

지방산 조성이 다른 식이지방이 발암물질을 투여한 쥐의 간 미토콘드리아 지질조성과 Adenine Nucleotide Translocase 및 ATPase 활성도에 미치는 영향*

이 미 숙 · 김 정 희
서울여자대학교 자연과학대학 영양학과

Effects of Different Dietary Oils on Hepatic Mitochondrial Lipid Composition,
Adenine Nucleotide Translocase and ATPase Activities in
Carcinogen Treated Rats

Lee, Mi Sook · Kim, Jung Hee
Department of Nutrition, Seoul Woman's University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study was done to investigate the effects of different dietary oils on hepatic mitochondrial lipid composition, adenine nucleotide translocase(AdNT) and ATPase activities in carcinogen treated rats. Sixty male Sprague-Dawley rats, weighing 50~60g, were fed three different types of dietary oil, beef tallow(BT), corn oil(CO) and sardine oil(SO) at 15% by weight for 14 weeks. Three weeks after feeding, rats were intraperitoneally injected with a single dose of diethylnitrosamine(200mg/Kg BW). After five weeks rats were fed 0.02% acetylaminofluorene containing diet for 6 weeks, and after seven weeks 0.05% phenobarbital containing diet for 7 weeks. At 14th week, rats were sacrificed and hepatic mitochondrial lipid composition, AdNT and ATPase activities were determined.

Percent liver weight per body weight was significantly increased by carcinogen treatment. Analysis of mitochondrial lipid composition showed that both cholesterol and phospholipid contents were not affected by dietary oils but significantly increased by carcinogen treatment. Individual phospholipid composition as well as phosphatidyl ethanolamine/phosphatidyl choline ratio were altered by either dietary oils or carcinogen treatment. Fatty acid composition was changed by dietary oils but not much by carcinogen treatment. AdNT activity was affected by dietary oils in only carcinogen treated groups. ATPase activity was affected by dietary oils in only carcinogen nontreated groups.

These data indicate that both dietary oils and carcinogen treatment can change mitochondrial lipid composition and thereby change AdNT and ATPase activities. Particularly effects of carci-

채택일 : 1993년 7월 12일

*본 연구는 1990년도 한국과학재단 목적기초 2차년도 연구과제의 일부임.

nogen treatment on cholesterol/phospholipid ratio, phospholipid composition and ATPase activity were different among dietary oil groups. Therefore it is suggested that different dietary oils can somewhat modulate the changes of mitochondrial lipid composition and membrane bound enzyme activities during hepatocarcinogenesis.

KEY WORDS : dietary oils · hepatocarcinogenesis · mitochondrial lipids · adenine nucleotide translocase · ATPase.

서 론

경제성장과 국민소득의 향상으로 식생활 양식이 서구화되어 감에 따라 식이 지방 섭취는 계속 증가 추세에 있으며, 이런 지방 섭취의 증가와 함께 동맥경화, 심근경색, 뇌혈전 등의 심장순환계 질환이 증가하는 추세에 있다¹⁾. 식이지방의 양이나 지방산 조성은 혈청 지질대사의 변화를 초래하여 관상심장병, 동맥경화증, 고혈압같은 성인병 유발과 관련이 있을 뿐만 아니라 유방암과 대장암 등의 여러가지 암발생에도 큰 영향을 미침에 따라 많은 연구의 대상이 되어 왔다. 과잉의 지방섭취는 성인병이나 암발생 모두의 위험요인으로 지적되고 있는 반면 지방산의 종류가 미치는 영향은 다르다²⁾.

암의 발생에 미치는 식이 지방산의 영향을 살펴보면 포화지방산이나 단일불포화지방산은 발암을 촉진하는 효과가 없으며 n-6계 지방산은 발암을 촉진시키고 n-3계 지방산은 발암을 억제시키는 것으로 나타나고 있다³⁾. 특히 n-6계 지방산인 linoleic acid가 암의 발생을 촉진시키는 주요인자로 생각되며⁴⁾ 이것은 암의 발생뿐 아니라 암의 전이 과정에서도 촉진작용을 나타낸다고 한다⁵⁾. 최근에는 n-3계 지방산에 대한 연구가 다양하게 이루어지면서 이것이 발암에 미치는 영향이 활발하게 연구되고 있다. n-3계 지방산은 고혈압이나 동맥경화등 심장 혈관계 질환을 감소시킬 뿐만아니라 다른 불포화지방산들과는 달리 발암촉진 효과를 나타내지 않고 오히려 암의 발생을 감소시키는 것으로 나타나고 있다⁶⁻⁹⁾.

지방산의 종류가 다른 식이지방이 발암촉진에 다른 효과를 나타내는 몇가지 기전을 살펴보면 첫째, 식이지방 종류의 변화가 세포막의 지질조성을

변화시킴으로써 생체막의 불포화도를 증가시켜 지질과산화물이나 유리라디칼이 세포내의 여러 고분자물질과 반응하거나 생체막의 유동성 변화를 유발한다¹⁰⁾는 주장이 있으며 과도한 과산화지질의 생성에 의한 발암설은 항산화제의 투여가 암의 발생을 감소시킨다는 실험결과 밝혀졌다¹¹⁾. 이러한 맥락에서 생각해보면 불포화도가 매우 높은 n-3계 지방산을 다량 섭취하는 것이 과산화지질의 생성을 증가시켜서 암의 발생을 촉진하리라 생각되지만 실험결과 n-3계 지방산의 다량섭취가 vitamin E의 요구량을 증가시키는 경향은 있지만 암을 유발하는 위험요소가 되지는 못하며 오히려 암의 발생을 감소시킴이 밝혀져서¹²⁾ 과산화지질의 생성보다 더 중요한 다른 작용이 있음을 나타내고 있다.

둘째, 생체막의 지질조성 변화는 생체막에 부착되어 있는 여러가지 막부착 약물대사효소의 활성 변화를 유발한다¹³⁾. 식이지방이 변화하면 세포막의 지방산조성이 변하게 되고 따라서 포화지방산/불포화지방산 비율 역시 변하게 되며 콜레스테롤의 양도 변하게 되며 이러한 변화는 세포막의 유동성에 매우 중요한 영향을 미친다¹⁴⁾. 세포막 유동성의 변화는 세포막에 부착되어 있는 여러가지 효소들의 활성에 필요한 환경을 변화시키고 단백질 구조를 변화시켜서 효소의 활성도에 영향을 미치게 된다¹⁵⁾. 마지막으로 막지질의 n-3, n-6계 지방산의 양에 영향을 주어 prostaglandin 합성에 영향을 미친다¹⁶⁾. 즉, n-6계 지방산이 많은 식이는 prostaglandin중 면역반응 억제에 관여하는 prostaglandin E₂(PGE₂)의 생성을 증가시켜 암의 생성을 돕고 n-3계 지방산은 PGE₂의 생성을 억제하여 암의 생성을 막는다고 한다¹⁷⁾.

Adenine nucleotide translocase(AdNT)는 미토콘

드리아 내막에 존재하는 수송반체로서 산화적 인산화반응에 의해서 생성된 미토콘드리아 내의 ATP와 세포질에 있는 ADP를 1 : 1로 교환하는것을 촉진하며¹⁸⁾ 따라서 AdNT의 활성도는 미토콘드리아의 산화적 인산화를 변화시킬 수 있다. AdNT의 활성도는 질병이나 생리적 변화에 따라 변화되는데 hepatomas같은 종양세포에서 활성도가 감소했다고¹⁹⁾하며 이러한 감소는 미토콘드리아 막지질의 조성변화에 기인한 것이라고 한다. ATPase는 미토콘드리아 내막에 부착된 효소로 ATP를 ADP와 인산으로 가수분해하여 에너지를 생성하는데 ATPase의 활성도 역시 미토콘드리아막의 지질조성 변화에 의하여 변하는 것으로 알려져있다²⁰⁾. 발암의 초기 단계에서 미토콘드리아의 DNA는 발암물질에 의한 손상 정도가 매우 크며 미토콘드리아 DNA의 손상은 우선적으로 미토콘드리아 기능에 관여하는 효소생성 저해로 세포의 에너지 생성에 문제가 생길 수 있으며²¹⁾ 따라서 암화과정에서 미토콘드리아의 기능저하가 나타날 수 있다. 또한 반응성이 큰 유독성 산소 대사물에 의해 미토콘드리아가 손상을 받게되면 막의 투과성이 증가하며 AdNT와 ATPase의 활성도가 감소된다는 보고들도 있다²²⁻²⁴⁾.

본 연구에서는 쥐 간의 암화과정에서 간 미토콘드리아의 지질조성과 막 수송기능 및 에너지 생성능력의 변화가 있는지를 살펴보고 이런 변화가 식이지방산의 종류에 의해 어떤 영향을 받는지 연구하고자 하였다. 따라서 단기간의 실험적인 간암유발모델로 사용되는 Solt와 Farber²⁵⁾가 고안한 간암유도 방법을 일부 수정하여 사용하였고 식이지방의 종류로는 우지(牛脂), 옥수수유, 정어리유를 사용하여 간 미토콘드리아의 지질조성과 미토콘드리아 막부착 효소인 adenine nucleotide translocase 및 ATPase 활성도를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

50~60g 정도의 이유된 Sprague-Dawley종 숫쥐 60마리를 wire bottomed cage에서 14주간 사육실의 실내온도와 채광을 일정하게 조절하여 사육하였다.

실험식은 발암연구에 사용되는 실험식에 대한 Rao²⁶⁾의 연구를 참고로 AIN-76 diet²⁷⁾을 약간 수정하여 사용하였다. 식이조성은 지방을 15% (w/w)가 되도록 하고 식이지방으로 포화지방산이 풍부한 우지(BT, 제일제당), n-6계 고도불포화지방산인 linoleic acid(18 : 2)가 풍부한 옥수수유(CO, 동방유량), n-3계 고도불포화지방산인 EPA와 DHA가 풍부하게 들어있는 정어리유(SO, 이화유지)등 세 가지 지방을 사용하여 각 균별로 지방의

Table 1. Diet composition

Ingredient	Amount (%)
Corn starch	35.2
Dextrin	20.0
α -cellulose	5.0
Casein	20.0
DL-methionine	0.3
Oil ¹⁾	15.0
Salt mixture ²⁾	3.5
Vitamin mixture ³⁾	1.0
Vitamin E ⁴⁾	0.015
Butylated hydroxytoluene	0.01

¹⁾ Beef tallow, corn oil and sardine oil were used

²⁾ Composition of salt mixture(AIN 76), g/Kg mixture : Calcium phosphate dibasic(CaHPO₄) 500g, Sodium chloride(NaCl) 74g, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52g, Potassium citrate monohydrate(K₃C₆H₅O₇ · H₂O)220g, Magnesium oxide(MgO) 24g, Manganous carbonate(43~48% Mn) 3.5g, Ferric citrate (16~17% Fe) 6.0g, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6g, Cupric carbonate(53~55% Cu) 0.3g, Potassium iodate(KIO₃) 0.01g, Chromium potassium sulfate[CrK(SO₄)₂ · 12H₂O] 0.55g, Sodium selenite(Na₂SeO₃ 5H₂O) 0.01g, Sucrose finely powdered to make 1,000.0g

³⁾ Composition of vitamin mixture(Oriental 효모), g/Kg mixture : Vitamin A Acetate(500,000 IU per g) 1.0g, Vitamin D₃(40,000,000 per g) 2.5mg, Vitamin E Acetate 5g, Vitamin K₃ 5.2g, Thiamin chloride 1.2g, Riboflavin 4.0g, Pyridoxine hydrochloride 0.8g, Vitamin B₁₂ 0.5mg, Ascorbic acid 30.0g, Inositol 6.0g, Choline chloride 200g, p-Aminobenzoic acid 5.0g, Niacin 6.0g, Calcium Pantothenate 5.0g, Biotin 0.02g, Folic acid 0.2g, and cerelese powder to make 1,000.0g

⁴⁾ dl- α -tocopherol acetate

종류가 다른 실험식이를 공급하였다. 식이섭취량은 발암물질 투여군의 섭취량에 맞추어 pair-feeding을 실시하였고 물의 섭취는 제한하지 않았다.

실험식이의 조성은 Table 1에 나타내었다.

2. 실험설계

실험설계는 단기간의 실험적 간암유발 모델로 고안된 Solt와 Farber²⁵⁾의 간암유도 방안을 일부 수정하여 시행하였다. 사육을 시작하고 3주후에 실험군은 initiator로 diethylnitrosamine(DEN)을 saline에 녹여서 200mg DEN/Kg B.W. 수준으로 복강주사하고 대조군은 saline을 주사하였다. 5주부터 실험군은 화학적 내성세포의 선택을 위해 2-acetylaminofluorene(2-AAF)를 기본식이에 0.02% 첨가

하여 6주간 즉, 11주까지 키우고 2-AAF를 투여한 2주 후인 7주부터는 여기에 다시 promoter인 0.05% phenobarbital(PB)을 추가하여 7주동안 섭취시켰다. 총 14주의 사육기간동안 대조군은 처음과 동일한 기본실험식이를 계속하여 섭취시켰다.

실험 설계는 FIGURE 1과 같다.

3. 시료수집

실험동물을 12시간 금식시킨 후 decapitation하여 희생 시키고 간을 절제하여 Johnson과 Lardy²⁸⁾의 방법에 따라 간 미토콘드리아를 분리하였다. 일정량씩 동일한 간엽을 취하여 isolation media(225mM manitol, 75mM sucrose, 0.1mM EDTA, 2mM HE-PES, pH 7.4 at 4°C)를 이용하여 homogenizer로 간

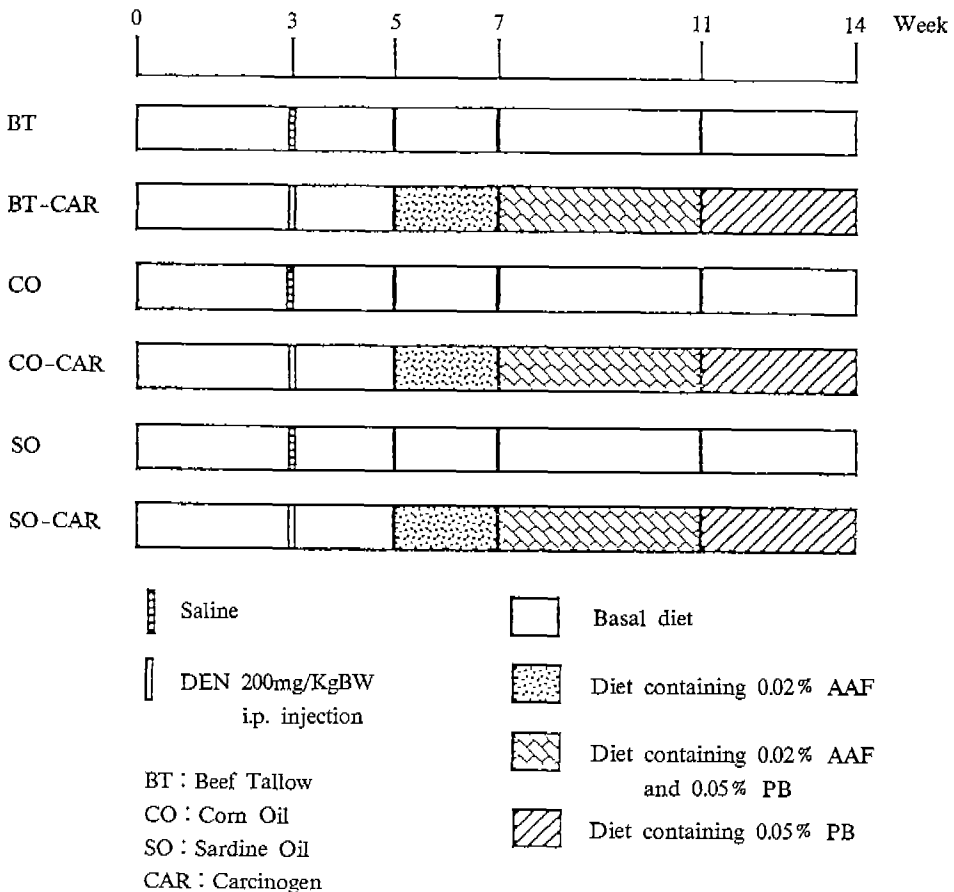


Fig. 1. Experimental design.

균질액을 만들고 이 균질액을 고속 냉장 원심분리기를 사용하여 4°C 600g에서 10분간 원심분리 후 상등액만 모아 15,000g에서 5분간 원심분리하여 미토콘드리아를 얻었다. 단백질 함량과 AdNT 및 ATPase활성도는 신선한 상태의 미토콘드리아를 사용하여 측정하였으며 미토콘드리아의 지질조성은 미토콘드리아 부유액을 급속냉동시킨 후 -40°C에 냉동보관 하였다가 분석하였다.

4. 미토콘드리아 지질 조성 분석

미토콘드리아의 지질은 Bligh와 Dyer²⁹⁾의 방법을 이용하여 추출한 후 지질 조성 분석에 사용하였다. 콜레스테롤 함량은 Sale³⁰⁾등의 방법을 수정한 효소법(영동계약 cholesterol정량 kit)를 이용하여 측정하였고 총 인지질 함량은 인지질중에 들어있는 phosphorus의 함량을 측정하는 Rouser등³¹⁾의 방법으로 측정하였다.

인지질 조성은 HPLC를 이용하는 Patton등³²⁾의 방법을 사용하여 측정하였다. Column은 Hibar II column(Merck, LiChrospher Si-100)을 사용하였고 분리용액은 hexane : 2-propanol : 25mM phosphate buffer : ethanol : acetic acid의 비율이 367 : 490 : 62 : 100 : 0.6이 되도록 만들어서 사용하였다. 분석시 유속은 1.0ml/min로 하였고 detector의 wavelength는 205nm로 하였으며 injection 양은 10 μ l로 하였다. 분리된 각 peak는 표준 인지질 용액의 retention time과 비교하여 확인 하였으며 각 인지질의 함량은 자동면적 적분기에서 면적 %로 구하였다.

지방산 조성은 지질 추출액을 Metcalfe등³³⁾의 방법으로 transmethylation 시킨 후 gas chromatography로 측정 하였다. Column은 100/200 mesh chromosorb WHP 10% Silar 5CP 를 사용하였고 검출기는 flame ionization detector 를 사용하였다. 분석 조건으로 오븐의 초기 온도는 175°C로 4분간 유지 시킨 후 최종 온도 245°C까지 분당 7°C씩 상승 시켰으며 주입구의 온도는 250°C, 검출기의 온도는 300°C로 하였다. Carrier gas는 질소를 사용하였고 flow rate는 9.8ml/min로 조정하였으며 sample의 injection량은 1 μ l로 하였다. 각 지방산의 함량은 자동면적 적분기에서 면적 %로 구하였으며 분리된 각

peak의 확인은 표준지방산 methyl ester의 retention time과 비교하여 이루어졌다.

5. 미토콘드리아 단백질 함량 측정

미토콘드리아의 단백질 함량은 Bradford 방법³⁴⁾(Bio-Rad사 단백질 정량 kit)을 이용하여 측정하였고 표준물질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

6. 미토콘드리아 Adenine nucleotide translocase 활성도 측정

Adenine nucleotide translocase(AdNT) 활성도는 Pfaff와 Klingenberg의 방법³⁵⁾을 변형시킨 Shrago등³⁶⁾의 방법에 따라 forward exchange방법으로 측정하였다. 1.5ml용 microtube를 가루 얼음 속에 꽂아 둔 뒤 exchange medium(30mM Tris-HCl(pH7.4), 75mM KCl, 1.5mM EDTA) 넣고 여기에 1mg의 단백질을 함유하는 미토콘드리아를 넣어서 2분간 incubation을 시켰다. 그 다음 [8-¹⁴C]ADP(24,904 dpm/nmole)을 최종 농도가 9.6 μ M 이 되게 넣은 후 10초 뒤에 반응을 중단시키기위하여 AdNT의 저해제인 atractyloside(ATR)를 최종 농도가 200 μ M 되게 넣었으며 반응물의 최종용량은 1ml였다. 한편 다른 microtube에는 nonspecific하게 미토콘드리아로 들어간 [8-¹⁴C]-ADP 양을 빼주기 위하여 [8-¹⁴C]-ADP 를 넣기전에 저해제인 ATR과 미토콘드리아를 동시에 넣어주는 실험을 병행하여 실시하였다. 10초간의 반응 시간 후 반응물들을 9,000xg에서 5분간 원심분리 한 뒤 상층액을 aspirator에 의해서 제거하고, 미토콘드리아 pellets을 0.9ml의 exchange medium으로 한번 씻은 후 0.3ml의 2% sodium dodecyl sulfate 용액에 녹인 후 scintillation cocktail로 Opti-fluor(Packard)를 사용하여 liquid scintillation analyzer(Packard 200 CA)로 미토콘드리아의 radioactivity를 측정하였다. AdNT의 specific activity는 [8-¹⁴C]-ADP 가 미토콘드리아 단백질 mg 당 일분동안에 uptake 되는 양으로 표현되었다.

7. 미토콘드리아 ATPase 활성도 측정

미토콘드리아 ATPase 활성도는 Lowry³⁷⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 단백질의 양이 0.025mg

으로 일정하게 되도록 시료를 취하고 50mM MES-HCl buffer(pH6.0, 1mM EDTA포함) 용액으로 나머지를 채워서 0.4ml를 만들었다. 여기에 50mM MgCl₂ 0.1ml, 탈이온수 0.4ml를 넣어 잘 섞은 후 6mM ATP 0.1ml를 넣고 30°C water bath에서 30분간 반응 시킨 후 반응 중지용액(2% H₂SO₄, 0.5% ammonium molybdate, 0.5% Sodium dodecyl sulfate) 2ml를 가하고 10% ascorbic acid 0.02ml로 발색시켜 820nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 1 mM KH₂PO₄를 사용하여 ATPase에 의해 분해된 무기인의 양으로 효소의 활성도를 측정하였다.

8. 통계처리

모든 실험결과와 통계처리는 statgraphics 통계 program을 이용하였고 모든 결과는 평균치와 표준오차로 표시하였다. 식이 지방 종류와 발암물질 투여의 상호작용을 검증하기 위하여 two-way analysis of variance(ANOVA)로 분석하였고 여섯개 실험군 각각의 평균치를 비교하기 위해서 one-way ANOVA로 분석하였으며 평균치간의 유의성 검증은 Least Significant Difference(LSD) 방법을 사용하여 p<0.05 수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 및 간무게

식이 섭취량은 발암물질 투여군의 섭취량에 맞추어 pair-feeding을 실시하였기 때문에 군간에 유의적인 차이가 없었으나 최종 체중은 우지군이 다른 식이지방군보다 감소되었다(Table 2). 발암물질 투여는 체중 증가량에 약간씩의 감소효과를 나타내는 경향은 있었으나 유의적인 차이를 나타내지는 못했다.

간 무게는 식이지방에 따른 차이는 없으나 발암물질을 투여한 경우에는 모든 식이지방군에서 유의적으로(p<0.0001) 증가하여 체중에 대한 상대적인 간무게(간무게/체중)가 유의적인 증가(p<0.0001)를 나타냈다.

간의 상태를 육안으로 관찰한 결과 발암물질 투여시 간이 매우 비대해 있고 섬유질화 되어있음을 알 수 있었다. 특히 우지군과 옥수수유군에서는 발암물질을 투여한 쥐 간의 형태가 많이 변한 쥐가 일부 있었으나 정어리유군에서는 이와같은 변화는 나타낸 쥐가 없었다.

Table 2. Effects of different dietary oils on body weight and liver weight of rats treated with DEN followed by AAF and PB¹

Diet	N	Body weight (g)	Liver weight (g)	Liver weight/Body weight (%)
BT	9	321.7±11.8 ^a	8.3±0.3 ^a	2.60±0.06 ^a
BT-CAR	7	315.3±10.5 ^a	17.3±2.1 ^b	5.47±0.62 ^b
CO	8	361.9±15.5 ^{bc}	8.9±0.5 ^a	2.47±0.06 ^a
CO-CAR	8	330.0±16.4 ^{ab}	18.0±1.6 ^b	5.40±0.24 ^b
SO	6	380.8±4.5 ^c	10.4±0.2 ^a	2.74±0.05 ^a
SO-CAR	6	362.5±17.4 ^{bc}	20.7±1.2 ^b	5.72±0.18 ^b
2-way ANOVA				
p values				
OIL		0.0022	NS	NS
CAR		NS	0.0001	0.0001
OILxCAR		NS	NS	NS

¹Values are mean SE. Means with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 NS=not significant ; N=number of animals

2. 미토콘드리아 지질 조성

1) 콜레스테롤 및 인지질 함량

미토콘드리아의 콜레스테롤 함량은 발암물질물 투여하지 않았을 때 옥수수유군이 다른 식이지방군보다 약간 낮은 경향이 있었으나 유의적인 차이는 없었다. 그러나 발암물질의 투여시는 모든 식이군에서 콜레스테롤의 함량이 증가하는 경향이 있으며 특히 옥수수유군의 콜레스테롤은 유의적인 증가를 나타내었다(Table 3).

Kawata등³⁸⁾은 hepatocellular carcinoma 환자의 간세포에서 활성형 HMG-CoA reductase가 증가되어 콜레스테롤 생합성이 증가된다고 하였으며 이는 정상세포와는 달리 암세포에서는 HMG CoA reductase 활성의 feedback regulation 기전에 이상이 있는 것으로 알려지고 있다. 또한 Morris hepatoma 미토콘드리아에서도 숙주세포의 미토콘드리아보다 콜레스테롤 함량이 아주 높은 것으로 나타났다¹⁹⁾. 본 실험에서도 발암물질의 투여에 의하여 콜레스테롤 함량이 모든군에서 증가하는 경향이 있었으나 증가 정도가 식이지방의 종류에 따라 다른 것으로 나타났으며 또한 저자들이 실험한 다른 연구 논문³⁹⁾에서도 혈청과 간의 콜레스테롤 함량을 측정했을 때 정어리군에서는 발암물질 투여에 의한 유의적인

증가 효과가 없었으나 옥수수군에서 증가 효과가 크게 나타났다. 이러한 결과들은 n-6계 지방산인 linoleic acid를 많이 함유하고 있는 옥수수유가 n-3 지방산을 많이 함유하고 있는 어유 섭취시 보다 발암촉진 효과가 크다고 보고한 다른 연구⁵⁾⁶⁾결과와 유사하며 이것은 암화과정에서 두 식이지방이 콜레스테롤 대사에 미치는 효과가 서로 달라서 두 식이 지방이 발암과정에 미치는 영향이 서로 다를 수도 있음을 의미한다.

미토콘드리아 인지질 함량은 식이지방 종류에 따라서는 유의적인 차이가 없으나 발암물질 투여시에는 모든 식이지방군에서 유의적인 증가(p<0.0001) 효과를 보여 주었다. 이러한 결과는 식이지방의 종류가 미토콘드리아 막의 총 인지질 함량에는 영향을 미치지 않는다는 Innis와 Clandinin⁴⁰⁾의 연구 결과나 tumor cell의 인지질 함량이 정상세포보다 50~70% 더 높다는 Daum²⁰⁾의 보고와도 일치한다. 본 연구에서 표에는 나타내지 않았으나 미토콘드리아의 단백질 함량을 간 g당으로 환산시 발암물질을 투여한 모든 식이군에서 감소되었으며 이런 감소가 발암물질 투여시 미토콘드리아의 회수율의 감소에 기인하는지 혹은 암화과정에서 미토콘드리아 그 자체의 양이나 미토콘드리아에 존재하는 단백질 양의 감소에 기인하는지는 분명하지

Table 3. Effects of different dietary oils on hepatic mitochondrial cholesterol and phospholipid contents in rats treated with DEN followed by AAF and PB¹

Diet	Total Cholesterol (nmole/mg protein)	Phospholipid-Pi (nmole/mg protein)	C/PL-Pi (molar ratio)
BT	9.34 ± 1.21 ^{ab}	407.8 ± 36.1 ^a	0.023 ± 0.002 ^b
BT-CAR	11.31 ± 1.85 ^b	602.8 ± 61.9 ^b	0.019 ± 0.002 ^{ab}
CO	6.65 ± 0.62 ^a	423.2 ± 29.2 ^a	0.016 ± 0.002 ^a
CO-CAR	11.84 ± 1.34 ^b	588.2 ± 50.9 ^b	0.020 ± 0.001 ^{ab}
SO	9.01 ± 1.09 ^{ab}	399.3 ± 14.1 ^a	0.023 ± 0.003 ^b
SO-CAR	9.55 ± 1.56 ^{ab}	582.0 ± 71.5 ^b	0.016 ± 0.001 ^a
2-way ANOVA			
p values			
OIL	NS	NS	NS
CAR	0.0251	0.0001	NS
OILxCAR	NS	NS	0.0289

¹Values are mean SE. Means with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05
NS=not significant ; n=6

않다. 따라서 본 실험에서는 발암물질 투여시 미토콘드리아의 단백질 감소가 발암의 초기단계에서 미토콘드리아 DNA 손상에 기인하여 미토콘드리아 기능에 관여하는 효소생성 저해때문인지는 분명하지 않다. 결국 간 g당 미토콘드리아 단백질 함량이 발암물질 투여시 감소되기 때문에 미토콘드리아의 인지질 함량을 unit protein당 환산하면 증가하게 된다.

막 지질의 유동성의 지표로 흔히 사용되는 Chol/PL 몰비는 발암물질 비투여군간의 비교시 옥수수유군이 다른 두 식이지방군에 비하여 낮았으며 발암물질 투여군간의 비교시는 우지군과 옥수수유군에 비하여 정어리유군에서 유의적으로 낮았다. 따라서 발암물질의 투여시 정어리유군에서만 유의적인 감소 효과가 나타나 식이 지방의 종류에 따라 발암물질에 대처하는 경향이 다름이 관찰되었다. Kessler등⁴¹⁾은 Chol/PL 몰비가 높으면 막 지질의 유동성이 낮아진다고 보고하였으며 식이중의 지방을 달리하여 섭취시키면 Chol/PL 몰비가 변한다고 하였다. 따라서 본 실험에서는 직접 막의 유동성을 측정하지 않았으나 유동성의 지표라고 생각할 수 있는 Chol/PL 몰비에 대한 발암물질 투여

효과가 식이 지방의 종류에 따라 달랐다.

2) 인지질 조성

미토콘드리아의 인지질 조성은 식이지방의 종류에 따라 차이가 있으며 발암물질의 투여에 의해서도 변화하는 것으로 나타났다(Table 4).

Phosphatidyl ethanolamine(PE)은 발암물질 비투여군의 비교에서는 정어리유군이 우지군이나 옥수수유군에 비해 낮았으나 발암물질 투여군간의 비교에서는 옥수수유가 가장 낮았고 정어리군 우지군의 순서였다. 결국 발암물질의 투여 효과가 식이 지방에 따라 다르게 나타나 옥수수유군은 발암물질 투여시 %PE 함량이 유의적으로 감소한 반면에 정어리유군과 우지군은 유의적인 변화를 나타내지 못하였다.

Phosphatidyl inositol(PI)은 비투여군간의 비교에서 정어리유군이 다른 두군에 비해 유의적으로 높았으나 발암물질 투여시 뚜렷한 감소가 나타나 모든군 중에서 가장 낮았다. 그러나 우지군과 옥수수유군은 발암물질 투여에 의한 변화가 없었다. Phosphatidyl serine(PS)은 식이지방이나 발암물질의 투여에 의한 변화가 나타나지 않았다. Cardiolipin(CL)은 정어리유군에서 다른 군보다 높게 나

Table 4. Effects of different dietary oils on hepatic mitochondrial phospholipid composition in rats treated with DEN followed by AAF and PB¹

Diet	PE	PI	PS	CL	PC	PE/PC
	(%)					
BT	48.7±1.4 ^c	5.7±0.7 ^a	0.3±0.3 ^a	3.2±0.2 ^a	42.2±1.7 ^{ab}	1.17±0.08 ^c
BT-CAR	47.4±1.0 ^{de}	6.1±0.8 ^{ab}	0.1±0.1 ^a	3.0±0.2 ^a	43.4±1.5 ^{abc}	1.10±0.06 ^{bc}
CO	44.7±1.3 ^{cd}	8.2±1.0 ^{ab}	0.4±0.2 ^a	3.8±0.2 ^a	42.9±2.1 ^{abc}	1.06±0.08 ^{bc}
CO-CAR	40.9±0.5 ^a	8.9±0.6 ^{bc}	0.2±0.2 ^a	3.7±0.6 ^a	46.3±0.9 ^{bc}	0.88±0.02 ^a
SO	41.6±0.9 ^{ab}	11.7±2.0 ^c	0.3±0.2 ^a	5.2±0.6 ^b	41.3±2.3 ^a	1.03±0.06 ^{abc}
SO-CAR	44.4±0.8 ^{bc}	5.2±0.3 ^a	0.1±0.1 ^a	3.3±0.1 ^a	47.1±0.6 ^c	0.95±0.03 ^{ab}
	2-way ANOVA					
	p values					
OIL	0.0001	0.0284	NS	0.0293	NS	0.0199
CAR	NS	0.0486	NS	0.0367	0.0148	0.0366
OILxCAR	0.0114	0.0024	NS	NS	NS	NS

PE=phosphatidyl ethanolamine, PI=phosphatidyl inositol, PS=phosphatidyl serine, CL=cardiolipin, PC=phosphatidyl choline

¹Values are mean SE. Means with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 NS=not significant; n=6 Data are presented as % of total phospholipids

타났으나 발암물질 투여에 따라 유의적으로 감소하였고 다른 군에서는 발암물질에 의한 영향이 없었다.

Phosphatidyl choline(PC)은 비투여군간의 비교에서는 식이군간에 유의적인 차이는 없었으나 발암물질을 투여했을 때 정어리유군에서 유의적으로 증가하여 모든 군 중에서 가장 높은 수치를 나타내었다. PE/PC ratio는 비투여군간의 비교에서는 식이지방에 따른 유의적인 차이는 없으나 발암물질 투여시 모든 식이군에서 감소되는 경향이 있었으며 특히 옥수수유군에서 가장 유의적인 감소 효과가 나타났었다.

이러한 결과들은 식이지방의 종류를 달리 했을때 인지질 조성 및 PE/PC ratio가 변한다는 여러 보고들⁴⁰⁾⁴²⁾과 일치하며, 또한 일반적으로 막의 콜레스테롤 함량이 증가하면 PE/PC ratio가 감소하는 경향이 있음을 보고⁴³⁾하였는데 본 연구에서도 옥수수유군에서 발암물질 투여시 콜레스테롤 함량의 유의적인 증가는 PE/PC ratio의 유의적인 감소 효과를 초래하였다. PE/PC ratio의 변화가 membrane surface potential을 변화시켜 막의 성질에 영향을 미치므로⁴⁴⁾ 식이지방의 종류와 발암물질의 투여가 막의 성질을 변화시킴을 알 수 있다.

Table 5. Effects of different dietary oils on hepatic mitochondrial fatty acid composition in rats treated with DEN followed by AAF and PB¹

Fatty Acid(%)	BT	BT-CAR	CO	CO-CAR	SO	SO-CAR
16 : 0	16.9 ± 0.4 ^{ab}	16.5 ± 0.3 ^{ab}	16.1 ± 0.4 ^a	17.3 ± 0.5 ^b	21.4 ± 0.3 ^c	21.4 ± 0.4 ^c
16 : 1	2.7 ± 0.3 ^{bc}	3.3 ± 0.2 ^c	1.0 ± 0.2 ^a	1.1 ± 0.2 ^a	3.0 ± 0.2 ^c	2.3 ± 0.1 ^b
18 : 0	22.0 ± 0.1 ^b	20.9 ± 0.6 ^{ab}	21.8 ± 0.5 ^{ab}	20.2 ± 0.7 ^{ab}	20.0 ± 0.5 ^a	20.2 ± 0.5 ^{ab}
18 : 1	14.7 ± 0.9 ^c	17.7 ± 0.7 ^d	6.4 ± 0.3 ^a	8.3 ± 0.6 ^a	9.7 ± 0.3 ^b	9.3 ± 0.3 ^b
18 : 2(n6)	12.1 ± 2.1 ^b	13.1 ± 1.2 ^b	16.6 ± 0.6 ^c	19.6 ± 1.1 ^c	5.7 ± 0.4 ^a	4.5 ± 0.2 ^a
18 : 3(n3)	0.6 ± 0.3 ^a	1.1 ± 0.5 ^a	0.7 ± 0.4 ^a	0.7 ± 0.2 ^a	0.7 ± 0.2 ^a	1.4 ± 0.2 ^a
20 : 1	0.9 ± 0.5 ^{ab}	2.2 ± 0.8 ^{ab}	2.4 ± 0.8 ^{ab}	0.8 ± 0.4 ^a	2.0 ± 0.4 ^{ab}	2.7 ± 0.9 ^b
20 : 2	2.1 ± 0.6 ^{ab}	2.5 ± 0.2 ^b	1.3 ± 0.3 ^{ab}	2.3 ± 1.3 ^b	0.3 ± 0.2 ^a	2.3 ± 0.6 ^b
20 : 4(n6)	22.7 ± 0.9 ^c	18.3 ± 1.1 ^b	28.8 ± 1.0 ^c	25.8 ± 0.9 ^d	18.3 ± 0.5 ^b	14.7 ± 0.5 ^a
20 : 5(n3)	1.1 ± 0.2 ^a	0.7 ± 0.3 ^a	0.7 ± 0.3 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	5.5 ± 0.7 ^b	5.2 ± 0.3 ^b
22 : 5(n3)	0.5 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.2 ^b	1.0 ± 0.1 ^b	0.2 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.1 ^a
22 : 6(n3)	3.7 ± 0.3 ^b	3.3 ± 0.3 ^{ab}	3.0 ± 0.2 ^{ab}	2.5 ± 0.4 ^a	13.2 ± 0.3 ^c	15.4 ± 0.6 ^d
SFA(%)	39.0 ± 1.3 ^a	37.3 ± 0.6 ^a	38.0 ± 0.5 ^a	37.5 ± 0.8 ^a	41.5 ± 0.6 ^b	41.6 ± 0.7 ^b
MUFA(%)	18.2 ± 0.9 ^c	23.1 ± 1.2 ^d	9.8 ± 1.0 ^a	10.2 ± 0.6 ^a	14.8 ± 0.7 ^b	14.3 ± 1.0 ^b
PUFA(%)	42.8 ± 1.8 ^b	39.5 ± 0.9 ^a	52.2 ± 0.9 ^c	52.3 ± 0.8 ^c	43.8 ± 0.5 ^b	44.1 ± 0.6 ^b
UFA/SFA	1.58 ± 0.09 ^b	1.68 ± 0.04 ^b	1.63 ± 0.04 ^b	1.67 ± 0.06 ^b	1.41 ± 0.03 ^a	1.40 ± 0.04 ^a
MCL	18.31 ± 0.03 ^b	18.23 ± 0.04 ^a	18.48 ± 0.02 ^c	18.36 ± 0.04 ^b	18.57 ± 0.01 ^d	18.65 ± 0.02 ^c
UI	1.70 ± 0.03 ^b	1.57 ± 0.04 ^a	1.90 ± 0.03 ^c	1.82 ± 0.02 ^c	2.09 ± 0.03 ^d	2.12 ± 0.03 ^d
Σ n-6	34.8 ± 2.6 ^c	31.4 ± 1.7 ^c	45.4 ± 1.6 ^d	45.4 ± 1.1 ^d	24.0 ± 0.4 ^b	19.3 ± 0.6 ^a
Σ n-3	5.9 ± 0.5 ^a	5.6 ± 0.9 ^a	5.5 ± 0.9 ^a	4.7 ± 0.4 ^a	19.5 ± 0.8 ^b	22.5 ± 0.8 ^c
n-6/n-3	6.4 ± 1.2 ^b	6.9 ± 1.6 ^{bc}	9.5 ± 1.6 ^{cd}	10.0 ± 0.8 ^d	1.2 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.1 ^a

¹Expressed as % distribution of fatty acid methyl esters

¹Values are mean SE. Means with different superscripts within each row are significantly different at p<0.05 ; n=5-7

MCL : mean chain length UI : unsaturation index

Σ n-6 : sum of n-6 fatty acids Σ n-3 : sum of n-3 fatty acids

n-6/n-3 : n-6/n-3 fatty acids ratio

3) 지방산 조성

미토콘드리아의 지방산 조성에 대한 분석결과는 지방산 조성이 다른 식이지방의 종류에 따라 매우 뚜렷한 차이가 있으나 발암물질 투여에 의한 영향도 arachidonic acid(C20 : 4)와 같은 일부 지방산에 나타났다. 즉, n-6계 지방산의 함량이 풍부한 옥수수유군에서는 n-6계 지방산인 linoleic acid와 arachidonic acid의 함량이 다른 군보다 높게 나타났고 n-3계 지방산이 풍부한 정어리유군에서는 EPA와 DHA의 함량이 다른 군보다 높게 나타났으며 따라서 n-6/n-3 fatty acid ratio가 옥수수유군, 우지군, 정어리유군의 순서로 감소되었다(Table 5). 또한 MCL(mean chain length)나 UI(unsaturation index)는 발암물질 비투여군의 비교에서 우지군, 옥수수유군, 정어리유군의 순서로 증가되었으나 발암물질 투여시 우지군이나 옥수수유군에서는 MCL가 감소되는 반면에 정어리유군에서는 증가하였다.

식이지방의 지방산 종류에 따라서 세포막의 지방산 조성이 달라진다는 보고는 여러 연구자들⁴²⁾⁴⁴⁾에 의해서 다양하게 이루어져 왔다. 본 연구에서와 같이 저자들이 연구한 다른 논문⁴⁵⁾에서도 정어리유 섭취후 간 미토콘드리아의 n-3 지방산이 증가하고 n-6지방산이 감소하여 n-6/n-3 fatty acid ratio가 감소하였다. 또한 Zuniga등⁴⁶⁾은 식이중에 linoleic acid의 양을 변화시켜도 세포막의 n-6계 지방산의 함량은 변하지 않고 menhaden oil을 첨가시켰을 때 세포막의 linoleic acid와 arachidonic acid가 EPA와 DHA로 교체되었다고 보고하였는데 이는 식이중 n-6계 지방산 함량이 풍부해도 세포막의 n-3지방산을 교체하지는 못하지만 식이중 n-3계 지방산 함량이 풍부한 경우에는 세포막의 n-6계 지방산을 n-3계 지방산으로 교체할 수 있는 것을 의미한다. 본 연구에서 특히 발암물질 투여시 모든 식이군에서 arachidonic acid의 함량이 유의적으로 감소되었으며 이런 감소는 암화과정에서 PGE₂의 생성 증가⁴⁷⁾와 관련이 있을 것으로 보인다. 즉 생체막의 arachidonic acid는 PGE₂의 전구체로서 이용되므로 암화과정에서 PGE₂의 합성증가시는 막 arachidonic acid의 감소를 초래할 수도 있다.

3. 미토콘드리아 Adenine nucleotide translocase 및 ATPase 활성도

미토콘드리아 AdNT 활성도는 발암물질 비투여군의 비교에서는 식이 지방에 따른 유의적인 차이가 없으며 옥수수유군이 다른군에 비하여 낮은 경향이 있으며 이런 결과는 저자들이 연구한 다른 연구⁴⁵⁾와 일치한다. 그러나 발암물질 투여군간의 비교에서 옥수수유군이 다른 두군에 비하여 유의적으로 낮았으며 이런 감소는 발암물질을 투여한 옥수수유군의 콜레스테롤 함량의 증가와 PE/PC ratio의 감소에 다소 기인하는 것 같다(Table 6). 본 실험에서 two-way ANOVA 분석시 식이 지방에 의하여 AdNT 활성도에 유의적인 차이(p<0.0452)가 있는 것으로 나타난 것은 시료수의 증가에 기인되었으나 AdNT 활성도에 대한 발암물질의 투여 효과는 나타나지 않았다.

그러나 Morris hepatoma mitochondria에서는 AdNT 활성도와 저해제에 대한 AdNT의 민감도가 크게 손상되었으며 이는 미토콘드리아 내막의 Chol/PL 물비의 증가와 인지질 조성의 변화에 의한

Table 6. Effects of different dietary oils on hepatic mitochondrial adenine nucleotide translocase and ATPase activity in rats treated with DEN followed by AAF and PB¹

Diet	AdNT activity (nmole/min/mg protein)	ATPase activity (nmole/min/mg protein)
BT	2.57 ± 0.35 ^{ab}	141.8 ± 6.6 ^b
BT-CAR	2.64 ± 0.23 ^b	103.8 ± 4.9 ^a
CO	1.91 ± 0.33 ^{ab}	122.4 ± 6.8 ^{ab}
CO-CAR	1.56 ± 0.31 ^a	106.5 ± 5.4 ^a
SO	2.30 ± 0.58 ^{ab}	109.9 ± 10.5 ^a
SO-CAR	2.67 ± 0.3 ^b	123.7 ± 6.6 ^{ab}
2-way ANOVA		
p values		
OIL	0.0452	NS
CAR	NS	0.0076
OILxCAR	NS	0.0031

¹Values are mean SE. Means with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 NS=not significant ; n=6-7

막지질 환경이 변화하였기 때문이라고 하였다¹⁹⁾⁴⁸⁾. 이런 차이는 본 실험에서는 종양세포와 정상세포의 구분없이 간 세포를 균질화하였기 때문에 숙주의 정상세포와 비교한 Morris hepatoma와의 실험과는 다른 결과를 나타낼 수 있다. 또한 동물이 추위에 노출되었을 경우나 노화시 미토콘드리아의 CL 함량, PE/PC ratio, Chol/PL 몰비, n-3/n-6 fatty acid ratio의 변화 등에 의하여 AdNT의 활성도나 Km, Vmax, Ki 값들이 변하는 것으로 보고 되어 왔으나⁴⁹⁾ 본 연구에서는 식이지방이나 발암물질의 투여가 쥐 간 미토콘드리아의 지질 조성에는 많은 변화를 초래하였으나 AdNT 활성도에는 크게 영향을 미치지 못하였으며 발암물질을 투여한 옥수수군에서 약간 감소하는 효과가 있으며 이런 차이들은 본 실험에서 미토콘드리아 내막의 지질 조성 대신 미토콘드리아 전체의 막지질 조성을 측정하였기 때문일 수도 있다.

미토콘드리아 ATPase 활성도는 발암물질 비투여군간의 비교에서 우지군에서 가장 높고 정어리 유군에서 가장 낮은 것으로 나타나 식이 지방에 의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 그러나 발암물질 투여군간의 비교에서는 식이군간에 유의적인 차이를 볼수 없었다. 따라서 two-way ANOVA로 분석시 식이에 의한 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났으며 이는 발암물질 투여에 의한 효과가 식이 지방군에 따라 다르게 나타났기 때문이다. 즉 우지군에서는 발암물질 투여시 ATPase 활성도가 감소한 반면 옥수수유군이나 정어리유군에서는 유의적인 변화를 보여주지 않았다(Table 6).

ATPase의 활성도에 미치는 막지질 조성을 조사한 다른 연구들의 결과를 살펴보면 ATPase 활성도는 인지질의 종류에 따라서 다른것으로 나타났다. Daum²⁰⁾은 CL, PC에 의해 활성도가 증가하고 콜레스테롤에 의해 활성도가 감소한다고 하였고 Swanljung등⁵⁰⁾은 lysolecithin과 CL이 가장 좋은 활성 촉진물질이며 PC는 활성화 효과가 거의 없다고 주장하였다. Berden과 Voorn-Brouwer⁵¹⁾는 PC는 활성을 촉진하지 않고 PE는 약 3배 정도 활성을 증가시키며 CL은 무려 20배나 증가효과를 나타냈다고 보고하였다. 본 실험의 결과에서도 콜레스테

롤이 증가하면 ATPase의 활성이 감소하는 경향은 관찰할 수 있었으며 각각의 인지질에 대해서는 CL, PC등의 조성비와 ATPase의 활성도는 별다른 연관성을 나타내지 않았으나 PE의 조성비와 ATPase의 활성이 정의 상관관계($r=0.39$, $n=36$, $p<0.018$)가 있어 PE 비율이 증가할수록 ATPase활성도가 증가하였다.

세포막의 지방산조성이 ATPase 활성에 미치는 영향에 대한 연구들은 매우 상반된 결과를 나타내고 있다. Christon등⁵²⁾은 필수 지방산의 결핍과 같은 극한 상황에서 세포막의 지방산 조성의 변화로 인한 막 유동성의 감소로 ATPase의 활성을 감소시켰다고 보고하였으나 Robblee와 Clandinin⁴⁴⁾은 세포막의 P/S ratio가 낮을수록 즉 불포화도가 낮을수록 ATPase의 활성이 증가한다고 하였다. 이외는 반대로 Yamaoka등⁵³⁾은 n-3계 지방산이 풍부한 sardine oil을 섭취 시켰을 때 심장과 간 미토콘드리아의 지방산 조성이 달라지며 cytochrome C oxidase의 활성은 감소하고 반대로 ATPase의 활성은 증가하였다고 보고하였다. 본 실험의 결과를 살펴보면 발암물질을 투여하지 않았을 때에는 ATPase의 활성도가 미토콘드리아의 UFA/SFA 증가에 따라 증가되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 발암물질을 투여한 경우에는 이러한 상관관계를 나타내지 않았다.

이상의 결과들을 종합하면 식이 지방이 막부착 효소의 활성도에 미치는 영향은 막부착 효소의 종류에 따라 다르나 생체막의 지질 조성이나 지방산 조성에 의해서 영향을 받는 것으로 생각되지만 어떠한 지질이나 지방산의 변화가 직접적인 영향을 미치는지에 대해서는 확실한 결론을 내리기 어렵다. 또한 발암물질 투여에 의한 암화과정에서 미토콘드리아 막의 지질조성이 변하며 이런 변화에 식이 지방이 미치는 영향이 다른 것으로 나타났다. 특히 본 연구를 통하여 n-6 지방산의 급원인 옥수수유와 n-3 지방산의 급원인 정어리유 섭취시 암화과정에서 일어나는 막의 여러가지 지질 조성이나 막부착효소의 활성도의 변화가 서로 다른 것이 많으며 이는 n-6와 n-3 지방산이 발암 과정에 미치는 효과가 서로 다르기 때문이라고 생각되며 그 이전에

대한 계속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

요 약

식이중의 지방산 조성이 발암물질 투여시 간 미토콘드리아의 지질조성과 AdNT 및 ATPase활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 이유된 흰쥐에게 지방산 조성이 아주 다른 우지, 옥수수유, 정어리유를 15% (w/w) 수준으로 공급하고 실험군에는 DEN을 복강 주사하고 식이에 2-AAF와 PB를 섞어서 공급하여 14주간 사육하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 체중 증가는 우지군에서 약간 낮게 나타났고 발암물질의 투여는 유의적인 차이를 나타내지 못했다. 간 무게는 식이지방 종류에 따른 뚜렷한 차이는 없었고 발암물질 투여시 유의적으로 증가하여 체중에 대한 상대적인 간무게(간무게/체중)가 유의적으로 증가하였다.

2) 미토콘드리아의 콜레스테롤 함량은 발암물질을 투여하지 않았을 때 옥수수유군이 다른 식이 지방군보다 낮은 경향을 나타냈고, 발암물질 투여시 모든 식이군에서 증가하는 경향이 있으나 옥수수유군에서만 유의적인 증가효과가 나타났다.

미토콘드리아 인지질 함량은 식이지방 종류에 따라서는 유의적인 차이가 없으나 발암물질 투여시 유의적인 증가($p < 0.0001$) 효과를 보여 주었다. Chol/PL 몰비는 발암물질을 투여하지 않았을 때 옥수수유군이 다른 식이지방군에 비하여 유의적으로 낮았으나 발암물질 투여시 옥수수유군과 우지군과는 달리 정어리유군에서만 유의적으로 감소하였다.

3) 미토콘드리아의 인지질 조성은 식이지방의 종류에 따라 PE, PI, CL의 함량에 차이가 있으며 발암물질의 투여에 의해서도 PI, CL, PC의 함량에 유의적인 변화가 있는 것으로 나타났다. 미토콘드리아의 PE/PC ratio는 식이 지방의 종류에 따라서 다르게 나타났으며 특히 발암물질 투여시 PE/PC ratio에 유의적인($p < 0.0366$) 감소 효과를 가져왔고 특히 옥수수유군에서 가장 두드러진 감소가 나타났다.

4) 미토콘드리아의 지방산 조성은 식이지방의 종류에 따라 매우 뚜렷한 차이가 있으며 옥수수유군에서는 n-6계 지방산인 linoleic acid와 arachidonic acid의 함량이 다른 군보다 높게 나타났고 정어리유군에서는 n-3계 지방산인 EPA와 DHA의 함량이 다른 군보다 높게 나타났으며 발암물질 투여에 의해서는 arachidonic acid의 함량이 모든 식이군에서 유의적으로 감소되었다.

5) 미토콘드리아 AdNT 활성도는 발암물질을 투여하지 않았을 때는 식이 지방에 따른 유의적인 차이가 없었으나 발암물질 투여군의 비교에서는 옥수수유군에서 유의적으로 감소하였다. ATPase 활성도는 발암물질을 투여하지 않았을 경우 우지군에서 가장 높고 정어리유군에서 가장 낮은 것으로 나타났다. 발암물질 투여시 식이 지방에 따라 효과가 다르게 나타나서 우지군이나 옥수수유군에서는 발암물질 투여시 ATPase 활성도가 감소하는 경향이 있는 반면 정어리유군에서는 발암물질 투여시 증가하는 경향을 보여 주었다.

이상의 실험결과를 종합해 보면 암화 과정에서 일어나는 미토콘드리아 막의 지질조성 변화에 지방산의 조성이 다른 식이지방의 섭취가 영향을 미치는 것으로 나타났고 이러한 지질 조성의 변화가 간 미토콘드리아 막의 유동성을 변화시키거나 기타 막부착 효소의 활성화에 필요한 환경을 변화시킴으로써 막 수송 능력이나 에너지 생성기능에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 특히 식이 지방의 종류에 따라 암화과정에서 미토콘드리아의 막지질 조성이나 막부착 효소에 미치는 효과가 다르게 나타났다.

감사의 글

본 연구의 지방산 및 인지질 조성을 측정하는데 필요한 GC 및 HPLC 사용을 도와 주신 동양화학 중앙연구소 물리화학 실험실의 모든 분들께 이 자리를 빌어 깊은 감사를 드립니다.

Literature cited

- 1) 사망원인통계연보. 성 · 연령별 10대 사인순위, pp 182-184, 경제기원 조사 통계국, 1988
- 2) Kritchevsky D, Klurfeld DM. Fat and Cancer.

- In : Alfin-Slater RB, Kritchevsky D, ed. *Cancer and Nutrition*, pp127-140 Plenum press, New York and London, 1991
- 3) Meydani SN, et al. Oral(n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation : Comparison between young and older women. *J Nutr* 121 : 547-555, 1991
 - 4) Chan PC, Ferguson KA, Dao TL. Effects of different dietary fats on mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 43 : 1079-1083, 1983
 - 5) Erickson KL, Hubbard NE. Dietary fat and tumor metastasis. *Nutr Rev* 48 : 6-14, 1990
 - 6) Jurkowski JJ, Cave WT. Dietary effects of menhaden oil on the growth and membrane lipid composition of rat mammary tumors. *JNCI* 74 : 1145-1150, 1985
 - 7) Birt DF, White LT, Choi B, Pelling JC. Dietary fat effects on the initiation and promotion of two-stage skin tumorigenesis in the SENCAR mouse. *Cancer Res* 49 : 4170-4174, 1989
 - 8) Karmali RA, Marsh J, Fuchs C. Effect of omega-3 fatty acids on growth of a rat mammary tumor. *JNCI* 73 : 457-461, 1984
 - 9) Ling PR, Istfan NW, Lopes SM, Babayan VK, Blackburn GL, Bistrian BR. Structured lipid made from fish oil and medium-chain triglycerides alters tumor and host metabolism in Yoshida-sarcoma-bearing rats. *Am J Clin Nutr* 53 : 1177-1184, 1991
 - 10) Jordan RA, Schenkman JB. Relationship between MDA production and arachidonate consumption during NADPH-supported microsomal lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 31 : 1393-1400, 1982
 - 11) King MM, McCay PB. Modulation of tumor incidence and possible mechanisms of inhibition of mammary carcinogenesis by dietary antioxidants. *Cancer Res* 43 : 2485s-2490s, 1983
 - 12) Drevon CA. Marine oils and their effects. *Nutr Rev* 50 : 38-45, 1992
 - 13) Rowe L, Willa ED. The effect of dietary lipids and vitamin E on lipid peroxide formation, cytochrome P-450 and oxidative demethylation in the endoplasmic reticulum. *Biochem Pharmacol* 25 : 175-179, 1976
 - 14) Berdanier CD. Role of membrane lipids in metabolic regulation. *Nutr Rev* 46 : 145-149, 1988
 - 15) Innis SM, Clandinin MT. Dynamic modulation of mitochondrial membrane physical properties and ATPase activity by diet lipid. *Biochem J* 198 : 167-175, 1981
 - 16) Hwang DH, Mathias MM, Dupont J, Meyer DL. Linoleate enrichment of diet and prostaglandin metabolism in rats. *J Nutr* 105 : 995-1002, 1975
 - 17) Cameron E, Bland J, Marcuson R. Divergent effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on mammary tumor development in C₃H/Heston mice treated with DMBA. *Nutr Res* 9 : 383-393, 1989
 - 18) Klingenberg M. The ADP-ATP carrier in mitochondrial membranes. In : Martoosi, AN ed. *The enzymes of biological membranes*, pp383-438, Plenum, New York, 1976
 - 19) Woldegiorgis G, Shrago E. Adenine nucleotide translocase activity and sensitivity to inhibitors in hepatomas. *J Biol Chem* 260 : 7585-7590, 1985
 - 20) Daum G. Lipids of mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 822 : 1-42, 1985
 - 21) 박진우. 노화, 암과 라디칼에 의한 DNA 손상. *생화학뉴스* 9 : 314-320, 1990
 - 22) Henke W, Jung K. Ischemia decreases the content of the adenine nucleotide translocator in mitochondria of rat kidney. *Biochim Biophys Acta* 1056 : 71-75, 1991
 - 23) Kurup CK, Kumaroo KK, Dutka AJ. Influence of cerebral ischemia and post-ischemic reperfusion on mitochondrial oxidative phosphorylation. *J Bioenerg Biomembr* 22 : 61-80, 1990
 - 24) Malis CD, Bonventre JV. Susceptibility of mitochondrial membranes to calcium and reactive oxygen species : implications for ischemic and toxic tissue damage. *Prog Clin Biol Res* 282 : 235-259, 1988
 - 25) Solt D, Farber E. New principle for the analysis of chemical carcinogenesis. *Nature* 263 : 701-703, 1976
 - 26) Rao GN. Rodent diets for carcinogenesis studies. *J Nutr* 118 : 929-931, 1988
 - 27) American Institute of Nutrition. Report of the AIN

- Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 28) Johnson D, Lardy H. Isolation of liver or kidney mitochondria. In : R.W.Estabrook and M.E. Pullman, ed. *Methods in enzymology*, Vol 10, pp94-96, Academic Press, New York and London, 1967
- 29) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
- 30) Salè FD, Marchesini S, Fishman PH, Berra B. A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. *Anal Biochem* 142 : 347-350, 1984
- 31) Rouser G, Fleischer S, Yamamoto A. Two dimensional thin layer chromatographic separation of polar lipid and determination of phospholipids by phosphorus analysis of spots. *Lipid* 5 : 494-496, 1969
- 32) Patton GM, Fasulo JM, Robins SJ. Separation of phospholipids and individual molecular species of phospholipids by high-performance liquid chromatography. *J Lipid Res* 23 : 190-196, 1982
- 33) Metcalfe LD, Schmitz AA, Pelka JR. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* 38 : 514-515, 1966
- 34) Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72 : 248-254, 1976
- 35) Pfaff E, Klingenberg M. Adenine nucleotide translocation of mitochondria. 1. specificity and control. *Eur J Biochem* 6 : 66-79, 1968
- 36) Shargo E, Shug A, Elson CE, Spennentta T, Crosby C. Regulation of metabolite transport in rat and guinea pig liver mitochondria by long chain fatty acyl coenzyme A esters. *J Biol Chem* 249 : 5269-5274, 1974
- 37) Lowry OH. Micromethods for the assay of enzymes. In : S.P.Colowick and N.O.Kaplan, ed. *Methods in enzymology*, Vol 4, pp366-381, Academic Press, New York, 1957
- 38) Kawata S, Yakaishi K, Nagase T, Ito N, Matsuda Y, Tamura S, Matsuzawa Y, Tarui S. Increase in the active form of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in human hepatocellular carcinoma : Possible mechanism for alteration of cholesterol biosynthesis. *Cancer Res* 50 : 3270-3273, 1990
- 39) Nam YK, Kim JH. Effects of different dietary oils on serum and hepatic lipid metabolism in carcinogen treated rats. *Korean J Lipidology*(submitted)
- 40) Innis SM, Clandinin MT. Mitochondrial-membrane polar-head-group composition is influenced by diet fat. *Biochem J* 198 : 231-234, 1981
- 41) Kessler AR, Kessler B, Yehuda S. Changes in the cholesterol level, cholesterol to phospholipid mole ratio, and membrane lipid microviscosity in rat brain induced by age and a plant oil mixture. *Biochem Pharmacol* 10 : 308-313, 1975
- 42) Hargreaves KM, Pehowich DJ, Clandinin MT. Effect of dietary lipid composition on rat liver microsomal phosphatidylcholine synthesis. *J Nutr* 119 : 344-348, 1989
- 43) Elegbede JA, Elson CE, Qureshi A, Dennis WH, Yatvin MB. Increasing the thermosensitivity of a mammary tumor by dietary modification. *Eur J Cancer Clin Oncol* 22 : 607-615, 1986
- 44) Robblee NM, Clandinin MT. Effect of dietary fat level and polyunsaturated fatty acid content on the phospholipid composition of rat cardiac mitochondrial membranes and mitochondrial ATPase activity. *J Nutr* 114 : 263-269, 1984
- 45) Kim JH, Yoon HJ, Song JH, Kim KJ. Effects of different dietary oils on hepatic mitochondrial lipid composition and adenine nucleotide translocase activity in rat. *Korean J Nutr*(in press)
- 46) Zuniga ME, Lokesh BR, Kinsella JE. Effect of dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on composition and enzyme activities in liver plasma membrane of mice. *Nutr Res* 8 : 1051-1059, 1988
- 47) Sivarajah K, Anderson MW, Eling TE. Metabolism of benzo(a)pyrene to reactive intermediates via prostaglandin biosynthesis. *Life Sci* 23 : 2751-2758, 1978
- 48) Sul HS, Shrago E, Goldfarb S, Rose F. Comparison of the adenine nucleotide translocase in hepatomas and rat liver mitochondria. *Biochim Biophys*

식이지방과 암화과정에서의 미토콘드리아 막기능

Acta 551 : 148-156, 1979

- 49) Mak IT, Shrago E, Elson CE. Modification of liver mitochondrial lipids and of adenine nucleotide translocase and oxidative phosphorylation by cold adaptation. *Biochim Biophys Acta* 722 : 302-309, 1983
- 50) Swanljung P, Frigeri L, Ohlson K, Ernster L. Studies on the activation of purified mitochondrial ATPase by phospholipids. *Biochim Biophys Acta* 305 : 519-533, 1973
- 51) Berden JA, Voorn-Brouwer MM. Studies on the ATPase complex from beef-heart mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 501 : 424-439, 1978
- 52) Christon R, Fernandez Y, Cambon-Gros C, Periquet A, Deltour P, Leger CL, Mitjavila S. 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, 1988
- 53) Yamaoka S, Urade R, Kito M. Mitochondrial function in rats is affected by modification of membrane phospholipids with dietary sardine oil. *J Nutr* 118 : 290-296, 1988