

## 대장암 세포주에서 Deoxycholate 노출 후 세포내 Glutathione S-Transferase의 변화

단국대학교 의과대학 외과학교실, <sup>1</sup>소화기연구센터, <sup>2</sup>핵의학교실

박동국 · 신지현<sup>1</sup> · 박석건<sup>2</sup> · 정선용<sup>2</sup>

= Abstract =

### Cytosolic Glutathione S-Transferase Change after Deoxycholate Exposure in Colon Cancer Cell Lines

Dong Kook Park, M.D., Ji Hyun Shin, M.D.<sup>1</sup> Seok Gun Park, M.D.<sup>2</sup>  
and Sun Young Cheung, M.D.<sup>2</sup>

*Department of Surgery, <sup>1</sup>Research center for Gastroenterology and  
<sup>2</sup>Nuclear Medicine, Dankook University College of Medicine*

**Purpose:** Bile acids (especially deoxycholate) was known to be toxic and mutagenic on colon epithelium. They proposed at least four mechanisms for the bile acid toxicity. It is the one of these mechanisms that bile acid inhibits the xenobiotic metabolizing enzyme activity (esp glutathione S-transferase, GST). So we measured the cytosolic GST level of colon carcinoma cell lines after deoxycholate exposure whether or not the deoxycholate lowered the cytosolic GST activity. **Methods:** Three colon cancer cell lines (LoVo, SW480, HT29) were used for this study. We calculated the cellular toxicity by MTS method. And cytosolic GST activity was measured according to the method as Habig described. For total GST activity, 2.5 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene was used for substrate, and measured as absorbance in 340 nm. **Results:** Basal cytosolic GST level for LoVo, SW480, HT29 cell line was  $514.59 \pm 27.01$ ,  $291.63 \pm 38.44$  and  $344.58 \pm 47.92$  nmol/min/mg cytosol protein. GST level did not changed significantly after 5 days culture without DCA. But GST level was decreased significantly to  $128.63 \pm 21.35$ ,  $134.33 \pm 41.76$  and  $163.10 \pm 22.73$  nmol/min/mg cytosol protein each cell line after 5 days deoxycholate exposure ( $p < 0.005$ ). **Conclusion:** Cytosolic GST level was lowered significantly after deoxycholate exposure for 5 days. One of the mechanisms of bile acid toxicity for colon cancer cell is proposed to inhibit cytosolic GST activity.

---

**Key Words:** Glutathione S-Transferase, Deoxycholate, Colon cancers

---

책임저자 : 박동국, 충남 천안시 안서동 산 29번지, 단국대학교 의과대학 외과학교실(우편번호: 330-714)  
(Tel: 0417-550-3931, Fax: 0417-561-4372, E-mail: dkpark@anseo.dankook.ac.kr)

\*이 논문은 98년 대한대장항문학회 추계 학술대회에서 구연하였음.

## 서 론

대장암은 동물성 지방의 함량이 많은 식사와 관계가 있으며 이는 음식의 고 함량의 지방이 대장에서 2차 담즙 산의 생산을 많게 하고 이 2차 담즙 산이 세포의 증식을 증가시켜 암화 과정에 관여하는 것으로 생각된다.

Cheah<sup>1</sup>에 의하면 대장암의 원인으로 가장 광범위하게 연구되는 요소들 중 담즙 산이 가장 강력한 요인이라고 하였다. 이 담즙 산 중 이차 담즙 산인 deoxycholic acid가 가장 심한 세포 손상을 주는 주 담즙 산이다. deoxycholic acid는 대변의 담즙 산의 약 52%를 차지하며<sup>2</sup> 이는 enterohepatic circulation으로 재 순환하기 때문에 담낭 내에는 약 20% 정도로 존재한다.

일차 담즙 산 및 이차 담즙 산이 독성 작용 및 변이 작용이 있다는 것은 잘 알려져 있다. 그러나 담즙 산의 작용기전은 아직 확실하게 알려져 있지 않으며 적어도 4개정도(하나 혹은 여러 개의 복합적으로)의 가능한 기전이 있을 것으로 보고되었다. 즉 첫째, 담즙 산이 Endoplasmic reticulum 으로부터 칼슘을 분비하도록 하여 Ca<sup>++</sup>/Mg<sup>++</sup> 의존성인 endonuclease를 활성화시키고 이것이 DNA에 손상을 준다는 것이다. 둘째, 담즙 산은 phospholipase C를 활성화시켜 세포막으로부터 arachidonate를 분비시키며 이 arachidonate가 lipoxygenase와 cyclooxygenase pathway에 의해 대사 되는 과정에서 free radical을 발생시키게 된다. 이 free radical에 의하여 DNA 손상이 올 수 있다. 셋째, 담즙 산은 glutathione S-transferase의 활성을 억제하여 세포내의 항 산화 방어 기전(anti-oxidant defense)의 감소로 세포가 oxidative stress에 더 예민하게 하여 세포사가 유발되게 한다. 넷째, 담즙 산은 세포막의 물리화학적 특성을 변하게 한다.

대장은 여러 가지의 생체 이물질 (xenobiotics)에 노출되며 이 생체 이물질의 대사에는 phase I과 phase II 생체 이물질 대사 효소계(xenobiotic metabolizing enzyme system)에 의하여 매개된다. 이

경우 담즙 산에 의한 효소의 억제나 phase I과 II 효소들의 감소에 의하여 돌연변이 원이 계속해서 대장 상피세포에 접촉하게 하고 세포의 손상을 주어 암을 발생하게 할 것이다.<sup>3</sup> 아마 효소의 활성이 감소하면 활동성인 대사산물의 생체 변환과 배설이 감소하고 이에 따라 생체 이물질에 의한 발암 원의 효과에 대장이 예민하게 될 것이다.

본 연구자는 대장암 세포주에 가장 세포 독성이 높다고 알려진 deoxycholate를 노출시킨 후 세포독성, 세포사와 phase II 효소계인 세포내의 glutathione S-transferase의 농도를 측정하여 deoxycholate가 세포 독성 작용의 한 부분으로 세포 내 GST의 활성을 감소시키는지를 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 배지 및 담즙 산 및 세포주

세포 성장배지는 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco BRL)에 10% (v/v) FBS (fetal bovine serum, Hyclone)와 1% (v/v) penicillin-streptomycin solution (Hyclone)을 혼합하여 사용하였다. 담즙산은 deoxycholic acid-sodium salt(Sigma)를 150 μM가 되도록 상기의 세포배양 배지로 희석하여 사용하였다.

본 실험에 사용한 세포주로는 한국 세포주 은행과 KAIST에서 분양받은 LoVo, SW480, HT29 등 대장암 세포주를 사용하였다.

### 2) 세포 독성 측정

HT29, LoVo, SW480 세포주의 농도가 1×10<sup>3</sup> cells/well이 되도록 DMEM 배지로 희석한 세포 현탁액을 96 well plate (Falcon)의 각 well에 100 μl 씩 넣고 24시간 동안 배양하여 세포들을 용기 바닥에 부착시켰다. 150 μM의 deoxycholic acid-sodium salt (Sigma)가 포함된 DMEM 배양액으로 5일 동안 매일 바꿔주었고 세포독성 측정은 마지막 배지를 넣어준 후 24시간 후에 측정하였다. 측정방법으로는 2.0 ml의 MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)

l)-2H-tetrazolium, inner salt, Promega) 용액과 100  $\mu$ l의 PMS (phenazine methosulfate) 용액을 혼합하고 각 well에 MTS/PMS 용액을 20  $\mu$ l씩 넣어서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 세포 배양기에서 1~4시간 동안 반응시킨 후 precision microplate reader (Molecular Devices)로 460/650 nm에서 반응 생성물인 formazan의 흡광도를 측정하여 각 대장암 세포주에 대한 deoxycholate의 세포 성장 억제율(%)로 다음과 같이 표현하였다.

$$\text{Inhibition rate(\%)} = \left(1 - \frac{\text{mean OD in treated wells}}{\text{mean OD in control wells}}\right) \times 100$$

### 3) Cytosolic Protein에서 GST 활성 측정

대장암 세포주인 LoVo, HT29, SW480에 150  $\mu$ M deoxycholate (Sigma)를 5일간 노출시키고 1일 간격으로 trypsin-EDTA (GIBCO BRL)로 배양 용기에 부착된 세포를 떨어뜨린 후 세포 부유액을 4°C, 900 g에서 10분 동안 원심 분리하였다. 세포 침전물을 PBS로 4°C, 900 g에서 10분 동안 원심 분리하여 상등액을 제거함으로써 2번 세척하였다. 세포 침전물에 1 ml의 lysis buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0.1 mM PMSF)를 넣어 현탁시키고 4°C에서 1시간 동안 가끔 흔들어 주면서 반응시켰다. 반응 후 4°C, 1,000 g에서 10분 동안 원심 분리하여 세포주에서 cytosolic protein을 얻었다.

Cytosol에서 glutathione S-transferase (GST) 활성은 Habig 등<sup>4</sup>의 방법에 의하여 측정하였다. 총 GST 활성은 2.5 mM의 glutathione (GSH, Sigma)에 cytosol (200  $\mu$ l)을 넣어 25°C에서 1분간 반응시킨 후 기질로 2.5 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB, Sigma)을 넣어 25°C에서 5분 동안 반응시켰다. 위 반응의 총 부피는 1 ml로 0.1 M potassium phosphate (pH 6.5)에서 진행하였다. CDNB-GSH conjugate는 340 nm에서 흡광도를 측정하였고 분자 흡광 계수( $\Delta \epsilon$ )는 9.6 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 적용하였다. Cytosol의 단백질 농도는 BCA Protein Assay Rea-

gent (PIEREC)를 이용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다. GST 활성은 1분간 1 mg의 단백질이 1  $\mu$ mole의 CDNB-GSH conjugate를 형성하는 것을 1 unit로 정의하였다. 통계는 deoxycholate를 처리하지 않고 5일 동안 배양한 대조군과 비교하여 paired t test로 검증하였으며 p값이 0.05 이하일 때를 의미있게 판정하였다.

## 결 과

### 1) 대장암 세포주에 대한 Deoxycholate의 독성

HT29, LoVo, SW480 등 대장암 세포주를 deoxycholate 150  $\mu$ M의 농도에 5일간 배양하였을 때의 세포 독성은 3가지 세포주 모두 5일째에 세포 생존율이 60% 정도로 유의하게 감소하였다(p < 0.05)(Fig. 1).

### 2) Deoxycholate 노출후 Cytosolic Protein에서 GST 활성 측정

각 세포주마다 세포내의 기본적인 GST 수치가 달랐다. LoVo 세포주의 경우 deoxycholate로 처리하지 않았을 때의 GST 수치는 514.59  $\pm$  27.01 nmol/min/mg cytosol protein이었으며 deoxycholate 처리 후 하루 후부터 통계학적으로 유의하게 감

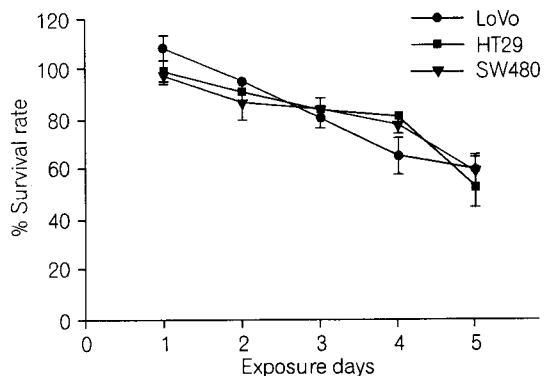
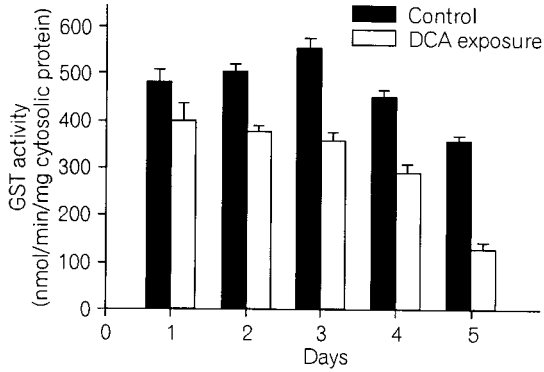
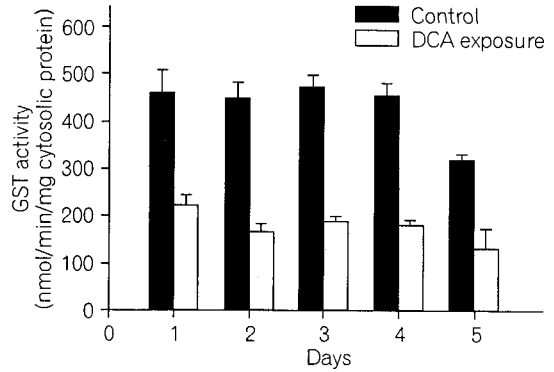


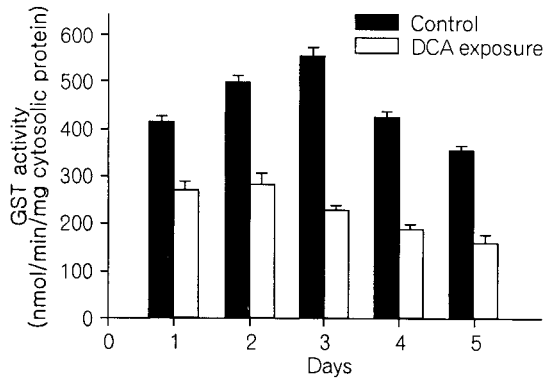
Fig. 1. Cytotoxicity of colon cancer cell lines during 5 days exposure by 150  $\mu$ M deoxycholate. All data are expressed as mean  $\pm$  SD eight determination (paired t test, p < 0.05).



**Fig. 2.** Variation of GST activity in LoVo colon cancer cell line during 5 days exposure by 150  $\mu$ M deoxycholate (DCA). GST activity is compared to control without deoxycholate. All data are expressed as mean  $\pm$  SD six determination (paired t test,  $p=0.0000$ ).



**Fig. 4.** Variation of GST activity in SW480 colon cancer cell line during 5 days exposure by 150  $\mu$ M deoxycholate (DCA). GST activity is compared to control without deoxycholate. All data are expressed as mean  $\pm$  SD six determination (paired t test,  $p<0.005$ ).



**Fig. 3.** Variation of GST activity in HT29 colon cancer cell line during 5 days exposure by 150  $\mu$ M deoxycholate (DCA). GST activity is compared to control without deoxycholate. All data are expressed as mean  $\pm$  SD six determination (paired t test,  $p<0.0005$ ).

소하여 5일 동안 노출시켰을 때는  $128.63 \pm 21.35$  nmol/min/mg cytosol protein으로 감소하였다( $p=0.0000$ , Fig. 2). HT29 세포주의 경우는 deoxycholate에 노출되지 않았을 때의 기본 GST 수치가  $344.58 \pm 47.92$  nmol/min/mg cytosol protein였으며 노출 하루 후부터 유의하게 감소하여 5일 노출 후에는  $163.10 \pm 22.73$  nmol/min/mg cytosol protein

으로 감소하였다( $p<0.0005$ , Fig. 3). SW480 세포주의 경우는 기본 GST 수치가  $291.63 \pm 38.44$  nmol/min/mg cytosol protein 였으며 역시 유의하게 감소하여 5일째는  $134.33 \pm 41.76$  nmol/min/mg cytosol protein로 감소하였다( $p<0.005$ , Fig. 4). 모든 세포 주에서 deoxycholate를 처리하지 않고 5일 동안 같은 방법으로 배양한 대조군의 경우는 배양 후 처음 3일 정도는 세포내의 GST 수치가 약간 증가하는 경향을 보이다 감소하는 양상을 보였지만 큰 변화가 없었다.

## 고 찰

지방과 대장암의 관계에서 오랫동안 제기되어 온 가정은 지방섭취가 담즙 산의 대사에 영향을 미친다는 것이었다.<sup>5</sup> 이 가설에 의하면 고지방 섭취는 담즙 산의 분비를 증가시키고 이로 인해 결과적으로 대장 내에 conjugated 담즙 산이 고농도로 존재하게 된다. 대장 내에서는 담즙이 deconjugate 되고 일차 담즙 산이 dehydroxylation되어 이차 담즙산인 deoxycholic acid (DCA)와 lithocholic acid (LCA)를 만든다. 이것들이 대장 점막의 상피 세포에 손상을 주어 세포 증식을 유도한다.<sup>6</sup>

Kandell<sup>7</sup>에 의하면 담즙 산은 체내의 세균이나 혹은 포유류의 세포에도 DNA 손상을 나타냈으며 대장암의 빈도는 대변의 담즙 산의 농도와 밀접한 관계가 있는 것으로 보아 담즙 산이 DNA 손상을 일으킴으로 인하여 대장암의 원인이 될 것이라는 가설을 세우기에 충분하다 하였다.

체의 연구에서 담즙 산에 의한 세포독성의 정도는 기질의 소수성과 밀접하게 연관되어 있다는 것을 알았다.<sup>8</sup> 또한 담즙 산의 세포독성의 정도는 세포의 종류에 따라 차이를 보이지 않는다고 한다.<sup>9</sup> 체내 연구에서는 세포용해 능력과 상피 세포 용해, 세포 용해 능력과 장내 상피세포의 증식, 상피 세포 용해와 장내 상피세포 증식 사이에 아주 큰 상관 관계가 있어 이들 요소들간에 상호 의존적인 관계가 있다는 것을 암시해 준다.<sup>10</sup> 그래서 대장 점막 상피 세포의 증식 능력은 확실하게 대변내의 담즙 산의 농도와 관련이 있으며 지방산에 대해서도 같은 관계가 있다.

담즙 산이 정상인의 정상 점막에서 생리적인 세포사를 일으킨다는 사실은 중요하다. 담즙 산이 세포사를 유발하는 기전에는 적어도 4개정도(하나 혹은 여러 개의 복합적으로)의 가능한 기전이 있다. 즉 첫째, 담즙 산이 endoplasmic reticulum으로부터 칼슘을 분비하도록 하여 세포 내 칼슘의 농도가 높아지면  $Ca^{++}/Mg^{++}$  의존성인 endonuclease를 활성화시키고 이것이 DNA에 손상을 준다는 것이다. DNA 손상이 계속 유지되면 p53이 활성화되고 이로 인해 세포사가 유발된다. 또한 DNA의 계속적인 손상은 poly (ADP-ribosyl)ation을 증가시키고, NAD<sup>+</sup> 농도를 낮추고 결과적으로 ATP 수치가 감소하여 세포사가 유발된다. 둘째, 세포막 손상 후에 발생하는 free radical에 의하여 DNA 손상이 올 수 있다. 담즙산은 phospholipase C를 활성화시켜 세포막으로부터 arachidonate를 분비시킨다. 이 arachidonate가 lipo-oxygenase와 cyclooxygenase pathway에 의해 대사 되는 과정에서 free radical을 발생시키게 된다. 셋째, 담즙산은 glutathione S-transferase를 억제할 수 있어 세포내의 항 산화 방어 기전의(anti-oxidant de-

fense) 감소에 의하여 세포가 oxidative stress에 더 예민하게 하여 세포사가 유발되게 한다. 또한 DNA가 oxidative damage를 받으면 세포막 기능에 필수적인 단백질과 지질 등이 비가역적으로 손상을 입는다. 넷째, 담즙산은 세포막의 물리 화학적 특성을 변하게 한다. 세포막의 구성 요소와 세포의 골격을 이루는 요소들과의 상호작용을 혼란시킨다.

또 다른 가설로 고지방식과 연관된 대장암의 위험도 증가는 대장의 생체 이물질 대사 효소에 대한 담즙 산의 영향에 의한 것이라는 것이다. 대장 점막은 여러 독성이 있는 이물질에 노출되며 이 이물질들은 배설 전에 대사가 되어야만 한다. 생체 이물질의 생체 내에서의 변환은 간과 대장 같은 간 이외의 조직에 있는 phase I과 phase II 생체 이물질 대사 효소계에 의하여 매개된다. 여기에 관여하는 주된 효소들은 cytochrome P450, NADPH-cytochrome P 450 reductase (CYC), glutathione S-transferase (GST)와 UDP-glucuronyltransferase (UGT) 등이다. phase I 효소 계 반응은 생체 이물질의 hydrolysis, reduction, oxidation을 통하여 -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -COOH 등과 같은 기능을 가진 군을 노출시켜 생체 이물질들이 약한 친수성을 갖도록 한다. phase II 효소계는 glucuronidation (UGT), sulfation, acetylation, methylation, glutathione과의 conjugation 등을 통하여 화합물의 구조와 물리 화학적 특성을 바꾼다. phase II 반응은 생체 이물질의 생체 반응성을 감소시키고 친수성을 증가시켜 배설이 잘되게 한다.

phase I 효소와 phase II detoxication 효소계 사이의 균형이 각 개체의 암의 발생 빈도를 결정하는데 중요하다. 사람에서 phase II 효소계, 특히 glutathione S-transferase (GST)의 결핍은 대장암의 위험도와 관계가 있는 것으로 알려졌으며 담즙 산이 체외에서 생체 이물질 대사 효소를 억제하는 것으로 알려져 있다.<sup>11</sup> 또한 체외뿐만 아니라 쥐에 여러 종류의 일차, 이차 담즙 산을 먹었을 때도 phase I과 II 효소 계의 활성을 변화시키는 것으로 나타났다.<sup>12</sup>

대장은 여러 가지의 생체 이물질에 노출되고 입으로 섭취한 몇몇 화합물의 활성화의 일차 부위가 대장일 것이다. 이 경우에 있어서 담즙 산에 의한 효소의 억제나 phase I and II 효소들의 감소는 발암 변이 원이 계속해서 대장 상피세포에 접촉하게 하고 세포의 손상을 주어 암을 발생하게 할 수 있다. 그렇다면 담즙 산이 이 효소들에 영향을 미치는 것은 대장 내에는 생체 이물질 대사 효소의 수치가 낮기 때문에 아주 중요한 문제일 것이다.<sup>3</sup> 아마 효소의 활성이 감소하면 활동적인 대사 산물의 생체 변환과 배설이 감소하고 이에 따라 생체 이물질에 의한 암화 효과에 대장이 예민하게 된다.

그래서 여러 phase II 효소들을 활성화시키는 dithiolthione oltipraz 등과 이와 비슷한 합성 물질이 여러 장기에서 화학 발암 원에 의하여 생기는 암을 예방하며 사람의 대장 조직이나 임파구에서 phase II 효소들을 유발시키는 것으로 나타나 암 예방을 위한 화학 예방제로 유망하다 하였다.<sup>13</sup>

Kawalek 등<sup>14</sup>에 의하면 cholic acid (CHA)보다 chenodeoxycholic acid (CDCA), deoxycholic acid (DCA), lithocholic acid (LCA)가 GST에 대한 억제 효과가 컸으며 이때 GST의 isoenzyme에 대해서는 연구하지 않았으나 Singh<sup>15</sup>에 의하면 GST- $\mu$ 가 GST- $\pi$ 와  $\alpha$ 보다도 CHA, CDCA, LCA에 의해 더욱 많이 억제를 받았다고 하였다.

또한 평균적인 GST  $\alpha$ 와  $\pi$ 가 주위의 정상 조직보다 대장암 조직에서 유의하게 높았으며 또한 암 발생 과정 중에서도 glutathione의 발현이 유의하게 높게 유지되어 이는 암세포의 저항성을 나타내 주는 한 요소라 할 수도 있다. 암세포의 항암제에 대한 저항성과 관련이 있어 GST활성의 억제가 어떤 항암제들의 저항성을 극복할 수 있는 가능한 방법이 될 수 있다고 하였다.<sup>16,17</sup>

본 연구에서도 이차 담즙산인 deoxycholate를 대장암 세포주에 노출시킨 후 세포내의 glutathione S-transferase가 유의하게 감소하는 것을 관찰하여 담즙 산의 작용 중 하나가 최소한 세포내의 GST 효소의 수치와 관련이 있으리라는 것을 시사

하였다. 세포주마다 기본적으로 갖고 있는 GST의 양에는 차이가 있어 LoVo 세포주에서 가장 높았으며 HT29와 SW480 세포 주는 기본적인 GST양이 비슷하였다. 물론 저자의 다른 실험에서 LoVo 세포주가 다른 대장암 세포주 보다 더 잘 성장할 뿐 아니라 방사선 조사와 항암제 투여에도 다른 대장암 세포주보다 더 저항성이 있는 것으로 보아 혹시 기본적으로 높은 GST 수치와 이 저항성과의 관계가 있지 않을까 생각한다.

## 결 론

대장암 세포주를 담즙 산에 5일 동안 노출시켰을 때 세포 내 GST의 활성이 유의하게 감소하여 담즙 산에 의한 세포 독성의 작용 중 하나가 세포 내의 항산화 효소인 glutathione S-transferase의 활성을 억제하는 것이라고 생각되어 진다. GST의 isoenzyme중 어느 것이 더욱 밀접한 관계가 있는지는 더 연구가 되어야 하겠다.

## REFERENCES

1. Cheah PY. Hypotheses for the etiology of colorectal cancer-An overview. *Nutr Cancer* 1990; 14: 5-13.
2. Nagengast FM, Hectors MPC, Buys WAM, van Tongeren JHM. Inhibition of secondary bile acid formation in the large intestine by lactulose in healthy subjects of two different age groups. *Eur J Clin Invest* 1988; 18: 56-61.
3. Peters WHM, Kock L, Nagengast FM, Kremers PG. biotransformation enzymes in the human intestine: Critical low levels in the colon? *Gut* 1991; 32: 408-412.
4. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
5. Reddy BS. Dietary fat and its relationship to large bowel cancer. *Cancer Res* 1981; 41: 3700-3705.
6. Wargovich MJ, Eng WS, Newmark HL. Calcium ameliorates the toxic effect of deoxycholic acid on colonic epithelium. *Carcinogenesis* 1983; 4: 1205-1207.
7. Kandell RL, Bernstein C. Bile salt/acid induction of

- DNA damage in bacterial and mammalian cells: Implications for colon cancer. *Nutr Cancer* 1991; 16: 227-238.
8. Van der Meer R, Termont DSML, De Vries HT. Differential effect of calcium ions and calcium phosphate on cytotoxicity of bile acids. *Am J Physio* 1991; 260: G142-G147.
  9. Van Munster IP, Tangerman A, De Haan AFJ. A new method for the determination of the cytotoxicity of bile acids and aqueous phase of stool; the effect of calcium. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 733-737.
  10. Lape JA, De Vries HT, Koeman JH. The antiproliferative effect of dietary calcium on colonic epithelium is mediated by luminal surfactants and dependent on the type of dietary fat. *Cancer Res* 1993; 53: 784-789.
  11. Schneider H, Fiander H, Latta RK, Ross NW. Bile acids inhibition of xenobiotic-metabolizing enzymes is a factor in the mechanism of colon carcinogenesis: tests of aspects of the concept with glucuronyl-transferase. *European J Cancer Prev* 1993; 2: 393-400.
  12. Baijal PK, Fitzpatrick DW, Bird RP. Modulation of colonic xenobiotic metabolizing enzymes by feeding bile acids: Comparative effects of cholic, deoxycholic, lithocholic and ursodeoxycholic acids. *Food and Chemical Toxicology* 1998; 36: 601-607.
  13. Wilkinson IV J, Clapper ML. Detoxication enzymes and chemoprevention. *Exper Bio Med* 1997; 216: 192-200.
  14. Kawalek JC. The effect of bile acids on drug metabolism. *Nutrition and Cancer* 1979; 1: 13-18.
  15. Singh VS, Leal T, Awasthi YC. Inhibition of human glutathione S-transferases by bile acids. *Toxicology and Applied Phamacology* 1988; 95: 248-254.
  16. Hengstler JG, Bottger T, Tanner B, Dietrich B, Henrich M, Knapstein PG, Junginger Th, Oesch F. Resistance factors in colon cancer tissue and the adjacent normal colon tissue: glutathione S-transferase  $\alpha$  and  $\pi$ , glutathione and aldehyde dehydrogenase. *Cancer Letters* 128: 105-112.
  17. Beaumont PO, Moore MJ, Ahmad K, Payne MM, Lee C, Riddick DS. Role of glutathione S-transferase in the resistance of human colon cancer cell lines to doxorubicin. *Cancer Res* 1998; 58: 947-955.
-