

화학적 발암과정에서 식이의 $\omega 6/\omega 3$ 비율이 쥐간의 전암성병변 및 지질과산화물 형성에 미치는 영향

지선경^{1)*} · 최혜미

서울대학교 가정대학 식품영양학과, *기전여자전문대학 식품영양과
(1996. 8. 10 접수)

Dietary $\omega 6/\omega 3$ ratios on the preneoplastic lesions and lipid peroxidation in diethylnitrosamine initiated rat hepatocarcinogenesis

Sun Kyung Ji^{1)*}, Haymie Choi

Dept. of Food & Nutrition, Seoul National University

*Dept. of Food & Nutrition, Kijeon Women's Junior College

ABSTRACT : To study the effect of dietary $\omega 6/\omega 3$ fatty acid ratios on the preneoplastic lesions and lipid peroxidation in rat hepatocellular chemical carcinogenesis, placental glutathione S-transferase(GST-P) positive foci area and numbers, glucose 6-phosphatase(G6Pase) activity, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were measured. Male Sprague-Dawley rats were fed 5 different diets-low $\omega 6/\omega 3$ ratio with fish oil (Low-F), low $\omega 6/\omega 3$ ratio with perilla oil(Low-P), moderate ratio with perilla oil(Moderate), blend of 10 different commercial fats and oils(High-BL) and high $\omega 6/\omega 3$ ratio(High)-for 8 weeks. Hepatocarcinogenesis was induced by modified Ito model. The area of GST-P positive foci was the lowest in Moderate group and in ascending order of Low-F<Low-P<High-BL<High. But statistically, only Moderate and High groups were significantly different. The number of GST-P positive foci showed the same trend as foci area. The activities of G6Pase, membrane stability marker, were increased as $\omega 6/\omega 3$ ratio decreased. Lipid peroxidation values (TBARS) were the lowest in Low-F group and it is significantly different from Moderate, High-BL and High groups. When dietary $\omega 6/\omega 3$ ratio was moderate(4.06), hepatocarcinogenesis was suppressed compared with high or low $\omega 6/\omega 3$ ratios. Blend fat, commonly consumed among Koreans, did not show any suppressive effect on carcinogenesis because of high ratio(6.7). These results suggest that dietary $\omega 6/\omega 3$ ratio influences hepatocellular chemical carcinogenesis. It is recommended that appropriate $\omega 6/\omega 3$ ratio should be around 4.0. and we recommend to use more $\omega 3$ fatty acid in food preparation to reduce the risk of hepatocarcinogenesis.

Key Words : $\omega 6/\omega 3$ ratio, hepatocarcinogenesis, blend fat, lipid peroxidations, GST-P positive foci

서 론

현대인의 식생활이 점차 서구화되면서 식사중의 지질함량이 높아지고 있는 한편, 여러 역학조사와 동물실험을 통해 식

이지방과 암발생의 관련성에 대한 연구가 많이 이루어져 왔고, 식이지방의 섭취수준과 지방산 조성에 따라 암화과정에 미치는 영향이 다른 것으로 나타났다. 즉, 식이지방의 양이 증가할수록 암의 발생을 증가시키며(Cohen *et al.*, 1986; David,

¹⁾To whom all correspondences should be addressed.

1988), 지방산에 따라서는 포화지방산보다 불포화지방산이 암 발생을 더 촉진시킨다고 한다(Hillyard *et al.*, 1979; Hopkins *et al.*, 1981). 그리고, 단일 불포화지방산은 중성적 경향을, 고도 불포화지방산의 경우 $\omega 6$ 계 지방산은 암발생을 증가시키고, $\omega 3$ 계 지방산은 암발생을 오히려 억제하는 경향을 보인다고 보고되고 있어(Gabor *et al.*, 1986; Reddy *et al.*, 1988), 최근에는 지방의 양적인 측면과 함께 지방산의 종류 및 비율에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(L'Abbe *et al.*, 1991; Satio *et al.*, 1994). 특히 $\omega 3$, $\omega 6$ 계열의 지방산들은 세포막으로의 유입 과정과 세포내의 효소반응에서 경쟁관계에 있고, 이들 지방산으로부터 합성된 eicosanoids가 서로 상반된 특징을 가지므로 두 지방산의 균형된 섭취가 중요하다(Simopoulos *et al.*, 1991). 그러나, 뚜렷한 결핍한계를 정하기가 어려워 $\omega 3$ 지방산의 요구량이나 $\omega 6/\omega 3$ 지방산의 비율에 대한 권장량을 정하지 못하고 있는 실정이다.

한편 간의 지방의 합성과 대사가 일어나는 곳이며 발암물질을 비롯한 외부 약물의 활성화와 해독과정에 미치는 영향을 규명하기에 적합한 장기이다. Carroll(1970)등은 식이지방이 암의 촉진과정에 관여하며 개시과정과 진행과정까지 영향을 미친다고 하였다. 실제로 식이지방은 생체막의 지방산 조성을 변화시키는데, 간세포막은 식이지방에 대한 반응이 빠르고 식이지방에 의한 막성분의 변화는 막에 존재하는 효소들의 활성에 변화를 줌으로써 발암물질의 대사에 변화를 줄 수 있다(Stubbs *et al.*, 1984; Neelands *et al.*, 1983).

Glutathione-S-transferase(GST)의 산성 동종 효소인 태반형 GST(GST-P)는 Se-비의존성 peroxidase 활성을 지니 지질과산화물을 제거하는 역할을 하며, 쥐의 화학적 간세포암 유도과정에서 정상 간조직에서는 발현되지 않고 간세포암의 전암성 병소에서 현저히 높게 발현되는 것이 밝혀져 전암성 병소의 지표로서 유용하게 쓰이고 있다(Rushmore *et al.*, 1987).

또한 glucose-6-phosphatase(G6Pase)는 정상적인 간세포에 존재하다가 foci에서는 활성이 저하되는 것으로 나타나 간세포 암화과정 중 전암성 병변의 지표효소로 이용되고 있다(Farber, 1984).

한편 생체내에서 여러 반응의 중간물질로 생성된 radical은 불포화지방산과 반응하여 지질과산화물을 생성하며 정상 세포에서는 radical scavenger나 free radical 제거에 관여하는 효소들이 증가하여 세포를 보호한다(Freeman *et al.*, 1982). 그러나, 세포내외의 생물리적 환경이 변하여 세포의 항상성능력 범주를 벗어나면 불포화지방산이 많은 세포막 인지질이 공격을 받아 세포체에 과산화물이 축적되며, 이 과산화물이 세포막의 단백질을 공격할 뿐 아니라 DNA나 RNA 등을 공격하여 돌연변이 및 발암의 가능성을 부여하게 된다(Summerfield *et*

al., 1984).

한편 최근에는 $\omega 6/\omega 3$ 지방산의 비율을 조절하거나 권장하는데 있어 상용되는 여러 지방을 섞은 혼합지방(blend fat)을 이용하려는 시도가 있으며(Nestel *et al.*, 1992; 김채중, 1995), 우리나라의 경우 $\omega 6/\omega 3$ 지방산의 비율이 혈청지질 수준이나 PG생성에 미치는 영향(이준호, 1995), 위궤양모델에 미치는 영향(변기원, 1996) 등은 보고되었으나, 간암모델에서의 $\omega 6/\omega 3$ 비율의 영향에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

이에 본 연구에서는 식이지방의 $\omega 6/\omega 3$ 지방산의 비율을 달리했을 때 간의 전암성 병변에 미치는 영향의 차이를 알아보고자 전암성 병변의 지표인 GST-P, 소포체의 막안정도의 지표효소인 G6Pase, 지질과산화물 함량을 알아보기 위한 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)를 측정하고, 동물성 $\omega 3$ 지방산의 효과를 알아보기 위해 들깨유 대신 어유를 넣은 군과 상용 혼합지방(blend fat)의 영향을 알아보기 위해 High-BL군을 넣어 전체 5군으로 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물과 실험식이

80~100 g된 이유한 Sprague-Dawley종 숫쥐 50마리를 공급받아 사육실의 환경에 순응시킨후, 200 g정도의 무게가 되었을 때 5군으로 나누어 8주간 실험식으로 사육하였다. 이때, 온도, 습도, 채광은 각각 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $55 \pm 1\%$, 7:00~19:00로 조절하였으며, 사료와 물은 자유로이 섭취하도록 하고 체중은 1주일에 한 번씩 측정하였다.

실험식이의 조성은 Table 1, 각군에 들어간 지방의 함량 및 계산된 $\omega 6/\omega 3$, P/M/S 비율은 Table 2와 같다. 어유의 지방산 조성은 식품성분표(농촌진흥청, 1991), 그외의 모든 지방의 지방산 조성은 정은경 등(1993)의 자료를 기준으로 계산하였다. 본 실험에서 사용한 쇠기름, 콩기름, 옥수수유, 참기름, 들깨유, 어유, 코코넛유, 팜유, 쇼트닝, 마아가린은 여러 회사에서 one-batch type으로 기증을 받았다.

쥐간세포암 유도를 위하여 본 실험에서는 Ito 모델(Ito *et al.*, 1980)을 변형하여 사용하였다. 실험 시작일에 diethylnitrosamine(DEN)을 생리식염수에 녹여 몸무게 kg당 200 mg 수준으로 복강주사하고, 3주일 후 실험군 모두에게 70% 간부분절제수술(partial hepatectomy)을 시행하였다.

2. 시료의 수집 및 전처리

실험식이를 먹인후 8주째에 실험동물을 희생시키고 간을

Table 1. Composition of Experimental Diets

Component	g/100 g diet
Corn starch	54.7
Casein	20.0
α-cellulose	5.0
Vitamin mixture ¹	1.0
Salt mixture ²	4.0
DL-methionine	0.3
Fat	15.0
α-Tocopherol*	0~0.0045

¹Nutritional Biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland, Ohio. Vitamin mixture is composed of : Vit.A Acetate(500.000 IU/g) 1.8 g, Vit.D conc. (850,000 IU/g) 0.125 g, α-Tocopherol(250 IU/g) 22.0 g, Ascorbic acid 45.0 g, Inositol 5.9 g, Choline chloride 75.0 g, Menadione 2.25 g, p-Aminobenzoic acid 5.0 g, Niacin 4.25 g, Riboflavin 1.0 g, Pyridoxine hydrochloride 1.0 g, Calcium pantothenic acid 3.0 g, Biotin 0.02 g, Folic acid 0.09 g, Vitamin B₁₂ 0.00135 g, and Dextrose to 1 kg.

²Composition of salt mixture, g/kg mixture : CaHPO₄ 500 g, NaCl 74 g, K₂SO₄ 52 g, Potassium citrate monohydrate 220 g, MgO 240 g, Manganase Carbonate (43-48% Mn) 3.5 g, Ferric Citrate (16-17% Fe) 6.0 g, Zinc Carbonate 1.6 g, Cupric Carbonate (53-55% Cu) 0.3 g, KIO₃ 0.01 g, Chromium Potassium Sulfate 0.55 g, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.01 g, Sucrose, finely powdered 118.0 g.

*α-Tocopherol is added to each group in mg/g perilla or fish oil.

Table 2. Fat Contents of Experimental Dietary Groups

Group	Low-F	Low-P	Moderate	High-BL	High
Dietary fat(g)					
Beef tallow	5.25	6.00	6.00	2.0	6.75
Soybean oil	3.75	4.50	4.95	6.0	5.25
Corn oil	0.75	0.75	2.25	2.0	2.25
Sesame oil	0.75	0.75	0.75	0.5	0.75
Fish oil	4.50	-	-	0.2	-
Perilla oil	-	3.00	1.05	0.2	-
Other oils	-	-	-	4.1*	-
Total fat(g)	15	15	15	15	15
ω6/ω3 ratio	1.68	1.65	4.06	6.77	9.43
P/M/S ratio	0.97/ 1.22/1	1.50/ 1.26/1	1.34/ 1.31/1	1.27/ 1.12/1	1.11/ 1.27/1

Low-F : low ω6/ω3 ratio with fish oil

Low-P : low ω6/ω3 ratio with perilla oil

Moderate : moderate ω6/ω3 ratio with perilla oil

High-BL : blend fat group

High : high ω6/ω3 ratio

* Other oils in High-BL group are composed of coconut oil 0.5 g, margarine 0.2 g, palm oil 3.0 g, shortening 0.4 g.

Table 3. Fatty acid Composition of the Experimental Diets (% of total fatty acids)

Fatty acid	Low-F	Low-P	Moderate	High-BL	High
14:0	5.17	3.86	3.89	3.35	3.43
16:0	24.09	20.93	22.78	25.77	23.63
16:1(n-7)	3.79	2.01	2.01	0.68	2.26
18:0	7.55	7.09	7.03	6.80	8.70
18:1(n-9)	26.26	26.90	27.43	27.51	27.37
18:2(n-6)	20.66	23.77	28.17	29.48	29.83
18:3(n-3)	2.79	14.59	7.76	4.64	3.26
20:1	0.65	ND	ND	ND	ND
20:2(n-6)	0.31	0.30	ND	0.49	0.63
20:4(n-6)	0.68	0.31	0.20	0.32	0.29
20:5(n-3)	1.79	ND	0.15	0.16	0.12
24:1	0.19	0.24	0.57	0.81	0.47
22:6(n-3)	6.08	ND	ND	ND	ND
Σn-6	21.64	24.38	28.37	30.28	30.76
Σn-3	10.67	14.59	7.91	4.80	3.38
Σn-6/Σn-3*	2.03	1.67	3.59	6.31	9.11
ΣPUFA	32.31	38.97	36.28	35.09	34.13
ΣMUFA	30.89	29.15	30.01	28.99	30.10
ΣSFA	36.81	31.88	33.71	35.92	35.76
P/M/S	0.88/ 0.84/1	1.22/ 0.91/1	1.08/ 0.89/1	0.98/ 0.81/1	0.95/ 0.84/1

Low-F : low ω6/ω3 ratio with fish oil

Low-P : low ω6/ω3 ratio with perilla oil

Moderate : moderate ω6/ω3 ratio with perilla oil

High-BL : blend fat group

High : high ω6/ω3 ratio

ND : not detected

Calculated values for Low-F (1.68), Low-P (1.65), Moderate (4.06), High-BL (6.77), High (9.43)

적출하였다. 약 7g의 간을 ice-cold homogenizing media(154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA buffer, pH 7.4)를 이용하여 균질화시키고 4 °C, 10,000×g에서 20분간 원심분리하고, 이의 상층액을 다시 100,000×g에서 60분간 원심분리하여 cytosol과 microsome으로 분리하였다. microsome은 7 ml의 homogenizing media로 부유시켜 에펜도르프 튜브에 나누어 담아 액체질소에 얼려 -70 °C에 보관한 뒤 분석에 이용하였다. 간 중 두엽의 일정한 부분을 적당량 잘라 면역 조직화학적 검사를 위해 냉아세톤에 고정하였다.

3. 식이의 지방산조성 분석

각군의 식이를 일정량 취해 Bligh와 Dyer(1959)방법에 의하여 지질을 추출한 다음 screw-cap tube에 담아 methylation시켜 N₂가스로 소량으로 건조 농축시킨후 지방산 조성을 gas chromatograph(영인과학 M680D)로 측정하였다. 이때, 표준 지방

산 ester들의 retention time과 비교 측정하여 지방산을 분석하였고 각 지방산을 확인된 총지방산의 백분율로 표시하였다. 분석한 식이내의 지방산 함량을 Table 3에 나타내었다.

4. 면역 조직화학적 염색

간조직내의 GST-P 양성 증식성결절을 확인하기 위하여 면역 조직화학적 염색을 하였다(Osigo *et al.*, 1985). 냉아세톤에 고정된 시료를 xylene으로 투명화하고 paraffin으로 포배하여 3 μ m로 절편한후, 일반조직처리법대로 xylene에서 paraffin을 녹여내고 alcohol 탈수과정을 거친후, moisture chamber내에서 정상 산양 혈청으로 처리하였다. 과잉의 수분을 제거한 후 1차 항체인 rabbit-anti-GST-P antibody를 bovine serum albumin(BSA)이 0.1% 첨가된 0.01% phosphate buffered saline (PBS)에 1:6000배 희석하여 사용하였고, 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG와 avidin biotin peroxidase complex(Vectastain Elite ABC kit, sigma)순으로 moisture chamber에서 반응시켰다. 0.02% 3'-Me-DAB (0.02M Tris buffer, pH 7.6)에 정색 반응을 일으키고, hematoxylin으로 대조염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다. GST-P 양성 증식성 결절의 수와 면적은 칼라 화상분석기(Cambridge Instruments, Quantinet 520)를 이용하여 측정하였다.

5. Microsome의 막안정도와 지질과산화물 측정

Microsome에서 막안정도의 지표인 glucose-6-phosphatase (G6Pase) 활성도를 Babinski 등(1983)의 방법을 이용하여 측정하였다. Phosphate용액을 표준물질로 calibration하고 이에 비례하여 계산하였으며, 효소활성도는 단백질 1 mg당 유리되는 무기인의 nmole 수로 표시하였다.

Microsome의 지질과산화물은 thiobarbituric acid를 반응시켜 535 nm에서 흡광도를 측정하여 malondialdehyde(MDA)의 분자흡광계수($E=1.56 \times 10^5 \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)을 이용하여 양을 계산하였다(John *et al.*, 1978).

6. 단백질함량 측정

Bovine serum albumin을 표준용액으로 사용하여 Lowry 등(1951)의 방법으로 측정하였다.

7. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준오

차를 계산하였고, $p < 0.05$ 수준에서 ANOVA test후 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 검증하였다. 각 지표간의 상관계수는 Pearson's correlation을 이용하여 알아보았다.

결과 및 토의

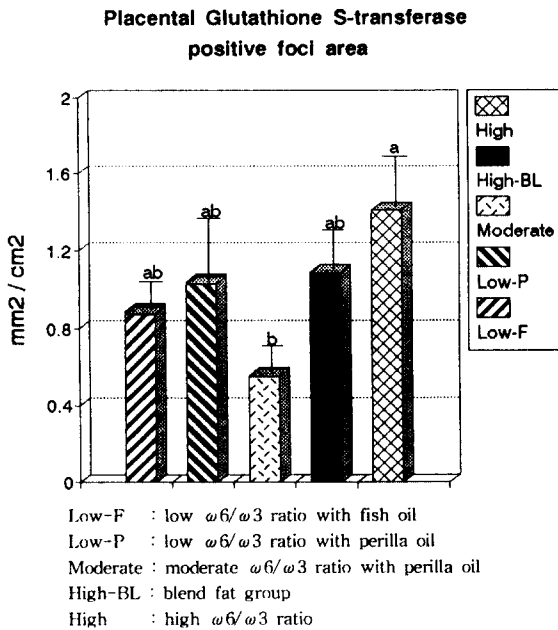
1. 식이의 지방산 조성분석

식이의 지방산을 GC를 이용하여 분석한 결과는 Table 3과 같으며, $\omega 6/\omega 3$ 의 비율은 Low-P, High-BL, High군에서는 계산값과 비슷하였으나 Low-F군과 Moderate군에서는 다소 높거나 낮았고 P/M/S비율은 전반적으로 계산값보다 실측치가 낮았다. 이는 국내에 보고된 식품의 지방산 함량이 문헌마다 다소 다르게 나와 있어 어느 문헌을 참고했는가에 따른 차이일 수도 있겠고, 실험에 사용한 기름이 어느 회사 제품인가에 따른 차이 등이 원인이라고 생각된다.

2. 면역 조직화학적검사

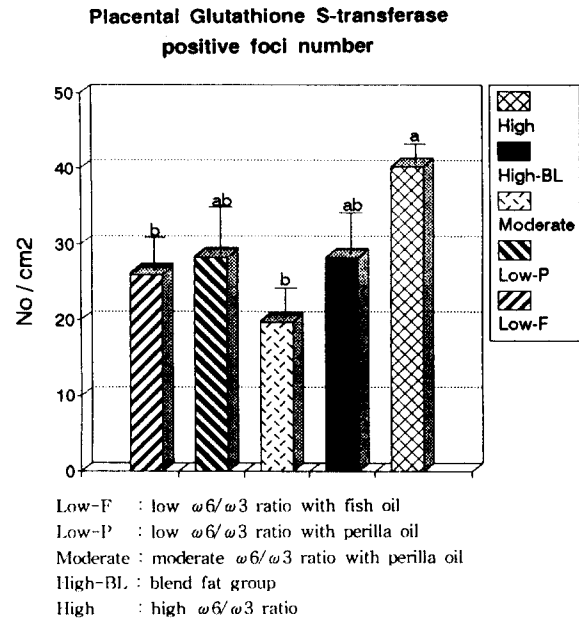
쥐의 태반에서 처음 분리되어 태반형 GST(GST-P)로 명명된 산성 GST는 쥐의 정상 간조직에서는 발현되지 않고, 간세포 암화과정 중 전암성 병변에서 현저히 발현되어 간세포암화과정의 지표로 이용되고 있다(Sato, 1988). 증식성결절의 특징은 cytochrome P-450과 같은 phase I 단계에 관계하는 효소계의 발현은 감소되며 phase II 단계에 관계하는 효소들, epoxide, hydrolase, glutathione S-transferase, glucuronyltransferase의 발현은 증가하고(Farber, 1980; Williams, 1980) GST-P의 발현은 발암물질, 항암제와 같은 약물의 유입에 저항성을 갖게한다고 알려져 있다(Chen *et al.*, 1991).

본 실험에서 면역조직화학적 검사로 GST-P양성 증식성 결절을 살펴본 결과, 실험군 모두에 DEN과 간 부분절제술을 시행하였기에 GST-P양성 증식성 결절이 모두 관찰되었다. 적색으로 염색되는 GST-P 양성 증식성 결절의 면적은(Fig. 1) $\omega 6/\omega 3$ 지방산의 비율이 Moderate인 군에서 가장 적었고, Low-F군, Low-P군, High-BL군, High군 순으로 많아졌다. 여기서 가장 적었던 Moderate군과 가장 많았던 High군 사이에는 $P < 0.05$ 수준에서 유의차를 보여 $\omega 6/\omega 3$ 비율에 따라 전암성 병변의 형성에 차이가 있으며, $\omega 6/\omega 3$ 비율이 높을수록 전암성병변의 형성을 촉진한다고 생각할 수 있다. 그러나, $\omega 6/\omega 3$ 지방산 비율이 낮은 Low-F나 Low-P군이 Moderate군보다 값이 높았으므로 $\omega 6/\omega 3$ 지방산 비율이 너무 낮은 것보다는 4 근처인 중간 정도가 가장 적당하다고 생각되어지며, 이는 동맥경화성 질환의 예방에 이상적인 $\omega 6/\omega 3$ 비율을 3.8로 제한한 이준호 등



Values are Mean \pm S.E.
Means not sharing a same letter are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Fig. 1. Effect of $\omega 6 / \omega 3$ ratio on the area of placental glutathione S-transferase positive foci in DEN treated and partial hepatectomized rats.



Values are Mean \pm S.E.
Means not sharing a same letter are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Fig. 2. Effect of $\omega 6 / \omega 3$ ratio on the number of placental glutathione S-transferase positive foci in DEN treated and partial hepatectomized rats.

(1995)의 결과와 비교해 볼 때 거의 같은 수치이다.

한편 동물성 $\omega 3$ 지방산의 영향을 보기 위해 Low군에서 $\omega 3$ 의 급원으로 어유와 들깨유를 각각 사용한 Low-F와 Low-P 군간을 비교해 보면, 유의적이지는 않지만 어유 첨가군이 들깨유 첨가군보다 GST-P foci면적이 적어 같은 $\omega 3$ 지방산이라도 어유가 들깨유보다 전암성 병변의 억제에 더 효과적이라는 보고들(Choi *et al.*, 1996; 김경민, 1994)과 일치하고 있다.

그리고, foci의 수(Fig. 2)에 있어서는 High군이 Low-F나 Moderate군 보다 유의적으로 많았으며 역시 Moderate군이 가장 숫자가 적었고, 들깨유 첨가군보다는 어유 첨가군이 더 적은 경향이어서 foci면적의 결과와 같았다.

본 실험에 첨가된 High-BL군은 1992년도 국민영양조사 결과보고서에 기초하여 한국인이 섭취하는 식사구성에서 식품에 함유된 지방을 모두 더해 지방의 종류와 함량을 산출한 후 기름의 상대적 비율로 섞은 김채종(1995)의 조성을 참고하여 만든 것으로 $\omega 6 / \omega 3$ 비율은 6.77이었는데, 이 값은 오경원(1991)등이 대학생의 지방산 섭취량을 조사한 보고에서의 $\omega 6 / \omega 3$ 비율은 8.33, 일본인은 3.85인 것을 생각해볼 때 우리나라의 $\omega 6 / \omega 3$ 지방산 섭취 비율은 서구 식사형태처럼 높은 편이

고, GST-P foci결과도 $\omega 6 / \omega 3$ 비율이 적당한 Moderate군보다 High-BL군이 더 나쁘게 나왔으므로, 전반적으로 우리나라의 식생활에서 실제 섭취하고 있는 High-BL군의 지방산 조성보다는 $\omega 3$ 의 양을 좀 더 늘리는 것이 좋으리라 생각된다.

3. Microsome의 막안정도와 지질과산화물 측정

소포체막의 고도 불포화지방산은 지질과산화 반응의 기질이 되며 지질과산화반응은 발암원 자체 혹은 발암원을 대사시키는 과정에 관여하는 효소에 의해 일어날 수 있다(Kawase *et al.*, 1989). 지질과산화물은 membrane integrity를 저하시켜 막부착효소인 G6Pase에 영향을 주고, 간세포 손상을 유발하여 암화 촉진과정에도 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(Slaga *et al.*, 1981; Bull *et al.*, 1979). G6Pase는 주로 간과 신장에 존재하는 막부착효소로 탄수화물대사에 관여하며 과산화 반응 등에 의해 세포가 손상되었거나 종양생성시 활성도가 감소한다고(Hans *et al.*, 1991) 알려져 있어 전암성병변으로의 전환을 의미하는 지표로 사용된다. 본 실험에서 G6Pase 활성도를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 즉, $\omega 6 / \omega 3$ 비율이 높아질수록 G6Pase의 활성도가 떨어져 $\omega 6 / \omega 3$ 비율이 높아지면서 세포막의

Table 4. Effect of $\omega 6/\omega 3$ ratio on the Hepatic Microsomal Lipid Peroxide Values and Glucose 6-phosphatase Activity

	TBARS (nmoles/mg protein)	Glucose 6-phosphatase (nmoles Pi liberated/ min/mg protein)
Low-F	0.18±0.01 ^b	772.81±26.22 ^a
Low-P	0.22±0.03 ^{ab}	734.58±20.44 ^{ab}
Moderate	0.25±0.01 ^a	696.80±34.78 ^{abc}
High-BL	0.23±0.01 ^a	674.72±28.75 ^{bc}
High	0.24±0.01 ^a	637.46±25.11 ^c

Low-F : low $\omega 6/\omega 3$ ratio with fish oil

Low-P : low $\omega 6/\omega 3$ ratio with perilla oil

Moderate : moderate $\omega 6/\omega 3$ ratio with perilla oil

High-BL : blend fat group

High : high $\omega 6/\omega 3$ ratio

Values are Mean ± S.E.

Means not sharing a same letter are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

안정도가 떨어짐을 알 수 있었고, High-BL군이나 High군보다는 Low군 및 Moderate군에서 유의적으로 G6Pase 활성도가 높았으므로 소포체막의 안정도면에서 볼 때 $\omega 6/\omega 3$ 비율이 High-BL군 수준인 6.7보다는 낮아야 하겠고, 4이하이면 더 좋으리라고 생각할 수 있다.

한편 막 지질과산화정도를 보기 위하여 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 즉, $\omega 6/\omega 3$ 비율이 낮은 Low-F군에서 지질과산화물 생성이 가장 적었고, 나머지 네 군은 비슷한 값을 보였는데 $\omega 6/\omega 3$ 비율이 낮은 Low-F, Low-P군과 다른 세 군 사이에는 유의차가 있었다. 보통 지질과산화물의 함량은 G6Pase 활성도와 역의 상관관계를 보이는데, 본 실험의 경우에는 역의 관계는 있으나 유의적이지는 않았다. 한편 지질과산화물의 생성에 있어 단독지방을 사용한 경우 $\omega 6$ 지방산 보다 $\omega 3$ 지방산에서 더 적게 생성되거나(곽충실, 1992), 그 반대의 경우(김숙희, 1996)가 있어 상반된 결과들이 보고되나, 본 실험결과 $\omega 6/\omega 3$ 비율이 낮은 것이 지질과산화물생성 억제에 도움이 되는 것으로 보이며, Bourdreau(1991) 등의 보고처럼 식이 중 $\omega 3$ 지방산의 절대 함량보다는 $\omega 6/\omega 3$ 비율이 더 중요함을 시사해 준다고 하겠다.

결국 이상의 결과를 종합해 볼 때 지질과산화물이나 G6Pase활성도에서는 $\omega 6/\omega 3$ 비율이 가장 낮은 군 특히 어유군이 효과적이었으나, 고도 불포화지방산의 함량이 높은 경우 장기섭취시 지질과산화물생성을 억제시키기 위한 vit E 등의 항산화제 첨가가 고려되어야 하며, 간의 전암성 병변을 감소시키는 효과에서는 $\omega 6/\omega 3$ 의 비율이 moderate일때 더 효과적이었고, 현재 우리나라의 지방섭취 실태조사를 통해 계산된 $\omega 6/$

$\omega 3$ 비율이 6.7로 높은 편이었음을 고려할 때 전암성 병변을 줄이기 위한 $\omega 6/\omega 3$ 지방산의 비율은 moderate인 약 4 근처가 적당하다고 생각된다.

감사의 글

본 연구는 1993년 한국 학술진흥재단의 공모과제 연구비 지원으로 수행되었기에 감사드립니다. 또한 여러 종류의 기름을 제공해 주신 롯데삼강, 미원, 동원회사에 감사드리며, GST-P 염색을 위해 힘써주신 서울대 수의과대학 이영순 교수님께 감사드립니다.

참고문헌

- 곽충실, 최혜미 (1992); 들기름, 옥수수기름의 섭취와 2-acetylaminofluorene의 투여가 지질과산화물 및 prostaglandin B₂ 생성에 미치는 영향. 한국영양학회지. 25(5): 351-359.
- '92 국민영양조사 결과보고서 (1994). 보건사회부. 109-144.
- 김경민 (1994); 화학적 발암과정에서 n-3, n-6지방산의 섭취가 쥐 간세포의 조직학적 변화와 항산화효소계에 미치는 영향. 서울대학교 대학원 이학박사학위논문.
- 김숙희 (1996); 비타민 E가 화학적 발암원으로 유도한 쥐간의 암화과정에 미치는 영향. 서울대학교 대학원 이학박사학위논문.
- 김채중 (1995); Dimethylhydrazine로 처리한 쥐에서 식이지방과 칼슘수준이 대장암화과정의 biomarker에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 이학박사학위논문.
- 변기원 (1996); 위궤양모델흰쥐에 있어서 Linoleic Acid함량과 $\omega 6/\omega 3$ 비율이 궤양의 발병과 회복에 미치는 영향. 서울대학교 대학원 이학박사학위논문.
- 식품성분표 (1991). 농촌진흥청 농촌영양개선연수원. 256-263.
- 오경원, 박계숙, 김택재, 이양자 (1991); 일부대학생의 지방산 섭취량과 섭취지방산의 $\omega 3$, $\omega 6$ 계 지방산 및 P/M/S 비율에 관한 연구. 한국영양학회지 24(5): 399-407.
- 이준호, 김지인 (1995); 식이 다가 불포화 지방산의 n-6/n-3 비율에 의한 흰쥐의 지질수준 및 Prostaglandin생성에 대한 연령별 비교. 한국영양학회지 28(2): 95-106.
- 정은경, 백희영 (1993); 한국인 주요 지방급원 식품의 지방산 함량. 한국영양학회지 26(3): 254-267.
- Baginski, E.S., Foa, P.P. and Zak, B. (1983); Glucose 6-Phosphatase. In : Method of enzymatic analysis. Vol. 2 Ed Bergmeyer, 876-880.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959); A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.
- Bourdreau, M.D., Chanmugam, P.S., Hart, S.B., Lee, S.H. and Hwang, D.H. (1991); Lack of dose response by dietary

- n-3 fatty acids in suppressing eicosanoid biosynthesis from arachidonic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* **54**: 111-117.
- Bull, A.W., Soullier, B.K., Wilson P.S., Hayden M.T. and Nigro, N.D. (1979); Promotion of azoxymethane-induced intestinal cancer by high-fat diet in rats. *Cancer res.* **39**: 4956-4959.
- Carroll, K.K. and Khor, H.T. (1970); Effect of dietary fat and dose level of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene on mammary tumor incidence in rats. *Cancer Res.* **30**: 2260-2264.
- Chen, Z.Y. and Eaton, D.L. (1991); Differential regulation of cytochrome P-450 2B1/2 by phenobarbital in hepatic hyperplastic nodules induced by aflatoxin B1 or diethylnitrosamine plus 2-acetylaminofluorene in male F344 rats. *Toxicol applied Pharmacology* **111**: 132-144
- Choi, H., Woo, J.S., and Kim, K.T. (1996); Effect of ω -3 Fatty Acid on the Preneoplastic Lesions and Microsomal Drug Metabolizing Enzyme Activities in Hepatocellular Chemical Carcinogenesis. Proceedings of the Int'l Symposium on Natural Antioxidant: Molecular Mechanism & Health Effects. AOCs Press. 633-643.
- Cohen, L.A., Thompson, D.O., Maura, Y., Cho, K., Blank, M.E., and Rose, D.P. (1986); Dietary fat and mammary cancer. I. Promoting effects of different dietary fats on N-nitrosomethylurea-induced rat mammary tumorigenesis. *J. Natl. Cancer Inst.* **77**: 33-42.
- David Kritchevsky (1988); Dietary effects in experimental carcinogenesis: *Animal Models. Comp. Anim. Nutr.* **6**: 174-185.
- Farber, E. (1980); The sequential analysis liver cancer induction. *Biochim. Biophys. Acta.* **605**: 149-166.
- Farber, E. (1984); The multistep nature of cancer development. *cancer Res.* **44**: 4217-4223
- Freeman, B.A. and J.D. Crapo, (1982); Biology of disease, free radicals and tissue injury, *lab. Invest.* **47**: 412-426
- Gabor, H., Abraham, S. (1986); Effect of dietary manhaden oil on tumor cell loss and the accumulation of mass of a transplantable mammary adenocarcinoma in BALB/C mice. *J. Natl. Cancer Inst.* **76**: 1223-1229.
- Hans, J.H, Musse, M., Peter, B. and Stan, D.V. (1991); Histochemical profile of mouse hepatocellular adenoma and carcinoma induced by a single dose of diethylnitrosamine. *Cancer Res.* **51**: 1952-1958.
- Hillyard, L.A., Abraham, S. (1979); Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on growth of mammary adenocarcinomas in mice and rats. *Cancer Res.* **39**: 4430-4437.
- Hopkin, G.J., Kennedy, T.G. and Carroll, K.K. (1981); Polyunsaturated fatty acids as promoters of mammary carcinogenesis induced in Sprague-Dawley rats by 7,12-dimethyl-benz(a)anthracene. *J. Natl. Cancer Inst.* **66**: 517-522.
- Ito, N., Tatematsu, M., Imaida, K., Hasegawa, R. and Murasaki, G. (1980); Effects of various promoters on the induction of hyperplastic nodules in rat liver. *Gann* **71**: 415-416
- John, A.B. and Steven, D.A. (1978); Microsomal lipid peroxidation. *Method in enzymology.* **52**:302-310.
- Kawase, T., Kato, S. and Lieber, G.S. (1989); Lipid peroxidation and antioxidant defense system on rat liver after chronic ethanol feeding. *Hepatology* **10**: 815-821.
- L'Abbe, M.R., Trick, K.D., Beare-Rogers, J.L. (1991); Dietary n-3 fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J. Nutr.* **121**: 1331-1340.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951); Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Neelands, P.J. and Clandinin, M.T. (1983); Diet fat influence liver plasmamembrane lipid composition and glucagon-stimulated adenylate cyclase activity. *Biochem. J.* **212**: 573-583.
- Nestel, P.J., Noakes, M., Belling, G.B., McArthur, R., Clifton, P.M. and Abbey, M. (1992); Plasma cholesterol-lowering potential of edible-oil blends suitable for commercial use. *Am. J. Clin. Nutr.* **55**: 46-50.
- Osigo, T., Tatematsu, M., Tamano, S., Tsuda, H. and Ito, N. (1985); Comparative effects of carcinogenesis on the induction of placental glutathione S-transferase positive liver nodules in a short-term assay and of hepatocellular carcinogenesis in a long-term assay. *Toxicol Pathol* **13**: 257-265
- Reddy, B.S., Sugie, S. (1988); Effects of different level of omega-3 and omega-6 fatty acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in f344 rats. *Cancer Res.* **48**: 6642-6647.
- Rushmore, T.H., Farber, E. (1987); Identification of a characteristic cytosolic polypeptide of rat preneoplastic hepatocyte nodules as placental glutathione S-transferase. *BBRC.* **143**: 98-103.
- Saito, M. and Yamaguchi, M. (1994); Liver microsomal mixed-function oxidases in response to polyunsaturated/saturated and n-6/n-3 fatty acid ratios of dietary lipids in rats. *Ann. Nutr. metab.* **38**: 28-39.
- Sato, K. (1988); Glutathione S-transferase and hepatocarcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res.* **79**: 556-572.
- Simpoulos, A.P. (1991); Omega-3-fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.* **54**: 438-463.
- Slaga, T.J., Klein-Szanto, A.J.P., Triplett, L.L., Yotti, L.P. and Troko, J.E. (1981); Skin tumor-promoting activity of benzoyl peroxide, a widely used free radical-generating compound. *Science* **213**: 1023-1025.
- Stubbs, C. and Smith, A.D. (1984); The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid com-

- position in relation to membrane fluidity and function. *BBA* **779**: 89-137.
- 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**(3): 408-416.
- Williams, G.M. (1980); The pathogenesis of rat liver cancer caused by chemical carcinogen. *Biochim. Biophys. Acta.* **605**: 167-189.