

간세포 암화과정에서 Phytic Acid와 Inositol이 혈청 지질 농도 및 지질과산화물 형성에 미치는 영향

서울대학교 식품영양학과

이 해 정 · 정 희 경 · 최 혜 미

The Administration of Phytic Acid and Inositol Lowers Serum Triacylglycerol and Lipid Peroxidation in Rat Hepatocarcinogenesis

Hae-Jeung Lee, Hui-Kyung Jong and Haymie Choi

*Department of Food & Nutrition, Seoul National
University, Seoul 151-742, Korea*

Prevention of cancer by diet is considered as a rational strategy for chemoprevention. Phytic acid (inositol hexaphosphate, PA), a phytochemical present in a variety of plant species, has been shown to prevent various cancers of mammary gland, colon, and liver. However, the mechanism of chemoprevention by PA has not been fully elucidated. In the present study, we examined the serum lipid profile modulation and lipid peroxidation lowering effects of PA and/or inositol supplementation on rat hepatocarcinogenesis initiated by diethylnitrosamine (DEN) and promoted by partial hepatectomy (PH). Rats were supplemented with 2% PA, 2% inositol, or 1% PA+1% inositol combination in drinking water, starting one week prior to administration of DEN. There were a significant decrease in the area of placental glutathione S-transferase positive (GST-P+) foci, a preneoplastic marker for DEN-initiated hepatocarcinogenesis. The administration of PA and/or inositol in drinking water caused marked decrease in the serum triacylglycerol (TG) and liver microsomal lipid peroxidation. Based on these findings, it is likely that the chemopreventive effects of PA or inositol on rat hepatocarcinogenesis are partly associated with the serum TG lowering effects and suppression of lipid peroxidation.

Key Words: Hepatocarcinogenesis, Phytic acid, Inositol, Placental glutathione S-transferase positive foci, Triacylglycerol, Lipid peroxidation

서 론

의학의 발달로 대부분의 질병들은 치료가 가능

해졌으나 암은 아직도 불치의 병으로 남아 여전히 높은 사망률을 보이고 있다. 현재 한국 사회는 서구화된 식생활로 인해 암 발병 및 암으로 인한 사망이 증가하고 있다. 2003년 사망원인통계결과¹⁾에

의하면 암, 뇌혈관질환, 심장질환, 당뇨병으로 인한 사망자가 전체 사망자의 50.4%를 차지하고 있는데 그 중 암으로 인한 사망자는 전체 사망자의 24.4%로 사망원인 1위를 차지하였다. 이는 하루 평균 162명으로 지난 10년 전과 비교하면 18.3%나 증가되었다. 사람의 경우 암 발생의 80~90%는 환경인자에 기인하며²⁾ 암 발생의 20~40%가 식이 요인과 관련이 있으므로,³⁾ 식이 조절로 암 발생률을 감소시킬 수 있다.⁴⁾

지질 과산화물과 발암과 전이와의 관련성이 보고⁵⁾ 되었을 뿐 아니라 식이지방에 의해 증가된 지질과산화물은 세포손상을 유도하고 발암을 촉진한다는 연구⁶⁾가 보고되었다. 지질과산화물과 산소의 환원과정에서 생성될 수 있는 O², H₂O₂, ·OH 등이 막인지질의 불포화지방산을 공격하여 막의 고유성을 손상시키고, 단백질과 핵산을 공격하여 암의 개시 및 촉진을 유도한다.⁷⁾ 몇몇 효소와 항산화제인 비타민 E, C 및 A와 phytochemical이 유리라디칼 손상으로 부터 세포를 보호해 준다.⁸⁾ 이외에도 일상적으

로 섭취하는 식품 중에는 암화과정을 억제할 수 있는 여러 물질이 존재한다.

Inositol phosphates는 Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ 등과 결합하여 염 형태인 phytate로 식품 중에 존재(0.4~6.4%)하며 대두 단백질의 경우 phytate량은 2.58% 중량대비로 식물계에 널리 존재하는데 특히 곡류와 두류 및 견과류, 채종류에 존재한다.⁹⁾ Neo-, chiro-, and scyllo- inositol hexaphosphates (IP₆ or PA)은 토양에서 분리가 가능하고 주로 혼합물로 존재한다. 식물계에서의 PA는 항산화제 작용을 하며 씨앗을 보호하고 저장하는 기능을 한다. 특히 1,2,3-phosphate group은 철과 상호작용하여 ·OH생성을 막는다. PA는 활성 산소계로 매개되는 암화과정을 억제시키고 세포손상을 감소시킨다.⁹⁾

Inositol phosphates는 Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ 등과 결합하여 염 형태인 phytate로 식품 중에 존재(0.4~6.4%)하는 PA와 inositol은 세포의 세포전달과정, 증식과 분화에서 중요한 조절자로 작용할 뿐만 아니라 PA는 대장암, 유방암, 간암을 예방 및 억제할

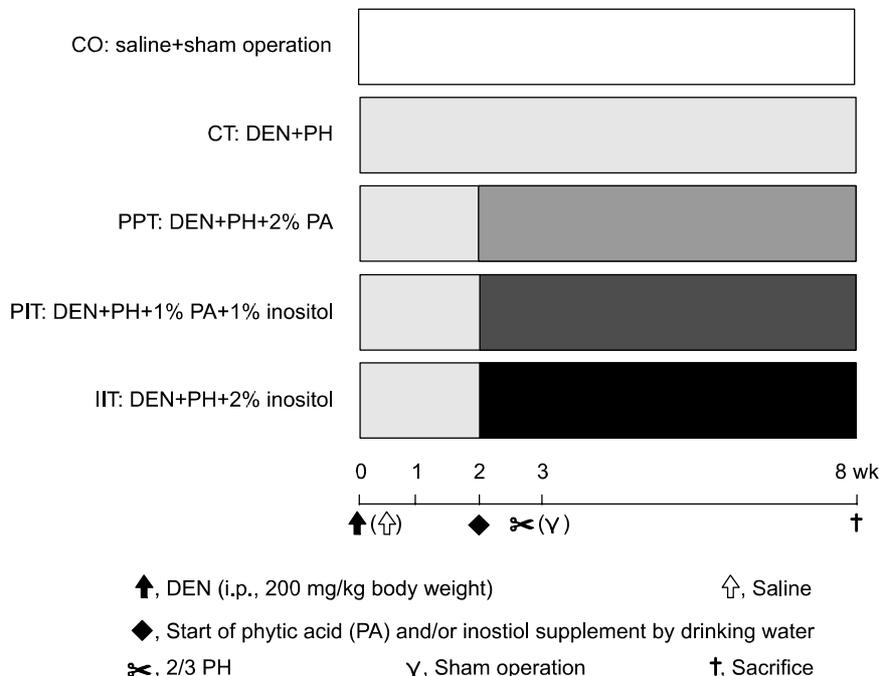


Fig. 1. Experimental protocol. Experimental liquids were administered for 6 wks: PPT (PA 2%), PIT (1% PA+1% inositol), and IIT (2% inositol). All except CO group rats received a single intraperitoneal injection of diethylnitrosamine (DEN), subjected to 2/3 partial hepatectomy (PH) at week 3, and sacrificed at week 8.

수 있다고 보고¹⁰⁾되어져 있는데 자연스럽게 발생되어지는 간암에 대한 연구는 미흡한 실정이다. PA의 항암작용 기작은 아직 완전히 알지는 못하나 항산화작용, 세포전달조절, 세포증식억제, 세포분화 유도, 면역기능의 향상에 기인할 것으로 보인다.¹⁰⁾ 이전의 보고에 의하면 PA와 inositol의 동시 공급에 의해 항종양효과를 상승시켜 각각 단독 공급시보다 종양억제 효과를 유의적으로 증가시켰다고 보고하였다.¹¹⁾

따라서, 본 연구에서는 Ito 등^{12,13)}의 중기 간암모델에 기초하여 암 개시세포가 생성된 후 PA와 inositol이 촉진 단계의 진행에 미치는 영향과 혈중 지질 농도 및 지질과산화물의 수준과의 관련성을 알아보고자 하였다. 또한 PA와 inositol의 동시 투여가 항암 효과를 상승시키는지 살펴보았다.

재료 및 방법

1) 실험 동물

4주령의 수컷 Sprague-Dawley계 랫드를 화학연구소에서 공급받아 사육환경에 적응시킨 다음, 6주령이 되었을 때 임의로 5군(12마리/group)으로 나누어 실험하였다. 실험시작은 DEN 주사를 시작점으로 하여 실험식은 실험시작 2주부터 제공하였다. DEN 투여 3주 후에 70% 간 부분절제수술을 실시하였고 8주 후에 모두 희생시켰다. 6주 동안 매일 식이섭취량과 음료섭취량을 측정하였다. 체중은 1주일에 한번 측정하였다. 이때 온도, 습도, 조명은 각 20±1°C, 55±1%, 7 : 00 ~ 19 : 00로 조절하였다.

2) 실험 식이 및 실험 설계

CO군을 제외한 실험군 쥐에 Ito 등^{12,13)}의 중기 발암유도모델을 사용하여 간 세포암을 유도시켰다. 실험 개시일에 강력한 발암개시제인 diethylnitrosamine (DEN)을 생리 식염수에 녹여 체중 kg당 200 mg수준으로 1회 복강주사하였고 실험개시 3주 후에 ketamine hydrochloride로 마취시켜 간의 좌우 중앙엽과 좌측 외엽을 절제하는 70% 간 부분절제수술(partial hepatectomy)을 실시하였다. 간세포 증식과 실험식이간의 상호작용을 극대화하기 위해 DEN투여 2주 후부터 6주 동안 실험 식이를 제공하였고 실험개시 8주 후에 모두 희생시켰다(Fig. 1).

실험식은 옥수수유가 15% (w/w) 포함된 중등 고지방식이에 PA와 inositol을 첨가하였다. 대조군의 실험식은 PA와 inositol을 제외시키고 공급하였으며 처리군으로 PA, PA+inositol, inositol은 간 부분절제 수술 1주 전에 각각 공급시켰다. PA와 inositol의 농도는 예비실험을 통하여 식이섭취량과 체중의 유의적 변화를 가져오지 않는 범위 내에서 조절하였다. PA 2%, inositol 2%, 그리고 PA 1%+inositol 1%를 각각 증류수에 녹여 pH 7.4로 맞추어 공급하였다. 쥐에게 섭취되어지는 PA (as dodecasodium salt from corn)의 final 농도는 1.4%이었다. 옥수수유는 롯데 삼강에서 one-batch로 기증받아 사용하였고 casein, α-cellulose, DL-methionine은 Sigma 제품을 사용하였으며 vitamin mixture, mineral mixture는 ICN제품을 사용하여 실험식을 공급하였다 (Table 1).

Table 1. Diet composition

Component	(g/100 g diet)
Casein	20.0
Corn starch	54.7
α-Cellulose	5.0
Vitamin mixture ¹⁾	4.0
Mineral mixture ²⁾	1.0
DL-methionine	0.3
Corn oil	15.0
PA or inositol ³⁾	-

¹⁾Nutritional biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland, Ohio. Vitamin mixture is composed of; vit. A (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, 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.

²⁾Composition of salt mixture, g/kg mixture: CaHPO₄ 500 g, NaCl 74 g, K₂SO₄ 52 g, potassium citrate monohydrate 220 g, MgO 240 g, manganese carbonate (43~48% Mn) 3.5 g, ferric citrate (16~17% 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.

³⁾Inositol phosphates (in drinking water, pH 7.4 adjusted): phytic acid (PA) 2%, PA 1%+ inositol 1%, inositol 2%.

3) 시료의 수집 및 전처리

12시간의 공복을 유지시킨 후 실험동물을 단두 하여 희생시켰다. 단두와 동시에 혈액을 일반 시험관에 취하여 실온에 보관하였다가 3,000 rpm에 20분간 원심분리하여 상층액인 혈청을 microtube에 나누어 담고 액체 질소로 급속 냉동시켜 -70°C에 보관하였다.

희생 직후 즉시 개복하여 간을 적출하고 차가운 생리 식염수로 세척한 다음 여과지로 수분을 제거한 후 간 전체 무게를 측정하였다. 면역조직화학적 검사를 수행하기 위해 전엽과 후엽에서 5 mm 두께의 절편을 취해 냉 아세톤 (4°C)에 고정시켰다.

시료분획을 위해 5~7 g의 간을 잘게 다진 후 균질용 용액(50 mM phosphate buffer) 약 25 ml에 넣고 4°C에서 균질화한 다음 고속 원심분리기에서 4°C, 1,000×g의 조건하에 10분간 원심분리 하였다. 그런 다음 윗 부분의 세포 조각들과 지방층이 섞이지 않도록 조심스럽게 중간층을 뽑아내어 초고속 원심분리기에서 4°C, 100,000×g의 조건 하에 1시간 동안 원심분리하여 세포질 분획(상층액)과 소포체 분획(아래 깔린 부분: pellet)을 얻었다. 소포체 분획을 조심스레 잘 옮겨서 균질용 용액(20% glycerol 154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA buffer, pH 7.4) 7 ml로 부유시켜 액체질소로 급속냉동하여 -70°C에 냉동보관하였다가 분석에 사용하였다. 모든 시료처리는 4°C 조건하에서 실시하였다.

4) 조직학적 검사

간 절제시 간 소엽을 각 2개의 장소에서 5 mm 두께로 잘라 냉아세톤에 넣어 고정시켰다. 하루내에 냉아세톤을 갈아주고 일주일마다 새로운 냉아세톤으로 갈아주었다. 염색을 하기 전에 xylene으로 제거하고 warm paraffin wax를 씌워 급냉하였다가 microtome으로 4µm 두께의 슬라이드를 2개 만들어 하나는 H&E염색¹⁴⁾을 하였고 나머지 하나는 면역염색을 하였다. 간조직내의 태반형 glutathione S-transferase (GST-P)양성 병소의 분포를 확인하기 위해 avidin-biotin-peroxidase-complex (ABC) 방법¹⁵⁾을 이용하여 면역조직화학적 염색을 하였다.

간절편을 붙인 slide의 paraffin을 xylene으로 녹여내고 농도하강순의 단계적 알콜 hydration과정을

거쳐 조직을 수화시킨 다음 증류수와 0.01 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 세척하였다. 비특이적 반응을 줄이기 위해 moisture chamber내에서 정상 산양혈청(1 : 5희석; 0.01 M PBS, pH 7.4)으로 처리한 다음 과잉의 수분을 제거하여 1차 항체인 rabbit anti-GST-P antibody (Medical and Biological Laboratories Co.)를 0.01M PBS에 1 : 1,000으로 희석하여 반응시켰고 H₂O₂-methanol 혼합액으로 처리하여 내재성 과산화수소의 활성을 제거하고 0.01 M PBS로 세척하였다. 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG와 avidin-biotin-peroxidase-complex (Vectastain Elite ABC kit, Vecta Laboratories, Inc.)를 순서대로 moisture chamber에서 반응시켰고 diaminobenzidine (DAB) 용액(0.02% w/v, 0.2 M Tris buffer, pH 7.6)과 H₂O₂를 첨가하여 정색반응을 일으켰다. 직경이 0.2 mm 이상인 GST-P 양성 병소의 면적을 원색 화상분석기(Cambridge Instruments, Quantiment 520)를 이용하여 측정하였으며 단위 면적(1 cm²)당 면적(mm²)으로 표시하여 비교하였다.

5) 생화학적 분석

(1) 혈청 지질 분석: 혈청의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 농도는 효소시약 kit (영동 제약, 한국)로 측정하였다. LDL 콜레스테롤 농도는 Friedwald 법¹⁶⁾ {LDL 콜레스테롤=총콜레스테롤-HDL 콜레스테롤-(중성 지방/5)}을 이용하여 계산하였다.

중성지방은 glycerol phosphate oxidase-para amino phenazone (GPO-PAP)법을 이용한 kit로 측정하였다. 중성지방이 lipase, glycerol kinase, glycerol phosphate oxidase의 다단계 효소반응을 거쳐 H₂O₂와 dihydroxyacetone phosphate로 분해되면 여기에 peroxidase, 4-aminoantipyrine, N-ethyl-N-2-hydroxy-3-sulfopropyl-3-methylamylin, sodiumsalt hydrate (TOOS)를 동시에 반응시켜 산화적 축합반응으로 생성된 적색 퀴논(quinoneimine dye)을 546 nm에서 비색 정량하였다.

총 콜레스테롤은 cholesterol oxidase효소법을 이용한 kit로 측정하였다. Cholesterol ester hydrolase와 cholesterol oxidase에 의해 생성된 H₂O₂에 hydrogen peroxide, 4-aminoantipyrine, phenol의 3가지 화합물

을 결합시켜 산화 축합반응으로 생성된 퀴논을 500 nm에서 비색 정량하였다.

HDL 콜레스테롤은 침전시약(dextran sulfate+magnesium sulfate)을 넣고 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 LDL과 VLDL을 침전시킨 후 상층액을 이용하여 콜레스테롤과 같은 방법으로 그 함량을 측정하였다.

(2) 간 소포체의 과산화물 측정: 소포체 분획의 지질 과산화물 함량은 Buege 등¹⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다. 0.1~0.2 mg/ml의 protein을 함유한 microsomal suspension을 1.0 ml 취하여 2 ml의 TCA-TBA-HCl (15% w/v trichloroacetic acid, 0.375% w/v thiobarbituric acid, 0.25N hydrochloric acid)와 잘 섞은 후 15분간 boiling water bath에서 반응한 후 상온으로 냉각시킨다. 1,000×g 10분 동안 원심분리시켜 핑크빛의 상층액을 뽑아서 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 농도계산은 $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ extinction coefficient를 사용하여 TBARS의 농도를 측정하였다.

(3) 단백질 함량 측정: 혈청과 소포체의 단백질 함량은 Lowry 등의 방법¹⁸⁾을 이용하여 측정하였고 표준용액으로 bovine serum albumin을 사용하였다.

5) 통계방법

실험결과는 SAS package 8.1를 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고, 각 군의 수가 일치하지 않으므로 GLM test하였다. LSMEANS 방법을 이용하여 각 군간의 평균값이 차이가 있는

지 검증하고, 검정에 대한 유의확률은 PDIFF옵션을 사용하여 구하였다. 실험결과에 대한 유의확률이 $p < 0.05$ 일 때 의미가 있는 것으로 보았다.

결 과

1) 전암성 병변

DEN과 PH을 실시한 모든 군에서 전암성 병변의 지표인 GST-P+ foci가 발견되었다. PA와 inositol

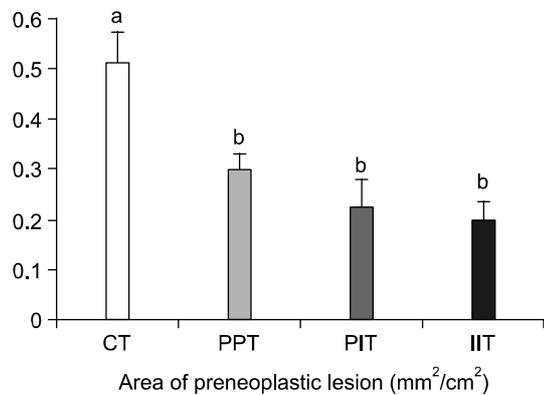


Fig. 2. The effect of additional phytic acid (PA) and/or inositol on the area of GST-P+ foci in rats treated with DEN and subjected to partial hepatectomy. CT, carcinogen treated; PPT, carcinogen treated +2% PA; PIT, carcinogen treated +1% PA+1% inositol; IIT, carcinogen treated +2% inositol. Values are mean±SE. Means with the different subscripts (a, b) are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of PA and/or inositol on the total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triacylglycerol in rat hepatocarcinogenesis

Group (number of rats/group)	Total cholesterol	HDL cholesterol	LDL cholesterol	Triacylglycerol
CO (10)	190.4±3.23 ^{ns}	12.8±0.30 ^{ns}	166.1±2.30 ^{ns}	57.6±0.32 ^a
CT (8)	227.2±2.16	11.2±0.81	199.5±1.76	69.8±0.85 ^b
PPT (8)	191.1±2.16	12.3±0.07	169.1±1.51	48.5±0.75 ^{ac}
PIT (8)	200.4±2.16	13.5±0.01	176.7±1.83	51.2±0.47 ^{ac}
IIT (8)	213.3±1.90	12.7±0.02	182.5±1.07	45.3±0.39 ^c

CO, control with saline and sham operation; CT, carcinogen; PPT, carcinogen+2% PA; PIT, carcinogen+1% PA+1% inositol; IIT, carcinogen +2% inositol.

Values are mean±SE. Values with the different superscripts (a, b, c) are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

을 공급한 모든 군에서 GST-P+ foci의 면적이 발암군에 비해 유의적으로 감소되었으나 PA와 inositol을 함께 또는 각각 공급한 군들 사이에서는 유의적 차이는 보이지 않았다. 본 실험에서는 PA와 inositol의 동시공급에 의한 유의적 상승효과는 없었다(Fig. 2).

2) 혈중 지질 농도

PA와 inositol을 공급한 군에서 total cholesterol의 농도는 감소하는 듯 보였으나 통계적인 유의성은 없었으며 HDL-cholesterol의 농도는 증가하는 듯 보였으나 유의적 차이는 없었다. 중성지질의 농도는 PA와 inositol의 공급에 의해 유의적으로 감소하였다. 전암성 병변과 혈중 중성지질 농도는 유의적인 양의 상관관계($r=0.51, p<0.05$)을 보였다(Table 2).

3) 지질 과산화

간 소포체 막의 지질과산화 정도를 측정된 결과, PA와 inositol의 공급에 의해 유의적으로 감소하였다. DEN과 PH에 의해 증가된 전암성 병변의 면적과 TBARS 함량은 유의적 상관성($r=0.67, p<0.01$)을 보였다(Fig. 3).

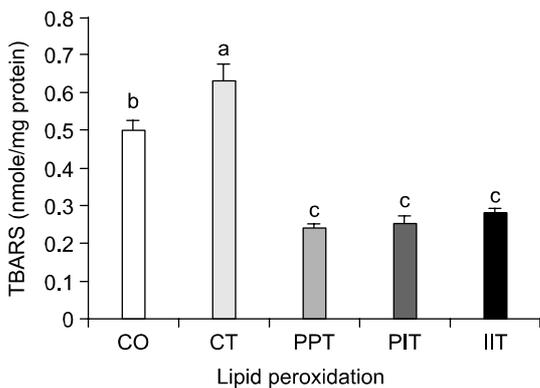


Fig. 3. The effect of additional phytic acid (PA) and/or inositol on lipid peroxidation in rats treated with DEN and subjected to partial hepatectomy. CT, carcinogen treated; PPT, carcinogen treated +2% PA; PIT, carcinogen treated +1% PA+1% inositol; IIT, carcinogen treated +2% inositol. Values are mean±SE. Means with the different subscripts (a, b, c) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

고 찰

간세포 암화과정에 미치는 영향을 알아보기 위해 예비실험으로 PA의 공급형태를 살펴본 결과, 염의 형태(phytate as dodecasalted form)로 식이에 공급해 주는 것보다 음료에 타서 pH를 7.4로 맞추어 공급하는 것이 전암성 병변의 억제 효과가 두드러졌기에 본 실험에서도 PA와 inositol을 음료에 타서 전암성 병변의 촉진 억제 효과를 살펴보았다. 동시에 전암성 병변과 혈중 지질 농도 및 지질과산화물 수준도 측정하여 서로의 상관성을 살펴보았다.

동물실험을 이용한 암에 관한 PA의 효과는 여러 연구자들에 의해 연구되어졌다. 서구에서 발병률이 낮은 간암에 대한 연구는 간암의 발병이 높은 한국을 비롯한 아시아 국가에서 많이 실행되어져 왔으나 PA가 간암에 미치는 영향에 관한 연구가 적을 뿐 아니라 본 실험 모델을 이용한 연구결과 보고는 없는 실정이다. 본 실험모델은 자연적으로 일어나는 간암과 유사하게 암이 진행되도록 고안된 medium term bioassay로 잘 정립되어진 모델이다. 간세포 암화과정에서 전암성 병변의 marker인 GST-P+ foci는 평균지름이 0.2 mm 이상인 경우에 암으로의 진행되는 상관성이 높기에 평균지름이 0.2 mm 이상인 foci만을 측정하였다.¹⁹⁾ 다른 연구와 마찬가지로 간세포 암화과정을 PA와 inositol이 억제시킴을 확인하였다.

간 조직 H&E 염색을 하였을 때 발암처리에 의해 증가된 간조직내 지방구가 PA와 inositol의 6주간의 공급에 의해 현저히 감소되었음을 관찰하였다(dada not shown). 혈중 지질 농도 변화를 측정된 결과, 혈중 중성지질의 농도가 유의적으로 감소되었는데 이 결과는 PA의 항종양 효과와 지질 농도에 관한 연구 결과를 발표한 Jariwalla의 보고²⁰⁾와 일치하나, Jariwalla는 고 콜레스테롤 식이를 공급하였기에 혈중 콜레스테롤 농도도 감소되었으리라 사료된다. 또한 Tetsuyuki²⁰⁾는 inositol과 PA가 쥐간의 지질농도 감소와 지질합성효소의 활성을 감소시켰음을 보고하였다. Hirose 등^{22,23)}은 rat carcinoma의 촉진에 대해 Male F344을 dimethyl-4-hydroxyethylnitrosamine (DMBA)을 이용하여 발암을 유발시킨 뒤 PA의 공급하여 간암이 억제되었음을 보고하였으며,

Vucenik 등¹⁰⁾의 간암 치료연구에서 PA가 간세포의 증식능력을 억제시키는 것을 보고하였다.

또한 DEN의 처리에 의해 reactive oxygen species (ROS)의 생성 및 lipid peroxidation이 유발되었다는 연구²⁴⁾가 보고되었으며, 가장 최근의 논문²⁵⁾에 의하면 DEN주사 후 PH를 실시한 쥐에서 TNF- α 의 발현에 의해 ROS 수준이 증가되고 이것에 의해 산화적 스트레스가 증가되어 간암에 걸릴 수 있다는 내용이 보고되었다. 지질과산화는 대장암뿐만 아니라 여러 암의 발암과정에 기여한다는 연구가 발표되었다.²⁶⁾ Muraoka와 Miura²⁷⁾는 PA가 xanthine oxidase을 억제하고 lipid peroxidation의 개시를 막음으로써 lipid peroxidation을 억제시킨다고 보고하였다. 따라서 발암처리에 의해 증가된 지질과산화도가 PA와 inositol에 의해 감소된 것은 PA의 항산화 능력에 의한 것으로 사료된다. Shamsuddin 등⁹⁾의 논문에 의하면 inositol은 생체 내에서 인산기가 추가되어 inositol 3-phosphate, inositol 4-phosphate, inositol 5-phosphate, phytic acid로 합성되어 질 수 있다는 것과 PA의 분해산물이 항산화 효과가 있다 것에 근거하면 inositol의 항산화 효과를 기대할 수 있으리라 사료된다. Inositol의 공급으로 백내장의 생성과 산화를 억제하였다는 결과²⁸⁾와 혈중 지질 농도를 감소²¹⁾시켰다는 보고는 이와 관련이 있으리라 사료되어 진다. 이상의 결과로 DEN처리와 PH을 실시에 의해 증가된 혈중 중성지방과 지질과산화물이 감소된 것은 간세포 암화과정의 촉진 단계를 억제하는데 기여했으리라 사료되어 진다.

결 론

쥐 간세포 암화과정의 phytic acid와 inositol의 공급은 전암성 병변의 형성을 억제시켰으며 혈중 중성지방과 과산화물 생성량과 양의 상관성을 보였다. 따라서 혈중 중성지방의 농도와 지질과산화물의 감소가 병변형성 억제에 부분적으로 기여했을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 서울대학교 생활과학 연구

소의 일부 연구비 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Korea National Statistical Office: The cause of death statistics (2001-2002) in 2003.
- 2) Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 1191-1308.
- 3) Ames NN, Gold LS, Willett WC. The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 5258-5265.
- 4) Kushi L, Giovannucci E. Dietary fat and cancer. *Am J Med* 2002; 30: 63S-670S.
- 5) Conklin KA. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integr Cancer Ther* 2004; 3: 294-300.
- 6) Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *CRC Crit Rev Toxicol* 1987; 1827-1879.
- 7) Skrzydlewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, Kanczuga-Koda L, Sulkowska M. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 403-406.
- 8) Lee KW, Kim YJ, Kim DO, Lee HJ, Lee CY. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 6516-6520.
- 9) Shamsuddin AM, Vucenik I, Cole KE. IP6: A novel anti-cancer agent. *Life Sci* 1997; 61: 331-343.
- 10) Vucenik I, Shamsuddin AM. Cancer inhibition by inositol hexaphosphate (IP6) and inositol: from laboratory to clinic. *J Nutr* 2003; 133(11s): 3778S-3784S.
- 11) Shamsuddin AM, Ullah A, Chakravarthy AK. Inositol hexaphosphate and inositol inhibit DMBA-induced rat mammary cancer. *Carcinogenesis* 1995; 16: 1055-1058.
- 12) 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 medium-term bioassay system. *Carcinogenesis* 1998; 9: 384-394.
- 13) Ito N, Imaida K, Hasegawa R, Tsuda H. Rapid bioassay methods for carcinogens and modifiers of hepatocarcinogenesis. *CRC Crit Rev Toxicol* 1989; 19: 385-415.
- 14) Bauer JD, Ackermann PG, Toro C. Method of tissue examination in clinical laboratory methods. *Mosby*

- 1974; 813-817.
- 15) Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580.
 - 16) Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifugation. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
 - 17) Buege JA and Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302-310.
 - 18) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
 - 19) Ito N, Tatematsu M, Hasegawa R, Tsuda H. Medium-term bioassay system for detection of carcinogens and modifiers of hepatocarcinogenesis utilizing the GST-P positive liver cell focus as an endpoint marker. *Toxicol Pathol* 1989; 17: 630-641.
 - 20) Jariwalla RJ. Inositol hexaphosphate (IP6) as an anti-neoplastic and lipid-lowering agent. *Anticancer Res* 1999; 19(5A): 3699-3702.
 - 21) Tetsuyuki K. Effects of dietary myo-inositol or phytic acid on hepatic concentrations of lipids and hepatic activities of lipogenic enzymes in rats fed on corn starch or sucrose. *Nutrition Res* 1997; 17: 721-728.
 - 22) Hirose M, Ozaki K, Takaba K, Fukushima S, Shirai T, Ito N. Modifying effects of the naturally occurring antioxidants gamma-oryzanol, phytic acid, tannic acid and n-tritriacontane-16, 18-dione in rat a wide-spectrum organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1917-1921.
 - 23) Hirose M, Fukushima S, Imaida K, Ito N, Shirai T. Modifying effects of phytic acid and -oryzanol on the promotion stage of rat. *Carcinogenesis* 1999; 19: 3665-3670.
 - 24) Roomi MW, Farber E, Parke DV. Changes in drug-metabolizing enzymes of rats in ciprofibrate-induced hepatic nodules. *Xenobiotica* 1997; 27: 951-960.
 - 25) Sanchez-Perez Y, Carrasco-Legleu C, Garcia-Cuellar C, Perez-Carreón J, Hernandez-Garcia S, Salcido-Neyoy M, Aleman-Lazarini L, Villa-Trevino S. Oxidative stress in carcinogenesis. Correlation between lipid peroxidation and induction of preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2005; 217: 25-32.
 - 26) Athar M. Oxidative stress and experimental carcinogenesis. *Indian J Exp Bio* 2002; 40: 656-667.
 - 27) Muraoka S, Miura T. Inhibition of xanthine oxidase by phytic acid and its antioxidative action. *Life Sci* 2004; 74: 1691-1700.
 - 28) Raj DG, Ramakrishnan S, Devi CS. Myoinositol and peroxidation an in vitro study on human cataract lens and human erythrocytes. *Indian J Biochem Biophys* 1995; 32: 109-111.