumulation in liver microsomal membranes during biotransformation of aromatic amines and nitroso compounds, *Exptl. Pathol. Pharmacol.* **274**: 189-194.
 24. Summerfield, F.W. and A.L. Tappel, (1984): Effect of dietary polyunsaturated fats and vitamin E on aging and peroxidative damage to DNA, *Archiv. Biochem. Biophys.* **233**(2): 408-416.
 25. Swartz, H.M. and P.L. Gutierrez, (1977): Free radical increase in cancer: Evidence that there is not a real increase., *Science* **198**: 936-938.
 26. Tuner, G.A., (1987): The biometric chemistry of malondialdehyde. Ph.D. Dissertation. The university of IOWA.
 27. Vaca, C.E. and M. Harms-Ringdahl, (1986): Lipid peroxidation in the rat-liver S9 fraction: Influence of membrane lipid composition, *Mutation Res.* **162**: 21-32.
 28. Wade, A.E. and S. Dharwadkar, (1986): Dietary fat and cancer. Ed. Alan R Liss, pp. 587-606.