

쥐에서 들기름이 대장 암화과정의 세포증식과 Phosphatidyl Inositol의 지방산조성 및 1,2-diacylglycerol 함량에 미치는 영향

경희대학교 식품영양학과

김 채 종 · 박 현 서

Effect of α -Linolenic Acid Rich in Perilla Oil on Colonic Mucosal Cell Proliferation, Fatty Acid Pattern of Phosphatidyl Inositol and 1,2-diacylglycerol Content in Colon Carcinogenesis of Rats

Chae-Jong Kim and Hyun-Suh Park

Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul, Korea

The objective of this study was to observe the effect of α -linolenic acid rich in perilla oil on colonic mucosal cell proliferation and fatty acid composition of phosphatidyl inositol (PI) and the levels of 1,2-diacylglycerol (DAG), TXB₂ and PGE₂ which were known as biomarkers for colon cancer. Eighty male Sprague Dawley rats, at 7 weeks old, were divided into two groups (saline for control and DMH treatment) and each group was again subdivided into two groups of fat (corn oil or perilla oil). Each rat was intramuscularly injected with saline or 1,2-dimethylhydrazine (DMH) for 6 weeks (total dose of 180 mg/kg body weight) and simultaneously fed the experimental diet for 20 weeks containing dietary fat (corn oil or perilla oil) at 15% by weight.

DMH treatment, regardless of the type of dietary fat, significantly increased cell proliferation by enlarging proliferative zone, labeling index and crypt length and increased colonic mucosal levels of DAG and PI arachidonic acid distribution. Compared to corn oil, perilla oil significantly reduced cell proliferation by decreasing labeling index, proliferative zone and crypt length in colonic mucosa and also reduced colonic mucosal levels of DAG, TXB₂, PGE₂ and PI arachidonic acid distribution. Therefore, n-3 α -linolenic acid rich in perilla oil could be very important source in reducing the risk factor for colon cancer and it is suggested to use more perilla oil for meal preparation.

Key Words: Colon cancer biomarker, Cell proliferation, Diacylglycerol, Phosphatidyl inositol, TXB₂, PGE₂, Corn oil, Perilla oil

*이 논문은 1993 ~ 1995년도 한국학술진흥재단 자유공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997
대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997
대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997
대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997
대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997
대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

김채종·박현서
김채종·박현서
김채종·박현서
김채종·박현서
김채종·박현서
김채종·박현서

- 쥐에서 들기름이 대장 암화과정의 세포증식과 Phosphatidyl Inositol의 지방산조성 및 1,2-diacylglycerol 함량에 미치는 영향-
- 쥐에서 들기름이 대장 암화과정의 세포증식과 Phosphatidyl Inositol의 지방산조성 및 1,2-diacylglycerol 함량에 미치는 영향-
- 쥐에서 들기름이 대장 암화과정의 세포증식과 Phosphatidyl Inositol의 지방산조성 및 1,2-diacylglycerol 함량에 미치는 영향-
- 쥐에서 들기름이 대장 암화과정의 세포증식과 Phosphatidyl Inositol의 지방산조성 및 1,2-diacylglycerol 함량에 미치는 영향-
- 쥐에서 들기름이 대장 암화과정의 세포증식과 Phosphatidyl Inositol의 지방산조성 및 1,2-diacylglycerol 함량에 미치는 영향-
- 쥐에서 들기름이 대장 암화과정의 세포증식과 Phosphatidyl Inositol의 지방산조성 및 1,2-diacylglycerol 함량에 미치는 영향-

서 론

역학적·실험적 연구결과들은 식이지방의 섭취가 증가하면 대장암의 발생률이 높아졌다고 보고하였다.¹⁻³⁾ 그러나 식이지방이 대장암 발생에 미치는 영향이 항상 일관성있게 일치되지는 않았는데,^{4,5)} 이것은 식이지방의 종류에 따라 대장암 발생에 미치는 효과가 다를 수 있기 때문이다. 동물실험에 의하면 쇠기름이나 lard에 많이 함유되어있는 포화지방산과 corn oil이나 safflower oil에 다량 함유된 n6 계열의 불포화지방산 (polyunsaturated fatty acid; PUFA)은 일반적으로 대장암 발생을 촉진시켰지만 들기름이나 어유에 다량으로 존재하는 n3 계열의 PUFA는 종양발생을 촉진시키지 않았거나 혹은 억제시키는 효과가 있었다.^{3,6-8)} 지금까지의 연구결과에 의하면 식이지방은 직접적인 발암물질이기 보다는 종양의 생성이나 성장에 좀 더 적합한 환경을 제공하여 암의 발달과정에 영향을 주는 것으로 보고 되었다.

식이지방이 종양발생에 영향을 미치는 기전중의 하나로 대장점막의 지방산 조성을 들 수 있는데 대장점막의 지방산조성은 식이지방의 조성에 의해 영향을 받는 것으로 보고되었다.^{7,9)} 동물실험에 의하면 세포막의 지방산조성의 변화는 탄소수 20개인 지방산에서 생성된 대사산물인 eicosanoid 즉, thromboxane, prostaglandin, prostacyclin 등의 합성에 영향을 미친다고 하였다.^{10,11)} 종양조직이나 종양주변의 정상세포에서는 arachidonic acid (AA) 수준이 증가하였고 thromboxane A₂ (TXA₂)나 prostaglandin E₂ (PGE₂)의 합성이 증가되었으며 phosphatidyl inositol (PI)의 분해산물인 1,2-diaclyglycerol (DAG)함량이 증가된 것이 관찰되었다.^{12,13)} 그러므로 식이지방은 세포막의 지방산조성에 영향을 미치며, 세포막의 지방산조성의 변화는 TXA₂나 PGE₂와 DAG의 함량 등에 변화를 가져와 cell proliferation에 미치는 것으로 보인다. Cell proliferation의 증가는 암 발생의 개시, 촉진, 진전 과정에서 필수적으로 일어나는 현상으로 cell proliferation을 촉진시키는 요인은 대장암 발생을 촉진시키는 인자를 간주할 수 있다고 하였다.¹⁴⁾

한국인이 섭취하고 있는 들기름은 n3 α -linolenic acid(C18 : 3)를 60% 이상 함유하고 있는데

어유에 있는 eicosapentaenoic acid(EPA, C20 : 5)나 docosahexaenoic acid(DHA, C22 : 6)보다 불포화도가 훨씬 낮다는 잇점이 있다. 그러나 들기름의 α -linolenic acid가 암발생에 미치는 영향에 대한 생화학적인 기전에 대해서는 아직까지 많은 연구가 이루어져 있지 않았으며 특히 대장암의 주요 biomarker로 알려진 DAG 함량이나 cell proliferation에 미치는 영향에 대해서는 연구가 거의 이루어지지 않았다. 그러므로 본 연구에서는 들기름이 대장조직 PI의 지방산조성과 DAG함량에 미치는 영향과 이들의 변화가 cell proliferation에 미치는 영향을 관찰하고자 대장암의 발생을 촉진시키는 것으로 보고된 n6 linolenic acid의 함량이 많은 옥수수 기름과 비교하여 암 발생과의 연관성을 살펴보고자 하였다.

실험재료 및 방법

1) 실험 계획

Sprague Dawley종 수컷 흰쥐 80마리를 생후 7주까지 고형사료로 사육하여 체중에 따른 난괴법에 의해 4군 즉, 식이지방 종류에 의해 크게 두 군 (corn oil과 perilla oil군)으로 나누고 이를 다시 발암처리군과 대조군으로 나누어 20주간 실험식을 투여하였다. 실험식은 Table 1에서와 같이 탄수화물은 식이무게의 54%, 단백질은 22%, 지방은 15%(w/w), 즉 총 열량의 30%로 식이지방 종류만을 다르게 하였다. 식이지방은 n6 linoleic acid의 급원으로 옥수수유를 n3 α -linolenic acid급원으로 들기름을 선택하였다.

발암원으로는 1,2-dimethylhydrazine-HCl (DMH, 99%, Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wis)을 사용하여 체중 kg당 15 mg씩 주 2회 6주간 총 180 mg/kg을 근육주사하였다. 이때 대조군은 같은 방법으로 saline을 주사하였으며, 모든 군에서 실험 식이를 주사와 동시에 투여하였다.

2) 시료 준비

실험기간이 끝나는 날 공복상태에서 diethyl ether로 마취시켜 대장을 분리하여 길이로 절개한 후 점막을 saline (4°C)에 적신 탈지면으로 가볍게 닦아내고 점막층에서 mucosa를 spetula로 분리하여 -70°C에 보관하였다.

3) 생화학적 분석

(1) **In vivo cell proliferation** (BrdU test): 대장조직에서 cell proliferation을 검증하기 위해 쥐는 정확하게 희생시키기 1시간 전에 체중 kg당 5 mg의 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)을 phosphate buffer saline (pH 7.4)에 용해시켜 복강주사하였다. 쥐를 희생시킨 후 대장의 distal 부분에서 1 cm 잘라 펴서 고정하여 Carnoy's solution에 저장하였다가 통상적인 paraffin block을 만들고 조직을 4 μ m로 절편 후 면역조직학적 방법¹⁵⁾에 의해 BrdU가 DNA에 결합된 정도를 관찰하였다.

(2) 대장점막 **phosphatidyl inositol**의 지방산조성: 대장점막의 일정량을 취하여 Bligh와 Dyer 방법¹⁶⁾으로 지질을 추출하였으며 이때 지방산의 분해를 막기위해 추출용매에 butylated hydroxytoluene을 0.005% 되게 첨가하였다. 추출한 지질은 질소 가스로 완전히 건조시켜 일정량의 chloroform에 용해시킨 후 silica gel TLC H plate를 이용하여 Skipski 등의 방법¹⁷⁾에 의해 PI를 분리하였다. 분리한 PI는 chloroform에 용해시켜 전 보고서¹⁸⁾와 동일한 방법으로 지방산 조성을 검토하였다.

(3) 대장점막의 **diacylglycerol**의 함량: DAG의 함량을 측정하기 위해 PI와 동일한 방법으로 대장점막에서 지질을 추출하여 질소 가스로 완전히 건조시켰고, 이를 chloroform에 용해시켜 이전보고서¹⁸⁾와 동일한 방법으로 DAG함량을 산출하였다.

(4) 대장점막의 **TXB₂**와 **PGE₂** 함량: TXB₂ 및 PGE₂의 분석을 위해 대장점막의 일정량을 취해서 0.05M Tris-buffer 내에서 잘게 쪼개 혼합액을 37°C shaking water bath에 30분간 방치하였다가 0.35 ml ice cold ethanol을 첨가하고 여기에 1M의 citric acid를 첨가하여 pH 3~3.5의 산성상태로 만든 후 원심분리하였다 (4000 g, 15분). 상층액을 취하여 C-18 solid phase extraction column에 loading하여 처리한 후 methyl formate를 통과시켜 얻은 추출액을 수집하여 질소가스로 건조시킨 뒤 ethanol에 용해시켜 TXB₂와 PGE₂를 각각 [¹²⁵I]TXB₂ kit와 [¹²⁵I]PGE₂ kit (DuPont/NEN Research Product, Boston, MA)를 사용하여 radioimmunoassay하였다.

3) 통계처리

모든 실험결과와 통계처리는 Statgraphics 통계 program을 이용하였으며 결과는 mean과 standard error (SE, 표준오차)로 표시하였다. 식이지방의 종류와 화학적 발암원의 상호작용을 검증하기 위해 2 way-ANOVA로 분석하여 유의성을 검증하였다($p < 0.05$).

결 과

1) Cell kinetic index

Cell proliferation은 암화과정의 promotion과 progression 단계에서 필수적으로 일어나는 현상으로 cell proliferation을 촉진시키는 요인은 대장암 발생을 촉진시키는 인자로 간주할 수 있다. 식이지방이 대장점막의 cell proliferation에 미치는 영향을 살펴보면 Table 2와 같다. Crypt length와 crypt circumference로부터 계산된 crypt당 총 세포수는 대조군과 DMH 처리군 모두 식이지방에 의한 영향이 뚜렷하여 PO군이 CO군에 비해 유의성 있게 적었다($p < 0.05$), Proliferation 정도를 나타내는 labeling index와 proliferative zone(PZ)도 식이지방에 의한 영향이 뚜렷하여 PO군에서 유의성 있게 낮았다.

DMH 처리는 CO군과 PO군 모두에 영향을 미쳐 crypt length의 증가와 labeling index나 PZ가 확대되어 cell proliferation을 촉진시키는 것으로 나타났다 (Fig. 1). Crypt당 총 세포수는 대조군에서는 550개에서 640개의 범위였으나 DMH처리후에는 770개에서 1,020개 범위로 증가되었으며 특히 CO군에서는 약 60%가 증가되어 40%의 증가에 그친 PO군과 유의성있는 차이를 보였다.

각 crypt를 4등분하여 밑에서부터 1/4 quarter씩 나누어 각각 Q1, Q2, Q3, Q4라고 명명하여 각 quarter에서 labeling index를 관찰해 봄으로써 cell proliferation의 경향을 살펴볼 수 있는데 발암원을 투여하지 않았을 때는 CO군과 PO군 모두 Q1과 Q2에 해당되는 부분에서만 label된 세포가 관찰되었으나 DMH처리에 의해서는 PZ가 확장되어 Q3범위에서 label된 세포가 관찰되었다(Table 3). 식이지방은 PZ의 확장범위에도 영향을 미쳐 Q3에서 label된 세포가 PO군은 11.6%인 반면 CO군은 33.8%로 PO군보다 약 3배정도 높았다.

20주간 실험식이를 먹이 후 식이지방과 발암원의

투여 여부가 cell kinetic index에 미치는 영향을 종합해 보면 식이지방에 의한 효과가 뚜렷하여 CO군이 PO군 보다 모든 cell kinetic index가 높은 것으로 나타났으며 DMH처리는 식이지방의 종류와 관계없이 cell kinetic index를 유의성있게 증가시켰다.

2) 대장점막 phosphatidyl inositol의 지방산 조성

서로 다른 종류의 식이지방이 대장점막 PI의 지방산 조성에 미치는 영향을 살펴보면(Table 4), 식이를 구성하는 지방산이 잘 반영된 것을 관찰할 수 있다. 대조군에서는 n6 C18 : 2와 C20 : 4 함량이 CO군에서 높았으나 유의성은 없었으며 n3 C18 : 3은 CO군에서는 검출이 되지 않은 반면 PO군에서는 약 18%정도로 높게 나와 식이지방에 의한 효과가 뚜렷하였다. 발암원인 DMH 처리에 의해서는 두 군 모두 C20 : 4의 함량이 증가하였는데 PO군에서는 0.15%에서 0.23%로 약 1.5배 증가한 반면 CO군에서는 0.19%에서 2.19%로 11.5배나 증가하였고, PO군에서는 C18 : 3이 유의성 있게 감소하였다.

3) 대장점막의 DAG 함량

대장점막 1,2-DAG 함량을 살펴보면 Fig. 2에서와 같이 식이지방과 DMH에 의해 뚜렷한 차이를 나타내었다. 식이지방에 의한 차이를 살펴보면 CO군이 PO군에 비해 1,2-DAG의 함량이 유의성 있게 높았으며 DMH처리에 의해서는 두 군 모두 유의성 있게 증가하였으며, 특히 CO군은 PO군의 2배수준으로 증가하여 뚜렷한 차이를 보였다.

4) 대장점막 TXB₂ 및 PGE₂ 수준

식이지방이 eicosanoid 생성에 미치는 영향을 Fig. 3에서 살펴보면 대조군에서는 PGE₂는 두 군간에 큰 차이를 보이지 않은 반면 TXB₂는 CO군이 PO군보다 2.5배 이상 높았다. DMH 처리 후에는 CO군에서는 PGE₂가 크게 증가하여 약 1.9배 증가하였고 PO군에서는 TXB₂가 1.7배 증가하여 전체적으로 보면 PO군이 CO군에 비해 eicosanoid이 함량이 낮았다.

역학 연구에 의하면 지방의 섭취량 증가할수록, 대장암 발생률이 증가하였다.^{19,20)} 동물실험에서도 저지방식이에 비해 고지방식은 종양의 발생을 촉진하였으나 어유에 많이 함유된 n3계 지방산에 의해서는 대장암을 억제하는 효과가 있었으나,^{21,22)} 들기름의 α -linolenic acid는 세포내에서 eicosanoic acid (EPA)나 docosahexanoic acid (DHA)로 전환되어 어유와 유사하게 대장암 발생을 억제하는 효과를 보였다.^{23,24)} 식이지방은 직접적인 발암물질이기보다는 종양의 생성이나 성장에 좀 더 적합한 환경을 제공하여 암의 발달과정에 영향을 준다고 하였으나 그 이전에 대해서는 아직 확실하게 밝혀지지 않았지만 대장점막의 지방산 조성에 영향을 미쳐 종양생성에 영향을 주는 것으로 보인다.

대장점막 PI의 지방산조성을 살펴보면 (Table 2) n6 계열의 C18 : 2와 C20 : 4 함량은 CO군에서 높았고 n3계열의 C18 : 3은 CO군에서는 검출이 되지 않은 반면 PO군에서는 약 18%정도로 높게 나와 식이지방에 의한 효과가 뚜렷하였다. 따라서 식이지방은 대장점막 PI의 지방산조성에 직접적인 영향을 미치는 것으로 사려된다. 발암원인 DMH 처리에 의해서는 두 군 모두 C20 : 4의 함량이 증가하였는데 특히 CO군에서는 0.19%에서 2.19%로 높은 수준으로 증가되었으며(P<0.05), PO군에서는 C18 : 3이 유의성 있게 감소하였다. Hirose등²³⁾의 연구에 의하면 들기름의 α -linolenic acid는 EPA나 DHA로 전환되어 암의 발생을 억제하였을 것이라고 하였다. 그러나 본 연구에서는 대장점막 PI에서 α -linolenic acid의 DHA로의 전환이 활발하게 일어나지 않았는데 들기름의 α -linolenic acid는 C20 : 5로 전환은 어느정도 되기는 하나 C20 : 5 이후로의 전환은 매우 느려 체내 축적은 미약하였다고 사료되며 α -linolenic acid가 linoleic acid와 Δ 5와 Δ 6-desaturase에 경쟁적으로 작용하여 linoleic acid(LA)가 AA로 전환되는 것을 방해함으로써 AA의 생성을 억제한 것으로 보인다.

식이지방과 암발생과의 관계에 대한 Lee등²⁵⁾의 보고에 의하면 발암원으로 처리하지 않은 정상쥐에게 쇠기름이나 옥수수기름을 투여했을 때 어유에 비해 대장점막 C20 : 4의 분포가 높았으며 동시에 PGE₂수준도 높게 나타났다. 또한 종양발생의 전단계로 간주되는 cell proliferation은 인지질이이나

고 찰

DAG의 AA와 PGE₂ 농도와 높은 정의 상관관계를 보였다. 들기름을 투여하였을 때 간이나 혈액에서 PGE₂ 농도가 감소되었다는 보고는 있었으나,^{23,26)} 종양이 발생하는 대장점막에서 분석이 되어있지 않아 본 연구에서는 종양발생을 예측하는 중요한 biomarker인 TXB₂와 PGE₂ 생성정도를 대장점막에서 측정하여 세포막 PI의 지방산조성과 연관시켜 살펴보았다 (Table 5). 식이의 α -linolenic acid 함량은 PI의 C20 : 4와 역의 상관관계를 보였고 C18 : 3과 C20 : 5와는 높은 정의 상관관계를 나타내었다. PI의 C20 : 4는 대장점막 TXB₂와 유의성있는 정의 상관관계를 보였으며 C18 : 3과 C20 : 5는 TXB₂와 PGE₂와 역의 상관관계를 보였다. 그러므로 본 연구결과를 살펴볼 때 들기름의 α -linolenic acid는 대장점막의 C18 : 3과 C20 : 5 분포를 증가시켜 TXB₂와 PGE₂의 생성을 감소시킨 것으로 보이며, 대장점막 C18 : 3분포와 eicosanoid의 함량과 유의성있는 역의 상관관계를 나타낸 것으로 보아 단순히 C18 : 3이 대장점막에 유입된 AA 분포를 억제하는 것 이외에도 조직내에서 eicosanoid생성에 직접적인 영향을 미쳤을 가능성도 있는 것으로 사려된다.

식이지방은 인지질의 대사산물인 DAG 함량에도 영향을 미쳤는데 DAG는 protein kinase C (PKC)를 활성화시켜 cell proliferation activity를 증가시킨다고 하였다.²⁷⁾ Fig. 2에서 식이지방이 DAG의 함량에 미치는 영향을 살펴보면 PO군은 CO군에 비해 DAG함량이 유의성 있게 낮았으며 DMH 처리에 의해서는 두 군 모두 유의성 있게 증가하였다. Choe 등²⁸⁾은 고지방식을 투여한 쥐에서 DAG함량의 증가와 함께 PKC의 활성이 증가된 것을 관찰하였으며, Friedman 등²⁹⁾도 종양조직을 배양한 실험에서 DAG는 cell proliferation을 증가시켰다고 하였다. 본 연구에서도 DAG 함량이 cell proliferation에 미치는 영향을 관찰하기 위해 DAG 함량과 crypt length와의 상관관계를 살펴본 결과 정의 상관관계를 나타내었다(Fig. 4). 그러므로 본 연구에서 다른보고²⁹⁾와 일치되게 DAG 함량의 증가는 cell proliferation을 촉진시켰다.

대장암 발생과정에서 cell proliferation의 증가는 암발생의 개시, 촉진, 진전과정에서 필수적으로 일어나는 과정으로 cell proliferation을 촉진시키는 요인은 대장암 발생을 촉진시키는 것으로 간주하였다.¹⁴⁾ Cell cycle 중 S-phase에 있는 세포수가 증

가하거나 S-phase의 기간이 늘어나면 DNA합성이 증가하고 세포분열이 활발히 일어나서 crypt에서 생산되는 세포수가 대장관내로 탈락되는 세포수보다 증가되어 crypt의 크기가 비정상적으로 길고 넓어지며 분화 및 성숙이 안되고 종양으로 진전된다. 따라서 이러한 세포증식의 상태가 대장암 발생을 예측하는 biomarker로 사용되고 있다. 송등³⁰⁾의 보고에 의하면 발암원인 MNU를 투여한 쥐에게 지방을 16% (w/w) 수준으로 주었을 때 들기름에 비해 쇠기름에 의해서 종양발생 빈도가 높았으며, 이 때 crypt length도 쇠기름에 의해서 유의성있게 증가하였다. 이 연구³⁰⁾에서 crypt length의 증가는 종양발생과 밀접한 연관이 있으며 식이지방에 의해 영향을 받는다는 것을 보여주었다. 또한 Kim 등³¹⁾의 보고에 의하면 발암원으로 처리하지 않았을 때도 쇠기름은 어유에 비해 crypt를 더 많이 자극하여 crypt length가 증가된 것을 관찰하였다. 본 연구에서 식이지방의 종류가 cell kinetic index에 미치는 영향을 살펴보면(Table 2) 식이의 지방산 조성이 cell kinetic index에 큰 영향을 미친 것으로 나타났다. 대조군에서는 CO군과 PO군이 crypt length에 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며 DMH 처리군에서는 두 군 모두 유의성 있게 증가되었다. DMH 처리군에서 PO군은 대조군에 비해 21%가 증가한 반면 CO군은 40%가 증가하여 CO군이 발암물질에 의해서 더욱 민감한 반응을 나타낸 것으로 사려된다. Proliferation 정도를 나타내는 labeling index와 proliferative zone도 CO군이 PO군에 비해 유의성 있게 높았으며, DMH 처리는 CO군과 PO군 모두에 영향을 미쳐 labeling index나 PZ의 확대를 가져와 cell proliferation을 촉진시키는 것으로 나타났다. 각 crypt를 4등분하여 각 quarter에서 labeling index를 관찰해 봄으로써 cell proliferation의 경향을 살펴볼 수 있는데 발암원을 투여하지 않았을 때는 CO군과 PO군 모두 Q1과 Q2에 해당되는 부분에서만 label된 세포가 관찰되었다(Table 3). PZ의 확장범위에서도 식이지방에 의한 영향을 관찰할 수 있었는데 DMH처리에 의해 Q3범위까지 PZ가 확장된 경우 label된 세포가 PO군은 11.6%인 반면 CO군은 33.8%로 PO군보다 약 3배정도 높았다.

본 연구에서는 linoleic acid의 함량이 많은 옥수수유와 α -linolenic acid의 함량이 풍부하면서 한국인이 고유하게 섭취하고 있는 들기름을 장기간 투

여 (20주)하면서 대조군과 발암물질 처리군에서 대장점막의 지방산 조성과 DAG의 함량 및 cell proliferation의 변화를 관찰 한 결과들을 종합해 보면 들기름에 함유된 α -linolenic acid는 대장점막 PI에서 지방산조성에 영향을 미쳐 arachidonic acid 분포를 감소시키고 eicosanoid와 DAG의 생성을 감소시켰으며 이로 인해 대장점막의 crypt가 비정상적으로 길어지고 확장되는 것을 억제한 것으로 사려되나, 들기름이 암의 발생에 미치는 기전에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 본다. 본 연구에서는 CO군은 DMH처리군에서 arachidonic acid나 DAG의 생성이 PO군에 비해 큰 것으로 나타났으며 ($p < 0.05$), 이로 인해 대장점막의 hyperproliferation을 가져온 것으로 사려된다. 따라서 식생활에서 옥수수유와 함께 들기름도 함께 사용하는 것이 대장암 발생을 억제하는데 도움이 될 것으로 사려되며 들깨나 들기름을 이용한 다양한 조리법의 개발도 필요한 것으로 본다.

요약 및 결론

본 연구에서는 식이지방 조성과 발암물질 투여가 대장 암화과정의 주요 biomarker인 PI의 지방산 조성, PGE_2 , TXA_2 와 DAG의 생성에 미치는 영향을 살피기 위해 n3 α -linolenic acid가 풍부한 perilla oil (PO)과 n6 linoleic acid가 높은 corn oil (CO)(C18 : 3)이 첨가된 식이를 20주동안 먹여 식이지방 조성과 발암물질 투여 여부에 따른 효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 식이지방에 의한 영향을 살펴보면 CO에 비해 PO에 의해서 대장점막의 세포증식을 유의하게 낮추었으며 (labeling index, proliferating zone, crypt length), PI의 C20 : 4 함량(%), DAG, TXB_2 , PGE_2 의 농도가 더 낮았다 ($p < 0.05$).

2) DMH 투여는 세포증식을 촉진시켰으며 PI의 C20 : 4 함량(%), DAG, TXB_2 , PGE_2 의 농도를 유의하게 증가시켰으며 PO에 비해 CO에서 더 뚜렷하게 증가하였다.

결론적으로 들기름의 함유된 α -linolenic acid는 대장점막 PI에서 지방산조성에 영향을 미쳐 arachidonic acid분포를 감소시키고 eicosanoid와 DAG의 생성을 감소시켜 대장점막의 crypt가 비정상적으로 길어지고 확장되는 것을 억제한 것으로 사려

된다. CO군은 DMH 처리군에서 arachidonic acid나 DAG의 생성이 PO군에 비해 큰 것으로 나타났으며 ($p < 0.05$), 이로 인해 대장점막의 cell proliferation이 더욱 촉진된 것으로 사려된다. 따라서 식생활에서 옥수수유와 함께 들기름도 함께 사용하는 것이 대장암 발생을 억제하는데 도움이 될 것으로 사려되며 들깨나 들기름을 이용한 다양한 조리법의 개발도 필요한 것으로 본다.

참 고 문 헌

- 1) Wynder EL. Amount and type of fat/fiber in nutritional carcinogenesis. *Prev Med* 1987; 16: 451-459.
- 2) Weisburger JH, Wynder EL. Etiology of colorectal cancer with emphasis on mechanism of action. In: Important advances in oncology. De Vita Jr. VT, Hellman S. Rosenberg SA. editors, J.B. Lippincott, Philadelphia PA. 79-92, 1987.
- 3) 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* 1986; 77: 815-822.
- 4) Jain M, Cook GM, Davis FG, Grace MH, Howe GR, Miller AB. A case-control study of diet and colorectal cancer. *Int J Cancer* 1980; 26: 757-768.
- 5) Stemmerman GN, Nomara AMY, Heibrun LK. Dietary fat and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1984; 44: 4633-4637.
- 6) Locniskar M, Nauss KM, Newberne PM. Effect of colon tumor development and dietary fat on the immune system of rats treated with DMH. *Nutr Cancer* 1986; 8: 78-84.
- 7) Minoura T, Takada T, Sakaguchi M, Takada H, Yamamura M, Hioki K, Yamamoto M. Effects of dietary eicosapentaenoic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Res* 1988; 48: 4790-4794.
- 8) Reddy Bs, Maruyama H. Effect of dietary fish oil on azoxymethane induced colon carcinogenesis in male F344 rats. *Cancer Res* 1986; 46: 3367-3370.
- 9) Reddy Bs, Sugie S. Effect of different levels of Omega-3 and Omega-6 fatty acids on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 1985; 75: 791-798.
- 10) Yamaguchi A, Ishida T, Nishimura G, Katoch M, Miyazaki I. Investigation of colonic prostaglandins in carcinogenesis in the rat colon. *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 572-576.
- 11) Bennett A, Del Tacca M, Stamford IF, Zebro T. Prostaglandins from tumours of human large bowel. *Br J Cancer* 1977; 35: 881-884.

- 12) Narisawa T, Sato M, Tani M, Kudo T, Takahashi T, Goto A. Inhibition of development of methylnitrosourea-induced rat colon tumors by indomethacin treatment.
- 13) Lecal JC, Moscat J, Aaronson SA. Novel source of 1, 2-diacylglycerol elevated in cells transformed by Ha-ras oncogene. *Nature* 1987; 330: 269-272.
- 14) Butterworth BE, Goldsworthy TL. The role of cell proliferation in multistage carcinogenesis. *Cell Proliferation* 1991; 37: 683-687.
- 15) Schutte B, Reynders MMU, Bosman FR, Blijham GH. Studies with anti-bromo-deoxyuridine antibodies II: simultaneous immunocytochemical detection of antigen expression and DNA synthesis by in vivo labeling of mouse intestinal mucosa. *J Histochem Cytochem* 1987; 35: 371-374.
- 16) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917
- 17) Skipsik VP, Peterson RF, Bardsy M. *Biochem J* 1964; 90: 374.
- 18) 김채중, 박현서. Dimethylhydrazine을 투여한 쥐에서 한국인이 섭취하는 혼합지방이 조직의 지방산조성과 Eicosanoids 수준에 미치는 영향. *한국지질학회지* 1994; 4(2): 170-181.
- 19) Wynder EL. The epidemiology of large bowel cancer. *Cancer Res* 1974; 35: 3388-3394.
- 20) Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* 1975; 15: 617-631.
- 21) Roebuck BD, Yager JD Jr, Longnecker DS, et al. Promotion by unsaturated fat of azaserine-induced pancreatic carcinogenesis in the rat. *Cancer Res* 1981; 41: 3961-3966.
- 22) Reddy Bs, Tanaka T, Simi B. Effect of different levels of dietary trans fat or corn oil on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 1985; 75: 791-798.
- 23) Hirose M, Masuda A, Ito N, Kamano K, Okuyama H. Effect of dietary perilla oil, soybean oil and safflower oil on 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine(DMH)-induced mammary gland and colon carcinogenesis in female SD rats. *Carcinogenesis* 1990; 11(5): 731-735.
- 24) Narisawa T, Takahashi M, Kotangi H, Kusaka H, Yamazaki Y, Koyama H, Fukaura Y, Nishzawa Y, Kotsugai M, Isoda Y, Hirano J, Yanida N. Inhibitory effect of dietary perilla oil rich in the n-3 polyunsaturated fatty acid, α -linolenic acid on colon carcinogenesis in rats. *Jpn J Cancer Res* 1991; 82: 1089- 1096.
- 25) Lee D-Y K, Lupton JR, Aukema HM, Chapkin RS. Dietary fat and fiber alter rat colonic mucosal lipid mediators and cell proliferation. *J Nutr* 1993; 123: 1808-1817.
- 26) Kwak C, Choi H. Effects of intake of perilla oil or corn oil and 2-acetyl-aminofluorene treatment on lipid peroxidation, PGE₂ and TXB₂ productions in rats. *Korean J Nutr* 1992; 25: 351-359.
- 27) Weitzman SA, Weitberg AB, Clark EP, Stossel TP. Phagocytes as carcinogens: malignant transformation produced by human metrophils. *Science* 1985; 277: 1231-1233.
- 28) Choe M, Kris ES, Luthra R, Copenhaver J, Pelling JC, Donnelly TE, Brit DF. Protein kinase C is activated and diacylglycerol is elevated in epidermal cells from Sencar mice fed high fat diets. *J Nutr* 1992; 122: 2322-2329.
- 29) Friedman E, Isaksson P, Rafter J, Marian B, Winawer S, Newmark H. Fecal diacylglycerides as selective endogenous mitogens for premalignant and malignant human colonic epithelial cell. *Cancer Res* 1989; 49: 544-548.
- 30) 송지현, 박현서, 서은숙, 김동연, 발암원을 투여한 쥐에서 식이지방이 대장의 종양발생과 세포증식에 미치는 영향. *한국영양학회지* 1984; 27(6): 552-562.
- 31) Kim DY. Modulation of biomarkers of colon carcinogenesis by dietary fiber and fat. Doctoral dissertation. Texas A & M University, May, 1992.

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Experimental diets	
	Corn oil diet	Perilla oil diet
Corn starch	54.0	54.0
Casein	22.0	22.0
Fat corn oil	15.0	-
perilla oil	-	15.0
α -Cellulose	3.5	3.5
DL-Methionine	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2
Vitamin mix ¹	1.0	1.0
Mineral mix ²	4.0	4.0

¹Vitamin A and E were provided at the levels of 4800 IU and 180 IU per kg diet, respectively, ²AIN 76 mineral mixture

Fig. 1. Effect of different fats and DMH treatment on cell kinetic indices in distal colon. Mean±SE. bars sharing the common alphabet are not significantly different (p<0.05).

Fig. 2. Effect of DMH treatment on 1,2-diacylglycerol level of colonic mucosal in rats fed different dietary fats. Mean±SE. Bars sharing the common alphabet are not significantly different (p<0.05).

Fig. 3. Effect of different dietary fats on colonic mucosal

TXB₂ and PGE₂ in rats treated with or without DMH. Mean±SE. Bars sharing the common alphabet are not significantly different (p<0.05).

Fig. 4. Correlation between 1,2-diacylglycerol and crypt length of colonic mucosa in DMH-treated rats.

Table 2. Effect of dietary fats on cell kinetic indices in distal colon of rats treated with or without DMH

Cell kinetic indices	Experimental groups			
	Corn oil diet		Peilla oil diet	
	-DMH	+DMH	-DMH	+DMH
	cells		cells	
Crypt length	30.0±0.6 ^a	42.0±0.9 ^c	27.8±0.5 ^a	34.0±0.7 ^b
Circumference	21.5±0.4 ^{ab}	24.5±0.4 ^c	20.0±0.4 ^a	22.8±0.4 ^{b^c}
Total cells/crypt	644.0±7.8 ^b	1027.5±11.8 ^d	557.0±16.4 ^a	776.2±19.3 ^c

Mean±SE, N=6. Means sharing common superscripts in the same row are not significant at p<0.05.

Crypt length= total number of cells in each crypt

Total cells per crypt= crypt length×circumference

Table 3. Effect of dietary fats on the distribution of labeled cells in distal colon of rats treated with or without DMH

Labeling index in each quarter	Experimental groups			
	Corn oil diet		Perilla oil diet	
	-DMH	+DMH	-DMH	+DMH
	%	%	%	%
Q1	25.0±3.9 ^a	37.4±2.4 ^c	37.8±2.7 ^{ab}	33.8±2.4 ^{bc}
Q2	38.6±1.4 ^b	46.0±2.8 ^c	20.2±3.1 ^a	45.2±2.2 ^{bc}
Q3	0	33.8±1.8 ^b	0	11.6±0.4 ^a
Q4	0	0	0	0

Labeling index in each quarter of crypt was observed at 20 weeks.

Mean±SE, N=6. Means sharing common superscripts in the same row are not significant at p<0.05.

Table 4. Effect of dietary fats on fatty acid composition of phosphatidyl inositol of colonic mucosa in rats treated with or without DMH

Fatty acids	Corn oil diet		Perilla oil diet		P-value		
	-DMH	+DMH	-DMH	+DMH	Oil	DMH	DMHxOil
	%	%	%	%			
C16 : 0	27.22±0.58 ^b	22.83±2.56 ^a	20.14±0.58 ^a	20.18±0.47 ^a	NS	NS	NS
C18 : 0	20.97±2.11 ^b	9.21±1.70 ^a	8.21±1.21 ^a	9.44±0.53 ^a	0.003	0.003	<0.001
C18 : 1n9	26.40±3.20 ^a	35.66±2.47 ^b	35.30±0.89 ^b	40.00±0.48 ^b	<0.001	0.004	NS
C18 : 2n6	18.35±1.60 ^a	32.61±4.46 ^b	14.43±0.76 ^a	15.44±0.34 ^a	0.006	<0.001	<0.001
C18 : 3n3	ND	ND	18.55±1.63 ^b	12.63±0.70 ^a	0.052	0.004	0.004
C18 : 4n3	ND	ND	0.58±0.03 ^b	0.36±0.09 ^a	<0.001	0.043	0.043
C20 : 4n6	0.19±0.08 ^b	2.19±0.53 ^c	0.15±0.07 ^a	0.23±0.03 ^b	0.004	<0.001	0.001
C20 : 5n3	ND	ND	0.06±0.04 ^a	0.88±0.21 ^b	<0.001	0.002	0.002

Expressed as relative % of total fatty acids. Values are Mean±SE. N=5.

ND: not detected, NS: not significant

Means with different superscripts in the same column are significant at p<0.05.

Table 5. Correlation coefficient between phosphatidyl inositol fatty acids and colonic mucosal level of eicosanoids and dietary fatty acids

	TXB ₂	PGE ₂	Diet C18 : 2	Diet C18 : 3
Phosphatidyl inositol				
C18 : 2	-0.1516	-0.2307	0.8322*	-0.0959
C18 : 3	-0.3993*	-0.3352*	-0.3554*	0.9478**
C20 : 4	0.3322*	0.2419	-0.1058	-0.3437*
C20 : 5	-0.3654*	-0.3261*	-0.3019	0.8000**

*: Significant at $p < 0.05$, **: Significant at $p < 0.01$