

화학적 암예방의 이론적 근거, 분자 생물학적 기전 및 새로운 전략

서울대학교 약학대학 생화학 연구실

천경수 · 서영준

Cancer Chemoprevention: Rationale, Molecular Mechanisms, and Novel Strategies

Kyung-Soo Chun and Young-Joon Surh

*Laboratory of Biochemistry and Molecular Toxicology, College of Pharmacy,
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*

Chemoprevention, which is defined as inhibition, retardation, or reversal of the process of carcinogenesis by use of relatively non-toxic chemical agents, is now considered to be one of the most promising and realistic strategies for minimizing cancer risks in humans. The rationale for cancer chemoprevention trials is based on multi-stage nature of carcinogenesis. Thus, cancer chemoprevention is the attempt to use natural and synthetic compounds to intervene in one or more of the early precancerous stages of carcinogenesis, before invasive disease begins. Chemopreventive agents are placed into two broad categories, viz, blocking agents and suppressing agents, depending on their probable sites of action in the multi-stage carcinogenesis. Blocking agents act during the initiation phase by inhibiting the formation of cancer-producing substances from precursor compounds and/or by preventing carcinogens from reacting with critical informational molecules (e.g., DNA, RNA, and proteins) in the target cells. Suppressing agents exert their protective functions at promotion and/or progression phases, thereby repressing the overall expression of neoplasia in cells previously exposed to carcinogenic agents. Some chemopreventive substances possess both blocking and suppressing activities. Successful implementation of chemopreventive strategies relies on the precise understanding of underlying molecular mechanisms. While the majority of chemopreventive supplements have been intended to halt the progression, either before or after genetic mutations cause a cell to become malignant, a new approach relies on agents that divert the progression to a benign outcome, such as the programmed death (apoptosis) or differentiation of precancerous cells, which will steer affected cells back toward their normal, noncancerous state. Suppression of prostaglandin synthesis through selective inhibition of cyclooxygenase-2 is another promising strategy applicable to identification and development of chemopreventive drugs. In this context, it is interesting to note that certain non-steroidal anti-inflam-

물질을 총칭하며 curcumin, yakuchinones과 같은 diarylheptanoid 물질과 capsaicin, gingerol, paradol 과 같은 phenolic 화합물을 포함한다(Fig. 2).

인도의 전통생약 turmeric (*Curcuma longa*, Zingiberaceae)의 주성분이며 카레의 노란 색소로 더 잘 알려진 curcumin은 여러 암모델 실험에서 매우 우수한 암예방 활성을 보였다.⁴⁸⁾ curcumin은 식이 요법을 통한 흰쥐 대장암 모델에서 암생성물과 cyclooxygenase, lipoxygenase의 활성을 현저히 감소시켰고,^{49,50)} 마우스 피부 모델에서 TPA로 유도된 ODC 활성과 종양 촉진에 대해 강력한 저해 효과를 나타내었다.⁵¹⁾

익지인으로 알려진 동양의 전통 생약, *Alpinia oxyphylla* Miquel의 매운 성분인 yakuchinone A (1-[4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl]-7-phenyl-3-hept-anone)와 yakuchinone B (1-[4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl]-7-phenylhept-1-en-3-one)는 curcumin과 구조가 매우 유사하며,^{52,53)} prostaglandin과 leukotriene 생합성 효소와 tyrosinase의 강한 저해제로 알려져 있다.^{54~56)}

생강(*Zingiber officinale* Roscoe, Zingiberaceae)은

향신료와 동양 전통 생약으로 많이 사용된 우리에게 매우 친숙한 식물이다. 이 생강의 매운 성분인 [6]-gingerol (1-[4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl]-5-hydroxy-3-decanone)은 *in vitro*와 *in vivo*상에서 항산화 활성을 보였고, 활성 산소종을 생성하는 xanthine oxidase의 활성을 저해하였다.⁵⁷⁾ 최근에는 arachidonic acid에 의해 유도되는 혈소판 응고와 thromboxane B₂, prostaglandin D₂의 형성을 저해함이 보고되었다.⁵⁸⁾

[6]-paradol (1-[4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl]-3-decanone)은 Grains of Paradise (*Aframomum melegueta* Roscoe, Zingiberaceae)와 생강에 포함된 매운 성분으로서 진통 작용과 항균 작용이 있는 것으로 알려져 왔다.^{59,60)}

최근 연구 결과에 의하면 생강과에 속하는 식물들중 항염증 작용이 탁월한 yakuchinone A, yakuchinone B, [6]-gingerol, [6]-paradol과 같은 vanilloid 화합물들이 2단계 피부암 모델에서 종양 촉진 억제 활성을 나타내는 것으로 확인되었다.^{61,62)}

화학적 암예방제를 동정하기 위한 새로운 전략

과일이나 채소 또는 약초에 존재하는 많은 페놀성 화합물들(phenolic substances)은 화학적 암예방 활성을 가지고 있다. 그러나, 이것의 보호 효과는 단지 동물실험의 결과에 기인한 것이다. 불행하게도 동물 모델의 연구를 통한 화학적 암예방제를 인간에게 사용하기 위해서는 불확실하고 제한적인 면이 있다. 탁월한 화학적 암예방제로서의 식물성 화학물질의 효능과 안정성은 보다 잘 고안되고 세밀하게 조절되는 임상적 절차를 통해 평가되어야 한다. 초기 endpoint를 대신할 수 있는 믿을만한 생화학적 지표(biomarker)의 이용은 유망한 화학적 암예방 시도를 수행하는데 있어서 중추적 역할을 한다. 지난 40년동안, 자연계에 존재하는 화학적 암예방제를 찾는 노력이 지속되어 왔고, 그중 일부는 임상적으로 사용될 수 있는 시점에 도달해 있다. 항산화제 비타민과 그 유도체는 정상인과 발암 위험률이 높은 사람들(흡연자, 석면 처리 기술자)을 대상으로 화학적 암예방제로서의 가능성이 종종 연구되어 왔다. 실험적이고

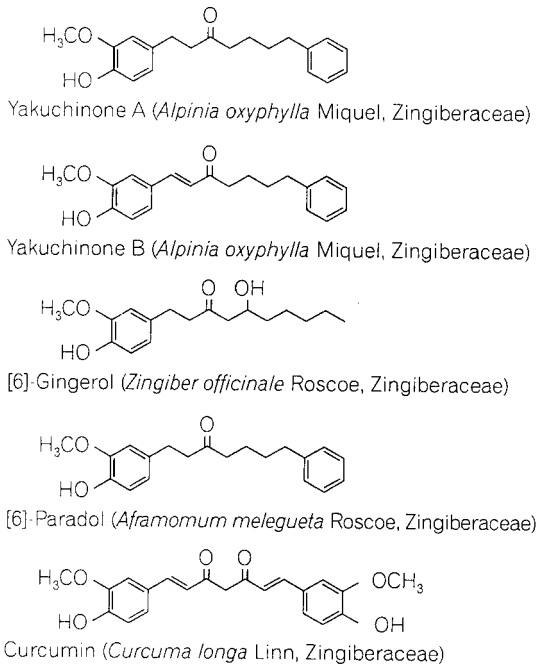


Fig. 2. Structures of some naturally occurring vanilloids.

matory drugs (NSAIDs), such as sulindac and piroxicam, have been shown to protect against colorectal carcinogenesis.

Key Words: Cancer chemoprevention, Chemopreventive agents, Blocking agents, Suppressing agents, Programmed cell death, Apoptosis

서 론

암의 다단계적 진행과 화학적 암예방

암은 인류 역사의 시작과 함께 같이 존재해온 질병이다. BC 4세기경 히포크라테스에 의해 회랍어로 게 (crab)를 의미하는 karkinos에서 유래한 'carcinoma'란 용어가 쓰여지기 시작하면서부터 암을 치료하기 위한 노력은 시작되었다.

1971년 크리스마스 이브를 하루 앞두고, 이제는 고인이 된 리처드 닉슨 미국 대통령은 National Cancer Act를 발효하였고, 국민들에게 '암과의 전쟁(War on Cancer)'을 선포하였다. 당시 닉슨은 국민들에게 5년 안에 암의 공포로부터 해방시켜 주겠다는 공약을 했지만, 4반세기가 지난 지금 암에 대한 기초적 연구는 많이 진척되었음에도 불구하고 암은 정복되지 못한 채, 현재까지 암발생율과 이에 대한 사망율은 부분적으로 오히려 증가하고 있다. 지금 암은 대부분의 국가에서 순환기 질병 다음으로 높은 비중을 차지하는 사망 원인이 되고 있지만 확실한 치료 효과를 기대할 수 있는 암 치료제는 아직도 개발되지 못한 실정이다. 지금까지 개발된 대부분의 항암제는 정상 세포와 암세포를 선별적으로 공격하지 못하여 심각한 후유증을 나타내거나, 오히려 장기 사용할 때에는 발암제로 작용하기도 한다. 이러한 항암제의 제한성 때문에 최근 선진국들은 보다 선택적인 항암제 개발 뿐만 아니라 암의 예방에 더 많은 관심을 기울이게 되었다. 즉, 발암 물질로 알려진 화학물질의 노출을 피하고, 면역 기능 증진을 통해 생체 방어 능력을 향상시키고, 생활 습관을 변화시키거나, 암예방제(chemopreventive agent)를 개발하려는 노력이 지속되고 있다.

암이 단순히 한가지 역치(threshold)에 의해 야기되는 것이 아니라 다단계적으로 일어나는 분자 생물학적 및 세포학적 과정이라는 사실을 인식하게 되면서부터 암예방제 개발을 위한 접근이 시도되었다. 즉, 암이 개시단계에서 침윤성이며 전이성을 지닌 악성 종양으로 전환되어 생명을 위협하는 질병 상태가 되기까지는 몇가지 단계로 진행되고 그 기간이 몇 년이 걸릴지 모른다. 이런 다단계 암 진행 과정 중 특정 단계를 약물을 이용하여 억제하거나 역전 또는 지연시킨다면 암을 예방할 수 있을 것이다.¹⁻³⁾ 이런 개념에서 출발한 화학적 암예방(chemoprevention)은 1970년대 중반, 미국 국립 암연구소(National Cancer Institute)의 Michael Sporn 박사가 vitamin A 유도체인 retinoic acid가 실험적으로 유도된 종양 발생을 억제하는 현상을 발견하고 이 현상을 설명하기 위해 처음 도입한 용어로, 비세포독성 영양물질(noncytotoxic nutrients)이나 약물을 사용하여 암세포의 돌연변이 클론(mutant clone) 생성이나 진행을 방지함으로써 암 발생 과정을 역행하거나 진행을 억제하는 것이라 정의하였다.⁴⁾

암 발생은 물리 화학적, 생물학적, 유전적 손상의 결과로 일어난다. 암 발생 과정을 개시시킬 수 있는 외부적 요인으로는 흡연, 작업 환경에서 유래된 화학물질, 방사선, 특정 식이 성분 및 바이러스 등이 포함된다.⁵⁾ 또, 스테로이드성 성 호르몬과 같은 내인성 화합물은 호르몬에 반응을 보이는 조직(유방, 난소, 전립선 및 자궁내막)에서 암 촉진제로 작용하기도 한다.^{6,7)} 그러나, 이런 요인으로 인해 유전적 손상을 받았더라도 각 개인의 유전 인자들의 감수성에 따라 암 발생은 다양

하게 나타난다.

다단계 과정으로 일어나는 암 발생 단계는 처음에 하나의 세포내에서 일어나며, 개시단계(initiation), 촉진단계(promotion), 진행단계(progression)의 3단계로 나누어 볼 수 있다(Fig. 1). 이처럼 발암과정에 개시단계, 촉진단계, 진행단계가 있다는 사실은 마우스의 피부암 모델에서 아주 잘 설명된다.

암 개시단계(initiation)란 발암 물질이 DNA와 반응하여 유전자 변이를 초래하는 비가역적 과정이다. 화학 발암제의 경우 대부분 그 자체로는 발암성을 나타내지 못하나, cytochrome P450등의 산화효소들이 촉매하는 생체 대사 과정을 거쳐 친전자성 반응물질(electrophilic reactant)로 활성화 된다.^{8,9)} 이들 친전자성인 대사 산물들은 생체내에 존재하는 친핵성(nucleophilic) 물질인 DNA와 반응하여 부가물(DNA adduct)을 만든다. 이로 인한 DNA 손상이 수복되지 않으면 DNA 복제(replication) 과정중에 돌연 변이가 일어나고 암 개시화 세포(initiated cell)가 생성된다. 암 개시화된 세포는 계속 이어지는 종양 촉진제에 노출되지 않는 한 암세포로 될 수 있는 잠재력만을 가지고 있게 된다. 개시단계의 유전적 변화로는 Ha-ras와 같은 원암 유전자(proto-oncogene)의 활성화를 들 수 있다. 마우스 피부암 모델에서 암 개시제인 7,12-

dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 처리에 의해 마우스의 90% 이상에서 Ha-ras 유전자의 61번째 codon의 A가 T로 point mutation되어 있음이 관찰되었다.¹⁰⁾

암 촉진단계(promotion)는 양성암이 발현되는 단계로, 종양 촉진제인 12-O-tetradecanoylphorbol acetate (TPA)를 이용한 동물 실험을 통하여 이 단계가 밝혀졌다. 종양 촉진제는 그 자체로는 발암성이 전혀 없지만, 암 개시화된 세포에 작용시에 유전자 표현형(phenotypic expression)을 바꿀 수 있는 것으로, 화학물질일 수도 있고, 스트레스에 의한 자극일 수도 있다. 암 촉진단계는 암 개시단계와는 달리 원인이 제거되면 암 개시화 세포 상태로 되돌아 갈 수 있는 가역적인 단계이다. 아직까지 종양 촉진제가 어떻게 유전자 발현에 영향을 주는지에 대한 분자 기전이나 세포 증식 기전에 대하여는 확실히 밝혀져 있지 않지만, 세포 성장 인자나 세포 항상성(homeostasis)을 조절하는 물질에 의해 세포내 신호 전달 체계에 영향을 주는 것이라 생각된다. 마우스 피부암 모델에서 암 촉진제인 TPA 처리시 많은 후성적(epigenetic)변화가 나타난다.¹¹⁾ 이런 후성적 변화로는 표피의 과다 증식(epidermal hyperplasia), 염증 반응(inflammation), ornithine decarboxylase (ODC)와 protein

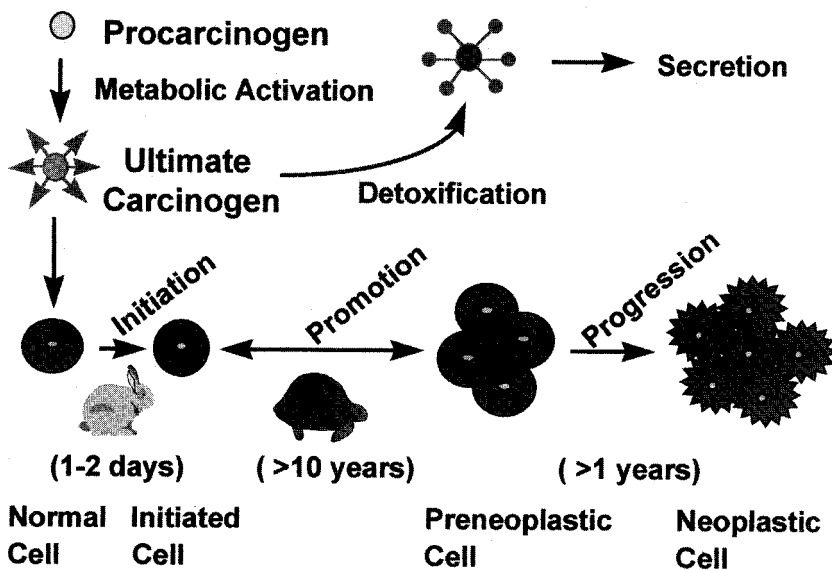


Fig. 1. Multi-stage carcinogenesis.

kinase C (PKC)의 유도, cyclooxygenase 및 lipoxigenase의 활성 증가, interleukin-1 α (IL-1 α)나 tumor necrosis factor- α (TNF- α)와 같은 proinflammatory cytokine들의 발현 증가, glucocorticoid receptor의 소멸, gap junctional communication의 감소 등을 들 수 있다(Table 1). 반복적인 TPA 처리로 피부의 기저층의 [H^3]thymidine incorporation이 5배 정도 증가하고 피부 두께도 4~5배 정도까지 증가한다. 즉, 과도한 세포증식이 지속되는 것이다.¹²⁾ O'Brien¹³⁾은 대부분의 종양 촉진 화합물이 ODC 활성을 증가시킨다는 것을 밝혀냈다. ODC는 정상 조직에서 엄격히 조절되나 TPA 같은 종양 촉진제에 의해 쉽게 유도된다. ODC 유전자의 과다 발현(overexpression)은 결국 지속적인 세포 증식을 유도함으로써 암 발생을 초래한다.

암 촉진제는 크게 1) phorbol ester와 같이 protein kinase C (PKC)를 직접적으로 활성화시키는 것과 2) okadaic acid 처럼 PKC를 직접적으로 활성화시키기 보단 phosphatase의 저해제로 작용하는 것, 이렇게 2가지로 나눌 수 있다. PKC는 diacylglycerol에 의해 활성화되는 중요한 신호 전달 경로에 관여하는 효소이다. PKC는 세포의 증식과 분화에 영향을 주어 종양을 촉진시킨다. PKC 신호 전달 경로는 ras와 같은 oncogene과 growth factors, 호르몬, lymphokines 등에 의해 활성화된다.

Cyclooxygenase와 lipoxigenase는 arachidonic acid를 대사시켜 염증 반응에 관여하는 prostaglandin

과 hydroperoxyeicosatetraenoic acid 등을 생성하는 효소이다. 특히, 염증 반응시에만 유도되는 cyclooxygenase-2 (COX-2)의 저해제가 종양 촉진 단계를 특이적으로 억제한다고 알려져 있다.¹⁴⁾

Glucocorticoids는 세포 증식과 염증을 강력한 저해제이다. 마우스 피부암 모델에서 TPA를 처리하면 cytoplasmic glucocorticoid receptor (GR)가 소멸되거나 결합성이 감소된다.¹¹⁾ Phorbol ester에 의한 cytosolic GR의 소멸 기전은 확실하게 알 수는 없지만 GR의 핵내로의 이동(nuclear translocation)과 down regulation, proteolysis의 증가로 인한 분해 촉진을 생각할 수 있다.

세포의 항상성을 유지하는데 있어서 gap junctional intercellular communication은 매우 중요하다. 이런 gap junctional intercellular communication의 기능 상실은 암 형성에 중요한 원인이 되기도 한다. phorbol esters에 의해 human keratinocytes에서 gap junctional protein인 connexin 43의 발현이 저해된다고 보고되었다.¹⁵⁾

암 진행단계(progression)는 비교적 양성이던 병소가 악성으로 되어, 빠르게 자라는 신생물(neoplasm)로 되는 단계이다. 암 초기화된 마우스 진피에서 종양 촉진제를 계속적으로 처치하여도 양성암인 유두종(papilloma)이 악성암인 암종(carcinoma)으로 잘 바뀌지 않으나, 여기에 암 개시제(initiator)를 계속 처치하거나, 유리기(free radical)를 함유하고 있는 과산화물(peroxides)을 처리하면

Table 1. Summary of characteristic responses of mouse skin to phorbol ester and other tumor promoters

- Induction of inflammation and hyperplasia
- Initial increase in keratinization followed by a decrease
- Increase in DNA, RNA, and protein synthesis
- Increase in phospholipid synthesis
- Increase in prostaglandin synthesis
- Increase in ODC activity followed by increase in polyamines
- Increase in histon synthesis and phosphorylation
- Increase in histidine and DOPA decarboxylase activity
- Increase in cyclic adenosine monophosphate-independent protein kinase
- Increase in protease activity
- Decrease in superoxide dismutase and catalase
- Decrease in histidase activity
- Decrease in the number of glucocorticoid receptors
- Interaction with receptor and/or activation PKC

악성 종양으로 보다 쉽게 이행되는 실험으로 이 단계가 밝혀졌다.^{16,17)} 이 단계는 발암물질이 DNA와 직접 결합하며, 유전물질이 전위(translocation)되는 등, 처음 암 개시단계에서의 유전적 사건과는 별개로 일어나는 2차적 유전 변이이다. 과산화물은 유리기를 생성하여 DNA의 single-strand breaks를 일으키고 DNA와 단백질과의 상호 결합도 촉진한다.¹⁸⁾ 암 촉진단계 동안 이런 유전적 손상 부위가 늘어나고 유전적으로 불안정한 상태가 지속되면 악성암으로의 전환 확률은 높아진다. 양성암인 유두종(papilloma)이 악성암인 암종(carcinoma)으로 전환하는데 유전자 변화 이외에 γ -glutamyltranspeptidase (GGT) 같은 단백질의 수적 변화가 중요한 역할을 한다. GGT는 glutathione (GSH) 항상성을 유지시키는데, 이런 GGT의 수적인 증가는 GSH의 분해를 초래하고 그 결과 산화적 스트레스(oxidative stress)가 증가하게 된다.

화학적 암예방제의 분류

일반적으로 암 발생 과정의 억제 물질들은 이들이 효과를 나타내는 암 발생 단계에 따라 크게 세가지로 구분된다. 즉, (1) 세포내 목적물과 반응하거나, 목적물에의 도달을 억제하는 물질(blocking agents), (2) 발암물질에 노출된 세포가 신생물(neoplasia)로 나타나는 과정을 억제하는 물질(suppressing agents) 및 (3) 항산화제(antioxidants)로 나눈다.^{3,19,20)}

Blocking agent에 속하는 약물로는 oltipraz, N-acetylcysteine, ellagic acid 등이 있는데 주로 cytochrome P450 계열의 Phase I enzyme에 의해 발암물질이 대사 활성화되거나 이후 target site와 반응하는 것을 차단하거나 해독화 system(예: glutathione S-transferase와 같은 Phase II enzyme)을 강화하여 발암 물질을 제거한다.^{19,21)}

Suppressing agent들의 작용기전은 아직 확실하게 밝혀져 있지 않지만 많은 연구자들은 retinoid와 같은 분화 유도 물질(differentiating agent), terpenes와 같은 oncogene의 발현 저해제, α -difluoromethylornithine (DFMO)과 같은 세포 증식 저해제, 비스테로이드성 소염제와 같은 항염증제 등을 suppressing agent로 분류하고 있다.^{19,20)}

β -carotene, vitamin E, curcumin같은 항산화제는 oxygen free radical을 제거하며 지질 과산화 반응(lipid peroxidation)을 억제 또는 종결시키는 기능을 한다. 또한 Phase II 해독화 효소들을 활성화시키거나 세포내 GSH 증가를 통해 친전자성 물질을 제거시키는 기능을 갖기도 한다.^{19,20)} 일련의 다단계 발암 과정 중 전암단계인 개시단계는 비가역적으로 진행되는 과정이므로 이미 환경 발암물질에 노출되어 DNA의 부분적 손상을 입어 개시된 세포를 갖고 있는 대부분의 성인의 경우에는 개시단계를 억제하는 암예방은 그리 실효성이 없다. 그러나, 발암 과정의 후기 단계인 촉진단계의 경우에는 20~30년 동안 서서히 진행되는 가역적 과정이므로 이미 개시된 경우라도 촉진단계를 억제, 지연 또는 역전시키면 암예방에 효과를 볼 수 있다. 따라서 암예방제의 목적으로 암예방 물질을 고려하는 경우에는 개시단계보다는 촉진단계를 저해하는 anti-tumor promoter를 개발하는 것이 보다 현실적이고 실용성이 있는 것이다.

암 촉진단계의 생화학적 지표

1) Ornithine decarboxylase (ODC)

ODC는 L-ornithine을 putrescine으로 전환시키는 polyamines 합성의 첫 번째 효소이자 반응 속도를 결정짓는 효소(rate-limiting enzyme)이다. 이는 포유 동물 세포에서 putrescine 생성의 유일한 경로가 된다. ODC에 의해 생성되는 polyamines은 DNA, RNA, phospholipids와 같은 거대분자(macromolecules)와 쉽게 결합하여 DNA의 복제(replication), 전사(transcription), 번역(translation)에 영향을 주어 세포의 증식과 분화에 매우 중요한 역할을 담당한다.²²⁾

ODC 활성은 ODC mRNA의 발현, 안정성(stability), 전사 속도(transcription rate), ODC 효소 자체의 안정성과 번역 속도(translation rate), 그리고 번역 이후의 변화(post-translational modification)에 의해 조절된다. ODC는 growth factors, hormones, tumor promoters와 같은 성장 촉진 자극에 의해 쉽게 유도되며,²⁴⁾ 이런 ODC의 유도는 암 촉진단계에 있어 매우 중요한 역할을 하고 있고, 이것은 여러 암세포에서 ODC가 overexpression되어 있다

는 사실로 더 잘 설명된다. 최근에는 NIH3T3 세포에서 ODC overexpression 결과 transformation을 일으킨다는 연구 결과도 나왔다.²³⁾

ODC가 세포 증식에 중요한 역할을 하는 polyamines 농도 조절의 주요 핵심 부분이기 때문에 ODC를 저해하는 물질이 화학적 암예방제의 좋은 후보가 될 수 있는 것이다.^{24,25)} 실제로 매우 강력한 ODC의 저해제인 α -difluoromethylornithine (DFMO)는 좋은 화학적 암예방제로 제안되고 있다.²⁰⁾

2) Interleukin-1 α (IL-1 α)와 Tumor necrosis factor- α (TNF- α)

Interleukin-1 α (IL-1 α)는 진피(dermis) 내에서 thymocytes의 증식을 유도하는 분자로서 pro-inflammatory cytokine으로 알려져 왔다.²⁶⁾ IL-1 α 는 보통 epidermal keratinocytes에 의해 합성되어 각질층에 저장되어 있다가 암촉진제나 UV 광선, 외상에 의해 진피층으로 빠르게 분비되고 순환계에서 고농도로 감지된다. 암 촉진 단계동안 IL-1 α 는 supra-basal keratinocytes에 의해 합성되어 저장되어 있고 TPA의 도포에 의해 진피층에 neutrophils의 축적과 함께 많은 양의 IL-1 α 가 생성된다.²⁷⁾ IL-1 α 는 prostaglandin E₂ 합성을 유도하고 백혈구로 하여금 보다 많은 양의 활성 산소종(reactive oxygen species)을 생성하게 한다.²⁸⁾ IL-1 α 는 백혈구에 있는 integrin 분자와 내피 세포(endothelial cells)에 있는 adhesion 분자의 발현을 증가 시켜 염증 세포가 진피층으로 이주하는 것을 촉진시킨다. IL-1 α 은 TPA와는 다른 신호 전달 경로로 전달되지만 TPA처럼 *c-fos* 유전자의 발현과 nuclear transcription factor인 AP-1의 DNA binding을 유도시킨다.²⁷⁾ 암 촉진 과정에 일어나는 피부 염증에 중요한 역할을 하는 또 하나의 cytokine은 tumor necrosis factor- α (TNF- α)이다. TNF- α 는 보통 IL-1 α 처럼 epidermal keratinocytes에 의해 합성된다. 지금까지 보고된 murine epidermal keratinocytes에 대한 TNF- α 의 효과는 이중성을 나타낸다. 즉, TPA에 의해 유도된 epidermal keratinocytes의 hyperplasia 형성은 억제하는 반면에 initiated keratinocytes의 clonal expansion은 오히려 촉진시키는 결과를 보인다. 그리고, TNF- α 는 neutrophils을 활성화시켜 hydroperoxide 생성을 증가시킴으로 내

인성 암촉진제로서의 기능도 하고 있다. TNF- α 가 설치류와 인간의 염증성 피부 질환과 관련이 있음은 이미 많이 보고되어 왔다.^{29,30)} 여러 염증 질환과 알러지 현상에 TNF- α 에 대한 항체를 처리하였을 때 증상이 완화되었다.³¹⁾ TNF- α 의 발현 유도는 transcription factors의 활성화에 의해 조절되고 특히 NF- κ B (nuclear factor- κ B)와 activator protein 1/c-jun (AP-1)이 TNF- α 발현과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다.^{32,33)}

따라서, 암촉진 단계와 밀접한 관계가 있는 염증 단계에 중추적 역할을 하고 있는 cytokine들인 IL-1 α 와 TNF- α 의 발현을 저해시키거나 이로 인해 활성화되는 일련의 발암 유전자의 발현을 저해시키는 약물은 또 하나의 좋은 암예방제가 될 수 있는 것이다.³⁴⁻³⁶⁾

3) 프로스타글란딘 생합성 관련 효소

Cox-2의 선택적인 저해를 통한 프로스타글란딘 생합성의 억제는 화학적 암예방제(chemopreventive drugs)를 개발하거나 동정할 수 있는 또 하나의 가능성 있는 전략이다. 프로스타글란딘은 악성 종양, 특히 직장암 발생에 있어서 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고, aspirin, piroxicam, sulindac과 같은 비스테로이드성 항염증제(NSAIDs)가 발암억제 효과를 갖는 것이 보고된 바 있다.^{37,38)} 또한 역학적 조사에서는 aspirin이나 다른 NSAIDs약물의 상용량을 복용한 사람들 중에 직장암 발생 위험률이 낮음을 보여주고 있다.³⁹⁾ 더욱이, familial adenomatous polyposis를 가진 환자에 있어서, NSAID인 sulindac은 현저히 polyps 생성을 억제시켰고, 그것의 재발도 예방하였다.⁴⁰⁾ 아울러 몇몇 NSAIDs는 암세포의 세포사멸(apoptosis)유도를 통해 성장과 증식을 억제하였음이 보고되었다.⁴¹⁻⁴³⁾ 생강과 식물의 특정 페놀성 화합물들은(phenolic substances) 강력한 항염증작용(anti-inflammatory activity)과 인간 암세포주에서 세포사멸(apoptosis)을 유도하였다.⁴⁴⁻⁴⁷⁾

종양 촉진 억제 효과를 갖는 vanilloid계 화합물들

vanilloid계 화합물들은 vanillin의 구조를 포함한

역학적인 연구에 의하면, 항산화제 비타민의 좋은 공급원인 과일과 야채의 섭취가 암예방에 유익한 영향을 준다는 증거가 많이 보고되어 왔다. 하지만, 현재 비타민과 그 혼합체의 식이성 섭취의 암 예방효과는 개개인에게 있어서 다소 상반된 결과를 나타낸다. 미국 국립 암연구소와 핀란드 국립 공중 보건원의 지원을 받아 3만명의 핀란드 남성 흡연자에게 실시한 대규모 이중맹검 위약 비교 (randomized, double-blind, placebo-controlled) 임상 실험인 α -tocopherol, β -carotene (ATBC) 암예방 연구가 그 대표적 예라 할 수 있겠다. 이 연구에서는 매일 β -carotene 20 mg 섭취한 흡연자들의 경우 폐암에 대해 아무런 보호 효과가 나타나지 않은 반면에, 폐암발생과 사망률은 오히려 위약을 투여한 그룹보다도 증가하였다.⁶³⁾ 이 연구 결과는 실험실 연구뿐만 아니라 이전에 수행된 임상적 시도에서 보인 β -carotene의 유익성에 상반된 것이다. 그럼에도 불구하고, ATBC 연구에서 나타난 예상치 못한 부정적인 결과는 여러가지 요소를 생각해 보면, 그리 놀라운 일이거나 우연한 일이 아님 것으로 생각된다. 왜냐하면 이 연구에 참여한 대상자들은 대부분 흡연 습관을 지닌 노령의 (50~69세) 사람들이었으므로, 그들 중 이미 대다수가 β -carotene을 투여하기 시작전부터 흡연으로 인해 중앙 억제 유전자(*p53* tumor-suppressor gene) 또는 중앙 유전자(*ras*-oncogene)가 이미 돌연변이를 일으켜 초기 악성상태에 있었다고 생각할 수 있기 때문이다. β -carotene은 발암과정 초기에 탁월한 효과를 지니기 때문에 이런 경우에는 암예방 활성을 기대하기가 어려울 것이다. β -carotene의 과량투여는 암세포가 빠르게 증식하여 성장하는데 필요한 영양학적 요구를 충족시켜 암세포 성장을 억제하기 보다 성장을 촉진시키는 역할을 하였을지도 모른다. 이런 가정을 확인시켜 주듯 이 화합물을 개시단계 후에 설치류에 투여하였을 때 유선암(mammary carcinogenesis)의 발생이 촉진되는 결과를 나타내었다.⁶⁴⁾ 유사하게, β -carotene의 식이성 섭취는 마우스에서 유두종(papilloma)생성을 촉진시켰고,⁶⁵⁾ 아마도 이것은 발암과정 중 촉진단계를 자극한 것으로 생각된다. 항산화성 비타민 뿐 만 아니라, 과일과 야채에는 영양가치는 없지만, 화학적 암 예방 활성을 지닌

수많은 식물성 화합물을 포함되어 있다. 그러나, 아직까지 인간의 화학적 암예방을 평가하기 위한 비타민이 아닌 식물성 화합물의 시도는 이루어지지 않았다.

화학적 암예방 전략의 이상적이고 성공적인 실행은 분자 생물학적인 기전의 정확한 이해를 필요로 하고 있다. 발암물질 대사와 DNA와의 결합은 발암과정 초기에 매우 중요한 작용기전이며, 투여된 식물성 화합물질은 이 과정의 대사를 변화시킬 수 있다. 많은 학자들은 여러 종류의 화학적 암예방 활성을 지닌 식물성 화합물질의 보호 효과가 발암물질 대사의 변화에 기인한 것으로 생각하고 있다. 그러나, 일반적으로 발암 물질을 대사하는 효소는 두 가지 기능을 가지고 있다. 즉, 발암물질의 해독과정을 가속하거나 활성화를 억제하여 대사의 방어적 조절을 담당하기도 하기 때문에 대사과정에 대한 조절기능을 새로운 화학적 암예방제를 정의하거나 동정하는 기준으로 이용하기엔 제한성이 있을 것이다.⁶⁵⁻⁶⁷⁾ 우리 환경에는 여러 종류의 발암 개시제가 존재하며 우리에게 노출되는 모든 발암물질의 개시 단계를 저해한다는 것은 현실적으로 불가능하므로, 개시단계에서의 화학적 암 예방을 기대하기란 사실상 어렵다고 본다. 그러므로, 최근 화학적 암예방 전략은 개시 억제제(anti-initiators)를 찾기보다는 개시된 세포가 악성 세포로 형질 변환하는 것을 억제할 수 있는 분열 억제 물질(anti-proliferative agents)을 찾는 것에 중점을 두고 있다. 이런 범주에 속한 화학적 암예방제는 신호 전달 체계의 조절자, 발암 유전자 활성 억제제, polyamine 대사 저해제, gap junctional intercellular communication 강화제, 신혈관 생성 억제제등을 들 수 있다.⁶⁸⁾

최근에는 암치료 뿐만 아니라 암예방제의 또 다른 전략으로 식이성 섭취 또는 약물 투여로 유도되는 세포 사멸(apoptosis)에 많은 관심을 집중하고 있다.⁶⁹⁻⁷¹⁾ 정상 포유동물 세포에서는 항상성(homeostasis)을 유지하기 위해 세포 증식과 세포 사멸(apoptosis)에 의해 균형을 이루고 있다. 반면에, 종양세포에서는 아포토시스에 의한 세포사멸이 저해 받거나 교란되어 세포 증식 속도가 세포 소멸 속도를 초과하게 된다. 만약 세포 사멸의 잘못된 조절이 조직 크기 조절을 불가능하게 하

고, 이로 인해 악성 형질 변환을 일으키게 된다면, 인위적으로 암세포의 아폽토시스를 유도함으로써 중앙 생성을 억제하거나 역전시킬 수도 있을 것이다. 실제로 많은 화학적 암예방제나 화학 치료제는 전암 또는 악성세포에서 아폽토시스를 통한 세포 사멸을 유도함으로써 세포 증식 억제 효과를 증대시키는 것으로 알려져 있다.^{69~77)} 몇몇 화학적 암예방성을 지닌 비타민이나 식물성 화학물질의 경우에도 아폽토시스 유도에 의해 중앙세포의 성장을 지연시키거나 억제시키는 성질을 가지고 있다.^{69,76,77)}

감사의 글

본 연구는 1998년도 서울대학교 발전기금(선경) 학술 연구비(98-08-2076) 및 1998년도 서울대학교 종합 약학 연구소 약학 교육 연구 재단 연구비의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드린다.

참고 문헌

- 1) Sporn MB. Carcinogenesis and cancer: different perspectives on the same disease. *Cancer Res* 1991; 51: 6215-6218.
- 2) Wattenberg LW. Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Res (Suppl)* 1983; 43: 2448s-2453s.
- 3) Morse MA, Stoner GD. Cancer chemoprevention: principles and perspectives. *Carcinogenesis* 1993; 14: 1737-1746.
- 4) Sporn MB. Approaches to prevention of epithelial cancer during the preneoplastic period. *Cancer Res* 1976; 36: 2699-2702.
- 5) Weinstein IB. Cancer prevention: Recent progress and future opportunities. *Cancer Res* 1991; 51(suppl): 5080s-5085s.
- 6) Henderson BE, Ross RK, Pike MC, Casagrande JT. Endogenous hormones as a major factor in human cancer. *Cancer Res* 1982; 42: 3232-3239.
- 7) Henderson BE, Ross R, Bernstein L. Estrogens as a cause of human cancer: the Richard and Hinda Rosenthal Foundation award lecture. *Cancer Res* 1988; 48: 246-253.
- 8) Miller JA, Miller EC. The metabolic activation of carcinogenic aromatic amines and amides. *Prog Exp Tumor Res* 1969; 11: 273-301.
- 9) Miller EC. Some current perspectives on chemical carcinogenesis in human and experimental animals.

- Cancer Res* 1978; 38: 1479-1496.
- 10) Quintanilla M, Brown K, Ramsden M, Balmain A. Carcinogen-specific mutation and application of Ha-ras during mouse skin carcinogenesis. *Nature* 1986; 322: 78-79.
 - 11) Winberg LD, Budunova IV, Warren BS, Iyer RP, Thomas JS. Mechanism of skin tumor promotion and progression. In: ed. by Mukhtar H. *Skin Cancer: Mechanisms and Human Relevance*. pp. 115-118, Boca Raton, FL, CRC Press, 1995.
 - 12) Aldaz CM, Conti CJ, Gimenez IB, Slaga TJ, Klein-Szanto AJP. Cutaneous changes during prolonged application of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate on mouse skin residual effects after cessation of treatment. *Cancer Res* 1985; 45: 2753-2759.
 - 13) O'Brien TG, Simsiman RC, Boutwell RK. Induction of the polyamine biosynthetic enzymes in mouse epidermis by tumor promoting agents. *Cancer Res* 1975; 35: 1662-1669.
 - 14) Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, Jang M, Pezzuto JM, Dannenberg AJ. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 1988; 34: 21875-21822.
 - 15) Brissette JL, Kumar NM, Gilula NB, Dotto GP. The tumor promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and the ras oncogene modulate expression and phosphorylation of gap junction protein. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 5364-5370.
 - 16) Hennings H, Shores R, Wenk ML, Spangler, EF, Tarone R, Yuspa SH. Malignant conversion of mouse skin tumors is increased by tumor initiators and unaffected by tumor promoters. *Nature* 1983; 304: 67-69.
 - 17) O'Connell JF, Klein-Szanto AJP, Digiovanni DM, Freis JW, Slaga TJ. Enhanced malignant progression of mouse skin tumors by the free-radical generator benzoyl peroxide. *Cancer Res* 1986; 46: 2863-2865.
 - 18) Hartley JA, Gibson NW, Qwelling LA, Yuspa SH. The association of DNA strand breaks with accelerated terminal differentiation in mouse epidermal cells exposed to tumor promoters. *Cancer Res* 1985; 45: 4864-4871.
 - 19) Wattenberg LW. Prevention-therapy-basic science and resolution of the cancer problem: presidential address. *Cancer Res* 1993; 53: 5890-5896.
 - 20) Kelloff GJ, Boone CW, Crowell JA, Steele VE, Lubet RA, Sigman CS. Chemopreventive drug development: perspective and progress. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 83-98.
 - 21) Talalay P. The role of enzyme induction in protection against carcinogenesis. In: ed. by Wattenberg L.W.

- Cancer Chemoprevention, pp. 469-479, Boca Raton, FL, CRC Press, 1992.
- 22) Verma AK, Boutwell RK. Vitamin A acid (retinoic acid): a potent inhibitor of 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ornithine decarboxylase activity in mouse epidermis. *Cancer Res* 1977; 37: 2196-2201.
 - 23) Auvinen M, Paasinen A, Anderson IC, Holta E. Ornithine decarboxylase activity is critical for cell transformation. *Nature* 1992; 360: 355-358.
 - 24) McCann P, Pegg AE. Ornithine decarboxylase as an enzyme target for therapy. *Pharmacol Ther* 1992; 54: 195-215.
 - 25) Verma AK, Shapas BG, Rice HM, Boutwell RK. Correlation of the inhibition by retinoids of tumor promoter-induced mouse epidermal ornithine decarboxylase activity and of skin tumor promotion. *Cancer Res* 1979; 39: 419-425.
 - 26) Gahring LC, Buckley A, Daynes RA. Presence of epidermal derived thymocyte activating factor/IL-1 in normal stratum corneum. *J Clin Invest* 1985; 76: 1585-1591.
 - 27) Robertson FM, Bijur GN, Oberyszyn TM, Nill MR. Interleukin-1 α in murine multistage skin carcinogenesis. In: ed. by Mukhtar H Skin Cancer: Mechanisms and Human Relevance Boca Raton, FL, CRC Press, pp. 251-272, 1994.
 - 28) Katiyar SK, Mukhtar H. Inhibition of phorbol ester tumor promoter 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate-caused inflammatory responses in SENCAR mouse skin by black tea polyphenols. *Carcinogenesis* 1997; 10: 1911-1916.
 - 29) Groves RW, Allen MH, Ross EL, Barker JNWN. Tumour necrosis factor alpha is pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression. *Br J Dermatol* 1994; 132: 345-352.
 - 30) Wakefield PE, James WD, Samlaska CP, Metz MS. Tumor necrosis factor. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 675-685.
 - 31) Piguet PF, Grau GE, Houser C, Vassalli P. Tumor necrosis factor is a critical mediators in hapten-induced irritant and contact hypersensitivity reaction. *J Exp Med* 1991; 173: 673-679.
 - 32) Rhoades KL, Golub SH. The regulation of the human tumor necrosis factor α promoter region in macrophage, T cell, and B cell lines. *J Biol Chem* 1992; 31: 22102-22107.
 - 33) Shakov AN, Collart MA, Vassalli P, Nedospasov SA, Nongeneel CV. Kappa B-type enhancers are involved in lipopolysaccharide-mediated transcriptional activation of tumor necrosis factor alpha gene in primary macrophage. *J Exp Med* 1990; 171: 35-37.
 - 34) Sueoka N, Sueoka E, Okabe S, Fujiki H. Anti-cancer effects of morphine through inhibition of tumor necrosis factor- α release and mRNA expression. *Carcinogenesis* 1996; 17: 2337-2341.
 - 35) Komori A, Suganuma M, Okabe S, Zou, X, Tius, MA, Fujiki H. Canventol inhibits tumor promotion in CD-1 mouse skin through inhibition of tumor necrosis factor α release and of protein isoprenylation. *Cancer Res* 1993; 53: 3462-3464.
 - 36) Fujiki H, Suganuma M, Okabe S, Sueoka E, Suga K, Imai K, Nakachi K. A new concept of tumor promotion by tumor necrosis factor- α , and cancer preventive agents (-)-epigallocatechin gallate and green tea. *Cancer Detect Prev* 1999 in press.
 - 37) Rigas B, Goldman IS, Levin L. Altered eicosanoid levels in human colon cancer. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 518-523.
 - 38) Levy GN. Prostaglandin H synthases, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and colon cancer. *FASEB J* 1997; 11: 234-247.
 - 39) Dubois RN. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and spodic colorectal adenomas. *Gastroenterology* 1995; 108: 1310-1314.
 - 40) Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ, Piantodosi S, Hylind LM, Celano P, Booker SV, Robinson RC, Offerhaus GJA. Treatment of colorectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *New Engl J Med* 1993; 328: 1313-1316.
 - 41) Bellosillo B, Pique M, Barragan M, Castano E, Villamor N, Colomer D, Montserrat E, Pons G, Gil J. Aspirin and salicylate induce apoptosis and activation of caspases in B-cell chronic lymphotropic leukemia cells. *Blood* 1998; 92: 1406-1414.
 - 42) Piazza GA, Rahm ALK, Krutzsch M, Sperl G, Paranka NS, Gross PH, Brendel K, Burt RW, Alberts DS, Pamukcu R Ahnen DJ. Antineoplastic drugs sulindac sulfide and sulfone inhibit cell growth by inducing apoptosis. *Cancer Res* 1995; 55: 3110-3116.
 - 43) Samaha HS, Kelloff GJ, Steele V, Rao CV, Reddy BS. Modulation of apoptosis by sulindac, curcumin, phenethyl-3-methylcaffeate, and 6-phenylhexylisothiocyanate: apoptosis index as a biomarker in colon cancer chemoprevention and promotion. *Cancer Res* 1997; 57: 1301-1305.
 - 44) Lee E, Park K-K, Lee J-M, Chun K-S, Kang J-Y, Lee SS, Surh Y-J. Suppression of mouse skin tumor promotion and induction or apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxyphylla* Miquel (Zingiberaceae). *Carcinogenesis* 1998; 19: 1377-1381.
 - 45) Kuo ML, Huang TS, Lin JK. Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells. *Biochem Biophys Acta* 1996; 1317: 95-100.

- 46) Jiang MC, Yang-Yen HF, Yen JY, Lin JK. Curcumin induces apoptosis in immortalized NIH 3T3 and malignant cancer cell lines. *Nutr Cancer* 1996; 26: 111-120.
- 47) Lee E, Surh Y-J. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids, [6]-gingerol and [6]-paradol. *Cancer Lett* 1998; 134: 163-168.
- 48) Conney AH, Lysz T, Ferraro T, Abidi T, Manchand P, Laskin JD, Huang MT. Inhibitory effect of curcumin and some related dietary compounds on tumor promotion and arachidonic acid metabolism in mouse skin. *Adv Enz Regul* 1991; 31: 385-396.
- 49) Rao CV, Simi B, Reddy BS. Inhibition by dietary curcumin of azoxymethane-induced ornithine decarboxylase, tyrosine protein kinase, arachidonic acid metabolism and aberrant crypt foci formation in the rat colon. *Carcinogenesis* 1993; 14: 2219-2225.
- 50) Rao CV, Rivenson A, Simi B, Reddy BS. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. *Cancer Res* 1995 55: 259-266.
- 51) Huang MT, Ma W, Yen P, Xie J, Han J, Frenkel K, Grunberger D, Conney AH. Inhibitory effects of topical application of low doses of curcumin on TPA-induced tumor promotion and oxidized DNA base in mouse epidermis. *Carcinogenesis* 1997; 18: 83-88.
- 52) Itokawa H, Aiyama R, Ikuta A. A pungent principle from *Alpinia oxyphylla*. *Phytochemistry* 1981; 21: 241-243.
- 53) Itokawa H, Aiyama R, Ikuta A. A pungent diarylheptanoid from *Alpinia oxyphylla*. *Phytochemistry* 1982; 20: 769-771.
- 54) Flynn DL, Rafferty MF. Inhibition of 5-hydroxy-eicosatetraenoic activity (5-HETE) formation in intact human neutrophils by naturally-occurring diarylheptanoids. *Prostaglandins Leukotrienes and Medicine* 1986; 22: 357-361.
- 55) Kiuchi F, Iwakami S, Shibuya M, Hanaoka F, Sankawa U. Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. *Chem Pharm Bull* 1992; 40: 387-391.
- 56) Shirota S, Miyazaki R, Aiyama R, Ichioka M, Yokokura T. Tyrosinase inhibitors from crude drugs. *Biol Pharm Bull* 1994; 17: 266-269.
- 57) Chang WS, Chang YH, Lu FJ, Chiang HC. Inhibitory effects of phenolics on xanthine oxidase. *Anticancer Res* 1994; 14: 501-506.
- 58) Guh JH, Ko FN, Jong TT, Teng CM. Antiplatelet effect of gingerol isolated from *Zingiber officinale*. *J Pharm Pharmacol* 1995; 47: 329-332.
- 59) Oloke JK, Kolawole DO, Erhun WO. Antimicrobial effectiveness of six paradols: A structure-activity relationship study. *J Ethnopharmacol* 1989; 25: 109-113.
- 60) Lee SS. A molecular design for producing long-lasting analgesia In: ed. by Ozawa T. *New Trends in Biological Chemistry*, pp. 341-353, Tokyo, Japan Scientific Societies Press, Springer-Verlag, 1991.
- 61) Park KK, Chun KS, Lee JM, Lee SS, Surh YJ. Inhibitory effects of [6]-gingerol, a major pungent principle of ginger, on phorbol ester-induced inflammation, epidermal ornithine decarboxylase activity and skin tumor promotion in ICR mice. *Cancer Lett* 1998; 9: 39-144.
- 62) Chun KS, Park KK, Kim JH, Kim HS, Sohn Y, Surh YJ. Inhibition of mouse skin tumor promotion and suppression of phorbol ester-induced NF- κ B and AP-1 activation by diarylheptanoids derived from *Alpinia oxyphylla* Miquel. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1999; 40: 363.
- 63) Edes TE, Thomson Jr. WH, Shah JH. Beta carotene and mammary carcinogenesis. *J Am Coll Nutr* 1993; 8: 426.
- 64) Chen LC, Sly L, Jones CS, Tarone R, De Luca LM. Differential effects of dietary β -carotene on papilloma and carcinoma formation induced by an initiation-promotion protocol in SENCAR mouse skin. *Carcinogenesis* 1993; 14: 713-717.
- 65) Yang CS, Smith TJ, Hong JY. Cytochrome P-450 enzymes as targets for chemoprevention against chemical carcinogenesis: opportunities and limitations. *Cancer Res* 1994; 54(Suppl): 1982s-1986s.
- 66) Paolini M, Mesirca R, Gialluca N, Bauer C, Biagi GL, Cantelli-Forti G. On cancer chemoprevention: complications and limitations of some proposed strategies. *Carcinogenesis* 1995; 16: 971-973.
- 67) Paolini M, Legator MS. Healthy broccoli? *Nature* 1992; 357: 448.
- 68) Kelloff GJ, Boone CW, Steele VE, Fay JR, Sigman CC. Inhibition of chemical carcinogenesis, In: ed. by Arcos J.C. *Chemical Induction of Cancer*, pp. 401-410, Birkauser, Basel, 1995.
- 69) Lotan R. Retinoids and apoptosis: implications for cancer chemoprevention and therapy. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1655-1657.
- 70) Holzman D. Apoptosis provides new targets for chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1098-1100.
- 71) Resus L, Szondy Z, Uray I. Probing the molecular program of apoptosis by cancer chemopreventive agents. *J Cell Biochem* 1995; 22(suppl): 151-161.
- 72) Muller I, Jenner A, Bruchelt G, Niethammer D, Halliwell B. Effect of concentration on the cytotoxic mechanism of doxorubicin-apoptosis and oxidative DNA damage. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 230: 254-257.
- 73) Yu W, Sanders BG, Kline K. RRR- α -Tocopheryl

- 73) Yu W, Sanders BG, Kline K. RRR- α -Tocopheryl succinate inhibits EL4 thymic lymphoma cell growth by inducing apoptosis and DNA synthesis arrest. *Nutr Cancer* 1997; 230: 254-257.
- 74) Delia D, Aiello A, Fontanella F, Costa A, Miyashita, T, Feed JC, Pierotti MA. Regulation of apoptosis induced by the retinoid N-(4-hydroxyphenyl)retinamide and effect of deregulated bcl-2. *Blood* 1995; 85: 359-367.
- 75) Amato SF, Swart M, Berg M, Wanebo HJ, Mehta SR, Chiles TC. Transient stimulation of the c-Jun-NH₂-terminal kinase/activator protein 1 pathway and inhibition of extracellular signal-regulated kinase are early effects in paclitaxel-mediated apoptosis in human B lymphoblasts. *Cancer Res* 1998; 58: 241-247.
- 76) Yu R, Mandlekar S, Harvey KJ, Ucker DS, Kong AN. Chemopreventive isothiocyanates induce apoptosis and caspase-3-like protease activity. *Cancer Res* 1998; 58: 402-408.
- 77) Sundaram SG, Miller J. Diallyl disulfide induces apoptosis of human colon tumor cells. *Carcinogenesis* 1996; 17: 669-673.
-