

쥐간세포암화과정에서 옥수수기름과 참치기름의 수준에 따른 전암성 병변의 변화

김숙희*[§] · 강상경** · 최혜미**

해전대학 호텔조리계열,* 서울대학교 생활과학대학 식품영양학과**

Effects of Dietary Levels of Corn and Tuna Oils on the Formation of Preneoplastic Lesions in Rat Hepatocellular Carcinogenesis

Kim, Sookhee*[§] · Kang, Sangkyoung** · Choi, Haymie**

Division of Hotel Culinary Arts,* Hyejeon College, Hongseung 350-702, Korea

Department of Food and Nutrition,** College of Human Ecology, Seoul National University, Seoul, 151-742 Korea

ABSTRACT

This study is conducted to determine the effects of dietary levels of corn and tuna oils on the formation of preneoplastic lesions in die-thylnitrosamine (DEN) induced rat hepatocarcinogenesis. Weanling male Sprague-Dawley rats were fed 2.5, 5, 15, 25% (w/w) corn or tuna oils. Hepatocellular carcinogenesis was induced by DEN (200 mg/kg body weight) and two-thirds partial hepatectomy was carried out 3 weeks later and were sacrificed 8 weeks after DEN initiation. Tuna oil group showed smaller area of placental glutathione S-transferase (GST-P) positive foci than corn oil group. Corn oil group of 25% (w/w) showed the widest area of GST-P positive foci, and tuna oil group showed significantly smaller area of GST-P positive foci than corn oil in 25% (w/w) level but had no differences between oil levels. Thio-barbituric acid reactive substances (TBARS) content was the highest in 25% (w/w) level of tuna oil group fed long chain and highly polyunsaturated fatty acids. Also serum γ -glutamyltranspeptidase (GGT) activities in 25% level of tuna oil group were significantly higher than by other levels. As oil contents increased, glucose 6-phosphatase (G6Pase) seems to decrease in corn oil groups but remained the same in tuna oil groups. Glutathione reductase (GR) activities were significantly higher in tuna oil group, and the higher the level of tuna oil, the higher GR activities. But Cu/Zn superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) activities didn't seem to be influenced by levels and kind of dietary fats. Therefore, as oil levels increased, corn oil rich in n-6 fatty acids promoted carcinogenesis but tuna oil rich in eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) of n-3 fatty acids suppressed. Although lipid peroxidation products were elevated in 25% (w/w) tuna oil group, GST-P positive foci didn't increase. Therefore preneoplastic lesions might be reduced through mediation of a lipid peroxidation process in tuna oil. As fat contents of tuna oil increased, elevated GR activities may give a rise to produce more reduced glutathione in order to protect against free radical attack, and high G6Pase activities remained the same and they contributed to membrane stability. So tuna oil diet seems to protect hepatocarcinogenesis. (*Korean J Nutrition* 38(1) : 20~29, 2005)

KEY WORDS : corn oil, tuna oil, hepatocarcinogenesis, GST-P positive foci.

서론

식이 지방은 역학 조사와 동물실험 모두에서 암 발생에 있어 영향력을 갖는다. 역학 조사의 많은 연구에서 식이지

방양 증가는 유방암, 대장암, 직장암, 전립선암, 난소암 발생 증가와 상관관계를 갖는 것으로 알려지고 있다.^{1,2)} 동물 실험에서도 식이지방양의 증가가 화학적으로 유도한 대장, 피부, 췌장 등의 암화과정을 촉진시켰다고 보고 하였고,^{1,3)} 많은 양의 불포화지방산 섭취가 포화지방산에 비해 암 발생을 촉진시킨다고 알려져 있다.⁵⁾ 역학조사 결과, EPA와 DHA가 풍부한 어유를 먹는 Greenland나 알래스카에 살고 있는 에스키모인들에게 암 발생 빈도가 낮게 나타났다.⁶⁾

접수일 : 2004년 11월 17일

채택일 : 2005년 1월 19일

[§]To whom correspondence should be addressed.

n-3계 지방산과 n-6계 지방산들은 체내에서 더 긴 탄소 사슬의 지방산으로 전환되면서 서로 상호 전환되지 않고 같은 효소에 대해 서로 경쟁적으로 desaturation, elongation 과정을 가지며, eicosanoids로 전환된다. 따라서 이 두 계열의 지방산은 eicosanoids 생합성에 영향을 줄 수 있고, cyclooxygenase와 lipoxygenase 합성 경로를 통한 대사 산물 (prostaglandins)의 흐름에 영향을 미치며 tumor biology에도 영향을 줄 수 있다. Eicosanoids 중 prostaglandin은 면역조절자 (immunomodulator)로서 역할을 하는데 n-6계 지방산과 n-3계 지방산의 비율은 직접적인 eicosanoids의 신호 체계를 통해서 면역 감응성에 영향을 미치게 한다. 그리고 그 비율은 eicosanoids의 형태 뿐 아니라 기능도 바꾸어 유전자 발현과 세포 기능에 특이적 변형을 유도하며, 암화과정에 관여할 수도 있을 것으로 생각된다. 또한 그 비율은 막 지방산 조성을 변형시킴으로써 막 활성 전위에 영향을 끼칠 수 있다.⁷⁾ 동물실험 결과 n-6계의 불포화지방산 중에서 linoleic acid는 암 발생을 촉진하며, 식이 지방 중의 linoleic acid양이 증가할수록 암 발생률이 증가하였다고 보고되었다.^{8,9)} 그러나, 관상 심장계질환, 혈전증, 동맥경화를 예방하는 효과가 크다고 알려진 n-3계의 불포화지방산은 n-6계의 불포화지방산에 비하여 대장암세포 증식을 억제하는 효과를 보였고,^{10,11)} 간암세포 증식도 억제하였다.¹²⁾ 또한, n-6/n-3 지방산 비율이 9.43보다 4.0이하일 때 간세포암화과정을 효과적으로 억제하였다고 보고된 바 있다.¹³⁾ 전암성 병변의 면적과 수는 n-3계 불포화지방산 중 linolenic acid가 많은 들기름을 첨가한 식이보다 길이가 더 긴 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA)가 많은 어유를 첨가한 식이를 섭취시켰을 때 더 감소하였다.¹⁴⁾ 여러 보고들에도 불구하고 n-6계와 n-3계 지방급원의 다른 식이수준이 간세포암화과정에 미치는 영향을 살펴본 연구는 아직 없기에 본 연구에서는 이를 살펴보고자 하였다. 이를 위해 Sprague-Dawley 중 숫쥐에게 옥수수기름 (n-6계 지방산급원), 참치기름 (n-3계 지방산급원)을 각각 식이수준 2.5, 5, 15, 25% (w/w)으로 섭취시키고, diethylnitrosamine (DEN) 복강주사와 성장 촉진 자극인 70% 간 부분절제수술 (partial hepatectomy, PH)을 시행하여 간세포암을 유도하였다. 이를 통해 식이지방양과 n-3, n-6계 식이 지방산이 화학적 발암과정에서 지질과산화물 생성 정도, GST-P 양성 증식성 결절, 막 안정도, γ -glutamyltranspeptidase, glutathione-의존성 방어 효소 체계와 superoxide dismutase (SOD) 활성도의 변화에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

이유한 Sprague-Dawley중 숫쥐 60~80 g된 것을 서울대학교 실험 동물 사육장에서 공급받아 7~8마리씩 8군으로 나누어 두개의 기름군에 대해 각각 네 가지 식이지방수준을 달리한 실험식으로 8주간 사육하였다. 이때 온도, 습도, 채광은 각각 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $55 \pm 1\%$, 7:00~19:00으로 조절하였으며, 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하고 쥐의 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다.

2. 실험식 및 저지

실험 식이의 지방수준은 식이의 2.5, 5, 15, 25% (w/w)로 지방식을 공급하고, n-6계 불포화지방산의 급원으로는 옥수수 기름, n-3계 불포화지방산의 급원으로는 참치기름을 넣은 실험 식이를 만들어 질소 가스로 충전시켜 냉동고에 보관하였다가 2일에 한번씩 식이와 물을 공급하였다. 실험식이 (Table 1)를 만들 때 참치기름의 자동 산화를 막기 위하여 PI index (Witting, 1974)를 기준으로 하여 옥수수 기름과 같은 수준 정도의 tocopherol양인 1 ml당 1 mg의 α -tocopherol를 첨가하였다. 옥수수 기름과 참치기름은 하인즈에서 one-batch type을 받았으며 참치기름은 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid

Table 1. Composition of experimental diets (g/100 g diet)

Component	Group			
	2.5% diet	5% diet	15% diet	25% diet
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0
α -cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0
Salt mixture ¹⁾	4.0	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0	1.0	1.0
DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Fat ³⁾	2.5	5.0	15.0	25.0
Corn starch	67.2	64.7	54.7	44.7
α -tocopherol ⁴⁾	0.0025	0.005	0.015	0.025

¹⁾ Composition of salt mixture, g/kg mixture: CaHPO₄ 500 g, NaCl 74 g, K₂SO₄ 52 g, potassium citrate monohydrate 220 g, MgO 24 g, manganese carbonate (45 - 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 118.00 g

²⁾ Nutritional 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 3.0g, biotin 0.02 g, folic acid 0.09 g, vitamin b12 0.00135 g, and dextrose to 1 kg

³⁾ Dietary fats were divided into corn oil and tuna oil

⁴⁾ α -tocopherol was added to tuna oil group

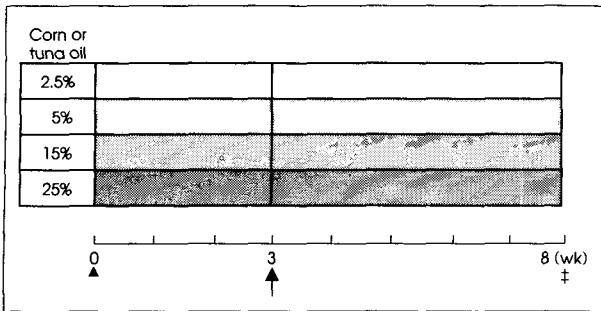


Fig. 1. Experimental design. ▲ 200 mg diethylnitrosamine (DEN) in 2.0 ml saline/kg body weight intraperitoneal injection, ↑ 70% partial hepatectomy, † sacrifice.

(DHA)의 농도가 40%이상인 농축 기름을 사용하였다. Casein, α -cellulose, DL-methionine과 α -tocopherol은 Sigma제품을, vitamin mixture는 ICN제품을 사용하였고 참치기름은 받는 즉시 1,000 ml들이 플라스틱 병에 나누어 넣고 질소 가스로 충전시킨 후 밀봉하고, 냉동하여 사용하였다. 모든 쥐들은 기본 사료로 사육하여 230 g 정도의 무게가 되면 각 집단을 식이군에 따라 식이 지방 공급 수준에 따른 처치군으로 나누어 전체에게 diethylnitrosamine (DEN)을 생리 식염수에 녹여 몸무게 (kg) 당 200 mg 수준으로 1회 복강 주사하고 DEN 투여 3주째 ketamine hydrochloride로 마취시키고 중앙엽과 좌측엽을 절제하는 70% 간 부분절제술 (partial hepatectomy)을 시행하였다.¹⁵⁾ DEN 투여 후 실험시기를 8주간 더 먹인 후 희생시켰다 (Fig. 1).

3. 시료의 수집 및 전처리

실험 동물을 희생시킨 후 간을 절제하여 즉시 차가운 식염수로 세척한 다음 여과지에 놓아 물을 흡수시켜 간 전체 무게를 재고 약 5g의 간을 떼내어 잘게 다졌다. 그 다음 얼음처럼 차가운 균질용 용액 (154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA buffer, pH 7.4) 약 25 ml에 넣고 얼음에 꽃아 4°C에서 균질화한 후 고속 원심분리기에서 4°C, 1,000 × g의 조건하에 10분간 원심 분리하였다. 다음 윗부분의 세포 조각들과 지방층이 섞이지 않도록 조심스럽게 중간층을 뽑아내어 4°C, 10,000 × g의 조건 하에서 20분간 원심 분리하였다. 아래층 (mitochondria, lysosome과 peroxisome층)은 따로 부유하여 -70°C에 보관하였고, 위층은 실험에 사용하기 위해 약간 따로 보관하였다. 이어 위층을 다시 초고속 원심분리기에서 4°C, 100,000 × g의 조건하에 1시간 동안 원심 분리하여 세포질 분획 (상층액)과 소포체 분획 (아래 깔린 부분, 즉 pellet)으로 분리했다. 소포체 분획은 균질용 용액으로 부유시켜 몇 개의 에펜도르프 튜브에 나누어 -70°C에서 냉동 보관하였다가 분석에 사용

했다. 간 중 일부는 적당한 크기로 잘라 면역 조직화학적 검사와 조직학적 검사를 위해 냉아세톤과 10% phosphate buffered formalin용액에 고정시켰다.

4. 면역 조직화학적 염색 및 광학 현미경적 관찰

냉아세톤으로 고정시킨 간 조직의 GST-P 양성 증식성 결절을 확인하기 위해 avidin biotin peroxidase complex (ABC)법을 이용하여 면역 조직화학적 염색을 하였다.¹⁶⁾ GST-P 양성 증식성 결절의 수와 면적은 칼라 화상분석기 (Cambridge Instruments, Quantinet 520)를 이용하여 측정하였다. 10% phosphate buffered formalin 액에 고정된 간은 H & E 염색에 사용하였다.

5. 생화학적 검사

소포체분획에서 지질 과산화물 함량 측정은 thiobarbituric acid (TBA) 방법,¹⁷⁾ glucose-6-phosphatase (G6-Pase) 활성도는 Baginskie 등의 방법¹⁸⁾을 이용하였고, 혈청 γ -Glutamyltranspeptidase (GGT)는 Wako kit (lot no. AG927, code no. 271-56909)을 이용하여 측정하였다. Cu/Zn-SOD 활성도는 10,000 × g 부유층에서 Misra와 Fridovich법¹⁹⁾에 의해, 세포질분획에서 total Glutathione peroxidase (총 GPx) 활성도는 Paglia와 Valentina (1967)의 방법을 개선한 Tappel (1978)의 방법²⁰⁾을 이용하고, glutathione reductase의 활성도는 Carlberg와 Mannervick법²¹⁾으로 측정하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumine을 표준용액으로 사용하여 Lowry 등의 방법²²⁾을 이용하여 측정하였다.

6. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였다. $p < 0.05$ 수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test에 의해 각 처리에 의한 유의차를 검증하였다. 그리고 같은 지방수준간의 측정치들을 T-test 하였으며, 각각의 측정치간의 상관관계를 알아보았다.

실험결과

1. 체중 및 간 무게의 변화

식이 섭취량은 DEN 투여, 간부분절제술 후 일시적으로 감소하였다가 곧 회복되어 증가함을 보였다. 2.5, 5%군은 평균 일일 식이 섭취량이 15, 25%보다 더 많았지만 에너지 섭취량은 모든 군에서 유의적인 차이가 없었고 (Table 2), 각 식이군간에 최종 체중에는 유의적인 차이가 없었다 (Table 3). 간 무게는 15, 25% (w/w)수준의 참치기름군

이 2.5, 5% (w/w) 수준보다 유의적으로 높았으나 옥수수기름군에서는 각 군간의 차이가 없었다. 참치기름군에서는 지방양이 증가할수록 체중에 대한 간의 무게비가 유의적으로 높아졌고 반면 옥수수기름군에서는 유의적인 차이가 없었다. 그리고 특히, 25% (w/w) 참치기름군이 25% (w/w) 옥수수기름군보다 유의적으로 높은 간 비대 현상을 보였다. 고지방 어유가 간 비대의 원인이 되는 피옥시좀의 증식제로 작용하는 것으로 알려지고 있으며,²³⁾ 고지방 어유 섭취 시 피옥시좀 β 산화에 의해 피옥시좀에서 생성되는 과산화수소와 활성 산소 (O₂⁻, OH[·])가 증가되고, 증가된 활성 산소의 독성에 의해 간세포 증식능이 유도된다고 한다.^{24,25)} 체중에 대한 간의 무게비가 지질과산화물 생성과 약한 양의 상관관계 (r = 0.38, p < 0.01)를 보였고, 참치기름군내에서 체중에 대한 간의 무게비는 지질과산화물 생성 (r = 0.40, p < 0.05)과 GGT 활성도 (r = 0.69, p < 0.01)와 양의 상관관계를 가졌다.

2. 면역조직화학적 검사

태반형 glutathione S-transferase (GST-P)는 쥐의 정

Table 2. Food intake and calorie intake in rats fed the experimental diets

Group	Food intake* (g/rat/day)	Calorie intake† (kcal/day)
Corn oil diet	2.5%	18.94 ± 1.25
	5%	18.37 ± 1.15
	15%	14.58 ± 0.94
	25%	15.14 ± 0.83
Tuna oil diet	2.5%	18.19 ± 1.43
	5%	18.55 ± 1.28
	25%	17.12 ± 1.53
	25%	14.14 ± 1.34

*Food intake was measured for 8 weeks on the experimental diets. Calorie intake was calculated with the use of the diet composition from Table 1 and food intake data

†Based on 4 kcal/g for casein, corn starch and 9 kcal/g for corn oil or tuna oil values are mean ± SE

상 간 조직에서는 발현되지 않고 간세포 암화과정 중 전암성 병변에서 현저히 발현되어 간세포 암화과정의 지표로 이용되고 있다.²⁶⁾ 본 실험 결과 모든 식이군에 DEN과 70% 간 부분절제수술을 실시했으므로 모든 군에서 GST-P 양성 증식성 결절이 관찰되었다 (Table 4). 그리고 H & E 염색에 의해 나타난 hyperplastic foci가 GST-P 면역염색에서도 양성으로 나타났다 (Fig. 2, 3). 옥수수기름군의 GST-P 양성 증식성 결절면적은 식이 지방 함량이 2.5% (w/w)에서 5% (w/w)로 증가할 때 증가경향을 보였지만 15% (w/w) 수준에서는 오히려 감소경향을 보였고, 25% (w/w) 수준군은 2.5%, 15% (w/w) 수준군에 비해 유의적으로 GST-P 양성 증식성 결절면적이 넓었다. 반면 참치기름군내에서 식이지방 수준간 GST-P 양성 증식성 결절면적의 유의적 차이는 없었다.

25% (w/w) 옥수수기름군은 GST-P 양성 증식성 결절의 면적이 가장 넓었고 25% (w/w) 참치기름군은 25% (w/w) 옥수수기름군보다 유의적으로 GST-P 양성 증식성 결절의 면적이 좁았다 (Table 4). 또한 단위면적당 GST-P

Table 4. Effects of dietary levels of corn and tuna oils on the area and number of GST-P positive foci in the livers from rats treated with DEN and partial hepatectomy

Group	GST-P positive foci	
	Area (mm ² /cm ²)	No/cm ²
Corn oil diet	2.5%	0.55 ± 0.09 ^{bc}
	5%	0.82 ± 0.18 ^{ab}
	15%	0.42 ± 0.06 ^{bc}
	25%	1.15 ± 0.18 ^c
Tuna oil diet	2.5%	0.38 ± 0.08 ^c
	5%	0.72 ± 0.17 ^{bc}
	15%	0.65 ± 0.07 ^{bc}
	25%	0.54 ± 0.05 ^{bc*}

Values are mean ± SE

^{abc}Means with same superscripts are not significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

*Significantly different at p < 0.05 by Student's t-test in the same oil level

Table 3. Effects of dietary levels of corn and tuna oils on liver weight, body weight, and liver weight/body weight ratio in rats treated with DEN and partial hepatectomy

Group	Liver wt. (g)	Body wt. (g)	Liver wt./body wt. (%)
Corn oil diet	2.5%	11.09 ± 0.80 ^{bcd}	423.13 ± 18.35
	5%	10.70 ± 0.57 ^{cd}	423.57 ± 15.61
	15%	9.65 ± 1.80 ^{cd}	355.00 ± 58.35
	25%	11.76 ± 0.68 ^{bc}	428.89 ± 16.18
Tuna oil diet	2.5%	9.14 ± 0.36 ^d	388.75 ± 13.32
	5%	10.32 ± 0.44 ^{cd}	437.78 ± 10.47
	15%	13.01 ± 0.57 ^{ob}	444.00 ± 11.22
	25%	14.34 ± 0.69 ^a	422.00 ± 18.00

Values are mean ± SE

^{abcd}Means with same superscripts are not significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

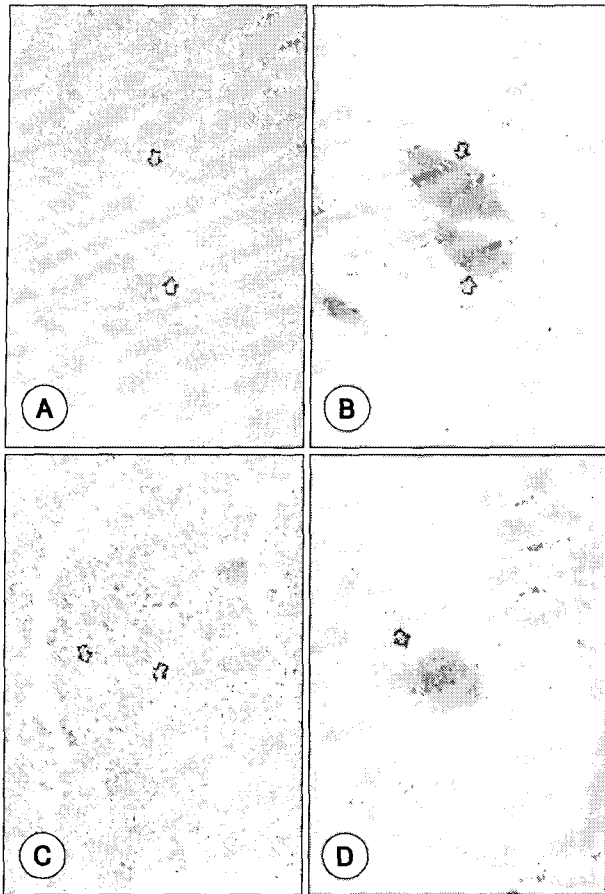


Fig. 2. H & E staining (A, C) and immunohistochemical staining of GST-P positive foci (B, D) in livers from rats fed corn oil diet (2.5% (w/w) (A, B), 25% (w/w) (C, D)) and treated DEN and partial hepatectomy ($\times 40$).

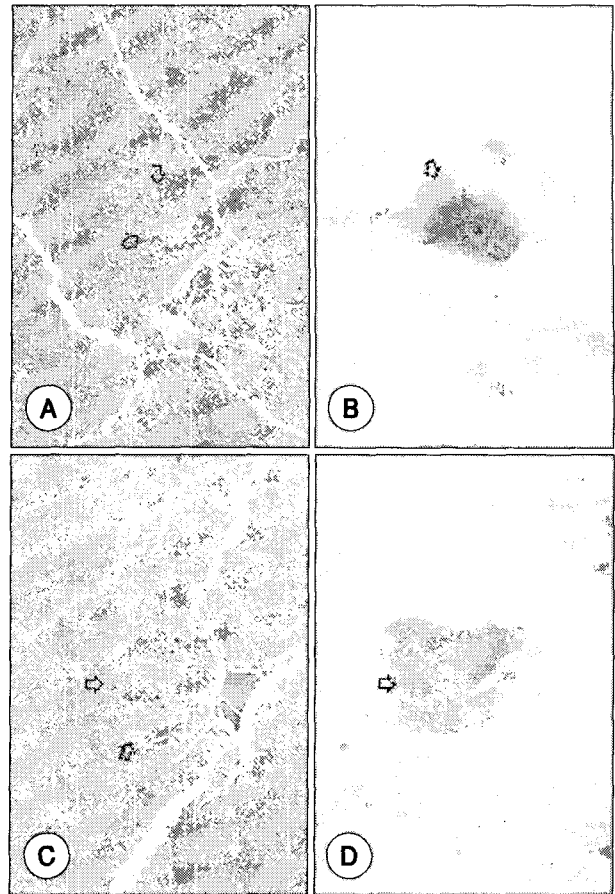


Fig. 3. H & E staining (A, C) and immunohistochemical staining of GST-P positive foci (B, D) in livers from rats fed tuna oil diet (2.5% (w/w) (A, B), 25% (w/w) (C, D)) and treated DEN and partial hepatectomy ($\times 40$).

양성 증식성 결절의 수는 면적과 강한 양의 상관관계 ($r = 0.868, p < 0.05$)를 보였으며, 옥수수기름 25% (w/w) 수준에서 가장 많은 결절 개수를 보였고, GST-P 양성 증식성 결절의 면적에서와 마찬가지로 참치기름군내에서는 유의적 차이가 없었다. 이와 같은 결과는 n-6계 지방산인 linoleic acid가 풍부한 식이 지방이 암 발생을 촉진한다는 보고²⁷⁾와, n-3계 지방산이 풍부한 어유가 암 발생을 억제한다는 보고^{10,11,13,28)}와도 일치한다. 저지방에 비해 고지방이 종양 형성시 촉진 작용을 한다는 보고^{29,30)}가 n-6계 지방산이 풍부한 옥수수기름군에서는 일치하는 경향을 보였지만, n-3계 지방산인 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA)가 풍부한 어유에서는 일치하지 않았다. 비록 25% (w/w) 참치기름군이 5% (w/w) 옥수수기름군보다 지방으로부터 에너지를 더 많이 섭취하였지만 GST-P 양성 증식성결절이 25% (w/w) 참치기름군에서는 덜 유도되는 경향을 보이는 것으로 보아, 지방 함량보다는 지방산 종류가 암화과정에 미치는 영향이 더 뚜렷한 것으로

여겨진다. 따라서 어유에 풍부한 EPA와 DHA가 간세포 암화촉진과정을 억제하는 것으로 생각된다.

4. 지질과산화물 함량

간 소포체 막에서 막 지질과산화 정도를 알기 위해 thio-barbituric acid reactive substance (TBARS) 함량을 측정 한 결과, 옥수수기름군의 지방 함량이 많을수록 함량이 많아지는 경향을 보였다 (Table 5). 통계적으로 유의적이지는 않았지만 참치기름군의 지질과산화물 함량은 15% (w/w) 수준에서 옥수수기름군보다 낮은 경향을 보였고 15% (w/w) 수준을 넘어서면서 급격히 지질과산화물 생성이 증가되었으며, 25% (w/w)수준에서는 참치기름군이 옥수수기름군보다도 유의적으로 높은 지질과산화물 생성을 보였다. 고지방을 먹인 생쥐의 간에서 TBARS 함량이 저지방군보다 높았다고 보고된 바 있는데,³¹⁾ 참치기름은 옥수수기름보다 자동 산화에 더 민감하다. 이는 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA)의 불포화도가 높고 긴

Table 5. Effects of dietary levels of corn and tuna oils on the hepatic microsomal TBARS and G6Pase activities in rats treated with DEN and partial hepatectomy

Group	TBARS (nmoles TBARS/mg protein)		G6Pase (nmoles Pi liberated/mg protein)	
	Corn oil diet	Tuna oil diet	Corn oil diet	Tuna oil diet
2.5%	0.25 ± 0.02 ^b	0.25 ± 0.02 ^b	1464.85 ± 130.53 ^o	1204.89 ± 187.39 ^{ob}
5%	0.29 ± 0.03 ^b	0.24 ± 0.03 ^b	742.27 ± 164.19 ^{ob}	1176.56 ± 105.21 ^{ob}
15%	0.30 ± 0.04 ^b	0.17 ± 0.01 ^b	1464.85 ± 130.53 ^{ob}	1204.89 ± 187.39 ^o
25%	0.31 ± 0.03 ^b	0.84 ± 0.41 ^o	742.27 ± 164.19 ^o	1176.56 ± 105.21 ^{ob*}

Values are mean ± SE

^oMeans with same superscripts are not significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

*Significantly different at p < 0.05 by Student's t-test in the same oil level

Table 6. Effects of dietary levels of corn and tuna oils on the serum GGT and Cu/Zn SOD activities in rats treated with DEN and partial hepatectomy

Group	GGT (U/L)		Cu/Zn SOD (unit/mg protein)	
	Corn oil diet	Tuna oil diet	Corn oil diet	Tuna oil diet
2.5%	7.60 ± 1.65 ^o	1.39 ± 0.32 ^b	72.75 ± 2.81	65.66 ± 3.51
5%	8.41 ± 1.51 ^o	2.12 ± 0.64 ^b	68.32 ± 5.15	67.50 ± 6.54
15%	8.21 ± 1.52 ^o	0.90 ± 0.56 ^b	62.12 ± 8.87	60.03 ± 2.52
25%	6.37 ± 1.50 ^o	6.62 ± 0.68 ^o	67.95 ± 3.51	53.75 ± 3.37*

Values are mean ± SE

^oMeans with same superscripts are not significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

*Significantly different at p < 0.05 by Student's t-test in the same oil level

사슬의 지방산을 많이 함유하고 있기 때문이다. 불포화도만을 생각한다면 참치기름군에서 지질과산화물생성이 더 많아야 하지만, 15% (w/w) 수준에서 참치기름군은 옥수수기름군보다 지질과산화물 생성이 낮은 경향을 보여, 15%수준 기름군만으로 간암 모델 실험을 수행한 Woo³²⁾의 결과와 일치하였다. 하지만 참치기름군은 25% (w/w) 수준에서 15% (w/w)보다 높은 지질과산화물 생성을 보였고 같은 수준의 옥수수기름군보다 높은 것으로 나타나, 참치기름군에는 15%와 25% (w/w) 사이에 지질과산화물 생성을 급격히 증가시키는 식이수준이 있는 것으로 생각된다. Gonzalez 등³³⁾은 암세포 성장에 대한 어유의 억제 효과가 지질과산화 과정에 의해 중재될 수도 있다고 보고하였다. 즉, 어유에 있는 고도의 불포화지방산의 함량이 지나치게 높게 되면 이들 지방산의 cytotoxic, cytostatic한 지질과산화물들이 계속 쌓이게 되어 성장 속도를 제한하거나 저해하는 작용을 할 것이라고 제안한 바 있다. Gonzalez 등³³⁾의 제안에 비추어 보면, 25% (w/w) 참치기름군이 다른 식이군에 비해 유의적으로 지질과산화물 생성이 많지만 이들 지질과산화물들이 전암성병변의 성장을 억제시켜 GST-P 양성 증식성 결절이 25% (w/w) 옥수수기름군보다 낮게 할 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 참치기름군의 지질과산화물 함량은 체중에 대한 간무게비 (0.40, p < 0.05), GGT (0.50, p < 0.05) 활성도와 양의 상관관계를 보였다.

5. Glucose 6-phosphatase (G6Pase) 활성도

Glucose 6-phosphatase (G6Pase)는 막 부착 효소로서 주로 간과 신장에 분포하고 있으며,³⁴⁾ 간세포가 손상되거나 종양생성시 활성도가 감소한다고 알려져 있어,³⁵⁾ 세포막의 안정도를 나타내는 지표로 사용된다. 옥수수기름군의 G6Pase활성도는 지방양이 증가함에 따라 치츰 감소하는 경향을 보였으며, 25% (w/w) 옥수수기름군은 2.5% (w/w) 옥수수기름군에 비해 유의적으로 활성도가 낮았다 (Table 5). 그러나 참치기름군에서는 지방양에 따른 감소가 없었고, 모든 지방수준에서 높은 활성도를 보였으며 특히, 25% (w/w) 수준에서 참치기름군이 옥수수기름군보다 유의적으로 높은 G6Pase활성도를 보여, 높은 막 안정도를 유지하는 것을 시사하였다. 이는 참치기름군이 15% (w/w) 수준에서 옥수수기름군보다 높은 G6Pase 활성도를 보인 Woo³²⁾와 Kim³⁶⁾의 연구결과와도 일치한다. 그리고, DEN, AAF, Phenobarbital (PB) 처리시 n-3계 지방산의 급원인 정어리기름군이 n-6계 지방산의 급원인 옥수수기름군보다 높은 G6Pase 활성도를 나타낸 Kim³⁷⁾의 보고와도 일치하는 경향이였다. 25% (w/w) 참치기름군에서 TBARS 함량이 유의적으로 높아졌음에도 불구하고 25% (w/w) 옥수수기름군보다 높은 G6Pase 활성을 보여 참치기름군의 경우에는 지질과산화물에 의해 G6Pase가 불활성화되지 않는 것으로 보인다. GST-P 양성 증식성 결절과 G6Pase 활성도는 음의 상관관계 (r = -0.46, p < 0.01)를 보였으며, 가장 높은 GST-P

양성 증식성 결절을 보인 25% (w/w) 옥수수기름군에서 G6Pase 활성이 가장 낮은 결과를 나타냈다.

6. 혈청 γ -glutamyltranspeptidase (GGT) 활성도

혈청 GGT는 2.5, 5, 15% (w/w) 옥수수기름군이 이에 해당하는 수준의 참치기름군보다 유의적으로 높은 활성을 나타내고 있지만 25% (w/w) 수준에서는 두 기름군간에 유의적 차이는 없었다 (Table 6). 옥수수기름군내에서는 지방양 증가에 따른 GGT 활성도에 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 참치기름군은 25% (w/w) 수준이 유의적으로 아주 높은 활성도를 보인 것으로 미루어 보아 참치기름군내 15, 25% (w/w) 수준사이에 활성도가 급격히 증가하는 수준이 있을 것으로 생각된다. 그리고 Solt & Farber 모델로 유도한 Oum³⁸⁾과 Woo³²⁾의 연구결과에서는 식물성 n-3계 지방산의 급원인 들기름군과 n-6계 지방산의 급원인 옥수수기름군간에 GGT 활성도의 차이를 나타내지 않았고, 들기름군은 옥수수기름군처럼 GGT 활성도가 간 손상시 증가되었다. 하지만 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA)가 풍부한 동물성 n-3계 지방산의 급원인 참치기름은 15% (w/w) 수준까지는 아주 낮은 GGT 활성도를 보여, 둘 다 n-3계 지방산의 급원이지만 GGT 활성도에 미치는 영향이 다른 것으로 여겨진다. 그러나 Woo³²⁾의 연구에 따르면 옥수수기름군과 참치기름군간의 GGT 활성도가 15% (w/w) 수준에서는 차이를 보이지 않았다. DEN으로 개시된 쥐에서 저지방 (safflower oil, 열량의 5%에 해당)군에 비해 고지방 (safflower oil, 열량의 48%에 해당)을 먹인 경우, GGT-positive foci의 수가 더 많았고,³⁰⁾ aflatoxin 투여 후 식이의 옥수수기름양을 증가시킴으로 GGT-positive foci 수와 크기가 증가했다고 한다.²⁷⁾ 본 실험의 참치기름군의 GGT 활성도는 지질과산화물 함량과는 양의 상관관계 (0.56, $p < 0.05$)를, 체중에 대한 간 무게 비와는 강한 양의 상관관계 (0.69, $p < 0.001$)를 보였다.

7. Cu/Zn Superoxide dismutase (SOD) 활성도

Cu/Zn SOD 활성도는 모든 참치기름군이 옥수수기름군

보다 활성이 낮은 경향을 보였고, 참치기름군의 지방양이 증가함에 따라 활성이 감소하는 경향을 보였다 (Table 6). 참치기름군은 25% (w/w) 수준에서 지질과산화물 생성이 옥수수기름군보다 유의적으로 많았고 (Table 5), Cu/Zn SOD 활성은 가장 낮은 경향을 보였는데, 이는 20% menhaden oil군이 lard/corn oil군보다 증가된 지질과산화물 생성, 감소된 SOD 활성을 보여준 보고와 유사한 경향을 보였다.³⁹⁾ 그러나 Cu/Zn SOD 활성도는 식이 지방양의 수준과 지방산 조성에 따른 차이를 유의적으로 반영하지 못한 것으로 여겨진다. 참치기름군의 Cu/Zn SOD 활성도는 Se-의존성 GPx 활성도와 양의 상관관계 ($r = 0.44, p < 0.05$)를, 체중에 대한 간 무게비와는 음의 상관관계 ($r = -0.42, p < 0.05$)를 보였다.

8. Glutathione peroxidase (GPx) 활성도

총 GPx 활성도는 모든 수준에서 참치기름군이 옥수수기름군보다 낮은 경향을 보였을 뿐 두 기름군간 유의적인 차이는 없었다 (Table 7). Superoxide radical을 제거하면서 과산화수소를 생성하는 Cu/Zn SOD에서는 15, 25% (w/w) 참치기름군이 옥수수기름군에 비해 낮은 경향을 보였다. 그리고 Cu/Zn SOD 효소활동 결과 생기는 과산화수소를 제거하는 Se-의존성 GPx 활성 역시 같은 경향을 보였으며, Se-의존성 GPx와 Cu/Zn SOD 활성도간에는 약한 양의 상관관계 ($r = 0.318, p < 0.05$)가 있었고, 참치기름군에서 두 효소의 상관관계는 약간 더 양으로 나타났다 ($r = 0.44, p < 0.05$). DEN, AAF, PB 처리시 정어리기름군이 15% (w/w) 수준에서 옥수수기름보다 높은 GPx 활성도를 보인 Kim³⁷⁾의 보고와는 일치하지 않는 결과를 보였다. 식이 지방양 증가시 세포내 산화적 스트레스 증가로 인한 세포막 손상을 방지하기 위해서 항산화체계의 중요한 효소인 GPx 활성도가 증가될 것으로 추정되었으나 식이 지방양 증가에 따른 차이를 유의적으로 반영하지는 못했다.

9. Glutathione reductase (GR) 활성도

Glutathione reductase (GR)는 glutathione peroxidase

Table 7. Effects of dietary levels of corn and tuna oils on the total-GPx, Se-GPx and GR activities in rats treated with DEN and partial hepatectomy (nmoles NADPH oxidized/mg protein/min)

Group	Total GPx		Se-GPx		GR	
	Corn oil	Tuna oil	Corn oil	Tuna oil	Corn oil	Tuna oil
2.5%	376.84 ± 32.50	362.16 ± 21.04	371.07 ± 30.29	391.14 ± 18.13	61.96 ± 10.62	77.51 ± 8.45
5%	434.05 ± 44.05	349.08 ± 19.12*	402.88 ± 48.31	400.36 ± 35.72	73.29 ± 7.10	73.11 ± 6.78
15%	315.14 ± 34.81	302.50 ± 11.38	373.83 ± 52.77	317.34 ± 10.34	44.64 ± 16.22	78.33 ± 4.67*
25%	340.46 ± 24.18	335.15 ± 31.22	388.37 ± 27.04	337.56 ± 35.82	66.91 ± 8.30	92.68 ± 11.23*

Values are mean ± SE

*Significantly different at $p < 0.05$ by Student's t-test in the same oil level

에 의해 생성된 산화형 glutathione (GSSG)을 NADPH를 사용하여 환원형 glutathione (GSH)로 환원시키는 역할을 담당한다.²¹⁾ 즉, GR은 세포내에 GSH pool을 환원 상태로 유지하여, 간접적으로 세포를 보호하는 역할을 수행한다. GR 활성도는 참치기름군의 모든 수준에서 옥수수기름군보다 높은 활성도 경향을 보였고, t-test결과 15% (w/w)수준에서 참치기름군이 옥수수기름군보다 활성이 높았다 (Table 7). 그리고 GR활성도는 TBARS와 약한 양의 상관관계 ($r = 0.379, p < 0.005$)를 보였다. 지방양이 증가함에 따라 참치기름군의 총 GPx와 Se-의존성 GPx 활성도는 옥수수기름군과 차이를 보이지 않았지만, GR활성도는 지방양이 증가함에 따라 옥수수기름군보다 높은 활성도를 나타낸 점으로 보아, 참치기름군이 glutathione-의존성 효소계의 GR를 통해 환원형 glutathione을 원활히 생성하여 free radical이나 이로 인해 유도된 산물들의 공격에 대처할 수 있게 하여 간접적으로 세포를 보호하는 역할을 수행하는 것으로 보인다.

고 찰

본 연구에서는 n-6계와 n-3계 지방급원의 식이내 수준에 따라 쥐 간세포암화과정에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 이를 위해 Sprague-Dawley종 숫쥐에게 옥수수기름 (n-6계 지방산급원), 참치기름 (n-3계 지방산급원)을 각각 식이수준 2.5, 5, 15, 25% (w/w)으로 섭취시키고, die-thylnitrosamine (DEN) 복강주사와 성장 촉진 자극인 70% 간 부분절제수술 (partial hepatectomy, PH)을 시행하여 간 세포암을 유도하였다. 실험 결과, 참치기름군은 체중에 대한 간 무게의 비가 유의적으로 증가하여 간 비대 현상을 보였다. GST-P 양성 증식성 결절은 옥수수기름군에서 참치기름군보다 더 많이 관찰되었다. 참치기름군은 지방양이 증가해도 GST-P 양성 증식성 결절은 증가되지 않았고, 옥수수기름군은 15% (w/w)수준까지는 유의적으로 증가되지 않았으나 25% (w/w)수준에서는 유의적으로 증가된 GST-P 양성 증식성 결절을 보였다. 따라서 n-3계 지방산인 EPA와 DHA가 풍부한 참치기름은 지방양을 증가시켰을 때도 전암성 병변의 정도를 증가시키지 않았으며 저지방일때와 같은 정도의 전암성 병변을 보였다. 그러나 n-6계 지방산이 많은 옥수수기름은 15, 25% (w/w)사이에서 유의적으로 전암성 병변의 정도를 증가시키는 수준이 있을 것으로 생각되며, 고지방이 될수록 종양 형성을 촉진한다는 보고^{29,30)}와 일치하는 결과를 보였다. 그러므로 지방 함량보다는 지방산의 종류가 암화촉진과정에 더 뚜렷하게 영향을 미치는 것

으로 여겨진다. G6Pase는 식이내 지방함량이 많아질수록 옥수수기름군에서는 활성이 감소하는 경향을 보였고 참치기름군은 지방 함량 증가에 따른 변화없이 활성을 높게 유지해 소포체막 안정도가 감소되지 않았다. 특히, 옥수수기름군의 G6Pase활성도는 2.5% (w/w)수준에 비해 25% (w/w)수준에서 유의적으로 감소하였고 GST-P 양성 증식성 결절과 음의 상관관계 ($r = -0.48, p < 0.01$)를 가져 GST-P 양성 증식성 결절에서 G6Pase 활성이 감소한다는 보고¹⁸⁾가 옥수수기름군에서는 일치하였다. 지질과산화물생성이 옥수수기름군에서 지방양 증가에 따라 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의적이지 않았고, 참치기름군은 15% (w/w) 수준까지는 옥수수기름군과 비슷한 정도의 지질과산화물 함량을 보였으나, 25% (w/w) 수준에서는 유의적으로 지질과산화물 생성이 증가했다. 따라서 자동산화에 민감한 참치기름은 15% (w/w)수준이전에는 옥수수기름군과 차이를 보이지 않고 15% (w/w)수준에서는 오히려 옥수수기름군보다 유의적으로 낮게 지질과산화물을 생성하였으나 이 수준을 넘어서면서 지질과산화물이 급격히 증가되었다. 그러나, 이때 생성된 지질과산화물은 전암성 병변을 촉진시키는 것보다 오히려 억제하는 효과를 가졌을 것으로 여겨진다.³²⁾ 혈청 GGT 활성도는 참치기름군이 15% (w/w)까지는 옥수수기름군의 같은 수준에 비해 유의적으로 낮은 GGT 활성도를 나타냈으나 25% (w/w) 수준에서 유의적으로 높아졌다. GGT활성도는 참치기름군에서 지질과산화물 함량 ($0.56, p < 0.05$), 체중에 대한 간무게 비 ($0.69, p < 0.001$)와는 강한 양의 상관관계를 보였고, 지방양이 증가함에 따라 25% (w/w)참치기름군에서만 특이하게 나타난 간 비대 현상은 지질과산화물 생성과 GGT 활성도의 증가와의 관련성을 추측해 볼 수 있다. GR 활성도는 참치기름군이 옥수수기름군보다 유의적으로 높은 활성도를 보였다. 그리고 15, 25% (w/w)수준에서 옥수수기름의 같은 수준보다 유의적으로 활성도가 높았다. 이로 미루어 보아, 참치기름군은 free radical이나 이들의 유도산물의 공격에 대처할 수 있도록 환원형 glutathione 생성을 원활히 하여 세포 보호 효과를 가지는 것으로 여겨진다. 이상의 결과들을 종합해 보면, DEN으로 유도한 쥐간세포 암화과정에서 EPA와 DHA가 풍부한 참치기름은 지방 함량 증가와는 무관하게 종양 억제 효과를 가지는데, 이러한 효과는 지질과산화물 생성, 소포체막 안정도 유지, 그리고 항산화효소의 활성 등의 기작을 통해서 종양 억제 효과를 나타내는 것으로 보이며, 특히 참치기름군에 많은 EPA와 DHA가 그러한 작용을 할 것으로 보인다.

요약 및 결론

이상의 결과로 미루어 보아 옥수수기름군과 참치기름군 모두에서 15% (w/w) 수준의 식이지방함량까지는 전암성 병변에 대한 뚜렷한 효과를 보이지 않았다. 그러나 n-6계 지방산이 풍부한 옥수수기름군이 25% (w/w) 수준에서 암화과정을 크게 촉진시켰고 n-3계 지방산인 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA)가 풍부한 참치기름군은 암화과정을 억제하는 효과를 나타냈다. 그리고 자동산화에 민감한 참치기름군이 25% (w/w)수준에서 유의적으로 높은 지질과산화물을 생성하였지만, 옥수수기름군에서 유도된 지질과산화물과는 다르게 cytotoxic, cytostatic한 효과를 보여 전암성 병변의 속도를 제한하거나 억제시켜 GST-P 양성 증식성 결절을 낮춰 주었으리라 생각된다. 그리고 참치기름군에서만 독특하게 나타난 현상으로, 25% (w/w)수준에서의 간 비대 현상은 지질과산화물 생성과 GGT 활성도의 증가와 관련성이 있을 것으로 추측해 볼 수 있다. 각 수준별 지방양이 증가함에도 불구하고 참치기름군은 높은 소포체막 안정도를 유지하고, GR 활성도 역시 높아져 환원형 glutathione 생성을 원활하여 free radical 공격에 대응할 수 있는 상황을 조성하여 간세포 보호 효과를 가지는 것으로 여겨진다.

Literature cited

- Klurfeld DM, Kritchevsky D. Update on dietary fat and cancer. *PSEBM* 183: 287-292, 1986
- Prentice RL, Thompson D, Clifford C, Gorbach S, Golden B, Byar D. Dietary fat reduction and plasma estradiol concentration in healthy postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 82 (2): 129-134, 1990
- Welsch CW. Enhancement of mammary tumorigenesis by dietary fat: review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 45: 192-202, 1987
- Birt DF. The influence of dietary fat on carcinogenesis: lessons from experimental models. *Nutr Rev* 48: 1-5, 1990
- Howard PG, Travis L, Wendy SK, Henry CP. Effect of dietary fat on the initiation of hepatocarcinogenesis by diethylnitrosamine or 2-acetylaminofluorene in rats. *Carcinogenesis* 12: 991-995, 1991
- Blot WJ, Lanier A, Fraumeni JF, Jr, Bender TR. Cancer mortality among Alaska natives, 1960-69. *J Natl Cancer Inst* 55: 546-554, 1975
- Fischer MA, Black HS. Modification of membrane composition, eicosanoid metabolism, and immunoresponsiveness by dietary omega-3 and omega-6 fatty acid sources, modulators of ultraviolet-carcinogenesis. *Photochem Photobiol* 54 (3): 391-387, 1991
- Ip C, Carter CA, Ip MM. Requirement of essential fatty acid for mammary tumorigenesis in the rat. *Cancer Res* 45: 1997-2001, 1985
- Roebuck BD, Longnecker DS, Baumgartner KJ, Thron CD. Carcinogen induced Lesions in rat pancreas: Effect of Varying levels of Essential Fatty acid. *Cancer Res* 45: 5252-5256, 1985
- Reddy BS, Sugie S. Effect of different levels of omega-3 and omega-6 fatty acids on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Cancer Res* 48: 6642-6647, 1988
- Minoura T, Takata T, Sakaguchi M. Effect of dietary eicosapentaenoic acid on azomethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Res* 48: 4790-4794, 1988
- Sasagawa T, Kosai K, Ota Y, Mori M, Okita M. Influences of a dietary fatty acid composition on the emergence of glutathione S-transferase-P (GST-P) positive foci in the liver of carcinogen-treated rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 67 (5): 327-332, 2002
- Kim Y, Ji SK, Choi H. Modulation of liver microsomal monooxygenase system by dietary n-6/n-3 ratio in rat hepatocarcinogenesis. *Nutr Cancer* 37 (1): 65-72, 2000
- Lee HJ, Kim HK, Choi H. Different sources of ω 3 fatty acids at the fixed ratio of p/s affect glutathione dependent enzymes in rat hepatocarcinogenesis. *Korean J Nutrition* 36 (8): 785-792, 2003
- Ito N, Tsuda H, Tatematsu M, Inoue T, Tagawa Y, Aoki T, Uwagawa S, Kagawa M, Ogiso T, Masui T. Enhancing effect of various hepatocarcinogens on induction of preneoplastic glutathione S-transferase placental form positive foci in rats-an approach for a new medium-term bioassay system. *Carcinogenesis* 9 (3): 387-394, 1988
- Osigo T, Tatematsu M, Tamano S, Tsuda H, Ito N. 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, 1985
- Vaca CE, Harms-Ringdahl M. Lipid peroxidation on the rat liver S9 fraction: Influence of membrane lipid composition. *Mutation Res* 162: 21-32, 1986
- Baginski ES, Foa PP, Zak B. Glucose 6-phosphatase. *Method Enzymatic Analysis* 2: 876-880, 1983
- Misra HP, Fridovich I. Superoxide dismutase: a photochemical augmentation assay. *Arch Biochem Biophys* 181:308, 1977
- Tappel AL. Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Method Enzymology* 52:506-513, 1978
- Carlberg I, Mannervick B. Glutathione reductase. *Methods Enzymology* 113:484-499, 1985
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- Yamazaki RK, Shen T, Schade GB. A diet rich in (n-3) fatty acids increase peroxisomal β -oxidation activity and lowers plasma triacylglycerols without inhibiting glutathione-dependent detoxication activities in the rat liver. *BBA* 920: 62-67, 1987
- Kvannes J, Ekihom TS, Flatmark T. On the mechanism of stimulation of peroxisomal β -oxidation in rat heart by partially hydrogenated fish oil. *BBA* 1255: 39-49, 1995
- Chen ZY, Eaton DL. 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, 1991
- 26) Sato K, Kitahara A, Sato K, Ishikawa T, Tatematsu M, Ito N. The placental form of glutathione S-transferase as a new marker protein for preneoplasia in rat chemical hepatocarcinogenesis. *Jpn J Cancer Res* 75: 199-202, 1984
- 27) Misslbeck NG, Campell TC, Roe DA. Effect of ethanol consumption in combination with high and low fat diets on the post initiation phase of hepatocarcinogenesis. *J Nutr* 114: 2311-2323, 1984
- 28) O'Connor TP, Roebuck BD, Peterson FJ, Lokesh B, Kinsella JE, Campbell TC. Effect of dietary omega-3 and omega-6 fatty acids on development of azaserine-induced preneoplastic lesions in rat pancreas. *J Natl Cancer Inst* 81: 858-863, 1989
- 29) Chan PC, Ferguson KA, Dao TL. Effects of different dietary fats on mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 43: 1079-1083, 1983
- 30) Glauret HP, Lay JT, Kennan WS, Pitot HC. Effect of dietary fat on the initiation of hepatocarcinogenesis by diethylnitrosamine or 2-acetylaminofluorene in rats. *Carcinogenesis* 12: 991-995, 1991
- 31) Ahotupa M, Bereziat JC, Mantyla E, Bartsch H. Dietary fat- and phanobarbital-induced alteration in hepatic antioxidant functions of mice. *Carcinogenesis* 14: 1225-1228, 1993
- 32) Woo J. Effects of different dietary fats and carcinogen treatment on the hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in hepatocellular carcinogenesis. Master's thesis of Seoul National University, 1995
- 33) Gonzalez MJ, Schemmel RA, Gray JI, Dugan L, Sheffield LS, Welsch CW. Effect of dietary fat on growth of MCF-7 and MDA-MB231 human breast carcinomas in athymic nude mice: relationship between carcinoma growth and lipid peroxidation product levels. *Carcinogenesis* 12: 1231-1235, 1991
- 34) Salgado MC, Meton I, Egea M, Baanante IV. Transcriptional regulation of glucose-6-phosphatase catalytic subunit promoter by insulin and glucose in the carnivorous fish, *Sparus aurata*. *J Molecular Endocrinology* 33: 783-795, 2004
- 35) Emmanuel F. Cellular biochemistry of the stepwise development of cancer with chemicals: G.H.A. Clows Memorial Lecture. *Cancer Res* 44: 5463-5474, 1984
- 36) Kim S. Effects of Vitamin E on the Hepatocellular Chemical Carcinogenesis in Rats. doctoral thesis of Seoul National University, 1996
- 37) Kim K. Effects of n-3, n-6 fatty acids on the hepatic histological changes and antioxidant enzyme system in the chemical treated rats. doctoral thesis of Seoul National University, 1994
- 38) Oum JI. Effects of vitamin E supplement of corn and perilla oils on the cytochrome P-450 contents and lipid peroxide production in hepatocellular carcinogenesis. Master's thesis of Seoul National University, 1994
- 39) L'Abbe MR, Trick KD, Beare-rogers JL. Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* 121: 1331-1340, 1991