

식품유래 파이토케미칼들의 암예방 작용

발암기전 및 분자암예방 국가지정연구실 서울대학교 약학대학

서 영 준

Cancer Chemopreventive Effects of Dietary Phytochemicals

Young-Joon Surh

National Research Laboratory, College of Pharmacy,
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Chemoprevention is an attempt to use either naturally occurring or synthetic substances or their mixtures to inhibit, reverse, or delay the progress of carcinogenesis, before the malignancy manifests. Numerous chemical substances have been found to prevent or halt carcinogenesis, and it is noticeable that a substantial body of chemopreventive agents are derived from our daily diet, particularly vegetables and fruits (Surh, Y.-J., *Nature Rev. Cancer*, 2003). Accumulating evidence from population-based and laboratory studies support association between regular consumption of fruits and vegetables and the reduced risk of certain cancers. A wide array of phytochemicals derived from edible plants have been reported to possess ability to intervene in a specific stage of carcinogenic process. Multiple mechanisms have been proposed to account for the anti-carcinogenic actions of dietary constituents, but more attention has recently been focussed on intracellular signaling cascades as common molecular targets of a vast variety of chemopreventive phytochemicals.

Key Words: Chemoprevention, Phytochemicals, Signal transduction, NF-kappa B, AP-1, Mitogen-activated protein kinases, Nrf2, Beta-catenin

서 론

평균수명 증가와 산업화 및 기타 생활환경의 변화로 인해, 암의 발생은 전세계적으로 증가일로에 놓여있다. 최근 세계보건기구의 통계자료에 의하면, 전세계적으로 연간 약 1천만명 이상의 새로

운 암환자가 발생하는 것으로 알려져 있다. 미국의 경우 작년 한해 약 1,300,000명의 새로운 암환자가 발생하고 약 550,000명이 암으로 사망하는 것으로 추정된다. 우리 나라의 경우도 암환자 수가 매년 꾸준히 증가하고 있으며, 각종 암의 발생률이나 그 양상 또한 선진국형으로 점차 바뀌고 있다. 이미 암에 의한 사망은 우리 나라 전체 성

책임저자 : 서영준, ☎ 151-742, 서울특별시 관악구 신림동 산 56-1, 서울대학교 약학대학

Tel: 02-880-7845, Fax: 02-874-9775, E-mail: surh@plaza.snu.ac.kr

접수일 : 2004년 5월 14일, 게재승인일 : 2004년 6월 18일

인사망요인 중 으뜸을 차지하는 것으로 되어 있다.

1970년대 중반이후부터 암을 유발하는 발암유전자(oncogen)와 역으로 발암과정을 제어하는 종양억제유전자(tumor suppressor gene)들이 속속 발견되고 그 기능이 밝혀지면서 인체암의 발생 및 진행과정을 분자수준에서 이해하는데 일대 변혁이 일게 되었다. 또한 역학조사 및 실험실 연구를 통해 암의 발생원인이 상당부분 확인되었다. 그럼에도 불구하고 암은 여전히 완치가 어려운 질병으로 인식되고 있으며 암세포를 한방에 무력화시킬 수 있는 만암 치료제(magic bullet)는 아직 개발되지 못하고 있는 실정이다. 다른 질병의 경우와 마찬가지로 암의 경우에도 치료보다는 예방이 최선의 방책일 수도 있다. 일차적 암예방법으로는 이미 확인된 발암물질에 대한 노출을 피하거나 줄이는 것을 들 수 있겠으나, 이는 경우에 따라 상당히 급격한 생활습관의 변화를 요구함으로써 실천에 옮기기 어려울 수도 있다.

일찍이 Richard Doll과 Richard Peto는 인체암의 약 35%는 우리가 섭취하는 음식과 관계있다고 보고한바 있다(Table 1).¹⁾ 음식과 암의 상관성을 뒷받침하는 예로서, 대장암과 유방암은 육류와 지방 섭취가 많은 북미나 유럽국가에서 그 발생률이 높은 반면, 곡류와 야채를 주식으로 하는 남미와 동양에 있어서는 상대적으로 낮게 나타나는 것을 들 수 있다. 식품에서 유래한 몇몇 발암(의심)물

질들은 실험동물에 투여 시 종양을 발생시키고, 암세포의 증식이나 전이를 촉진하기도 한다. 그러나 우리가 섭취하는 음식에는 암의 발생이나 암화과정을 억제할 수 있는 성분들도 다수 포함되어 있다. 여러 임상, 역학, 기초 연구를 통해 과일과 채소의 섭취와 특정 암의 발생률에 역비례 관계가 있다는 증거가 계속 축적되고 있다. 미국의 경우 1991년부터 하루 과일과 야채를 다섯 차례 이상 섭취함으로써 암을 비롯한 각종 성인병을 예방하자는 “Five-A-Day for Better Health”라는 캠페인을 꾸준히 벌이고 있으며, 실제로 그 효과를 보고 있다. 이 범국가적인 캠페인에는 미국 정부를 대표하여 국립암연구소(NCI), 미국암학회(American Cancer Society), 미국암연구재단(American Institute of Cancer Research), 기타 비영리 소비자재단, 자원봉사단체, 식품업계 등이 동참하고 있다. 이 운동이 처음 시작된 91년 당시에는 미국인 중 8%만이 하루 다섯 서빙(serving; 1 serving은 사과 반쪽, 주스 한잔 정도의 양에 해당) 이상의 과일과 야채를 섭취하였으나, 지금은 무려 5배나 증가한 36%의 국민들이 이 운동에 참여하고 있다고 한다. “Five-A-Day for Better Health” 프로그램과 더불어, 미국인들로 하여금 보다 다양한 야채와 과일을 더 많이, 자주 섭취할 수 있도록 2002년 국립암연구소는 “Savor the Spectrum” 운동을 시작하면서, 무지개 색깔처럼 다양한 스펙트럼의 과일과 야채들로 구성된 가이드라인을 마련해 놓았다. 미국 국립암연구소측에 따르면, 식물에서 유래한 약 40여종 이상의 식품들이 암예방 효과를 갖는 것으로 확인되었다. 대표적인 예가, 마늘, 콩, 생강, 양배추, 브로콜리, 토마토 등을 들 수 있다.²⁾

Table 1. Doll & Peto’s estimates of what causes cancer

Factor	Estimated % of all cancer deaths
Diet	35
Tobacco	30
Infection	10
Reproductive & sexual behavior	7
Occupation	4
Alcohol	3
Geophysical factors	3
Pollution	2
Industrial products	1
Medicines & medical procedures	1
Food additives	< 1

Source: from reference 1

식품유래 파이토케미칼들의 화학암예방 작용

많은 역학 연구를 통해 탄수화물이나 섬유소와 같은 macronutrients나 비타민, 미네랄과 같은 micronutrients들이 암의 발생률을 낮춘다는 사실이 밝혀지게 되었다. 특히 녹황색 채소나 과일에 풍부하게 들어 있는 항산화 비타민들(Vit. A, Vit. C, 및 Vit. E)이나 베타카로틴 등의 비타민 전구물질들의 암예방 효과는 익히 잘 알려져 있다. 앞서

언급한 항산화 비타민들이나 미량원소들의 암예방 효과를 체계적으로 검증하기 위한 일련의 임상실험들이 미국 국립암연구소 등의 지원하에 활발히 진행되어 왔다. 세계에서 식도암과 위암발생률이 가장 높은 중국의 린산(Linxian) 지역에 거주하는 40세에서 69세 주민 29,584명을 대상으로 한 실험 결과, 하루 권장량의 비타민 E, 베타카로틴, 셀레늄을 매일 섭취한 사람들의 암으로 인한 사망률은 대조군에 비해 훨씬 낮았다. 그러나 우리가 일상적으로 섭취하는 야채나 과일에는 항산화 비타민 외에도 수많은 암예방 작용이 있는 화합물들이 들어 있다. 비록 영양적인 가치는 비타민에 미치지 못할지라도, 이들 식물유래 화합물질을 총칭하는 파이토케미칼(Phytochemical; 'phyto-'라는 접두사는 희랍어로 식물을 의미하는 단어에서 유래)들의 암예방 효과는 오히려 항산화 비타민들보다 우수한 경우가 많다. 이들 파이토케미칼들은 대부분 식물의 2차 대사산물로서 그중에는 해충이나 주변의 동물 또는 자외선으로부터 스스로를 보호하기 위해 만들어진 방어물질(phytoalexin)들도 많다. 미국 국립 암연구소에서는 그간 식품 또는 약용식물에 들어 있는 파이토케미칼들 중 발암억제 효과가 있는 약 1,000여 가지를 분리 확인하였다.

이처럼 식품에 들어 있는 파이토케미칼들이나 기타 독성이 없는 화합물질을, 또는 이들의 혼합체들을 이용하여 정상세포의 암화과정을 억제, 지연 또는 역전시킴으로써 보다 적극적으로 암에 대한 risk를 줄이려는 "화학암예방(cancer chemoprevention)"이 최근 많은 관심을 끌고 있다. 이는 암환자들에게 항암제를 투여하여 치료하는 기존의 화학요법(chemotherapy)와는 다른 개념이다. 이용어는 1970년대 중반, 당시 미국 국립암연구소에 근무하던 Michael Sporn 박사가 비타민 A 유도체인 retinoic acid가 실험적으로 유도된 종양발생을 억제하는 효과가 있음을 발견하고, 이 현상을 설명하기 위해 처음 사용하였다. 안전한 화합물질을 사용하여 정상세포가 암세포로 전환되지 못하도록 사전에 방지하는 화학암예방은 암정복을 위해 상당히 효과적이고 실리적인 전략으로 대두되고 있다. 화학암예방제는 일차적으로 정상인들이 복용하게 되므로 당연히 독성이 없거나 있더라도

극히 미약해야 하며 또 다수의 대중에게 염가로 보급될 수 있도록 분리나 합성이 용이해야 한다는 전제를 둔다. 이러한 측면에서 인류가 오랫동안 경험을 통해 안전성이 검증된 식이 및 약초 성분들이 유망하고 실리적인 화학 암 예방제의 후보물질이 될 수 있다.

1980년도 초반 미국립암연구소의 암예방 및 통제부(Division of Cancer Prevention and Control)의 화학암예방 프로그램을 통해 다수의 파이토케미칼들의 발암억제효과와 안전성이 평가되었다. 화학암예방분야의 연구 활성화와 체계적으로 연구 수행을 도모하기 위해 미국 국립암연구소의 암예방부에서는 1998년 Chemoprevention Implementation Group을 발족시켰고 이어서 RAPID (Rapid Access to Prevention Intervention Development) program을 운용하면서 약 400여종의 화학암예방 후보물질들을 검색하고 있으며, 화학암예방제 개발을 위한 60여 Phase I, Phase II, Phase III 임상실험을 지원하고 있다. 주목할 만한 사실은 암예방 효과를 나타내는 상당수의 화합물들이 우리가 일상생활에서 섭취하는 식품 중에 함유되어 있다는 점이다. 앞으로는 발암억제 효과가 탁월한 식품화합물들을 대량 분리하거나 합성하여 정제나 캡슐로 제형화(formulation) 하여 일상적으로 복용함으로써 암의 발생을 억제하거나 최소한 그 시작을 늦출 수 있는 날이 올지도 모른다. 이는 마치 우리가 매일 비타민을 섭취함으로써 부족한 영양소를 보충하는 것과 같다고 볼 수 있으며, 그 효능이 검증된다면 당장 블록버스터 건강식품으로 등극할 것이 틀림없다. 실제로 몇몇 바이오텍 회사들은 식품화합물을 이용한 암예방제 개발에 눈을 들고 있는데 이는 그 어떤 식품의약/건강식품 아이템보다 큰 수요가 기대되기 때문이다. 암예방 파이토케미칼들이 어떻게 하여 발암억제효과를 나타내는지를 알기 위해서는 암의 발생원인 및 정상 세포가 암세포로 전환되는 발암과정에 대한 보다 정확한 이해가 필요하다.

다단계 발암과정

1) 개시(initiation)

암 개시단계란 발암 물질이 DNA와 반응하여

유전자 변이를 초래하는 비가역적 과정이다. 화학 발암제의 경우 대부분 그 자체로는 발암성을 나타내지 못하나, cytochrome P450 (CYP 효소) 등의 산화 효소들이 촉매하는 생체 대사과정을 거쳐 친전자성 반응물질(electrophilic reactant)로 활성화된다. 이들 친전자성인 대사 산물들은 생체내에 존재하는 친핵성(nucleophilic) 물질인 DNA와 반응하여 부가물(DNA adduct)을 형성함으로써 돌연변이 및 유전독성을 유발할 수 있다. 이로 인한 DNA 손상이 수복되지 않으면 DNA 복제(replication) 과정 중에 돌연변이가 일어나고 암개시화 세포(initiated cell)가 생성된다. 암 개시화된 세포는 이후 반복적으로 종양 촉진제에 노출되지 않는 한 암세포로 전환될 수 있는 잠재력만을 가지고 있게 된다. 개시단계의 유전적 변화로는 발암물질에 의한 DNA 손상의 결과로 나타나는 H-ras와 같은 원암 유전자(proto-oncogene)의 활성화 및 p53과 같은 종양억제 유전자(tumor suppressor gene)의 기능상실을 들 수 있다. 환경발암물질들의 공격이 없는 상태에서도 선천적으로 발암 또는 종양억제 유전자에 돌연변이가 발생하는 경우도 있다. 이 경우 특정암에 걸릴 감수성이 그만큼 증가하게 된다. 대부분의 발암물질들이 우리 몸 안에서 대사됨으로, 발암물질들의 대사활성화나 해독화에 관여하는 효소들의 활성이나 이들의 유전적 다형성(genetic polymorphism)은 동일 집단에서 종종 관찰되는 개체간 발암 감수성(carcinogenic susceptibility)의 차이를 설명하는 단서가 될 수 있다. 최근 분자역학(molecular epidemiology)의 괄목할만한 발전으로 cytochrome P450 계열의 동종효소들과 glutathione S-transferase 및 acetyltransferase 등 해독화 효소들의 유전형(genotype)과 이들의 돌연변이로 인한 발암 감수성의 표현형(phenotype) 발현간의 상관관계 연구가 활발히 진행 중이다. 고혈압 치료제인 debrisoquine의 산화적 대사에 관여하는 cytochrome P450 2D6 (CYP2D6)을 예로 들면, 이 약물의 대사속도가 더딘 poor metabolizer들의 경우 CYP2D6 유전자에 돌연변이가 있음이 관찰되었고 또한 특정 암에 대한 감수성증가와 관련 있음이 보고된 바 있으며, 대표적 phase 2 해독화 효소인 glutathione S-transferase의 경우도 특정 동종효소의 유전자 돌연변이는 각종 암에 대한 risk

를 높이는 것으로 알려져 있다. N-acetyltransferase의 경우도 그 유전적 다형성이 대장암 및 방광암의 개체간 감수성차이와 관련이 있다는 임상적, 역학적 증거들이 축적되어 있다.

2) 촉진(promotion)

종양 촉진단계는 상대적으로 오랜 시간을 두고 서서히 진행되는 과정으로서 암 개시화된 세포의 증식을 유도하여 전암병변 상태의 세포군집을 형성시킨다. 암 개시단계와는 달리 암 촉진단계는 원인이 제거되면 이전 단계로 되돌아 갈 수 있는 가역적인 단계이다. 아직까지 종양 촉진제가 어떻게 유전자 발현에 영향을 주는지에 대한 분자기전이나 세포 증식 기전에 대하여는 확실히 밝혀져 있지 않지만, 세포 성장 인자나 세포 항상성(homeostasis)을 조절하는 물질들의 발현이나 활성화를 통해 세포내 신호 전달 체계에 영향을 주는 것으로 생각된다. 마우스 피부암 모델에서 대표적 종양 촉진제인 12-O-tetradecanoyl phorbol acetate (TPA) 처리 시 많은 후성적(epigenetic) 변화가 나타난다. 이런 후성적 변화로는 표피의 과다 증식(epidermal hyperplasia), 오르니틴 탈탄산효소(ornithine decarboxylase)와 protein kinase C (PKC)의 발현 및 활성유도, 염증 반응(inflammation), 사이클로옥시게나제(cyclooxygenase)의 활성 증가, interleukin-1 α (IL-1 α), tumor necrosis factor- α (TNF- α)와 같은 proinflammatory cytokine들의 발현 증가 등을 들 수 있다. 특히 polyamine 생합성의 속도조절(rate-limiting) 효소로서 세포증식과 관련 있는 오르니틴 탈탄산효소는 TPA와 같은 종양촉진제에 의해 그 발현이나 활성이 일시적으로 유도되며, 따라서 종양촉진의 생화학적 지표로 널리 활용된다. 오르니틴 탈탄산효소의 과다발현은 종종 세포증식을 유도하고 세포의 암화를 촉진시키게 된다.

대표적 발암촉진제인 phorbol ester는 PKC를 직접적으로 활성화시킴으로서 개시화된 암세포의 증식을 빠르게 유도한다. PKC는 diacylglycerol에 의해 활성화되는 중요한 신호 전달 경로에 관여하는 효소로서 세포의 증식과 분화에 영향을 주어 종양을 촉진시킨다. PKC 신호 전달 경로는 ras oncogene과 같은 발암유전자와 각종 성장인자들

(growth factors), 호르몬, lymphokines 등에 의해 활성화된다. 통상 외부에서 정상적인 세포증식 조절 과정에서는 호르몬이 세포막의 수용체에 결합하면 세포막의 인지질이 phospholipase C에 의해 분해되면서 diacylglycerol을 생성하고 이것이 세포질내의 PKC에 리간드로 작용하여 세포분열 및 각종 세포성장 및 증식을 조절하는 신호전달체계를 활성화시키게 된다. 그러나 종양촉진제인 TPA의 경우는 앞서 언급한 세포막의 수용체를 통한 일련의 과정을 거치지 않고 바로 세포막을 투과하여 PKC와 직접 결합하는 지름길을 택함으로써 신속히 세포 내 신호전달체계를 활성화시킬 수 있다. 즉 PKC는 diacylglycerol이라는 내인성 리간드와 결합하는 외에 종양촉진제인 TPA의 수용체로 작용하기도 하는 것이다. 실제로 TPA의 화학구조를 보면 diacylglycerol과 유사한 관능기들을 가지고 있으며, 이를 통해 PKC와 결합하는 것으로 생각된다. TPA외에도 실험동물에서 종양촉진제로 작용하는 화합물들로는 대표적 다이옥신계 화합물인 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)와, 랫드에 간암을 촉진하는 phenobarbital 등을 들 수 있다.

3) 진행(progression)

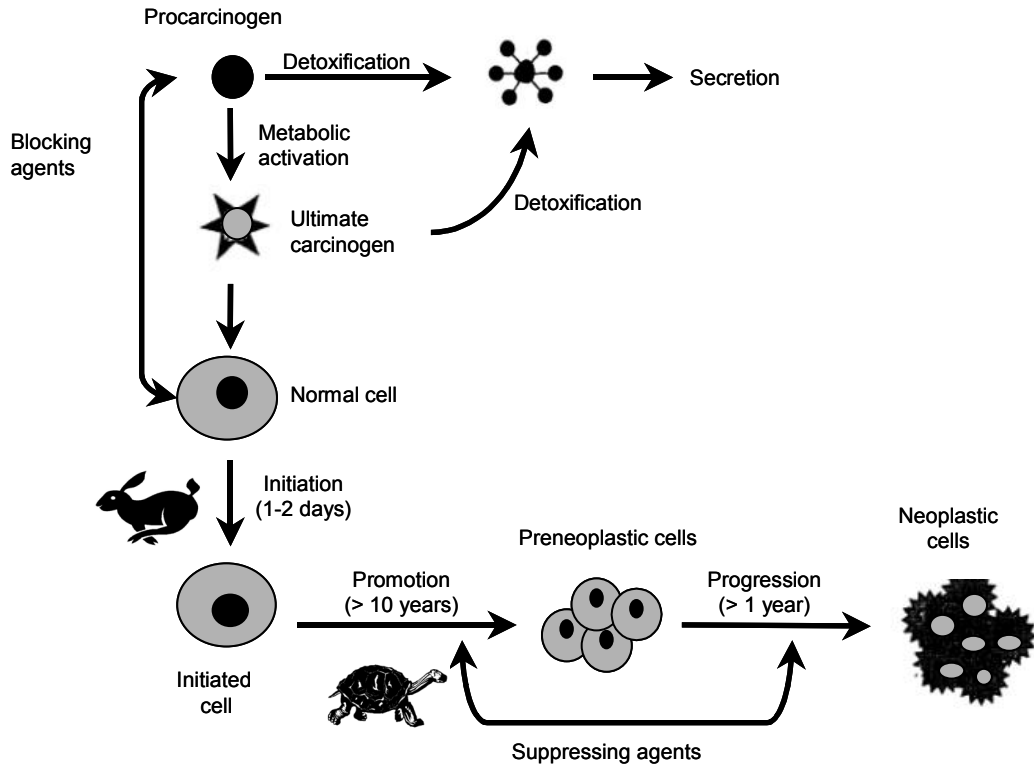
암진행단계는 비교적 양성이던 병소가 악성으로 되어, 침윤성(invasiveness) 전이능(metastatic potential)이 증가한 악성종양 신생물(neoplasm)로 전환되는 단계이다. 암 진행단계는 암 개시단계에서의 DNA 돌연변이와는 별개로 일어나는 2차적 유전변이이다. 암 촉진단계 동안 이런 유전적 손상 부위가 늘어나고 유전적으로 불안정적(genomic instability)인 상태가 지속되면 악성암으로의 진행 가능성은 높아진다. 암세포가 무한증식하기 위해서는 지속적인 산소와 영양분의 공급이 필요하다. 이를 위해 암조직 주변에 수많은 작은 혈관들이 새로이 생성되는바, 이러한 혈관신생(angiogenesis)도 암화과정의 진행에 필수적이다.

암예방 식품화합물들의 생화학적 작용기전

위에서 언급한 개시(initiation), 촉진(promotion) 그리고 진행 (progression)과정으로 암화과정을 구

분하는 것이, 복잡한 암화과정을 지나치게 단순화시킨 것이라 생각할 수도 있겠지만, 암예방을 위한 전략 수립에는 상당히 유용하다. 일찍이 미네소타대학의 Lee Wattenberg 박사는 화학적 암예방 물질들을 그 작용단계에 따라 차단물질(blocking agents)와 억제물질(suppressing agents) 두종류로 분류하였다(Fig. 1).³⁾ 차단물질은 발암물질이 표적 세포에 도달하는 것을 원천적으로 봉쇄하거나, 대사활성화를 거쳐 표적세포의 DNA를 공격하여 구조적 손상과 돌연변이를 유발하는 것을 억제하는 능력을 가지며, 한편 억제물질은 이미 개시화된 세포가 촉진 및 진행단계를 거쳐 양성암과 악성암으로 각각 발전되어 가는 과정을 저해하는 화합물로 정의하였다.

지금까지 확인된 식품 중의 주요 암예방 성분들(Fig. 2)은 위에서 언급한 암의 다단계 진행과정 중 특정 단계에서 발암억제 기능을 수행하는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 녹차의 주 항산화 성분으로 알려진 epigallocatechin gallate (EGCG)와 토마토의 붉은색소인 라이코펜은 세포내에 축적되는 활성산소종을 소거하여 세포내 DNA가 손상 받는 것을 막는다. EGCG를 포함한 녹차의 폴리페놀계 화합물들은 활성산소 제거능력이 항산화 비타민들만큼이나 탁월한 것으로 알려져 있으며, 흡연 후 녹차를 마신 사람들은 담배를 피우고 커피를 마시는 사람들보다 염색체 손상을 훨씬 적게 받는다는 실험결과도 있다. 마늘의 아릴설파이드, 양배추의 인돌카비놀과 브로커리의 설포라판, 호두의 엘라직산 등은 발암물질의 대사활성화를 방지하거나 해독화를 촉진함으로써 암의 개시화를 억제한다. 고추의 매운성분인 캡사이신은 위암을 유발할 수 있는 나이트로스아민이 대사활성화를 억제함으로써 표적세포의 DNA 손상 및 이로 인한 세포의 돌연변이를 막는다. 배양된 간암세포주에 브로커리에서 분리한 설포라판을 처리 시 발암물질의 해독화 반응에 중요한 역할을 하는 퀴논환원효소를 강력하게 유도되었으며, 실험적으로 유도된 랫드의 유방암 발생 또한 설포라판 투여시 현저히 감소하였다. 양배추 등 십자화과 식물들에 들어있는 인돌카비놀은 내인성 발암물질인 에스트로젠의 산화적 대사를 통한 활성화를 억제하는 반면에 에스트로젠을 비활성형의 대사



adapted from: Y.-J. Surh,
Mutation Res., 428: 305-327 (1999)

Fig. 1. Multistage carcinogenesis.

체로 바꾸는 해독화과정은 강화시키는 작용이 있다. 즉 'bad estrogen' 생성은 억제하고 'good estrogen' 생성은 증가시키는 것이다. 한편 아마씨에 함유된 오메가 3 지방산, 두부, 미소, 두유, 된장 등 콩으로 만든 음식에 풍부한 이소플라본, 생강의 진저롤, 카레의 커큐민 등은 암개시화된 세포가 양성종양으로 발전하는 촉진과정을 막기도 한다.²⁾ 콩의 대표적 이소플라본인 제니스타인은 식물성 에스트로젠으로도 불리우며, 에스트로젠 수용체에 결합함으로써 궁극적으로 내인성 에스트로젠의 작용을 방해하며, 따라서 암 개시화된 세포가 암세포로 전환하는 것을 방지한다. 양성종양을 이루는 세포의 일부가 더욱 변형되어 전신으로 퍼져 나갈 수 있는 침윤성과 전이능을 갖는 악성종양으로 진행되는 것을 차단하는 작용을 갖는

식품화합물로 포도나 적포도주의 레스베라트롤을 들 수 있다. 1997년 미국 시카고 소재 일리노이대학 약학부 연구진이 발표한 내용에 의하면, 레스베라트롤은 암의 개시나 촉진과정도 억제할 수 있는 능력이 있다.⁴⁾ 아라키돈산으로부터 염증반응을 매개하는 프로스타글란딘을 합성하는데 필수적인 cyclooxygenase-2 (줄여서 COX-2)는 암세포의 증식은 물론 종양세포의 전이(metastasis)나 암세포 주변의 새로운 혈관신생(angiogenesis)에도 관여하는 것으로 알려져 있다. 레스베라트롤은 암세포의 증식 및 혈관의 신생(angiogenesis)을 억제함으로써 암세포를 괴사시킨다. 포도는 물론 콩, 생강, 로즈마리, 당근, 카레에는 COX-2에 대해 억제 효과를 갖는 성분들이 들어 있어 암세포 증식에 필요한 혈관신생을 억제하고, 암세포의 자살을

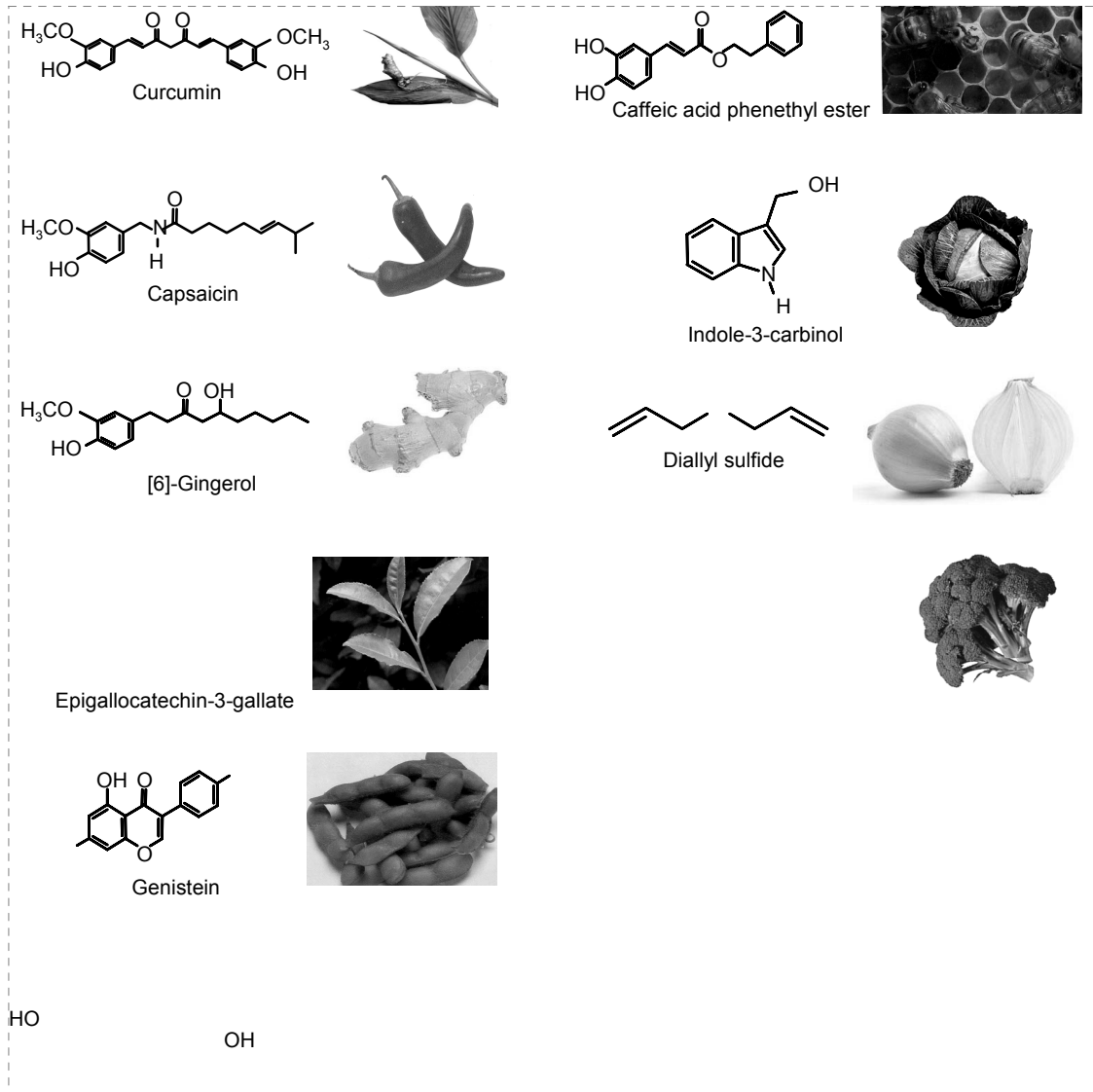


Fig. 2. Some representative chemopreventive phytochemicals.

유도하는 것으로 알려져 있다.⁵⁾

발암억제 식품화합물들의 표적이 되는 세포내 신호전달체계

지난 반세기동안 다단계발암과정과 관련된 생화학적이전이 상당부분 규명됨으로써, 이제 우리는 각종 식품화합물들이 어떻게 발암과정의 특정 단계를 저해, 조절하는지에 관해 잘 이해할 수 있

게 되었다. 특히, 종양유전자, 발암억제유전자 및 발암물질의 대사활성화나 해독효소를 만드는 유전자들이 확인되고 그 기능이 규명되고, DNA 수복효소, 세포주기 및 세포사멸을 조절하는 단백질들의 기능이 밝혀지면서 발암과정을 세포 및 분자수준에서 연구할 수 있게 되었다. 아울러, 암 세포의 침윤, 전이 및 혈관신생에 관한 연구에서도 괄목할만한 발전이 뒤따르게 되었다. 그러나 이러한 발전에도 불구하고 아직도 암예방 식품화

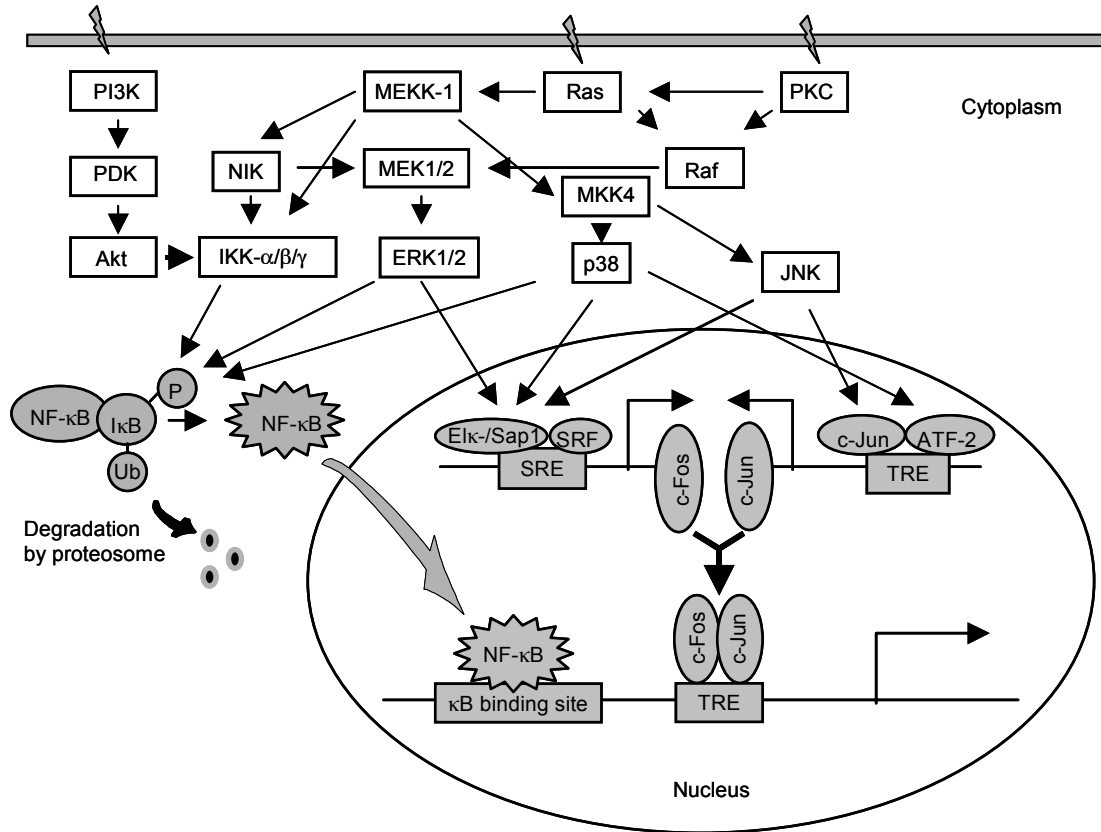


Fig. 3. Intracellular signaling cascades leading to the activation of NF-kappaB and AP-1.

합물들의 정확한 표적물질은 대부분의 경우 밝혀지지 않은 상태이다. 발암과정과 관련된 분자지표들의 상당부분은 세포증식 및 분화를 조절하는 세포내 신호전달 물질들이다. 세포의 항상성 유지를 담당하는 신호전달네트워크에서 가장 중심적인 역할을 하는 구성요소로 mitogen-activated protein kinase (MAPK) family의 인산화 효소들을 들수 있다. MAPK들이나 이들 효소의 조절을 받는 전사인자들이 관여하는 신호전달경로가 비정상적으로 또는 부적절하게 활성화되거나 비활성화될 경우 과도한 세포증식이 일어남으로써 암화과정을 초래할 수 있다. 몇몇 암예방 식품화합물들은 특정 신호전달체계의 과도한 활성은 억제하고 고장난 경로는 원상복귀 시켜 정상가동 시킴으로써 비정상적인 세포증식을 사전 방지시키는 능력을 가지고 있다.²⁾ MAPK외에도 PKC나 phosphatidylinosi-

tol 3-kinase (PI3K)들도 암예방 식품화합물들의 중요한 표적이 된다. 이들 상위의 신호전달 효소들은 NF-κB 및 AP-1을 포함한 전사인자들을 활성화 시켜 그 기능을 발휘한다(Fig. 3).

1) NF-κB 및 AP-1

다양한 세포내 신호전달 경로들이 NF-κB 및 AP-1의 활성화를 통하여 매개되는 것으로 알려져 있다. NF-κB의 과도한 활성화는 암세포의 아포토시스를 통한 사멸에 대한 저항성을 부여하고, 오히려 세포증식을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.^{6,7)} 한편 정상세포에 NF-κB를 과발현시킬 경우 마치 종양세포와 유사한 표현형으로 바뀌는 경우도 관찰된다.⁸⁾ 많은 식품유래 암예방 물질들은 암세포에서 과도하게 발현되어 있거나 종양촉진제인 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)

나 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)로 유도되는 NF- κ B의 활성화를 억제하는 것으로 보고되고 있다.⁹⁻¹¹⁾ 또 다른 전사인자인 AP-1도 세포증식 및 분화를 조절하는데 중요한 역할을 수행한다. NF- κ B의 경우와 마찬가지로 AP-1의 과도한 기능적 활성화는 종양촉진 및 악성암화 과정을 종종 초래한다.¹²⁻¹⁵⁾ AP-1은 Jun 및 Fos family의 단백질들이 leucine-zipper domain을 통해 상호결합된 homo-또는 heterodimer로 구성되어 있다. AP-1 활성화 또한 MAPK 신호전달 경로의 조절을 받는다.¹⁵⁻¹⁷⁾ NF- κ B와 AP-1은 세포내 신호전달체계의 다양한 내외부의 자극에 대한 반응을 매개하는 보편적인 전사인자들로서, 각종 발암억제 식품화합물들의 표적이 된다(Fig. 3).

2) Nrf - Keap1 complex

암 촉진과 진행을 억제하는 것과는 또 다른 화학적 암예방의 전략은, 개시 단계에서, 발암물질에 의한 DNA 손상을 막는 것이다. 발암원을 포함한 외인성 독성 화학물질들은 glutathione S-transferase (GST)와 NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO)와 같은 Phase II 해독화 효소들에 의해 무독화된다.

Phase II 해독화 효소 유도는 세포내 스트레스 방어 반응의 중요한 구성원이다. 이 해독화효소 시스템은 친전자성의 산화적 스트레스를 유발할 수 있는 독성물질들이 세포 내에서 DNA에 손상을 입히기 전에 이들을 세포로부터 제거하는 역할을 한다. 항산화물질은 활성산소종을 제거할 뿐만 아니라 Phase II 해독화 효소들을 포함한 기타 생체방어 단백질들의 발현을 유도한다. 많은 외인성 화합물들은 항산화물질들과 유사하게 앞서 언급한 스트레스 반응 유전자들(stress-response genes)을 활성화시킨다. 이 유전자들은 glutathione peroxidase, gamma-glutamylcysteine synthetase (γ -GCS), GST, NQO 그리고 heme oxygenase-1 (HO-1)과 같은 효소들을 발현한다. 이 유전자들의 5' flanking region은 antioxidant-responsive element (ARE)라고 알려져 있는 common cis-element를 포함하고 있다. Nrf, Jun, Fos, Fra, Maf 그리고 Ah receptor를 포함한 많은 basic leucine zipper (bZIP) 전사 인자들이 이 ARE sequences에 결합하여 앞서 언급한

항산화 및 해독화 효소를 비롯한 다양한 stress-response 단백질들의 발현을 조절한다(Fig. 4).¹⁸⁾

(1) Nrf: 산화적 스트레스나 외인성 독성화학물질들에 의해 세포가 손상을 입는 과정에서 helix-loop-helix bZIP family 전사 인자 중, 특히 nuclear factor-erythroid 2p45 (NF-E2)-related factors (Nrf)가 heterodimer를 형성하여 ARE sequence에 결합함으로써 생체방어를 위한 유전자 발현을 개시한다.¹⁹⁾

ARE 결합을 통한 유전자 발현의 조절에 있어서, Nrf2의 역할은 이 전사인자를 인위적으로 knockout 시킨 *Nrf2*-null mice를 이용한 연구에서 잘 설명되고 있다.¹⁹⁾ 이 마우스는 산화적 스트레스에 대한 방어 및 발암물질들의 해독화에 중요한 역할을 하는 많은 유전자들을 발현하지 못한다.¹⁹⁻²⁸⁾ 대표적인 환경발암물질인 벤조파이렌을 *Nrf2*-null mice에 처리하였을 때, 전위(forestomach)에 많은 수의 종양이 생성되었으며, 이러한 현상은 Phase II 해독화 효소를 유도하는 대표적 화학적 암예방제인 oltipraz 투여에 의해서도 보호되지 못하였다.^{21,30)} 또한, *Nrf2*-null mice는 아플라톡신과 같은 발암원물질을 해독화시키는 능력도 결여되어 있었다.³¹⁾ Heme oxygenase-1 (HO-1)은 Nrf2에 의해 그 합성이 유도되어 생체 내 산화적 스트레스에 대응하는 대표적 항산화 효소이다. L929 세포에 Nrf2의 dominant-negative mutant를 stable transfection 시켰을 때 여러 독성물질들에 의한 HO-1의 발현이 유도되지 않았다.³²⁾ 아울러, *Nrf2*-null mice의 섬유아세포는 wild-type 세포에 비해 글루타치온 생합성 효소의 mRNA가 단지 15%만 발현되었다.³³⁾ 한편, Nrf2를 인체 간암 세포주 (HepG2)에 과 발현시켰을 경우에는 ARE의 전사 활성이 보다 증가되었다. 그리고 이 활성화는 ROS generator인 *tert*-butylhydroquinone에 의해 더욱 증가하였다.³⁴⁾

(2) Nrf의 억제인자로서의 Keap1: 세포질내 액틴에 결합된 단백질인 Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1)은 생리적으로 정상적인 상태에서는, bZIP 단백질들을 붙잡아 두는 'docking site'라는 것이 밝혀졌다. 예를 들면 Keap1은 전사인자인 Nrf2를 세포질 내에 가두어 핵 내로의 이동을 방해함으로써 그 Nrf2의 전사 활성을 억제한다. 세포가 화학적 암예방 항산화제나 Phase 2 해독화

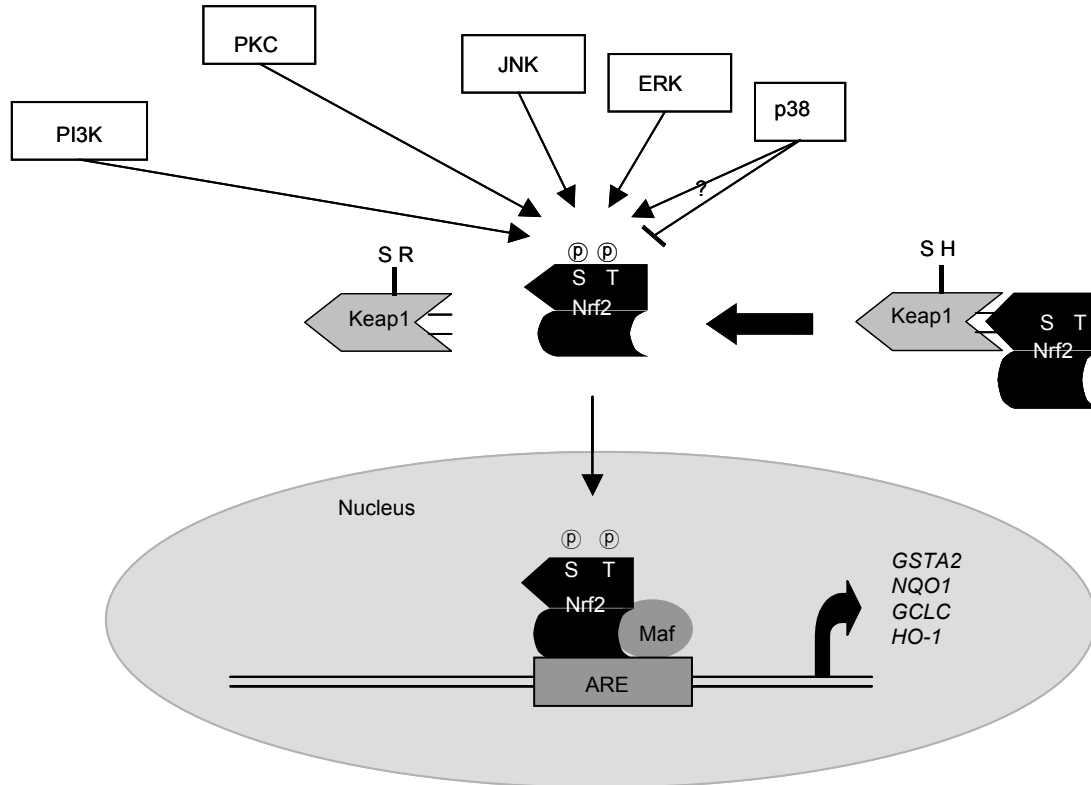


Fig. 4. Nrf2-mediated upregulation of phase-2 detoxifying and antioxidant enzymes. 'R' denotes covalent modification or oxidation of cysteine thiol of Keap1.

효소들의 생성을 유도하는 물질들을 어떻게 인식하는지는 명확하게 밝혀지지 않고 있다. Keap1-Nrf2 복합체는 세포내 축적된 친전자성 물질이나 활성산소종을 감지함으로써 산화-환원 신호전달 체계를 인식하는 세포내 센서(sensor)이다.³⁵⁾ 비록 Phase 2 유전자의 발현을 유도하는 물질들의 대부분은 보통 항산화제로 존재하지만, 세포내 환경에 따라 활성산소종을 발생시킬 수 있고, 또는 산화-환원 사이클링을 통해서 친전자성을 갖는 활성중간체로 쉽게 변환되거나 대사될 수 있다. 그러므로 ARE를 친전자체 반응 요소(electrophile response element, 줄여서 EpRE)로 부르는 것이 더 정확한 명명일지도 모른다. 이처럼 친전자성을 갖는 반응종들은 Keap1의 시스테인잔기와 반응해서 Keap1의 thiol기를 산화시키거나 공유결합을 통해 부가물을 형성할 수도 있다.^{36~39)} 시스테인 잔기의 변화(modification)로 인해 Keap1으로부터 분리

된 Nrf2는 핵으로 이동하여 ARE/EpRE에 결합함으로써 Phase 2 해독화 또는 항산화효소의 전사를 활성화시킬 것으로 생각된다(Fig. 4). 이러한 가설을 뒷받침 하는 결과로서 시스테인 잔기와 반응할수 있는 dimethyl maleate같은 sulphhydryl-reactive agent들은 Keap1의 Nrf2 결합을 약화시켜서 Nrf2를 유리시킨다. 이러한 측면에서, Keap1의 시스테인 잔기는 세포내 산화-환원 상태의 분자 센서로서, 세포의 항산화 방어 또는 친전자성 독성 물질들의 해독화에 관계하는 유전자들이 필요시 적절하게 발현될 수 있도록 하는데 중요한 역할을 담당할 것으로 생각된다.

(3) Nrf를 활성화하는 식품화합물들: 인체 간암 HepG2세포에서 녹차추출물에 의한 Phase 2 해독화 효소의 발현유도에 ERK2, immediate-early response 유전자인 c-Jun, c-Fos 뿐만 아니라 JNK1의 활성화가 관여하며, 이는 ARE를 통해 매개됨이 ARE-

reporter 유전자를 이용한 실험을 통해 확인되었다.⁴⁰⁾ Phenethyl isothiocyanate이나 sulphoraphane과 같은 파이토케미칼들 또한 각각 MAPK, Nrf, ARE-mediated luciferase reporter 유전자 활성화 그리고 Phase 2 효소 유전자의 발현을 각각 독특한 방식으로 조절한다.

Oligonucleotide microassay에 의한 유전자발현의 분석 프로파일에서 sulphoraphane은 wild-type 마우스의 소장에서 NQO1, GST, 그리고 γ -GCS의 발현을 유도하였지만, Nrf2-null 마우스에서는 이러한 효소들의 발현이 낮아졌다.²⁶⁾ 또한 랫드의 간 상피 RL-34 세포주를 이용하여, 각종 채소 추출물들에 대한 GST-유도 활성능을 광범위하게 screening한 결과, 일본 고추냉이인 와사비의 성분이며 sulphoraphane의 구조적 유사체인 6-methylsulphinylhexyl (6-HITC)가 중요한 GST의 inducer임을 밝혔다.⁴¹⁾ 6-HITC는 RL-34세포주에서 Nrf2의 핵내로의 이동을 유도하고 ARE의 활성화를 촉진함으로써, GST 동종효소들을 발현을 강력히 유도하였다. 6-HITC를 마우스에 먹었을 때, sulphoraphane에 비해 훨씬 더 높은 정도로 간의 Phase 2 효소의 발현을 유도한 반면에, Nrf2-null 마우스에서는 6-HITC에 의한 해독화 효소들의 발현이 훨씬 감소되었다.⁴¹⁾ Curcumin과 CAPE를 돼지 신장 상피 세포에 처리 시, Nrf2와 Keap1의 결합이 약화됨으로써 Nrf2가 활성화되었으며, 이는 HO-1의 효소 활성 및 발현 증가를 수반하였다.⁴²⁾ Curcumin에 의한 HO-1의 발현에 Nrf2의 상위 신호전달체계에 있는 p38 MAPK의 활성화가 관련된 것으로 보인다. 다른 실험에서도 curcumin은 Nrf2의 핵내로의 이동, ARE-DNA 결합활성 그리고 GCL의 발현을 증가시켰다.⁴³⁾ Curcumin과 CAPE에 의한 Nrf2의 핵내로의 이행은 이들 phytochemical들에 공통적으로 존재하는 α , β -unsaturated ketone 구조가 Keap1에 위치한 cysteine thiol기의 구조를 변경시킬 수 있는 Michael reaction acceptor로 작용할 수 있기 때문인 것으로 사료된다. sulphoraphane 역시 Keap1의 thiol 기와 직접적으로 반응함으로써 Nrf2를 활성화시키는 것으로 밝혀졌다.³⁷⁾

3) β -catenin

β -catenin은 식품화합물들을 이용한 암예방에서

또 하나의 중요한 분자지표이다. 다양한 생리 기능을 갖는 β -catenin은 cell-cell adhesion machinery의 구성 단백질로 작용한다. 즉 β -catenin은 E-cadherin의 cytosolic tail과 actin filaments와 결합해서 cytoskeleton을 형성한다(Fig. 5).^{44,45)} 또한 β -catenin은 진화과정에서 보존되어온 Wnt signalling pathway에도 연관되어 있으며, 각 기관에서의 발생 과정에도 밀접히 관련되어 있다. 한편 전사인자로도 작용하며, β -catenin의 핵내 이동은 다양한 인체암과도 관련되어 있다.⁴⁶⁾

세포질에 존재하는 β -catenin은 glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β), adenomatous polyposis coli (APC), axin, conductin 등으로 구성된 multi-complex에 의해 빠른 turnover를 한다.^{47,48)} GSK-3 β 는 직접적으로 또는 APC 활성화를 통해 β -catenin를 인산화시키고, 이는 결국 ubiquitination을 수반함으로써 proteasomes에 의해 β -catenin이 분해된다.^{47~49)} 최근에는 β -catenin의 45번 위치의 세린 잔기(Ser-45)가 casein kinase I (CKI)에 의해 인산화되면 GSK-3 β 의 더좋은 기질로 변하게 하고, 또 이것은 β -catenin의 불안정화(destabilization)를 촉진한다는 보고가 있다.^{50,51)}

그러므로 β -catenin은 cytoplasm에서 분해되지 않기 위해 안정화되어야 할 필요가 있다. 이는 Wnt signalling이나 몇몇의 platelet-derived endothelial factor나 bacterial lipopolysaccharide와 같은 growth factors들에 의해서 유도되는 세포 내 신호 전달과정을 통하여 진행된다. GSK-3 β 는 Wnt signalling이나 PI3K/Akt pathway의 활성화에 의해 serine-9 잔기가 인산화됨으로써 비활성화된다.⁵²⁾ β -catenin의 안정화는 APC나 axin의 돌연변이에 의해서도 유도될 수 있다.^{53,54)} 게다가, β -catenin의 N terminal domain에 있는 인산화 부위를 점 돌연변이(point mutation)시킨 결과, oncoprotein으로 변형되어 GSK-3 β 에 의한 인산화 과정에 resistant해진다는 것이 알려졌다.⁴⁶⁾ 일단 β -catenin이 안정화되면, 핵내로 이동하여 Lymphoid Enhancer Factor (LEF)나 T Cell Factor (TCF)와 같은 전사인자들과 결합하게 된다. 이는 결국 다양한 유전자들의 전사 활성화를 유발시킨다. β -catenin의 안정화에 의해 전사과정이 활성화되는 많은 유전자들은 대부분 cell cycle regulation이나 cell adhesion,

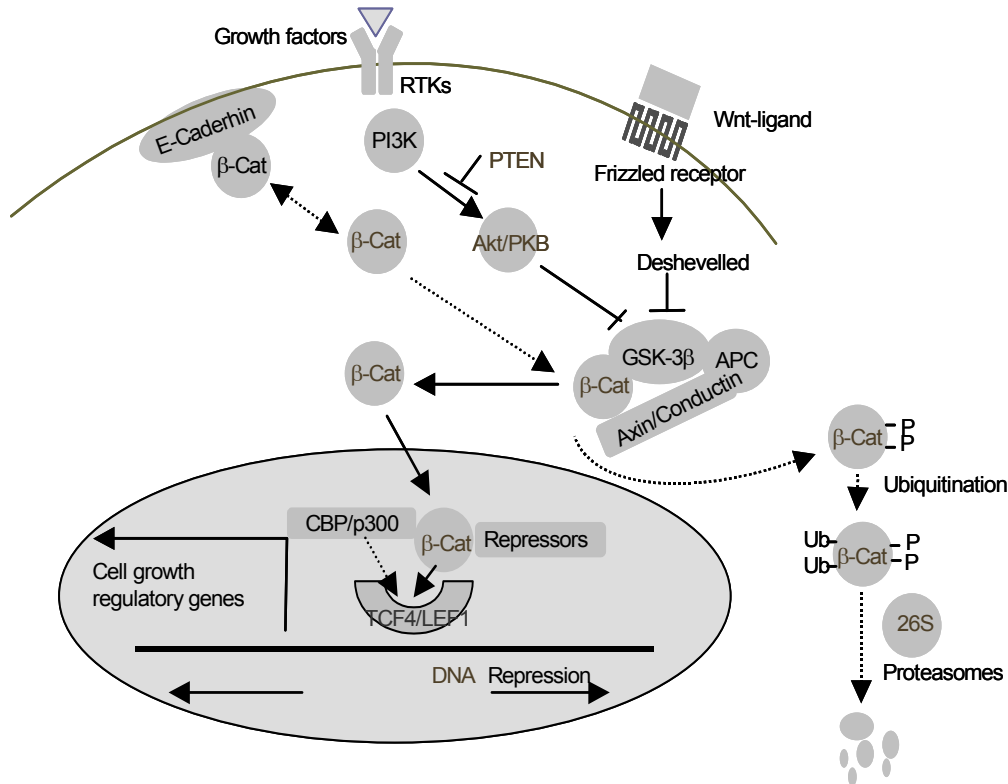


Fig. 5. Beta-Catenin signaling pathways.

cellular development와 같은 과정에 밀접하게 관련되어 있다.^{46,55)} β-catenin과 TCF/LEF complex에 의해 전사활성화(transactivation) 되는 유전자들로는 c-Myc, cyclin-D1, gastrin, human matrilysin (MMP7), keratin1, urokinase plasminogen activated receptor (uPAR), CD44, ITF-2 등을 들 수 있다.^{56,57)} AP-1의 구성요소로 잘 알려진 c-Jun과 Fra1은 β-catenin과 TCF/LEF complex의 전사활성을 조절하는 것으로 보고된 바 있다. 최근, COX-2 promoter region에 TCF4 binding element (TBE)가 있다는 것과, β-catenin과 TCF/LEF complex가 COX-2 유전자의 과발현을 조절한다는 것이 인체 대장암 세포주 (HT29-APC cell)에서 보고된 바 있다.⁵⁸⁾

(1) β-catenin 신호전달계를 target으로 하는 암 예방 식품화학물질: 화학암예방 작용을 갖는 식품화학물질들의 새로운 분자생물학적 기전으로 β-catenin이 매개하는 세포내 신호전달 경로 억제가 제시되고 있다(Fig. 5).²⁾ curcumin과 CAPE은 *Min/+*

mouse 모델에서 암화과정을 억제하고, β-catenin의 발현을 저해하였다.⁵⁹⁾ 게다가, curcumin은 caspase에 의한 cleavage를 통해 세포내 β-catenin의 축적을 줄인다는 것이 보고되었다.⁶⁰⁾ 인체 대장암 세포주 모델에서 resveratrol이 β-catenin의 발현을 줄인다는 보고도 있다.⁶¹⁾ 또 HEK293 세포주에서 EGCG에 의해 β-catenin과 TCF4의 결합 가능한 construct의 발현이 줄었다는 것도 밝혀졌다.^{62,63)} Indole-3-carbinol 또한 화학적으로 유도된 랫드 대장암 모델에서 β-catenin의 mutation 패턴을 변화시켰고,⁶⁴⁾ 배양된 인체 유방암 세포주 모델에서 부착(adhesion), 이동(migration), 그리고 침윤(invasion)을 억제하였으며, E-cadherin과 β-catenin의 발현을 유도한다는 것이 보고된바 있다.⁶⁵⁾ 이와 비슷한 효능은 꿀에서 분리한 tangeretin에서도 관찰되었다.⁶⁶⁾ COX 저해제 또한 β-catenin signalling과 β-catenin-TCF/LEF의 전사활성을 억제한다는 것이 알려져 있다.⁶⁷⁻⁶⁹⁾ COX-2의 과발현이 암화

과정을 촉진하고, β -catenin이 COX-2 발현을 조절한다는 것이 여러 실험적 보고들에 의해 뒷받침되고 있다. 이상의 연구결과에서 알 수 있듯이, β -catenin signalling 조절은 식이화학물질을 이용한 화학암예방에 있어 또 하나의 중요한 분자적 표적(molecular target)으로 간주되고 있다.

결 론

식품유래 파이토케미칼들을 이용한 암예방은 암정복을 위해 추진될 수 있는 가장 경제적이고, 실리적이며, 손쉽게 실천할 수 있는 효과적 전략으로 인식되고 있다. 한때 미국 국립암연구소의 Dr. Herbert Pierson은 “Designer Food Program”을 통해 과일이나 채소류에 들어있는 식이성분들을 이용한 암예방을 주창한 바 있다. 이미 동물실험이나 역학연구를 통해 발암억제 효과가 탁월한 것으로 확인된 식품화학물질을 단독 또는 혼합하여 일상적으로 섭취하는 음식에 보충(dietary supplementation)함으로써 암에 대한 risk를 줄이자는 것이 바로 이 프로그램이 추구하는 바였다. 실제로 몇몇 식이성분들의 경우, 암예방 효능을 검증하기 위한 임상실험이 완료되었거나 진행중이다. 지난 십수년간 세포 및 분자생물학의 눈부신 발달로 다양한 식품유래 화학물들의 암예방 기전이 새로이 밝혀지고 있다. 특히 세포증식을 조절하는 신호전달체계가 규명되면서, 세포내 신호전달 네트워크를 구성하는 물질들이 화학암예방물질들의 중요한 표적으로 인식되고 있다. 또한 인간유전자 지도의 완성과 “단일염기다형성(single nucleotide polymorphism; SNP)”에 대한 분석법의 발달로 암에 대한 개인간의 감수성차이를 결정짓는 특정 유전자들이 속속 발굴되고 있다. 특정 암에 대한 감수성이 높은 고위험군(high risk group)의 사람들에게 대해서는 고장난 또는 교란된 세포내 신호전달 네트워크를 복구시켜주는 식품화학물질을 보충/보강하여 줌으로써 보다 적극적으로 암을 예방하여야 할 것이다. 식품의약품(‘Nutraceutical’)이라는 신조어까지 등장함으로써 바야흐로 식이성분은 단순히 영양소의 기능 외에도 암을 비롯한 각종 질병예방을 위한 의약품으로서의 역할까지 하는 것으로 인식되고 있다. 특별히 조제된 식품화학물

들을 섭취함으로써 암의 발생을 억제하거나, 지연 또는 역전시킬 수 있는 날이 오게되길 기대해 본다.

감사의 글

본 연구는 과기부지원 기능성식품 소재 개발 국책연구비 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1987; 55: 1191-1308.
- 2) Surh YJ. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Rev Cancer* 2003; 3: 768-780.
- 3) Wattenberg LW. Chemoprevention of cancer. *Cancer Res* 1985; 45: 1-8.
- 4) Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, Fong HH, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, Moon RC, Pezzuto JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 1997; 275: 218-220.
- 5) Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK, Lee SS. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF- κ B activation. *Mutat Res* 2001; 480-481: 243-268.
- 6) Beg AA, Baltimore D. An essential role for NF- κ B in preventing TNF- α -induced cell death. *Science* 1996; 274: 782-784.
- 7) Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS Jr. NF- κ B antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 1998; 281: 1680-1683.
- 8) Visconti R, Cerutti J, Battista S, Fedele M, Trapasso F, Zeki K, Miano MP, de Nigris F, Casalino L, Curcio F, Santoro M, Fusco A. Expression of the neoplastic phenotype by human thyroid carcinoma cell lines requires NF κ B p65 protein expression. *Oncogene* 1997; 15:1987-1994.
- 9) Manson MM, Gescher A, Hudson EA, Plummer SM,

- Squires MS, Prigent SA. Blocking and suppressing mechanisms of chemoprevention by dietary constituents. *Toxicol Lett* 2000; 112-113: 499-505.
- 10) Bharti AC, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 883-888.
 - 11) Bremner P, Heinrich M. Natural products as targeted modulators of the nuclear factor-kappaB pathway. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54: 453-472.
 - 12) Dong Z, Birrer MJ, Watts RG, Matrisian LM, Colburn NH. Blocking of tumor promoter-induced AP-1 activity inhibits induced transformation in JB6 mouse epidermal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 609-613.
 - 13) Dong Z, Lavrovsky V, Colburn NH. Transformation reversion induced in JB6 RT101 cells by AP-1 inhibitors. *Carcinogenesis* 1995; 16: 749-756.
 - 14) Dong Z, Huang C, Brown RE, Ma WY. Inhibition of activator protein 1 activity and neoplastic transformation by aspirin. *J Biol Chem* 1997; 272: 9962-9970.
 - 15) Huang C, Ma WY, Young MR, Colburn N, Dong Z. Shortage of mitogen-activated protein kinase is responsible for resistance to AP-1 transactivation and transformation in mouse JB6 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 156-161.
 - 16) Huang C, Ma WY, Dong Z. Requirement for phosphatidylinositol 3-kinase in epidermal growth factor-induced AP-1 transactivation and transformation in JB6 P+ cells. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 6427-6435.
 - 17) Watts RG, Huang C, Young MR, Li JJ, Dong Z, Pennie WD, Colburn NH. Expression of dominant negative Erk2 inhibits AP-1 transactivation and neoplastic transformation. *Oncogene* 1998; 17: 3493-3498.
 - 18) Hayes JD, McMahon M. Molecular basis for the contribution of the antioxidant responsive element to cancer chemoprevention. *Cancer Lett* 2001; 174: 103-113.
 - 19) Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, Oyake T, Hayashi N, Satoh K, Hatayama I, Yamamoto M, Nabeshima Y. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 313-322.
 - 20) Kwak MK, Wakabayashi N, Itoh K, Motohashi H, Yamamoto M, Kensler TW. Modulation of gene expression by cancer chemopreventive dithiolethiones through the Keap1-Nrf2 pathway. Identification of novel gene clusters for cell survival. *J Biol Chem* 2003; 278: 8135-8145.
 - 21) Ramos-Gomez M, Kwak MK, Dolan PM, Itoh K, Yamamoto M, Talalay P, Kensler TW. Sensitivity to carcinogenesis is increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in nrf2 transcription factor-deficient mice. [comment]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3410-3415.
 - 22) Chan K, Han XD, Kan YW. An important function of Nrf2 in combating oxidative stress: detoxification of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4611-4616.
 - 23) McMahon M, Itoh K, Yamamoto M, Chanas SA, Henderson CJ, McLellan LI, Wolf CR, Cavin C, Hayes JD. The Cap'n'Collar basic leucine zipper transcription factor Nrf2 (NF-E2 p45-related factor 2) controls both constitutive and inducible expression of intestinal detoxification and glutathione biosynthetic enzymes. *Cancer Res* 2001; 61: 3299-3307.
 - 24) Cho HY, Jedlicka AE, Reddy SP, Kensler TW, Yamamoto M, Zhang LY, Kleeberger SR. Role of NRF2 in protection against hyperoxic lung injury in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 175-182.
 - 25) Chanas SA, Jiang Q, McMahon M, McWalter GK, McLellan LI, Elcombe CR, Henderson CJ, Wolf CR, Moffat GJ, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD. Loss of the Nrf2 transcription factor causes a marked reduction in constitutive and inducible expression of the glutathione S-transferase Gsta1, Gsta2, Gstm1, Gstm2, Gstm3 and Gstm4 genes in the livers of male and female mice. *Biochem J* 2002; 365: 405-416.
 - 26) Thimmulappa RK, Mai KH, Srisuma S, Kensler TW, Yamamoto M, Biswal S. Identification of Nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray. *Cancer Res* 2002; 62: 5196-5203.
 - 27) Enomoto A, Itoh K, Nagayoshi E, Haruta J, Kimura T, O'Connor T, Harada T, Yamamoto M. High sensitivity of Nrf2 knockout mice to acetaminophen hepatotoxicity associated with decreased expression of ARE-regulated drug metabolizing enzymes and antioxidant genes. *Toxicol Sci* 2001; 59: 169-177.
 - 28) Ishii T, Itoh K, Takahashi S, Sato H, Yanagawa T, Katoh Y, Bannai S, Yamamoto M. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J Biol*

- Chem* 2000; 275: 16023-16029.
- 29) Chan K, Kan YW. Nrf2 is essential for protection against acute pulmonary injury in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 12731-12736.
 - 30) Ramos-Gomez M, Dolan PM, Itoh K, Yamamoto M, Kensler TW. Interactive effects of nrf2 genotype and oltipraz on benzo[a]pyrene-DNA adducts and tumor yield in mice. *Carcinogenesis* 2003; 24: 461-467.
 - 31) Kwak MK, Egner PA, Dolan PM, Ramos-Gomez M, Groopman JD, Itoh K, Yamamoto M, Kensler TW. Role of phase 2 enzyme induction in chemoprotection by dithiolethiones. *Mutat Res* 2001; 480-481: 305-315.
 - 32) Alam J, Stewart D, Touchard C, Boinapally S, Choi AM, Cook JL. Nrf2, a Cap'n'Collar transcription factor, regulates induction of the heme oxygenase-1 gene. *J Biol Chem* 1999; 274: 26071-26078.
 - 33) Chan JY, Kwong M. Impaired expression of glutathione synthetic enzyme genes in mice with targeted deletion of the Nrf2 basic-leucine zipper protein. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1517: 19-26.
 - 34) Nguyen T, Huang HC, Pickett CB. Transcriptional regulation of the antioxidant response element. Activation by Nrf2 and repression by MafK. *J Biol Chem* 2000; 275: 15466-15473.
 - 35) Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, Yamamoto M. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes & Development* 1999; 13: 76-86.
 - 36) Dinkova-Kostova AT, Massiah MA, Bozak RE, Hicks RJ, Talalay P. Potency of Michael reaction acceptors as inducers of enzymes that protect against carcinogenesis depends on their reactivity with sulfhydryl groups. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3404-3409.
 - 37) Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN, Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Yamamoto M, Talalay P. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11908-11913.
 - 38) Wolf CR. Chemoprevention: increased potential to bear fruit. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 2941-2943.
 - 39) Na HK, Surh YJ. Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) ligands as bifunctional regulators of cell proliferation. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1381-1391.
 - 40) Chen C, Yu R, Owuor ED, Kong AN. Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death. *Arch Pharm Res* 2000; 23: 605-612.
 - 41) Morimitsu Y, Nakagawa Y, Hayashi K, Fujii H, Kumagai T, Nakamura Y, Osawa T, Horio F, Itoh K, Iida K, Yamamoto M, Uchida K. A sulforaphane analogue that potently activates the Nrf2-dependent detoxification pathway. *J Biol Chem* 2002; 277: 3456-3463.
 - 42) Balogun E, Hoque M, Gong P, Killeen E, Green CJ, Foresti R, Alam J, Motterlini R. Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element. *Biochem J* 2003; 371: 887-895.
 - 43) Dickinson DA, Iles KE, Zhang H, Blank V, Forman, HJ. Curcumin alters EpRE and AP-1 binding complexes and elevates glutamate-cysteine ligase gene expression. *FASEB J* 2003; 17: 473-475.
 - 44) Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. *Trends Genet* 1993; 9: 317-321.
 - 45) Aberle H, Schwartz H, Kemler R. Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function. *J Cell Biochem* 1996; 61: 514-523.
 - 46) Morin PJ. beta-catenin signaling and cancer. *Bioessays* 1999; 21: 1021-1030.
 - 47) Munemitsu S, Albert I, Souza B, Rubinfeld B, Polakis P. Regulation of intracellular beta-catenin levels by the adenomatous polyposis coli (APC) tumor-suppressor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3046-3050.
 - 48) Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, Fiol C, Munemitsu S, Polakis P. Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly. *Science* 1996; 272: 1023-1026.
 - 49) Orford K, Crockett C, Jensen JP, Weissman AM, Byers SW. Serine phosphorylation-regulated ubiquitination and degradation of beta-catenin. *J Biol Chem* 1997; 272: 24735-24738.
 - 50) Sakanaka C. Phosphorylation and Regulation of beta-Catenin by Casein Kinase Iepsilon. *J Biochem* 2002; 132: 697-703.
 - 51) Amit S, Hatzubai A, Birman Y, Andersen JS, Ben-Shushan E, Mann M, Ben-Neriah Y, Alkalay I. Axin-mediated CKI phosphorylation of beta-catenin at Ser 45: a molecular switch for the Wnt pathway. *Genes Dev* 2002; 16: 1066-1076.

- 52) Grimes CA, Jope RS. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3 β in cellular signaling. *Prog Neurobiol* 2001; 65: 391-426.
- 53) Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000; 14: 1837-1851.
- 54) Satoh S, Daigo Y, Furukawa Y, Kato T, Miwa N, Nishiwaki T, Kawasoe T, Ishiguro H, Fujita M, Tokino T, Sasaki Y, Imaoka S, Murata M, Shimano T, Yamaoka Y, Nakamura Y. AXIN1 mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of AXIN1. *Nature Genet* 2000; 24: 245-250.
- 55) Novak A, Dedhar S. Signaling through beta-catenin and Lef/Tcf. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56: 523-537.
- 56) Wong NA, Pignatelli M. Beta-catenin: a linchpin in colorectal carcinogenesis? *Am J Pathol* 2002; 160: 389-401.
- 57) Kolligs FT, Nieman MT, Winer I, Hu G, Van Mater D, Feng Y, Smith IM, Wu R, Zhai Y, Cho KR, Fearon ER. ITF-2, a downstream target of the Wnt/TCF pathway, is activated in human cancers with beta-catenin defects and promotes neoplastic transformation. *Cancer Cell* 2002; 1: 145-155.
- 58) Araki Y, Okamura S, Hussain SP, Nagashima M, He P, Shiseki M, Miura K, Harris CC. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and ras pathways. *Cancer Res* 2003; 63: 728-734.
- 59) Mahmoud NN, Carothers AM, Grunberger D, Bilinski RT, Churchill MR, Martucci C, Newmark HL, Bertagnolli MM. Plant phenolics decrease intestinal tumors in an animal model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 921-927.
- 60) Jaiswal AS, Marlow BP, Gupta N, Narayan S. Beta-catenin-mediated transactivation and cell-cell adhesion pathways are important in curcumin (diferulylmethane)-induced growth arrest and apoptosis in colon cancer cells. *Oncogene* 2002; 21: 8414-8427.
- 61) Joe AK, Liu H, Suzui M, Vural ME, Xiao D, Weinstein IB. Resveratrol induces growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis, and changes in biomarker expression in several human cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 893-903.
- 62) Dashwood WM, Orner GA, Dashwood RH. Inhibition of beta-catenin/Tcf activity by white tea, green tea, and epigallocatechin-3-gallate (EGCG): minor contribution of H₂O₂ at physiologically relevant EGCG concentrations. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296: 584-588.
- 63) Orner GA, Dashwood WM, Blum CA, Diaz GD, Li Q, Al-Fageeh M, Tebbutt N, Heath JK, Ernst M, Dashwood RH. Response of Apc (min) and A33 (delta N beta-cat) mutant mice to treatment with tea, sulindac, and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Mutat Res* 2002; 506-507: 121-127.
- 64) Blum CA, Xu M, Orner GA, Fong AT, Bailey GS, Stoner GD, Horio DT, Dashwood RH. Beta-Catenin mutation in rat colon tumors initiated by 1,2-dimethylhydrazine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, and the effect of post-initiation treatment with chlorophyllin and indole-3-carbinol. *Carcinogenesis* 2001; 22: 315-320.
- 65) Meng Q, Qi M, Chen DZ, Yuan R, Goldberg ID, Rosen EM, Auburn K, Fan S. Suppression of breast cancer invasion and migration by indole-3-carbinol: associated with up-regulation of BRCA1 and E-cadherin/catenin complexes. *J Mol Med* 2000; 78: 155-165.
- 66) Brack ME, Boterberg T, Depypere HT, Stove C, Leclercq G, Mareel MM. The citrus methoxyflavone tangeretin affects human cell-cell interactions. *Adv Exp Med Biol* 2002; 505: 135-139.
- 67) McEntee MF, Chiu CH, Whelan J. Relationship of beta-catenin and Bcl-2 expression to sulindac-induced regression of intestinal tumors in Min mice. *Carcinogenesis* 1999; 20: 635-640.
- 68) Dihlmann S, Siermann A, von Knebel Doeberitz M. The nonsteroidal anti-inflammatory drugs aspirin and indomethacin attenuate beta-catenin/TCF-4 signaling. *Oncogene* 2001; 20: 645-653.
- 69) Mori H, Yamada Y, Hirose Y, Kuno T, Katayama M, Sakata K, Yoshida K, Sugie S, Hara A, Yoshimi N. Chemoprevention of large bowel carcinogenesis; the role of control of cell proliferation and significance of beta-catenin-accumulated crypts as a new biomarker. *Eur J Cancer Prev* 2002; 11(suppl 2): S71-S75.