

Dimethylhydrazine으로 처리한 쥐에서 식이섬유소와 지방종류가 대장의 종양발생율과 세포증식에 미치는 영향*

최주선 · 김채종 · 박현서

경희대학교 가정대학 식품영양학과

Effect of Dietary Fiber and Fat on Tumor Incidence and Cell Proliferation of Colonic Mucosa in DMH-Treated Rats

Choi, Joo-Sun · Kim, Chae-Jong · Park, Hyun-Suh

Department of Foods and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

This study was designed to observe the effect of dietary fiber and fat on colon tumor incidence and cell proliferation. Male Sprague Dawley rats(n=225), at 7 weeks of age, were divided into 3 groups depending on the type of fat(beef tallow, corn oil and DHA-rich fish oil) and each group was again divided into 3 groups depending on type of fiber(fiber-free, pectin and cellulose). The experimental diet containing dietary fat at 15%(w/w) and fiber at 6%(w/w) levels was fed for 25 weeks. At the same time, each rat was intramuscularly injected with DMH two times a week for 6 weeks to give total dose of 180 mg/kg body weight. Cell proliferation was measured by in vivo incorporation of bromodeoxyuridine (BrdU) into DNA. Fish oil decreased the tumor incidence(9.67%) compared with beef tallow(22.39%) and corn oil(21.21%). Tumor incidence was decreased in all groups that fed cellulose(11.67%) compared with those of fiber-free(21.74%) and pectin(19.70%). Most of tumors was distributed at the site of the distal colon. The rats fed both fish oil and cellulose significantly decreased the number of tumors and tumor incidence compared to other groups. Fish oil was more effective in preventing cell proliferation by decreasing crypt length and labeling index(LI) compared with beef tallow($p < 0.05$). Cell proliferation in distal colon was more developed to the upper part of the crypt compared to proximal colon. Overall, tumor incidence and cell proliferation were more affected by dietary fat. But the effect of dietary fiber was different depending on type of fat in the experimental diet. These results suggest that a DHA-rich fish oil may have more decisive effect in inhibiting the cell proliferation in colon. (*Korean J Nutrition* 31(4) : 697~707, 1998)

KEY WORDS : colon cancer · biomarker · tumor incidence · cell proliferation · labeling index · crypt length · docosahexaenoic acid · pectin · cellulose.

서 론

대부분의 암의 발생은 유전적인 원인과 환경적인 원

인이 복합적으로 작용하여 일어나는 multi-step process이다. 대장암의 발생은 환경적인 원인에 의하여 크게 영향을 받는데 고지방, 고단백, 고열량식은 대장

채택일 : 1998년 4월 7일

*This study was supported by a grant from Kyung Hee University(1995).

암의 발생율을 증가시키며, 섬유소, 비타민 A, 비타민 E, 비타민 C, 셀레늄 등의 충분한 섭취는 발생율을 감소시키는 것으로 보고되었다⁴³.

대부분의 연구에서 식이지방과 대장암은 정의 상관관계가 있음을 보고하고 있으나 식이지방이 대장암 발생에 미치는 영향이 항상 일관성있는 것은 아니었는데, 이는 섭취하는 지방의 형태에 따라서 지방산조성이 다르기 때문이라고 하였다⁴⁵. 본 연구실에서도 쇠기름과 옥수수유에 비해 어유를 9%(w/w) 수준으로 섭취시켰을 때 대장암 발생을 억제하는 효과가 있었다⁶. 또한 옥수수유에 비해 들기름을 15%(w/w) 섭취시켰을 때에도 대장암의 발생을 방어하는 효과가 있음을 관찰하였다⁷. 이와같이 쇠기름에 함유된 포화지방산이나 식물성기름에 다량 함유되어 있는 linoleic acid와 같은 n-6계 polyunsaturated fatty acid(PUFA)에 비하여 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA)와 같은 n-3계 PUFA는 대장암 발생을 억제하는 효과가 있었다⁸⁻¹⁰.

한편, 역학조사에서 다량의 섬유소를 섭취하는 나라는 대장암의 발병율이 낮았던 반면, 섬유소가 거의 없는 정제된 당질을 섭취하는 나라에서는 대장암의 발병율이 높았다^{21,11,12}. 대장암 발병의 증가는 고지방/저섬유소 식이의 섭취와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있으나^{6,13,14} 아직 그에 대한 기전은 명확하게 규명되지 않았다. 화학적 발암원으로 대장암을 유발시킨 실험에서는 wheat bran 또는 cellulose와 같은 잘 발효되지 않는 식이섬유소(Insoluble fiber)를 첨가시켰을 때는 방어효과를 보였으나, pectin, corn bran, agar, guar gum, alfalfa와 같은 수용성 섬유소(soluble fiber)를 첨가시켰을 때에는 오히려 대장암 발생이 촉진된 것으로 보고되었다¹⁴. 그러나 아직 암화과정에서 식이섬유소가 미치는 영향은 다양하여 일관성이 없는 것으로 나타났다^{15,16}.

세포증식(cell proliferation)은 암화과정에서 promotion, progression 단계에 필수적으로 일어나는 현상으로 cell proliferation을 촉진시키는 요인은 대장암 발생을 촉진하는 인자로 간주할 수 있다^{17,18}. 세포증식이 촉진되었을 경우에는 cell cycle중 DNA 복제가 일어나는 S phase의 기간이 길어지게 되어 이로인해 생성되는 세포수가 탈락하는 세포수(exfoliating cell)보다 더 많아짐으로 crypt size가 넓어지고 길어지게 된다. 또 정상적인 세포에서는 proliferating zone이 crypt의 아래부분의 1/3정도에서 이루어지나 비정상적인 대장암세포에서의 proliferating zone은 crypt의 2/3부분으로 확대되어 증식정도를 나타내는 labeling

index가 정상세포에서 보다 훨씬 높게 된다^{19,20}. 실제로 crypt의 길이와 둘레가 길어지고 넓어지게 되면 대장암의 발생위험이 증가된다^{21,22}. 고지방식이를 섭취하였을 때가 저지방식이를 섭취하였을 때에 비해 cell proliferation이 증가되었으나 식이섬유소 첨가에 의해서는 식이섬유소의 급원에 따라 cell proliferation이 다르게 관찰되었다^{20,23,24}.

서로 다른 종류의 식이지방과 섬유소는 각각의 화학적, 물리적, 생리적 특성이 다르며 대장내의 환경이나 세포막에 다르게 영향을 미치게 되어 대장상피세포에서의 여러 화합물의 합성과 효소활성에 변화를 유발할 뿐만 아니라 대장내에 존재하는 여러 toxic한 물질을 형성하여 상피세포를 손상시키게 된다. 이 결과 대장상피세포의 성장에 변화를 유발하여 cell proliferation의 정도를 변화시켜 대장암의 발생에 다르게 영향을 미치는 것으로 사려된다.

따라서 본 연구에서는 화학적 발암원으로 대장암을 유발시키고 식이지방과 섬유소의 종류를 다르게 구성한 실험식이를 장기간 투여하여 대장의 종양발생 빈도와 대장점막의 세포증식과 분포정도에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험계획

생후 7주된 Sprague Dawley종 수컷쥐를 체중에 따라 난괴법에 의하여 25마리씩 9군으로 나누었다. 즉 실험군은 식이지방의 급원에 따라서 쇠기름(beef tallow; BT), 옥수수유(corn oil; CO), 어유(참치안구유, fish oil; FO, 동원식품연구소)군으로 나누고, 각각의 군을 다시 3군으로 나누어 섬유소를 첨가하지 않은 무첨가군(BT-F, CO-F, FO-F), 불용성 섬유소인 cellulose를 첨가한 군(BT-C, CO-C, FO-C)과 수용성 섬유소인 pectin 첨가한 군(BT-P, CO-P, FO-P)으로 나누어 각각의 실험식으로 25주동안 사육하였다. 화학적 발암원으로는 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride(DMH, 99%, Aldrich Chemical Co, Wis)를 주 2회씩 체중 kg당 15mg을 6주간 근육주사하여 총투여량이 180mg/kg이 되도록 하였다.

실험식이는 Table 1에서와 같이 총 열량중 단백질이 약 20%, 당질이 약 50%, 지방질이 30%(15%, w/w)로 구성하였으며, 지방과 섬유소의 종류만 다르게 하고 다른 성분은 동일하게 하였다. 섬유소를 첨가하는 군의 실험식이는 fiber-free 인 기본 실험식이에 무게의 6% 수준으로 섬유소를 첨가한다. 즉, insoluble fiber로

cellulose를 6%, soluble fiber로 pectin을 6% 각각 일정한 비율로 섞어 희석하는 방법을 이용하였다. 각 실험식이의 주된 지방산으로 n-9 oleic acid, n-6 linoleic acid 및 n-3 α -linolenic acid, EPA, DHA의 함량은 Table 2에서와 같다. 어유와 쇠기름에는 필수

지방산이 부족하므로 총열량의 2.6% 수준이 되도록 옥수수유를 첨가하였으며, 어유는 불포화도가 높아서 산패가 용이하므로 이를 예방하기 위하여 각 기름의 불포화도의 정도에 비례하여 dl- α -tocopherol을 첨가하여 주었다.

Table 1. Dietary formulations of fiber-free basal diet

Ingredients	Dietary groups		
	BT-F	CO-F	FO-F
	g/100g diet		
Corn starch	57.40	57.40	57.40
Casein	22.00	22.00	22.00
L-methionine	0.30	0.30	0.30
Fat or oOl			
Beef tallow*	12.47	-	-
Corn oil	2.53	15.00	2.60
Fish oil*	-	-	12.40
Mineral mix ¹	4.00	4.00	4.00
Vitamin mix ²	1.00	1.00	1.00
Choline bitartrate	0.30	0.30	0.30
Total	100.00	100.00	100.00
	% nutrients of calculated as calorie		
Total calorie, kcal/100g diet		453.00	
Protein, %		19.43	
Fat, %		29.80	
Carbohydrate, %		50.77	

BT-F : Beef tallow+Fiber-free CO-F : Corn oil+Fiber-free
FO-F : Fish oil+Fiber-free

¹ AIN 76 Mineral mixture : g/kg of mix : Calcium phosphate, dibasic 500 ; Sodium chloride 74 ; Potassium citrate, monohydrate 220 ; Potassium sulfate 52 ; Magnesium oxide 24 ; Manganous carbonate(43 - 48% Mn) 3.5 ; Ferric citrate(16 - 17% Fe) 6 ; Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6 ; Cupric carbonate(53 - 55% Cu) 0.3 ; Potassium iodate 0.01 ; Sodium selenite 0.01 ; Chromium potassium sulfate 0.55 ; Sucrose, finely powdered 118.03

² AIN 76 Vitamine Mixture(Modified without vitamin E and vitamin A) : g/kg of mix : Thiamine hydrochloride 0.6 ; Riboflavin 0.6 ; Pyridoxinehydrochloride 0.7 ; Nicotinic acid 3.0 ; D-calcium pantothenate 1.6 ; Folic acid 0.2 ; D-biotin 0.02 ; Cyanocobalamin 0.001 ; Cholecalciferol (400,000IU/g) 0.25 ; Manaqunone 0.005 ; Ascorbicacid 0.2 ; Sucrose, finely powdered) 992.824

*Supplemented 54.55mg DL- α -tocopherol/100g beef tallow

*Supplemented 145.46mg DL- α -tocopherol/100g tuna oil.

2. 시료준비 및 생화학적 분석

실험기간이 끝나는 날 공복상태에서 쥐를 해부하기 1시간 전에 체중 kg당 5mg의 bromodeoxyuridine (BrdU)을 phosphate buffered saline(PBS buffer, pH 7.4)에 녹여 복강주사한다. 정확히 1시간 후에 동물을 해부하여, 대장을 절개한 후 장내용물을 제거하고 PBS buffer로 닦아낸다. 대장의 길이를 썬 후 proximal 부분과 distal 부분으로 나누어서 각 부위의 종양수를 세었으며, 종양의 크기도 측정하였다. 대장은 proximal과 distal의 끝부분으로부터 1cm 떨어진 조직을 절편하여 BrdU test를 하여 cell proliferation 정도를 비교할 수 있도록 70%, 80%, 95%, 100% ethanol 용액에 저장한 다음 xylene 용액에 담구었다가 paraffin 처리하여 block을 만들어 4 μ m 두께로 section하여 albumin coated slides에 고정시킨후 면역조직학적 방법¹⁹⁾에 의하여 BrdU가 DNA에 결합된 정도를 관찰하였다.

Tissue section을 xylene에 3회 담구어 deparaffinize한 다음 100%에서 70% ethanol로 처리하여 dehydration시킨다. Tissue section을 10분동안 3% H₂O₂ in methanol 용액에 담구어 두었다 이온제거수로 씻은 다음 2N HCl 용액에 1½시간 동안 담구어 둔다. Sodium borate(0.1M Na₂B₄O₇, pH 8.5) 용액에 5분간 담구어서 산을 중화시킨 다음 조직절편에 'normal goat serum blocking agent'를 떨어뜨린 후 20분간 humid chamber에 방치한다. Anti-BrdU MOAb 용액을 떨어 뜨린후 1시간동안 humid chamber에서 방치한 다음 'goat antimouse' linking reagent를 조직절편에 떨어뜨려 humid chamber에서 20분간 방치한다. 'Mouse IgG peroxidase' labeling reagent를 조직절편에 떨어뜨린 후 humid chamber에 20분동안 방치한 다음 Tris buffered saline(40mM, pH 7.6)으

Table 2. Content of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acid in experimental diets

Dietary groups	Fat source	C18 : 1 (n-9)	C18 : 2 (n-6)	C18 : 3(n-3)	C20 : 5+C22 : 6 (n-3)
% kcal					
All BT groups ¹⁾	bt 12.47+co 2.5	11.84	3.72	0.05	-
All CO groups	co 15	7.05	18.04	0.28	-
All FO groups ¹⁾	fo 12.40+co 2.60	3.92	3.39	0.59	8.16

1) Extra corn oil was added to beef tallow and fish oil at levels of 2.6% w/w) to provide adequate amount of linoleic acid.
bt : beef tallow co : corn oil fo : fish oil

로 행구어 낸다. DAB-Cobalt plus imidazole reagent(0.05% DAB in 0.04M Tris, pH 7.6 with 0.01M imidazole and 0.1% CoCl_2)를 떨어뜨려 5분간 방치한 후 3% H_2O_2 를 떨어뜨려서 3분간 두어서 Brdu가 incorporation되는 위치에서 polimerization이 용이도록 한다. 이온수로 씻고 Eosin으로 30초간 염색한 다음 탈이온수로 행구고 ethanol과 xylene을 이용하여 탈수시킨 다음 permount 하여 cover slip을 덮는다. 광학현미경으로 BrdU가 DNA에 결합된 정도와 조직의 변형정도를 관찰한다.

3. 통계처리

모든 실험결과의 통계처리는 SAS 통계 program을 이용하였으며 결과는 mean과 standard error(SE, 표준오차)로 표시하였다. 식이지방의 종류와 섬유소의 첨가에 의한 영향을 검증하기 위해 two way-anova로 분산분석하였다. 평균간의 유의성은 general linear model의 duncan's multiple range test에 의해 비교하였으며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결 과

DMH로 처리하면서 종류가 다른 식이지방과 섬유소로 구성된 실험식을 25주동안 투여하여서 종양의 발생률과 대장암 암화과정의 biomarker로 세포증식을 비교 관찰하였다.

1. 대장의 종양발생률

1) 식이지방의 영향

실험 시작시에는 각 군에 25마리의 동물로부터 시작하였으나 실험동안에 BT-C군에서 7마리, BT-P군에서 1마리, CO-F군에서 1마리, CO-C군에서 4마리, CO-P군에서 4마리, FO-F군은 5마리, FO-C군은 4마리, FO-P군에서 4마리가 죽어서 남은 동물을 기준으로

Table 3에서 종양 발생율을 산출하였다.

종양에 걸린 동물수와 암발생율을 보면 섬유소 무첨가군 중에서는 FO-F군에 비하여 BT-F군과 CO-F군에서 높았으며, 총종양수와 마리당 평균종양수도 같은 결과를 얻었다. Cellulose 첨가군끼리 비교했을때 BT-C군에서는 종양을 가진 동물이 없어서 비교하기가 어렵지만 FO-C에 비해 CO-C군이 종양을 가진 동물이 더 많았으며, 종양발생율과 총종양수 및 마리당 평균 종양수가 많았다. Pectin 첨가군끼리 비교하여 보면 BT-P군이 CO-P와 FO-P군에 비하여 종양을 가진 동물수가 많았으며, 종양발생율은 BT-P군이 CO-P와 FO-P군에 비하여, CO-P군이 FO-P군에 비하여 더 높게 나타났다. 총종양수를 보면 BT-P군이 CO-P와 FO-P군에 비하여 훨씬 많았으며, 마리당 평균 종양수도 더 많은 것으로 나타났다. 따라서 BT에 비해 CO와 FO가, CO에 비해 FO가 종양의 생성을 더 억제하였다.

2) 식이섬유소의 영향

BT를 섭취군끼리 비교하여 보면 BT-C에 비하여 BT-F와 BT-P가 종양을 가진 동물수와 종양 발생률, 총종양수 및 마리당 평균종양수가 많았다(Table 3). CO를 섭취한 군끼리 비교하면 종양을 가진 동물수, 종양발생율과 총종양수를 보면 CO-P군에 비하여 CO-F와 CO-C군이 더 많았다. FO를 섭취한 군끼리 비교해보았을 때에 섬유소 종류에 의한 영향은 없었다. 섬유소를 섭취한 군에 비해 섬유소 무첨가군에서 종양 발생률이 높았으나 BT를 섭취한 경우는 cellulose가, CO를 섭취한 경우에는 pectin이 암 발생율을 억제하였으나, FO를 섭취한 경우에는 큰 차이가 없었다. 따라서 식이섬유소가 종양 발생율에 미치는 영향은 식이지방의 종류에 따라 미치는 영향이 다른 것으로 나타났다. 종양의 크기와 분포를 살펴보면(Table 4) 종양의 크기는 1~3mm 크기가 가장 많았으며, CO와 FO에 비해 BT에서 종양의 크기와 평균 종양수도 더 많은 것

Table 3. Colon tumor incidence in rats fed different dietary fats and fibers¹⁾

Groups	(n)	Rats with tumors	Frequency(%)	Total tumors	Avg tumors per rat
BT-F	25	7	28.00	11	0.44
BT-C	18	0	0.00	0	0.00
BT-P	24	8	33.33	14	0.58
CO-F	24	6	25.00	10	0.25
CO-C	21	5	23.81	11	0.52
CO-P	21	3	14.29	4	0.19
FO-F	20	2	10.00	2	0.10
FO-C	21	2	9.52	2	0.10
FO-P	21	2	9.52	3	0.14

¹⁾ Tumor incidence was observed at 25 weeks of feeding. n : number of rats.

DMH : Inject 15 mg 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride/kg body weight intramuscularly 2 times a week for 6 weeks.

Table 4. Size and distribution of tumors in rats

Groups	Tumor size (mm)					Number of tumors in tumor-bearing rats					Site of tumors in large intestine	
	<1	1-3	4-6	7-9	>10	1	2	3	4	5	Proximal	distal
BT-F	-	1	6	3	1	5	1	-	1	-	1	10
BT-C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BT-P	-	8	4	1	1	5	2	-	-	1	2	12
CO-F	1	6	1	1	1	3	2	1	-	-	4	6
CO-C	-	5	5	1	-	3	1	-	-	-	3	8
CO-P	-	2	2	-	-	2	1	-	-	-	1	3
FO-F	-	1	-	-	1	2	-	-	-	-	1	1
FO-C	-	1	1	-	-	2	-	-	-	-	2	-
FO-P	-	2	-	1	-	1	1	-	-	-	1	2

Table 5. Effect of different dietary fats and fibers on cell kinetic indices in proximal colon in rats.

Dietary fiber	Dietary fats			p value
	Beef tallow	Corn oil	Fish oil	
Crypt circumference	no. of cell			
Fiber-free	22.03 ± 1.36 ^a	19.04 ± 0.93 ^b	18.35 ± 0.35 ^b	Oil <0.0001
Cellulose	19.71 ± 0.37 ^b	19.46 ± 0.63 ^b	17.14 ± 1.02 ^b	Fiber NS
Pectin	22.26 ± 0.72 ^a	19.75 ± 0.84 ^b	18.70 ± 0.96 ^b	Oil × Fiber <0.0407
Crypt length	no. of cell			
Fiber-free	37.83 ± 3.49 ^a	22.77 ± 1.23 ^c	24.07 ± 1.49 ^c	Oil <0.0015
Cellulose	22.96 ± 2.02 ^c	24.34 ± 1.66 ^c	33.06 ± 6.35 ^b	Fiber NS
Pectin	27.19 ± 2.07 ^c	26.13 ± 3.43 ^c	25.11 ± 2.47 ^c	Oil × Fiber <0.0001
Total no. of cells in crypt	no. of cell			
Fiber-free	819.99 ± 53.17 ^a	437.41 ± 45.14 ^d	441.94 ± 29.76 ^d	Oil <0.0000
Cellulose	453.51 ± 43.47 ^d	476.49 ± 44.08 ^{cd}	640.17 ± 129.29 ^b	Fiber <0.0000
Pectin	606.43 ± 56.57 ^c	522.67 ± 86.49 ^{bcd}	476.65 ± 63.79 ^{bcd}	Oil × Fiber <0.0000
Labeling index	%			
Fiber-free	17.49 ± 1.74	16.22 ± 2.49	13.18 ± 1.63	Oil NS
Cellulose	11.77 ± 2.16	13.25 ± 1.41	13.29 ± 2.12	Fiber NS
Pectin	15.91 ± 0.98	13.06 ± 1.52	12.39 ± 2.13	Oil × Fiber NS
Proliferative zone	%			
Fiber-free	55.67 ± 3.02	51.81 ± 2.80	41.26 ± 2.49	Oil NS
Cellulose	41.75 ± 7.59	48.62 ± 5.77	41.65 ± 7.17	Fiber NS
Pectin	49.24 ± 3.27	48.88 ± 5.12	48.93 ± 2.20	Oil × Fiber NS
Labeling index in proliferative zone	%			
Fiber-free	30.55 ± 2.52	31.26 ± 5.25	32.24 ± 3.87	Oil NS
Cellulose	25.35 ± 3.55	25.88 ± 3.08	26.96 ± 2.00	Fiber NS
Pectin	34.47 ± 1.94	25.52 ± 1.76	25.11 ± 3.60	Oil × Fiber NS

Mean ± SE. n=5. NS : not significant.

Means sharing common superscripts in the same column or row are not significantly different at p < 0.05.

Crypt circumference = # of cells in circumference of each crypt.

Crypt length = total # of cells in each crypt.

Total cells per crypt = crypt length × circumference.

Labeling index = (total # of labeled cells / crypt length) × 100.

Proliferative zone = (position of highest labeled cell / crypt length) × 100.

Labeling index in proliferative zone = (total # of labeled cells / position of highest labeled cell) × 100.

으로 나타났으며, FO를 섭취할 경우에는 종양의 발생을 억제 또는 지연시키는 효과뿐만 아니라 생성되는 종양의 크기도 가장 적었다. 암이 발생한 위치(Table 4)를 보면 proximal colon에서보다 distal colon에서 대부분의 암이 발생하였는데, 섬유소보다는 식이지방이 대장암의 발생에 더 큰 영향을 미친 것을 관찰하였다.

2. 대장점막의 세포증식(cell proliferation)

식이지방과 섬유소가 세포증식에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 다음과 같이 분류하여 관찰하였다.

1) 식이지방의 영향

(1) Crypt circumference

식이지방의 영향을 보기위해서 같은 섬유소를 섭취한 군끼리 비교해 보고자한다. Proximal colon(Table 5)에서 섬유소 무첨가군(BT-F, CO-F, FO-F)이나 pec-

tin을 첨가한 군(BT-P, CO-P, FO-P)끼리 각각을 비교해보면 CO와 FO에 비해 BT에 의해서 circumference가 유의성있게 증가되었으나 cellulose를 첨가하였을 때는 지방 종류에 따른 차이를 보이지 않았다. Distal colon(Table 6)에서는 식이지방 종류에 따른 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다.

(2) Crypt length

Proximal colon(Table 5)에서 섬유소 무첨가군에서는 CO와 FO에 비해 BT에 의해서 crypt length가 유의성있게 증가되었으나, cellulose 첨가시에는 BT와 CO에 비해 FO에 의해서 유의성있게 길어졌고, pectin 첨가군 중에서는 지방종류에 따라 차이를 나타내지 않았다. Distal colon(Table 6)에서는 섬유소를 첨가하지 않은 군을 비교해 보면 CO와 FO에 비하여 BT에 의해서 유의성있게 증가되었으며, cellulose 첨가군에

Table 6. Effect of different fats and fibers on cell kinetic indices in distal colon in rats

Dietary fiber	Dietary fats			p value	
	Beef tallow	Corn oil	Fish oil		
Crypt circumference		no. of cell			
Fiber-free	27.02 ± 3.44	24.42 ± 3.38	23.35 ± 2.66	Oil	NS
Cellulose	26.13 ± 5.16	25.06 ± 5.45	24.96 ± 3.85	Fiber	NS
Pectin	24.42 ± 3.31	25.55 ± 4.03	23.66 ± 4.56	Oil × Fiber	NS
Crypt length		no. of cell			
Fibr-free	37.30 ± 3.64 ^a	30.08 ± 3.54 ^{cd}	26.86 ± 1.01 ^d	Oil	<0.0006
Cellulose	34.49 ± 4.57 ^{abc}	33.25 ± 6.46 ^{abc}	30.91 ± 5.56 ^{bcd}	Fiber	NS
Pectin	35.96 ± 2.54 ^{ab}	30.19 ± 7.69 ^{cd}	33.18 ± 4.16 ^{abc}	Oil × Fiber	NS
Total no. of cells in crypt		no. of cell			
Fiber-free	1007.63 ± 169.52 ^a	735.11 ± 136.34 ^{ab}	627.13 ± 75.01 ^b	Oil	<0.0308
Cellulose	904.19 ± 215.66 ^{ab}	857.38 ± 359.49 ^{ab}	771.55 ± 170.83 ^{ab}	Fiber	NS
Pectin	883.62 ± 174.88 ^{ab}	780.58 ± 275.93 ^{ab}	790.98 ± 203.39 ^{ab}	Oil × Fiber	NS
Labeling index		%			
Fiber-free	19.58 ± 5.59 ^a	21.30 ± 15.66 ^a	17.67 ± 2.90 ^{ab}	Oil	NS
Cellulose	17.57 ± 3.70 ^{ab}	19.68 ± 5.47 ^a	9.72 ± 4.61 ^b	Fiber	NS
Pectin	19.58 ± 5.59 ^a	17.51 ± 4.42 ^{ab}	17.92 ± 5.52 ^{ab}	Oil × Fiber	NS
Proliferative zone		%			
Fiber-free	59.42 ± 11.30	39.13 ± 26.01	54.47 ± 3.54	Oil × Fiber	NS
Cellulose	57.01 ± 12.35	57.43 ± 15.91	45.60 ± 24.42	Oil	NS
Pectin	59.42 ± 11.30	53.32 ± 11.32	45.92 ± 4.60	Fiber	NS
Labeling index in proliferative zone		%			
Fiber-free	34.44 ± 9.03	33.51 ± 13.25	32.71 ± 3.97	Oil	NS
Cellulose	31.26 ± 8.95	34.42 ± 3.77	36.58 ± 35.73	Fiber	NS
Pectin	34.44 ± 9.03	33.95 ± 9.38	36.10 ± 4.18	Oil × Fiber	NS

Mean ± SE. n=5. NS : not significant.

Means sharing common superscripts in the same column or row are not significantly different at p<0.05.

Crypt circumference=# of cells in circumference of each crypt.

Crypt length=total # of cells in each crypt.

Total cells per crypt=crypt length × circumference.

Labeling index=(total # of labeled cells/crypt length) × 100.

Proliferative zone=(position of highest labeled cell/crypt length) × 100.

Labeling index in proliferative zone=(total # of labeled cells/position of highest labeled cell) × 100.

서는 지방종류에 의한 차이가 없었다. Pectin 첨가군에서는 CO에 비해 BT에 의해서 유의성있게 crypt length가 길어졌으나 BT와 FO에 의해서는 차이가 없었다. 따라서 식이지방이 crypt length에 미치는 영향은 첨가된 식이섬유소의 종류에 따라 다르게 나타났다.

(3) Total cells per crypt

Proximal colon(Table 5)에서 섬유소를 첨가하지 않은 경우에는 CO와 FO에 비하여 BT에 의해서 총세포수가 유의적으로 증가되었으며, cellulose를 첨가한 군에서는 BT와 CO에 비하여 FO에 의해서 유의성있게 증가된 것으로 나타났다. Pectin 첨가한 경우에는 CO와 FO에 비해 BT에 의해서, 또 CO는 FO에 비하여 유의성은 없었으나 증가된 경향을 보였다. Distal colon(Table 6)에서 섬유소 무첨가군에서는 FO에 비하여 BT에 의해서 유의성 있게 증가되었으나 CO와 FO의 영향은 유의적인 차이가 없었다. Cellulose 첨가군에서는 지방종류에 의한 유의적인 차이가 없었으며, pectin 첨가군에서도 마찬가지로 지방종류에 따른 차이가 없었다.

(4) Labeling index(LI)

Proximal colon(Table 5)에서는 섬유소와 상관없이 식이지방의 종류에 따른 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다. Distal colon(Table 6)에서는 섬유소를 첨가하지 않은군에서는 지방종류에 의한 유의적인 차이가 없었고 pectin 첨가군에서도 유의적인 차이가 없었다. Cellulose 첨가군에서는 BT와 CO에 비하여 FO에 의

해서 유의성있게 낮아서 FO 섭취에 의하여 세포증식이 억제되는 것을 관찰하였다.

(5) Proliferation zone

Proximal colon과 distal colon 모두에서 섬유소와 상관없이 식이지방의 종류에 의한 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다(Table 5, 6).

(6) Labeling index in proliferative zone

대장점막 전반에 걸쳐서 식이지방과 섬유소의 종류에 의한 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다(Table 5, 6).

(7) Labeling index in a quarter

세포증식이 대장 crypt의 어느 부분에서 활발하게 이루어지고 있는가를 관찰하기 위해서 crypt를 4등분하여 Q1, Q2, Q3, Q4의 구획으로 나눈 다음에 BrdU가 labeling된 LI를 비교하여 증식의 활성도를 알아 보았다. Proximal colon의 Q1(Table 7)에서 섬유소를 첨가하지 않은 군에서는 지방종류에 의해서 유의적인 차이가 없었다. Cellulose 첨가군에서는 CO와 FO에 비하여 BT에 의해서 유의성있게 LI가 증가하였으며, pectin 첨가군에서도 마찬가지로 BT에 의해서 유의성있게 LI가 증가되었고 CO와 FO사이에는 차이가 없었다. Q2, Q3, Q4에서는 섬유소와 상관없이 LI는 지방종류에 따른 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다. Distal colon(Table 8)의 Q1에서 섬유소 무첨가군에서 식이지방의 종류에 따라 LI는 차이가 없었으며, pectin 첨가시에도 차이가 없었다. Cellulose 첨가시에는 FO에 의해서 유의성있게 감소하였다. Q2에서도 섬유

Table 7. Effect of dietary fats and fibers on distribution of labeled cells in proximal colon crypts in rats

Dietary groups	Labeling index in each quarter			
	Q1 %	Q2 %	Q3 %	Q4 %
BT-F	17.99 ± 2.81 ^{abc}	33.36 ± 2.68	16.81 ± 4.73	0.48 ± 0.48
BT-C	7.34 ± 2.68 ^c	31.58 ± 5.05	7.25 ± 3.86	0.00 ± 0.00
BT-P	22.68 ± 3.25 ^a	35.59 ± 3.54	6.61 ± 3.03	0.67 ± 0.67
CO-F	17.76 ± 5.04 ^{abc}	32.30 ± 6.44	12.72 ± 3.80	0.62 ± 0.38
CO-C	15.59 ± 2.02 ^{abc}	27.13 ± 7.07	10.19 ± 3.32	0.00 ± 0.00
CO-P	9.54 ± 3.67 ^{bc}	28.90 ± 2.18	12.87 ± 6.97	0.00 ± 0.00
FO-F	20.20 ± 6.09 ^{ab}	24.79 ± 3.97	5.43 ± 2.12	0.40 ± 0.40
FO-C	17.26 ± 5.61 ^{abc}	27.00 ± 5.58	10.39 ± 3.81	0.00 ± 0.00
FO-P	10.20 ± 3.56 ^{bc}	31.82 ± 3.84	6.90 ± 2.16	0.67 ± 0.67
P value				
Oil	NS	NS	NS	NS
Fiber	NS	NS	NS	NS
Oil × Fiber	<0.0270	NS	NS	NS

Labeling index in each quarter of crypt was observed at 25 weeks.

Mean ± SE. Number of samples=5. NS : not significant.

Means sharing common superscripts in the same column are not significantly different at p < 0.05.

소 무첨가시나 pectin을 첨가한군에서는 식이지방 종류에 따른 차이를 보이지 않았으나, cellulose를 첨가하였을 때는 proximal에서와 마찬가지로 FO에 의해서 LI가 유의적으로 감소된 것을 관찰하였다. 그러나 Q3와 Q4에서는 섬유소와 상관없이 식이지방 종류에 따른 차이가 없는 것으로 나타났다.

2) 식이 섬유소의 영향

(1) Crypt circumference

Proximal colon(Table 5)에서 BT를 섭취한 군끼리 비교했을 때 섬유소 무첨가 또는 pectin을 첨가한 경우보다 cellulose에 의해서 circumference가 유의성있게 낮았다. 그러나 CO와 FO를 섭취한 군에서는 섬유소의 종류나 첨가 유무에 따라 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다. Distal colon(Table 6)에서는 식이지방의 종류와 상관없이 섬유소 종류와 첨가 유무에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러므로 crypt circumference는 BT를 섭취하면서 섬유소를 섭취하지 않거나 pectin을 섭취하였을 경우에 유의적으로 더 높았던 것을 관찰하였다.

(2) Crypt length

Proximal colon(Table 5)에서 BT 섭취군에서 섬유소를 첨가하지 않았을 경우에 섬유소를 첨가한 경우보다 crypt length가 유의성있게 길었으나, cellulose와 pectin은 유의성있는 차이를 보이지는 않았다. CO 섭취군에서는 섬유소의 첨가 또는 종류에 따른 차이가 없

었으며, FO 섭취군에서는 섬유소 무첨가시나 pectin에 비해 cellulose에 의해서 crypt length가 유의성있게 길어졌다. Distal colon(Table 6)에서는 BT와 CO 섭취군에서는 각각 섬유소의 첨가에 따라 crypt length에는 차이가 없었으나 FO 섭취군에서는 섬유소 무첨가시 pectin 첨가한 경우보다 crypt length가 짧았으나, pectin과 cellulose의 영향에는 차이가 없었다. 따라서 식이섬유소가 crypt length에 미치는 영향은 첨가된 식이지방의 종류에 따라 다르게 나타났다.

(3) Total cells per crypt

Proximal colon(Table 5)에서 BT 섭취군에서는 cellulose와 pectin 보다 섬유소 무첨가에 의하여 총세포수가 유의성 있게 증가되어 섬유소를 첨가하지 않았을 때가 총세포수가 가장 크게 증가되었다. CO 섭취군에서는 섬유소의 종류에 의한 유의적인 차이가 없었다. FO 섭취군에서는 섬유소를 첨가하지 않았을 때와 pectin 첨가에 비하여 cellulose 첨가에 의하여 증가하였으며, 또한 섬유소를 첨가하지 않았을 때보다 pectin 첨가에 의해 유의성 있게 총 세포수가 증가되었다. Distal colon(Table 6)에서는 섬유소의 첨가 또는 섬유소의 종류에 따른 차이가 없었으며, 식이섬유소의 영향은 첨가된 지방의 종류에 따라 다른 것으로 나타났다.

(4) Labeling index(LI)

Proximal colon과 distal colon(Table 5, 6)에서 식이섬유소의 첨가에 의해 군간에 유의적인 차이가 없었다.

Table 8. Effect of dietary fats and fibers on distribution of labeled cells in distal colon crypts in rats

Dietary groups	Labeling index in each quarter			
	Q1 %	Q2 %	Q3 %	Q4 %
BT-F	29.72 ± 2.91 ^{ab}	31.88 ± 4.30 ^a	17.24 ± 5.09	1.26 ± 0.80
BT-C	27.98 ± 3.69 ^{ab}	27.72 ± 5.93 ^a	10.79 ± 2.29	3.17 ± 2.19
BT-P	29.71 ± 4.90 ^{ab}	35.45 ± 3.72 ^a	15.70 ± 1.91	6.84 ± 4.47
CO-F	21.77 ± 3.66 ^{ab}	25.28 ± 4.00 ^a	7.25 ± 3.07	3.75 ± 3.43
CO-C	34.06 ± 1.14 ^a	27.13 ± 3.07 ^a	12.00 ± 5.25	3.27 ± 1.94
CO-P	30.88 ± 5.61 ^{ab}	27.82 ± 3.93 ^a	7.71 ± 3.07	1.06 ± 1.06
FO-F	31.21 ± 4.69 ^{ab}	27.82 ± 1.93 ^a	8.82 ± 3.33	3.88 ± 1.64
FO-C	15.73 ± 2.20 ^c	12.49 ± 5.02 ^b	7.18 ± 2.17	1.38 ± 0.62
FO-P	35.14 ± 4.19 ^a	26.76 ± 4.83 ^a	7.05 ± 1.01	0.64 ± 0.64
P value				
Oil	NS	<0.0096	<0.0269	NS
Fiber	<0.0533	<0.0299	NS	NS
Oil × Fiber	<0.0006	NS	NS	NS

Labeling index in each quarter of crypt was observed at 25 weeks.

Mean ± SE. Number of samples = 5. NS : not significant.

Means sharing common superscripts in the same column are not significantly different at $p < 0.05$.

(5) Proliferation zone

Proximal colon과 distal colon 모두에서 식이섬유소의 첨가에 의하여 유의적인 변화를 관찰할 수 없었다 (Table 5, 6).

(6) Labeling index in proliferative zone

식이지방과 섬유소의 첨가에 의하여 군간에 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다 (Table 5, 6).

(7) Labeling index in a quarter

Proximal colon (Table 7)에서 먼저 Q1에서 BT 섭취군 끼리 비교하여 보면 pectin에 비하여 cellulose에 의하여 유의적으로 감소하였으나 CO 섭취군과 FO 섭취군에서는 섬유소 첨가에 의하여 유의적인 차이가 없었다. Q2, Q3, Q4에서의 LI는 섬유소의 종류에 따라 유의성 있는 차이를 나타내지는 않았다.

Distal colon (Table 8)의 Q1 부분에서는 FO 섭취군에서만 섬유소 첨가에 의하여 유의적인 차이를 나타내었는데 섬유소 무첨가와 pectin에 비하여 cellulose에 의해서 LI가 유의적으로 감소되었다. Q2에서도 FO 섭취군에서 섬유소 첨가에 의하여 영향을 받았는데 섬유소 무첨가와 pectin 보다 cellulose에 의하여 LI가 낮은 것을 관찰하였다.

고 찰

Wynder 등²⁵⁾이 식이지방이 대장암의 발병에 중요한 인자로 작용한다고 발표한 이후 많은 연구가 행하여졌으며¹¹⁾²⁶⁾, 고지방식을 섭취한 군에서는 저지방식이군에 비하여 암발생율이 유의성있게 높았으나⁴⁾²³⁾ 식이지방의 암발생 촉진작용 (promoting effect)은 지방의 종류에 따라 다르게 나타났다. N-6계열의 옥수수유 또는 n-9계열의 라아드를 함유한 고지방식을 섭취한 동물은 저지방식을 섭취했을 때보다 암생율이 높았다. 그러나 같은 n-9계열이어도 coconut oil이나 olive oil이

높게 함유된 식이는 옥수수유 또는 잇꽃기름에 비해 암 발생 촉진효과를 보이지 않았다⁹⁾. 또한 대장암 발생율은 같은 수준의 지방을 섭취하여도 corn oil을 섭취한 동물에 비해 menhaden oil을 섭취한 동물에서 유의성 있게 낮았다⁹⁾. 그러므로 식이지방의 지방산 조성은 대장암 암화과정에 관여하는 인자로 작용하며, EPA와 같은 n-3계 PUFA는 linoleic acid와 같은 n-6계 PUFA와 stearic acid 같은 포화지방산에 비해서 대장암 발생을 억제시키는 것으로 나타났다¹⁰⁾.

한편 식이섬유소는 장을 통과하는 시간 (intestinal transit rate)과 양 (bulk)을 증가시킴으로서 장내의 여러 구성요소를 희석하고, 장내의 박테리아의 대사를 변형시켜 담즙산과 발암물질 (carcinogen)의 대사를 변형시키고, 발암물질과 돌연변이원 (mutagen)의 흡수를 변형시키고, 대변으로의 담즙산의 배설을 증가시키고, 장내의 pH를 낮추고, 대장과 대변의 SCFA의 농도를 증가시키는 등 장내의 환경을 변화시킴으로써 대장암 발생을 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다¹⁴⁾. 섬유소를 첨가하지 않았을 때보다 첨가에 의하여 암발생율이 낮았으며, pectin, guar gum과 같은 수용성 섬유소를 섭취시보다 cellulose와 같은 불용성 섬유소 섭취시에 암발생율이 낮은 것으로 보고되고 있으나¹⁴⁾, 섬유소가 미치는 영향은 일관성이 없는 것으로 나타났다¹⁵⁾¹⁶⁾. 서로 다른 형태의 섬유소는 다른 기전으로 작용하게 되므로, 섬유소가 대장암 암화과정에 미치는 영향은 다양하며, 식이섬유소는 proximal colon에 주로 영향을 주어서 종양의 발생에 관여하는 것으로 보고되고 있다²⁷⁾.

본 연구에서도 식이지방과 섬유소가 종양의 발생 (Table 9)에 미치는 영향을 살펴본 결과 포화지방산이 다량 함유되어 있는 BT와 n-6계열의 LA가 주된 지방산인 CO에 비하여 n-3계열의 EPA와 DHA가 주된 지방산인 FO에 의해서 종양의 발생율이 낮았고, 종양의 크기와 숫자도 FO에 의하여 가장 적은 것으로 나타나

Table 9. Colon tumor number and tumor incidence in rats fed different dietary fats and fibers

Group	Beef tallow	Corn oil	Fish oil	Total	Tumor incidence(%)
Fiber-free	n=25	n=24	n=20	n=69	21.74
	7	6	2	15	
Cellulose	n=18	n=21	n=21	n=60	11.67
	0	5	2	7	
Pectin	n=24	n=21	n=21	n=66	19.70
	8	3	2	13	
Total	n=68	n=66	n=62	n=195	
	15	14	6	35	
Tumor incidence(%)	22.39	21.21	9.67		

Data was expressed as number of tumors.
n=number of rats.

어유가 종양의 생성을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었다. 식이섬유소가 종양의 발생에 미치는 영향을 살펴본 결과 섬유소의 섭취에 의해서는 암 발생율이 차이가 없었으며, proximal colon에서 보다 distal colon에서 종양이 주로 분포하고 있어서 섬유소보다는 식이지방에 의해 더 큰 영향을 받은 것을 알 수 있었다.

세포증식 정도를 나타내는 labeling index가 암세포에서 유의성있게 증가되므로 대장암의 발생위험을 예측할 수 있는 biomarker로 사용되고 있으며, 세포증식을 촉진시키는 인자는 대장암 발생을 촉진하는 인자로 간주되고 있다²⁰⁾²⁸⁾²⁹⁾. 고지방식을 섭취시킨 경우가 저지방식에 비해 암 발생이 촉진되는 기전 중의 하나로 장관 내에 존재하는 수용성지방산과 bile acid의 양을 증가시켜 대장점막 상피세포의 손상을 가져오고 손상된 세포를 보수하기 위하여 세포증식이 증가된다는 것이다³⁰⁾. 실제로 sodium deoxycholate를 쥐에게 투여하였을 때 대장에서의 세포증식과 crypt size가 유의성있게 증가된 것을 관찰하였으며³¹⁾, 발효가 잘 되는 guar, pectin과 같은 섬유질을 식이에 첨가하였을 때에도 세포증식이 촉진되었고 암 발생율도 유의성있게 증가된 것을 관찰하였다²⁹⁾. 일반적으로 식이지방은 distal colon에서 주로 종양이 발생하는 것을 촉진하며, 식이섬유소는 주로 proximal colon에서 발효후 흡수되어 colonocyte의 에너지원으로 이용, 세포증식에 사용되어서 proximal colon에서 종양발생을 유도한다²⁾²⁹⁾³²⁾³³⁾.

본 연구에서 종양이 주로 발생하였던 distal colon에서 종양이 거의 발생하지 않았던 proximal colon에서 보다 crypt circumference, crypt length, crypt 내의 총세포수 및 labeling index가 전체적으로 증가하는 경향을 보여 세포증식은 식이섬유소보다는 식이지방의 첨가에 의하여 더 크게 영향을 받은것을 관찰하였다. Proximal colon에서는 식이지방과 섬유소의 종류에 따라 세포증식에 미치는 영향이 일관성이 없었으며, 첨가된 식이지방의 종류에 따라 다르게 나타났다. Distal colon의 crypt length와 crypt당 총세포수는 종양발생 빈도와 크기가 가장 컸던 BT 섭취군에서 유의성 있게 증가하였으며, 종양 발생율이 낮았던 FO 섭취군에 비해 유의성있게 낮았고 CO 섭취에 의해서는 BT 보다는 낮고 FO 보다는 높았다. Labeling index는 암 발생율이 가장 낮았던 FO에서가 다른 군에 비하여 유의성 있게 낮은 것으로 나타나 세포증식이 FO에 의해 억제된 것을 관찰하였다. 이로부터 n-3 지방산은 다른 계열의 지방산에 비해 세포증식을 억제시켜주는 효과가 더 큰 것을 알 수 있었다. Proximal과 distal colon의 crypt를 4등분해서 labeled된 세포의 위치를

살펴보면 proliferative zone이 Q4까지 확대되었고 proliferative zone이 crypt의 기저로부터 crypt의 상층부로 shift되어서 세포증식이 활발하게 진행되고 있음을 알 수 있었다.

요약 및 결론

본 연구에서는 식이지방으로는 쇠기름, 옥수수기름, 어유를 각각 15%(w/w) 수준으로, 식이섬유소를 첨가하지 않았을때와 cellulose, pectin을 각각 6%(w/w) 수준으로 Sprague Dawley 중 수컷쥐에게 섭취시키면서 식이와 동시에 화학적 발암원인 DMH를 투여하여 대장암 발생율과 대장점막의 세포병리학적 변화 및 cell proliferation 정도를 측정하였다.

1) 종양은 주로 distal colon에서 발생하여 식이 섬유소보다는 식이지방에 의해 더 큰 영향을 받았다.

2) 종양발생율과 종양크기는 쇠기름과 옥수수기름에 비하여 어유에 의해서 더 낮은 것으로 나타났다.

3) 어유에 의해서 대장 상피세포에서의 세포증식 (labeling index, crypt length)은 유의성있게 낮았으며, 섬유소의 종류에 따른 억제효과는 식이에 함유되어 있는 식이지방의 종류에 따라 다르게 작용하였다.

총괄적으로 보면, n-3계열의 DHA가 풍부하게 함유된 어유가 세포증식을 억제하여 종양의 발생을 억제해주는 효과가 컸으며, 식이섬유소의 종류에 따른 유의성 있는 억제효과는 관찰할 수 없었으나 어유를 섭취하면서 cellulose를 섭취할 경우 암의 발생을 억제하는 효과가 있었다.

Literature cited

- 1) Shike M. Primary prevention of colorectal cancer. *Bulletin of the WHO* 68(3) : 377-385, 1990
- 2) Weisburger JH. Causes, relevant mechanisms and prevention of large bowel cancer. *Seminars in Oncology* 18(4) : 316-336, 1991
- 3) Statland BE. Nutrition and cancer. *Clin Chem* 38(8) : 1587-1594, 1992
- 4) Reddy BS. Diet and colon cancer : Evidence from human and animal model studies. In : Reddy BS and Cohen LA (eds). *Diet, Nutrition and cancer : A critical evaluation*, Vol 1 pp.47-66, Boca Raton, FL : CRC Press, 1986
- 5) Reddy BS, Hedges AR, Laakso K, Wynder EL. Metabolic epidemiology of large bowel cancer : Fecal bulk and constituents of high-risk normal american and low-risk finnish population. *Cancer* 42 : 2832-2838, 1978
- 6) Song JH, Park HS. Effect of perilla oil on colon tumor in-

- cidence and its relation to eicosanoid levels and fatty acid profiles of tissues in chemical carcinogen-treated rats. *Korean J Nutr* 27(6) : 552-541, 1994
- 7) Kim CJ, Park HS. Effect of korean blend fats on eicosanoid levels and fatty acid profiles of tissues in dimethylhydrazine-treated rats. *Korean J Lipidology* 4(2) : 170-181, 1994
 - 8) Reddy BS, Maeura Y. Tumor promotion by dietary fat in azoxymethane-induced colon carcinogenesis in female F 344 rats : Influence of amount and source of dietary fat. *J Natl Cancer Inst* 72 : 745-750, 1984
 - 9) Reddy BS, Maruyama H. Effect of dietary fish oil on azoxymethane induced colon carcinogenesis in male F 344 rats. *Cancer Res* 46 : 3367-3370, 1986
 - 10) Minoura T, Takata T, Sakaguchi M, Takata H, Yamamura M, Hioki K, Yamamoto M. Effect of dietary eicosa-pentaenoic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Res* 46 : 4790-4794, 1988
 - 11) Weisburger JH, Wynder EL. Etiology of colorectal cancer with emphasis on mechanism of action. In : De Vita VT, Hellman S and Rosenberg SA(eds). Important advances in oncology pp.79-92, Philadelphia, PA : Lippincott, 1987
 - 12) Hill MJ, Crowther TS, Drasar BS, Hawksworth G, Aries V, Williams REO. Bacteria and etiology of cancer of large bowel. *Lancet*. 95-100, 1971
 - 13) Jacobs LR. Relationship between dietary fiber and cancer : Metabolic, physiologic and cellular mechanisms. *Proc Soc Exp Biol Med* 183 : 299-310, 1986
 - 14) Lynne M and Ausman D. Fiber and colon cancer : Does the current evidence justify a prevention of policy? *Nutr Rev* 51(2) : 57-63, 1993
 - 15) Zaridze DG. Environmental etiology of large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 70 : 389-400, 1983
 - 16) Willett WC, MacMahon B. Diet and cancer -An overview. *N Engl J Med* 310 : 633-638, 1984
 - 17) Cairnie AB, Lamerton LF, Steel GG. Cell proliferation studies in the intestinal epithelium of the rat. I. Determination of the kinetic parameters. *Exp Cell Res* 39 : 528-538, 1965
 - 18) Sunter JP, Wright NA and Appleton DR. Cell kinetics in the epithelium of the colon of the male rat. *Cell Pathol* 26 : 275-287, 1978
 - 19) Schuttler B, Reyders MMJ, Bosman FT, Blijham GH. Studies with antibromodeoxyuridine antibodies. II. Simultaneous immunocytochemical detection of antigen expression and DNA synthesis by in vivo labeling of mouse intestinal mucosa. *J Histochem Cytochem* 35 : 371-374, 1987
 - 20) O'Brien MJ, O'Keane C, Zauber A, Gottlieb LS, Winaver SJ. Precursors of colorectal carcinoma : Biopsy and biologic markers. *Cancer* 10 : 1317-1327, 1992
 - 21) Sandforth F, Witzel L, Balzer T, Gutschmidt S, Janicke I, Riecken EO. Identification of patients at high risk for colorectal carcinoma from biopsy studies of the apparently normal colorectal mucosa. A multivariate analysis. *Eur J Clin Invest* 21 : 295-302, 1991
 - 22) Deschner EE, Winawer SJ, Long FC, Boyle CC. [³H]-thymidine labeled colonic epithelial cells and mucosa in mice and man. *Dig Dis* 23 : 305-311, 1978
 - 23) Nigro ND, Singh DV, Campbell RL, Park MS. Effect of dietary beef fat on intestinal tumor formation by azoxymethane in rats. *J Natl Cancer Inst* 54 : 439-442, 1975
 - 24) Newmark H, Lipkin M, Maheskwari N. Colonic hyperplasia and hyperproliferation induced by a nutritional stress diet with four components of western style diet. *J Natl Cancer Inst* 82 : 491-496, 1990
 - 25) Wynder EL, Kajitani T, Ishikawa S, Dodo H, Takano A. Environmental factors of the colon and rectum. II. Japanese epidemiological data. *Cancer* 23 : 1210-1220, 1969
 - 26) Haenszel W. Migrant studies. In : Schottenfeld D, Fraumeni JF(eds). Cancer epidemiology and prevention. PP 194-207, Philadelphia, PA : Sanders, 1982
 - 27) Lee D-Y K, Lupton JR, Aukema HM, Chapkin RS. Dietary fat and fiber alter rat colonic mucosa lipid mediators and cell proliferation. *J Nutr* 123 : 1808-1817, 1993
 - 28) Lupton JR, Lee D-YK, Cahpkin RS. Modulation of markers of colon carcinogenesis by dietary fiber and fat. I. Interactive effect of different types of fiber and fat on cell proliferation. *J Nutr* 123(9) : 675-688, 1993
 - 29) Jacobs LR, Lupton JR. Relationship between colonic luminal pH, cell proliferation and colon carcinogenesis in 1, 2-dimethylhydrazine treated rats fed high fiber diets. *Cancer Res* 46 : 1727-1734, 1986
 - 30) Wargovich MJ, Eng VWS, hewmark HL. Calcium inhibits the damaging and compensatory proliferative effects of fatty acids on mouse colon epithelium. *Cancer Lett* 23 : 253-258, 1984
 - 31) Owen RW, Hill MJ. Cholesterol and carcinogenic fecal steroids. In : Beitz D, Hansen RG(eds). Animal products in human nutrition, Academic, London, pp.461-478, 1982
 - 32) Butler RN, Bruhn B, Pascoe V, Fettman MJ, Roberts-Thomson IC. Regional factors affecting proliferation in the large intestine of the rat. *PSEBM* 200 : 133-137, 1992
 - 33) McIntyre A, Young GP, Tarauto T, Gibson PR, Ward PB. Different fibers have different regional effects on luminal contents of rat colon. *Gastroenterol* 101 : 1274-1281, 1991