

## Butylated Hydroxytoluene첨가 식이 및 2-Acetylaminofluorene 투여가 식이지방을 달리한 쥐간의 Microsomal Mixed Function Oxidase계에 미치는 영향

윤 은 영\* · 최 혜 미  
서울대학교 가정대학 식품영양학과  
\*대전대학교 이과대학 가정학과

Effect of Butylated Hydroxytoluene and 2-Acetylaminofluorene Administration  
and Microsomal Mixed Function Oxidase System in  
Young Rats fed different Fats

Yoon, Eun Young\* · Choi, Haymie  
Department of Food and Nutrition, Seoul National University  
\*Department of Home Economics, Daejeon University

### ABSTRACT

Sprague-Dawley male rats were fed the diet of p/s 4.0(soybean oil : I), p/s 0.08(Beef tallow : II) at the level of 15% fat until 8 weeks after weaning. I & II groups were divided into 4 sub-groups by diets with or without 0.3% butylated hydroxytoluene(BHT). 2-AAF was injected at the age of 5½, 6, 6½, 7 weeks. MFO system enzyme(cytochrome p-450, cytochrome p-450 reductase, cytochrome b<sub>5</sub>) activities and lipid peroxide were determined from isolated liver microsome.

2-AAF injected young rats had growth retardation. Lipid peroxide values were not influenced greatly by dietary fat, 2-AAF and BHT. Cytochrome p-450 contents were increased in I-BHT-AAF & II-AAF groups by 2-AAF and its contents were not affected by BHT. But cytochrome p-450 and cytochrome p-450 reductase were not increased in soybean oil diet by 2-AAF. MFO system in microsomal membrane appeared to be damaged by 2-AAF in soybean oil groups. Cytochrome b<sub>5</sub> was not influenced by dietary fat, 2-AAF and BHT. Cytochrome p-450 and lipid peroxide, cytochrome p-450 reductase and cytochrome b<sub>5</sub>, which transfer  $\bar{e}$  to MFO system, appeared to have positive correlations( $r=0.2474$ ,  $r=0.2475$ ,  $p<0.05$ ) each other.

This result suggests that MFO system metabolizing 2-AAF was influenced by dietary fats and BHT. 2-AAF induced growth retardation in young rats.

KEY WORDS : cytochrome P-450 · cytochrome P-450 reductase · cytochrome b<sub>5</sub> · lipid peroxide.

서 론

불포화지방산과 포화지방산의 섭취가 적당한 균형을 이루지 않으면 지질대사에 이상이 초래되는데 특히 발암물질에 노출된 경우 불포화지방이나 총지방량 섭취가 너무 지나치면 중앙발생율이 높다고 보고되고 있다<sup>1)2)</sup>.

식이지방은 그 종류에 따라 지질과산화 및 세포막의 조성을 변화시킴으로써 세포막을 통한 수송, 투과도, 세포막에 부착되어 있는 효소의 활성이나 호르몬 수용체의 상태에 영향을 미치므로<sup>3)4)</sup> 암발생에 직접적 원인 혹은 간접적인 요인 및 환경을 부여한다. 또한 초기단계에 관여하는 발암물질은 막부착효소인 MFO(Mixed Function Oxidase)계 효소(cytochrome p-450, cytochrome p-450 reductase, cytochrome b<sub>5</sub>)에 의해 비활성화 물질로 대사 배설되기도 하고 더욱 강력한 발암물질로 활성화되기도 하며 혹은 MFO 효소계에 의해 생성되는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>에 의한 과산화반응이 나타나기도 한다. 따라서 식이지방의 불포화도에 따른 MFO계 효소의 활성의 변화는 암발생 기작과 관계가 깊다고 할 수 있다.

최근 butylated hydroxytoluene(BHT)등의 항산화제는 항암효과를 나타낸다고 보고되고 있다<sup>5)6)</sup>. 그 대사 기작은 발암물질 및 그 대사물에 직접 작용하여 더 이상의 반응을 차단하거나 발암물질 대사에 관련된 효소의 활성도를 변화시킴으로서 가능하다고 제시되고 있다<sup>1)2)</sup>.

체내 조직중 간조직에는 cytochrome p-450 dependent MFO system이 많이 존재하며 식이지방에 의해 지방산의 변화가 비교적 빠르게 일어나는 기관이다. 2-Acetylaminofluorene(2-AAF)은 강력한 간 발암물질로서 Sprague-Dawley종 숫쥐가 가장 민감한 반응을 보이는데<sup>7)</sup> MFO계에 의해 N-hydroxylation된 다음 sulfo-transferase에 의해 더 강력한 발암물질로 활성화되기도 하고 glutathione과 conjugation을 함으로써 비활성화 되거나 또는 ring hydroxylation에 의해 비활성화 과정으로 대사된다. 쥐에게 2-AAF를 투여했을 때 microsomal

N-hydroxylation과 함께 cytochrome p-450이 유도되었으며 2-AAF 자체가 발암물질의 활성화 단계를 촉진시켜 주었다<sup>7)</sup>.

본 연구에서는 식이지방의 종류를 달리하여 먹인 쥐에게 성장기에 발암물질인 2-AAF의 투여와 항산화제인 BHT의 섭취효과가 발암물질을 대사시키는 MFO효소계의 활성도에 어떠한 영향을 미치는가를 조사하고 아울러 과산화지질의 생성정도 및 BHT의 항산화 효과를 실험하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. Sample의 수집

이유된 Sprague-Dawley종 숫쥐를 8주 동안 사육하였다. 식이는 기초식이로 하되 지방의 종류만 달리하고 식이의 15% 수준으로 하였다(Table 1). 2-AAF는 100mg/kg body weight 수준으로 생후 5주반부터 3일 간격으로 4번 복강주사하였다. 2-AAF를 투여할 때 주사로 인한 stress 및 기타 영향을 배제하기 위해 2-AAF를 투여하지 않은 군에 polyethylene glycol 300을 주사하였다. BHT는 쥐의 식이에 첨가시켜 이유 후부터 계속 섭취시켰다. 쥐를 12시간 굶겨 희생시킨 다음, 간의 microsome 분획은 phosphate buffer(pH 7.4)로 간조직을 균질화시킨 후 원심분리하여 얻었다.

Table 1. Time Schedule of the experiment

Group	Subgroup	Diet	Treatment
I soybean oil (P/S 4.0)	I	Diet I	PEG
	I-AAF	Diet I	AAF
	I-BHT	Diet I-BHT	PEG
	I-BHT-AAF	Diet I-BHT	AAF
II beef tallow (P/S 0.08)	II	Diet II	PEG
	II-AAF	Diet II	AAF
	II-BHT	Diet II-BHT	PEG
	II-BHT-AAF	Diet II-BHT	AAF

- 1) PEG : 2ml of polyethylene glycol 300/kg body weight.
- 2) AAF : 100mg of 2-acetylaminofluorene in polyethylene glycol 300/kg body weight.
- 3) BHT : 0.3% of butylated hydroxytoluene was incorporated into the diets.

2. 생화학적 분석

단백질 함량 분석은 Löwry방법<sup>8)</sup>을 이용했고 표준단백질은 bovine serum albumin을 사용하였다. Cytochrome p-450함량과 cytochrome b<sub>5</sub>함량은 Omura와 Sato의 방법에 의해<sup>9)</sup> NADPH-cytochrome p-450 reductase는 Masters<sup>10)</sup>에 의한 방법으로 측정하였다. 지질과산화물은 thiobarbituric acid (TBA) 방법<sup>11)</sup>으로 측정하였는데 표준 용액으로는 tetraethoxypropane(TEP)이 사용되었다.

결과 및 고찰

식이지방을 달리하여(I : soybean oil, II : beef tallow) 생후 3주에서 11주까지 사육한 Sprague-Dawley 숫쥐를 이용하여 약물 투여에 의한 MFO 계에의 영향을 실험한 결과를 보면 다음과 같다.

정상적인 성장을 보기 위하여 체중의 증가를 관찰해 본 결과(Fig. 1), 성장기의 쥐를 사육하였으

므로 비교적 일정한 기울기로 체중이 증가되어 있는데 5~7주 사이에 기울기가 완만해지는 경향이 있는 것으로 보아 주사로 인한 stress가 있었음을 알 수 있다. 특히 2-AAF를 투여한 쥐에게 가장 큰 영향을 주어 성장지연 현상이 나타나다가 7주 지난 후에는 곧 회복이 됨을 알 수 있다. 이는 2-AAF의 체내대사가 약 1주이내에 많이 진행됨을<sup>12)</sup> 간접적으로 나타내 준다. 2-AAF를 투여함으로써 나타나는 성장의 지연은 성장기를 통하여 계속적인 영향이 있다는 것을 알 수 있다. 따라서 성장기에 있어서 발암물질에 노출은 일련의 성장기간에 장기적으로 영향을 주어 성장부진을 초래할 수 있음을 알 수 있다. 이 결과는 2-AAF 투여량이 지나쳐 세포의 기능적 구조적 역할을 담당하는 DNA나 단백질에 결합을 함으로서<sup>13)14)</sup> 어느 정도 영구적인 성장지연을 보인다고 추측된다.

또한 BHT를 섭취시킨 군은 성장지연이 2-AAF를 투여한 것보다는 적으나 역시 기초식이군보다

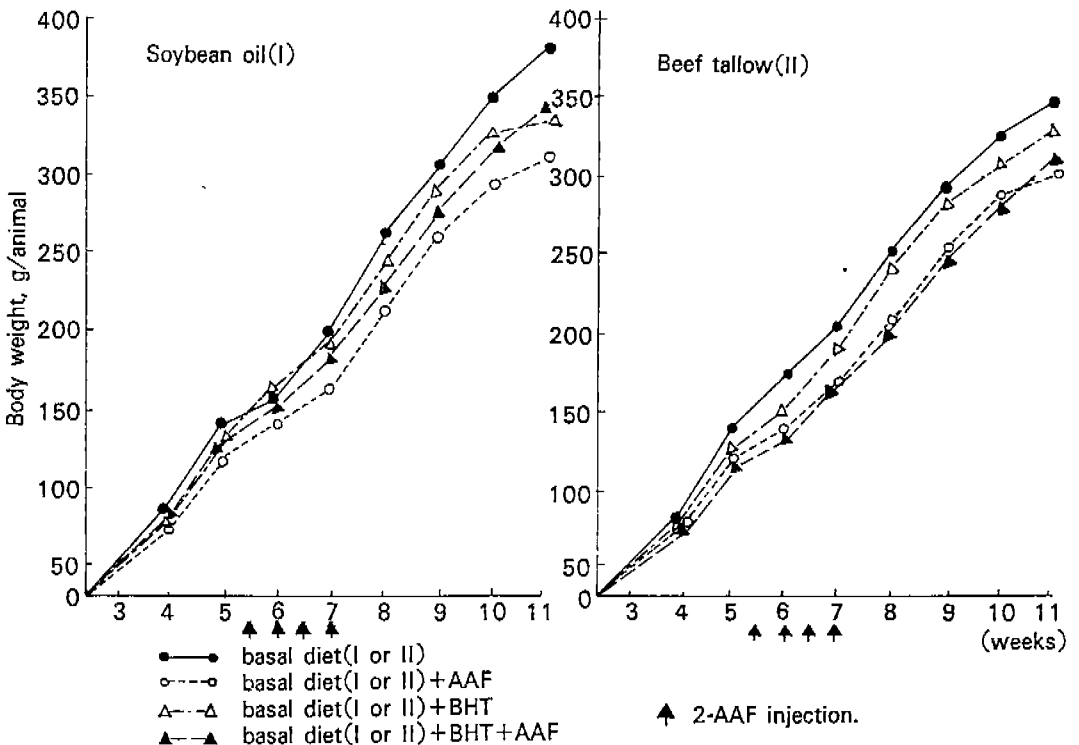


Fig. 1. Growth curve of rats fed different dietary fat.

BHT와 2-AAF가 MFO계에 미치는 영향

는 성장이 저하되었음을 알 수 있다. Soybean oil 을 섭취시킨 I군의 경우: 2-AAF 투여시 BHT도 식이로 섭취시킨 군은 2-AAF로 인한 성장부진을 어느정도 극복함을 보였으나, II-BHT-AAF군의 경우 항산화제인 BHT를 섭취시켜도 2-AAF로 인한 성장부진을 완화시키지 못했다.

식이지방을 달리한 쥐의 간의 무게/체중(%)을 보면 약물 투여에 의한 간 무게의 증가는 발암 초기단계에서 세포의 증식이라고 보고되었는데<sup>15)</sup> 기초식이군보다는 2-AAF나 BHT등 외부약물이 투여되었을 경우 간이 확대되었고 BHT가 2-AAF보다 간의 확대효과가 더 컸으며 식이지방에 따른 유의차는 없었다.

식이지방을 달리한 두 군의 과산화지질을 측정하여 본 결과(Table 2) 기초식이군 사이에서는 I, II군 간에 차이가 없었고 I군에서는 I-BHT군만이, II군에서는 II-AAF, II-BHT군이 기초식이군보다 과산화지질이 더 많았다. 즉 BHT를 식이로 섭취시킨 경우 과산화지질이 증가됨을 알 수 있는데 이 결과는 불포화지방산이나 2-AAF가 과산화지질을 유도한다는 김의 보고<sup>16)</sup>와는 일치하지 않으며, 그 보다는 BHT에 의한 MFO계의 활성화를

통한 과산화지질의 생성으로 설명된다. 식이의 불포화도와 2-AAF가 과산화지질 생성에 영향을 주지않는 기초식이군에서는 외부물질에 의한 stress가 없기 때문에 불포화지방산으로부터 생성되는 과산화지질을 빨리 대사시키도록 생체가 적당한 조절작용을 할 수 있거나 2-AAF 투여후 증가하는 과산화지질도 2-AAF 투여시부터 sample을 수집한 날까지 4주의 기간이 경과했으므로 2-AAF에 의해 생긴 과산화지질은 거의 다 대사되어 소실되었으리라 생각된다. 즉 단기간 투여한 2-AAF에 의한 영향보다는 장기간 섭취시킨 BHT에 의한 MFO계의 활성화에 의해 외부물질이 MFO계를 거쳐가면서 생성되는 과산화지질에 의한 영향으로 생각된다<sup>17)18)</sup>. 과산화지질과 여러 MFO계의 효소들과의 상관관계를 본 결과 MFO계의 효소 중 cytochrome p-450과 과산화지질이 양의 상관관계( $r=0.2474, p<0.05$ )를 나타내었다. 표 2를 참조하여 보면 I군의 경우는 MDA가 높은 군은 I-BHT군이 고 이 군에서 가장 많이 유도된 MFO계 효소는 cytochrome p-450 reductase이었다. II군의 경우 MDA가 높은 군은 II-AAF와 II-BHT군이었는데 이 군에서 가장 많이 유도된 MFO계 효소는 cyto-

Table 2. Effects of 2-AAF and BHT on the hepatic microsomal MFO system, lipid peroxide contents and the relative liver weight(%) in rats fed different dietary fats

Group	Liver weight % Body wt.	Lipid peroxide nmoles MDA/mg protein	Cytochrome P-450	Cytochrome p-450 reductase	Cytochrome b <sub>5</sub>
			nmoles/mg protein		
Soybean oil					
I	2.83 ± 0.17 <sup>cd</sup>	0.304 ± 0.025 <sup>d</sup>	0.414 ± 0.174 <sup>b</sup>	13.811 ± 2.548 <sup>ab</sup>	0.107 ± 0.059 <sup>a</sup>
I-AAF	3.02 ± 0.22 <sup>ab</sup>	0.318 ± 0.039 <sup>cd</sup>	0.458 ± 0.272 <sup>b</sup>	11.557 ± 3.257 <sup>bc</sup>	0.126 ± 0.038 <sup>a</sup>
I-BHT	3.15 ± 0.25 <sup>abc</sup>	0.538 ± 0.042 <sup>abc</sup>	0.389 ± 0.218 <sup>b</sup>	17.615 ± 3.286 <sup>a</sup>	0.216 ± 0.084 <sup>a</sup>
I-BHT-AAF	3.48 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.343 ± 0.037 <sup>dc</sup>	1.068 ± 0.555 <sup>a</sup>	14.750 ± 4.545 <sup>ab</sup>	0.185 ± 0.117 <sup>a</sup>
Beef tallow					
II	2.74 ± 0.23 <sup>d</sup>	0.305 ± 0.030 <sup>d</sup>	0.472 ± 0.152 <sup>b</sup>	10.056 ± 2.642 <sup>bcd</sup>	0.090 ± 0.054 <sup>a</sup>
II-AAF	3.11 ± 0.68 <sup>bc</sup>	0.506 ± 0.066 <sup>a</sup>	1.277 ± 0.445 <sup>a</sup>	3.373 ± 0.537 <sup>d</sup>	0.137 ± 0.095 <sup>a</sup>
II-BHT	3.41 ± 0.43 <sup>ab</sup>	0.537 ± 0.023 <sup>ab</sup>	0.230 ± 0.120 <sup>b</sup>	3.817 ± 0.663 <sup>cd</sup>	0.125 ± 0.054 <sup>a</sup>
II-BHT-AAF	3.38 ± 0.20 <sup>ab</sup>	0.383 ± 0.051 <sup>bcd</sup>	0.234 ± 0.180 <sup>b</sup>	19.298 ± 6.006 <sup>a</sup>	0.192 ± 0.018 <sup>a</sup>

1) Values are mean ± SD

2) Mean with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test( $p<0.05$ ).

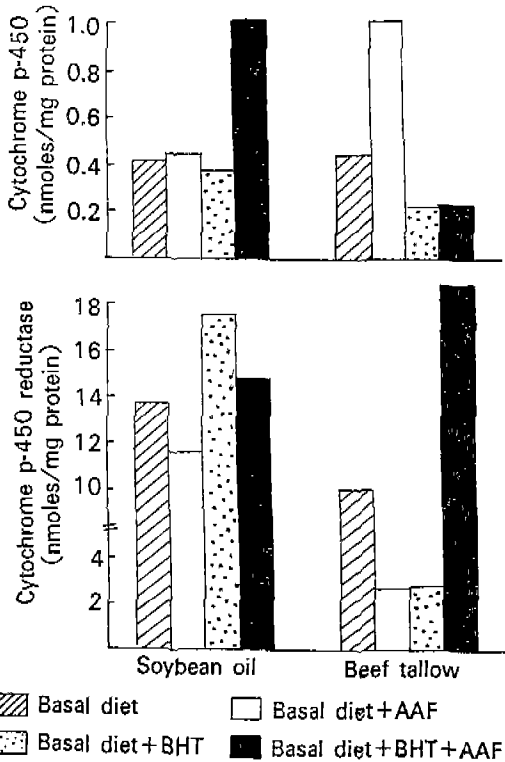


Fig. 2. Effects of 2-AAF and BHT on the hepatic microsomal MFO system in rats fed different dietary fat.

chrome p-450이었다. 즉 지방의 종류에 따라 유도되는 효소의 종류가 다르고, 과산화지질 및 약물의 대사 양식도 달라짐을 알 수 있다.

MFO계의 주요 효소는 cytochrome p-450, cytochrome b<sub>5</sub>, cytochrome p-450 reductase로 구성되는데 본 실험에서 측정된 결과는 Table 2와 Fig. 2에 명확하게 나타나 있다. 기초식이군에서는 I, II군 사이에 유의차가 없었는데 외부의 2-AAF나 BHT 등의 stress가 가해졌을 시에는 MFO계에 미치는 영향이 식이지방의 종류에 따라 큰 차이가 있음을 알 수 있다.

MFO계의 주효소인 cytochrome p-450을 보면 기초식이군에서는 식이지방이 달라도 별다른 유의차가 없으나 I군에서는 I-BHT-AAF군만이 기초식이군(I)보다 높았고, II군에서는 II-AAF군이 기초식이군(II)보다 높았다. 그리고 BHT만 첨가시킨

군은 cytochrome p-450유도 생성에 별 효과가 없었다. Astrom등<sup>7)</sup>의 보고에 의하면 2-AAF를 투여하면 발암물질을 대사시키기 위해 cytochrome p-450이 유도합성된다고 하였는데 II군은 그 결과와 일치했으나 I군은 2-AAF 투여시에도 cytochrome p-450의 합성이 증가되지 않았다.

김<sup>19)</sup>의 결과에 의하면 2-AAF 투여가 25mg/kg이었을 때는 cytochrome p-450이 유의적으로 증가하였으나 2-AAF를 100mg/kg으로 투여하였을 때는 감소했다. 즉 100mg/kg의 2-AAF는 대사한계를 넘어서서 세포막 효소의 손상을 초래한 양이라 볼 수 있겠다. 본 실험에서 2-AAF를 100mg/kg으로 투여했는데 cytochrome p-450이 증가된 II-AAF군과는 달리 I-AAF군에서는 cytochrome p-450이 증가되지 않았다. 그 이유는 soybean oil(I군)을 먹인 군이 beef tallow(II군)를 먹인 군보다 불포화지방산으로 인한 과도한 과산화지질로 인해 세포막 효소가 손상을 입었기 때문에 I군의 cytochrome p-450의 유도합성이 제대로 될 수 없었거나 불포화도가 높은 지방식이를 섭취한 쥐의 세포막의 유동성이 높아 세포막을 통한 외부 약물의 유입에 더욱 용이하여<sup>19)20)</sup> 세포막의 손상에 I-AAF군이 더욱 예민하게 반응한 것으로 사료된다. 그리고 I-BHT-AAF의 경우는 BHT가 2-AAF와 불포화지방산의 독성을 어느정도 막아주어 cytochrome p-450이 많이 합성되었으리라 생각된다. 이와 비교해 II군은 2-AAF로 인해 cytochrome p-450이 많이 증가됨을 보였는데 이는 II군이 I군에 비해 2-AAF에 의한 예민도가 낮거나 혹은 지질과산화물로 인한 손상을 받지 않았기 때문이 아닌가 생각된다. 그런데 II-BHT-AAF군은 단기간의 2-AAF 투여시 BHT를 함께 섭취시켜 2-AAF로 인한 독성이 완화되었고 그후로도 BHT를 계속 섭취시켰으므로 BHT 단독 섭취시나 비슷한 양상을 보인 것이라 사료된다.

MFO계 중 cytochrome p-450 reductase와 cytochrome b<sub>5</sub>는 MFO계에 NADPH와 NADH로 부터 전자를 전달해 주는 효소이다<sup>21)</sup>.

그중 cytochrome p-450 reductase는 일반적으로 2-AAF나 BHT에 의해 활성도가 증가하는 것으로

알려져 왔는데<sup>1)22)</sup> 본 실험에서는 각 군 사이에 큰 차이를 보이고 있다.

또한 I, II의 기초식이군 사이에서도 약간의 차이가 나는데 I군이 불포화도가 높아 많은 전자공급이 필요했을 것이다. 2-AAF를 투여했을 경우는 I, II군 모두 기초식이군보다 낮아졌는데 2-AAF 투여량이 과도하여 MFO계나 혹은 세포에 기능부진을 초래하여 cytochrome p-450 reductase의 생성저하 및 파괴의 증가가 되었으리라 생각된다. I-BHT와 II-BHT군 사이에는 결과에 큰 차이가 나는데 불포화지방을 많이 섭취한 I-BHT군이 증가한 이유는 BHT가 항산화작용을 하여 불포화지방에서 유래한 과산화지질을 어느정도 제거시켜 세포막의 손상을 줄여 cytochrome p-450 reductase의 유도합성에 장애가 없으리라 생각된다. 이때 MDA가 약간만 증가한 것은 MFO계의 활성화에 의해서 생긴 것으로 보여지며 반일 이때 BHT가 항산화작용을 하지 못했다면 불포화지방산으로 인한 과산화물이 더욱 많아 MDA값이 매우 높았을 것으로 사료된다. 포화지방을 먹인 II-BHT의 경우는 BHT와 항산화 역할이 크게 필요치는 않을 것이다. 따라서 BHT는 2-AAF처럼 그 자체의 독성으로 세포막 손상을 주었거나, 포화지방만 섭취할 때 필수지방산이 부족하여 세포막에 이상이 있었으리라 생각된다. I-BHT-AAF가 단독으로 투여되었을 때보다 효소활성도가 높은 것은 2-AAF에 의한 독성이 완화되었기 때문으로 보여진다. II-BHT-AAF의 경우는 측정치가 높았는데 이는 BHT가 2-AAF의 대사와 상호작용하여 세포막의 손상을 저하시키며 외부물질의 유입으로 인한 효소의 유도합성은 증가된 것으로 보여진다.

Cytochrome b<sub>5</sub>는 MFO계에 전자를 전달해 주는 보조요소로 알려져 왔는데<sup>23)</sup> 이 실험 결과로는 각 군 사이에 통계적인 유의차는 없었고 cytochrome p-450 reductase와 cytochrome b<sub>5</sub>와 양의 상관관계를( $r=0.2475$ ,  $p<0.05$ ) 나타냄으로서 cytochrome b<sub>5</sub>는 cytochrome p-450 reductase와 협동작용을 하며 MFO계에 전자를 공급해 주는 보조적인 역할을 함을 알 수 있었다.

위 결과를 종합해 보면 어린 쥐는 세포내 소포

체에 존재하는 효소 체계가 완전히 발달되지 않았다. 특히 2-AAF를 대사과정에서 비활성 물질로 바꾸어 주는 conjugation system이 불완전하므로 어린 쥐에 2-AAF 투여는 치명적이 될 수도 있다는 Remmer의 보고<sup>24)</sup>와 본 실험의 결과와 같이 성장기에 2-AAF의 투여가 영구적인 성장지연을 초래함을 보면 성장기에 발암물질인 2-AAF에 과도하게 노출이 될 경우 장기적인 성장은 물론 발암물질 해독체계인 MFO계에도 영향을 주며 그 영향은 식이지방의 종류에 따라 달라진다. 즉 2-AAF의 투여 BHT의 섭취 및 2-AAF와 BHT를 함께 투여했을 경우 각각 영향을 미치는 MFO계 효소의 종류가 다를 뿐아니라 그 증감의 pattern도 매우 달라짐을 알 수 있다(Table 2). Soybean oil을 먹인 쥐에게는 지나친 2-AAF의 투여로 MFO계 효소가 증가되기 보다는 오히려 MFO계의 효소가 감소하거나 별 영향이 없는 듯 보였다. 이는 불포화지방산에서 유래된 과산화지질의 과도한 생성으로 세포막이 손상된 것으로 보이며, 항산화제인 BHT를 함께 첨가시킨 경우 MFO계의 효소가 정상으로 되거나 증가되어 2-AAF의 대사가 빨리 되도록 도움을 알 수 있었다. Beef tallow를 먹인 쥐에게 BHT의 첨가는 2-AAF의 효과에 일관성있게 영향을 주지 않은 것으로 보아 포화지방산에서는 필수지방산이 부족해 세포막의 구조적 기능적 변화를 초래하였거나 혹은 과산화물이 많이 생기지 않으므로 BHT가 항산화작용보다는 그 자체가 외부 독성물질로서 대사에 영향을 주었을 것으로 사료된다.

따라서 BHT의 과산화지질을 감소킨다는 측면에서의 항암성 효과는 식이의 불포화도가 높은 경우에서 기대해 볼 수 있을 것이다.

어린 쥐에게 포화지방산만 섭취시켜도 필수지방산이 부족될 것이고 세포막의 구조적 기능적 변화를 초래할 것이다. 또한 불포화지방산만 지나치게 공급하여도 과산화지질로 인한 DNA 및 단백질의 손상 및 발암의 위험성이 증가하거나 역시 세포의 기능적 구조적 변화를 초래하게 될 것이다. 즉 지방산의 균형이 맞지 않으면 세포막에 이상이 올뿐 아니라 내분비대사계와 면역계 등도 영향을 받게

되므로 균형잡힌 식이지방을 섭취하는 것이 여러 측면에서 바람직하리라 본다.

요 약

Sprague-Dawley 숫쥐를 식이지방을 달리하여(I : Soybean oil p/s 4.0, II :beef tallow p/s 0.08) 이유후 8주동안 사육하였다. 이때 I, II군은 각각 기초식이군, 기초식이군에 0.3% butylated hydroxytoluene(BHT)를 첨가시킨 군, 생후 5~7주 사이에 4번의 2-Acetylaminofluorene(2-AAF)를 투여한 군 2-AAF를 투여하고 BHT도 먹인 군으로 나누었다. BHT는 이유 후부터 식이에 섞어 먹였으며 2-AAF를 투여하지 않은 군은 2-AAF 주사에 의해 얻는 stress와 같은 효과를 주기위해 placebo로 polyethylene glycol 300을 투여하였다. Mixed function oxidase(MFO)계의 효소인 cytochrome p-450, cytochrome b<sub>5</sub> 및 cytochrome p-450 reductase와 과산화지질 등을 측정하였다.

성장기에 2-AAF의 투여는 성장지연을 초래하였으며 지질과산화물은 지방의 종류, 2-AAF,BHT 등에 의해 큰 차는 없었다. Cytochrome p-450은 2-AAF에 의해 I-BHT-AAF와 II-AAF군에서 증가되었고 BHT에 의해서는 차이가 나지 않았다. 불포화지방을 먹인경우 cytochrome p-450과 cytochrome p-450 reductase가 2-AAF에 의해 증가되기 보다는 오히려 감소하거나 I, II군에 비해 별 차이가 없었는데 2-AAF의 농도와 식이의 불포화도가 높아 세포막이 손상되었기 때문이라 사료된다. Cytochrome b<sub>5</sub>는 각군 사이에 별 차가 없었다. Cytochrome p-450과 과산화지질( $r=0.2475$ ,  $p<0.05$ ), cytochrome p-450 reductase와 cytochrome b<sub>5</sub> ( $r=0.2475$ ,  $p<0.05$ )가 각각 양의 상관관계를 나타내었다.

따라서 2-AAF를 대사시키는 MFO계는 식이지방의 종류 및 BHT의 존재에 따라 영향을 받고, 특히 불포화지방식이인 경우 2-AAF를 대사시킬 수 있는 cytochrome p-450 유도 및 합성능력이 매우 저조함을 알 수 있으며 2-AAF는 어린 쥐의 성장을 지연시켰다.

Literature Cited

- 1) Reddy BS, Maruyama H. Effect of different levels of dietary corn oil and lard during the initiation phase of colon carcinogenesis in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 77 : 815-822, 1986
- 2) Sakaguchi M, Minoura T, Hiramatsu Y, Takada H, Yamamura M, Hiroki K, Yamamoto M. Effect of dietary saturated and unsaturated fatty acids on fecal bile acids and colon carcinogenesis induced azoxymethane in rats. *Cancer Res* 46 : 61-65, 1986
- 3) Cave WT, Jourkowski JJ. Dietary lipid effects on the growth, membrane composition and prolactin-binding capacity of rat mammary tumors. *J Natl Cancer Inst* 73 : 185-191, 1984
- 4) Stubbs CD, Smith AD. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochim Biophys Acta* 779 : 89-137, 1984
- 5) Cohen LA, Cha K, Numato S, meddy M, Berke B, Weisburger JH. Inhibition of chemically induced mammary carcinogenesis in rats by long term exposure to butylated hydroxytoluene (BHT) : Interrelation among BHT concentration, carcinogen dose, and diet. *J Natl Cancer Inst* 75 : 721-730, 1986
- 6) Watson RR, Leonard TK. Selenium and vitamin A, E, and C : Nutrients with cancer prevention properties. *J Am Diet Assoc* 86 : 505-510, 1986
- 7) Astrom A, Maner S, Depierre JW. Induction of Cytochrome p-450 and related drug-metabolizing activities in the livers of different rodent species by 2-acetylaminofluorene or by 3-methylcholanthrene. *Biochem Pharmacol* 35 : 2703-2713, 1986
- 8) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol

BHT와 2-AAF가 MFO계에 미치는 영향

- reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 9) Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J Biol Chem* 29 : 2370-2378, 1964
  - 10) Masters BSS, Williams CH, Kamin H. The preparation and properties of microsomal TPNH-cytochrome c reductase from pig liver. *Meth Enzymol* 10 : 551-573, 1967
  - 11) Bidlack WT, Tappel AL. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipid* 8 : 177-182, 1973
  - 12) Astrom A, Depierre JW. Characterization of the induction of drug-metabolizing enzymes by 2-acetylaminofluorene. *Biochim Biophys Acta* 673 : 225-233, 1981
  - 13) Klaassen CD, Amdur MO, Doull J. *Casarett and Doull's Toxicology the basic science of poisons. McMillan Publishing Co* 64-98, 1986
  - 14) Firchild CR, Ivy SP, Rushmore T, Lee G, Koo P, Goldsmith ME, Myers CE, Farber E, Cowan KH. Carcinogen-induced mdr overexpression in associated with xenobiotic resistance in rat preneoplastic liver nodules and hepatocellular carcinoms. *Proc Natl Acad Sci* 84 : 7701-7705, 1987
  - 15) Norred WP, Wade AE. Effect of dietary lipid ingestion on the induction of drug metabolizing enzymes by phenobarbital. *Biochem Pharmacol* 22 : 432-436, 1973
  - 16) Kim KM. *Effects of dietary fats and BHT on cytochrome P-450 dependent mixed-function oxidase system in carcinogen treated rat.* SNU Master's Thesis, 1988
  - 17) Nordblom GD, Coon MJ. Hydrogen peroxide formation and stoichiometry of hydroxylation reactions catalyzed by highly purified liver microsomal cytochrome P-450. *Arch Biochem Biophys* 180 : 343-347, 1977
  - 18) Minotti G, Borrello S, Palombini G, Galeotti T. Cytochrome P-450 deficiency and resistance to t-butyl hydroperoxide of hepatoma microsomal lipid peroxidation. *Biochem Biophys Acta* 876 : 220-225, 1986
  - 19) Kim HD. *Effects of 2-Acetylaminofluorene levels and Butylated Hydroxytoluene on the hepatic microsomal mixed function oxidase system in rats fed different dietary fats.* SNU Master's Thesis, 1989
  - 20) Dawidowicz EA. Dynamics of membrane lipid metabolism and turnover. *Ann Rev Biochem* 56 : 43-61, 1987
  - 21) Vereczkey L, Magyar K. Cytochrome P-450, Biochemistry, Biophysics and Inductions-Developments in biochemistry Volume 27. Elsevier Science Publishers, 1985
  - 22) Astrom A, Meijer J, Depierre JW. Characterization of the microsomal cytochrome P-450 species induced in rat liver by 2-Acetylaminofluorene. *Cancer Res* 43 : 342-348, 1983
  - 23) Lu AYH, West SB, Vore M, Ryan d, Levin W. Role of cytochrome b<sub>5</sub> in hydroxylation by a reconstituted cytochrome P-450-containing system. *J Biol Chem* 249 : 6701-6709, 1974
  - 24) Remmer H. The role of the liver in drug metabolism. *Am J Med* 49 : 617-629, 1970
  - 25) Committee on diet, nutrition and cancer. *Diet, Nutrition and Cancer.* National Academy Press 73-105, 1982