

## 대두분말이 1,2-Dimethylhydrazine을 처리한 흰쥐의 대장 암화과정에 미치는 영향

<sup>1</sup>한양대학교 생활과학대학 식품영양학과, <sup>2</sup>충북대학교 수의학과,  
<sup>3</sup>국립독성연구소 일반독성부, <sup>4</sup>한국식품개발연구원

심재영<sup>1</sup> · 신정은<sup>1</sup> · 김인혜<sup>1</sup> · 조영미<sup>1</sup> · 이현옥<sup>1</sup> · 김대중<sup>2</sup> · 강진석<sup>3</sup> · 신원선<sup>4</sup> · 엄애선<sup>1</sup>

### Preventive Effects of Soypowder on Colon Carcinogenesis in 1,2-Dimethylhydrazine Treated Rats

Jae-Young Shim<sup>1</sup>, Jung-Eun Shin<sup>1</sup>, In-Hye Kim<sup>1</sup>, Young-Mi Cho<sup>1</sup>, Hyeun-Ok Lee<sup>1</sup>,  
Dae-Joong Kim<sup>2</sup>, Jin-Seok Kang<sup>3</sup>, Weon-Sun Shin<sup>4</sup> and Ae-Son Om<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food & Nutrition, School of Human Ecology, Hanyang University, Seoul 133-791, <sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Chungbuk University, Chungju 361-763,  
<sup>3</sup>General Toxicology Department, National Institute of Toxicological Research, Seoul 122-040,  
<sup>4</sup>Korean Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

This study was designed with sixty 21-day old male Fisher 344 rats to investigate the preventive effect of the soypowder on colon cancer. The colon cancer was induced by injections with colon carcinogen 1,2-dimethylhydrazine (20 mg DMH/kg body weight/time) at 4, 5, 6 and 7 weeks of age. All the rats were divided into control and experimental groups (n=15/group, soypowder (SP)). The rats were freely fed normal and experimental diets containing 5% soypowder for 8 weeks. On 8 weeks later all the rats were sacrificed. Body weight, food consumption weight, cecum pH, aberrant crypt (AC), aberrant crypt foc (ACF) were detected. Inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), nitric oxide (NO) and histochemistry were analyzed. Body weight, food consumption, cecum pH did not differ among control and experimental groups. The number of AC and ACF in experimental groups was significantly lower than that of in control group ( $p < 0.05$ ). The expression of iNOS and COX-2 in experimental groups was markedly lower than that of in control group. The concentration of NO in experimental group was significantly lower than that in control group ( $p < 0.05$ ). Colon tissues were morphologically changed in control group showing damage in cell membrane and irregular arrangement of crypt. These results show that soypowder may inhibit colon carcinogenesis through diverse mechanism. Therefore, further study should be needed to identify the mechanisms by which soy powder may inhibit colon cancer.

**Key Words:** Soypowder, Colon, Carcinogenesis, 1,2-Dimethylhydrazine

## 서 론

American Cancer Society (2000년)는 미국 국민 중 대장암으로 진단된 사람은 94,000명이며, 대장암으로 사망한 사람은 48,000명으로 대장암은 암으로 인한 사망요인 중 2위를 차지한다고 보고하였다.<sup>1)</sup> 2003년 통계청의 한국인 사망요인 보고에 따르면 암으로 인한 사망률이 1위를 차지하였으며 그 중에서도 식이와 밀접한 관련이 있는 대장암은 4위로 발병률과 사망률이 빠른 속도로 증가하고 있다.<sup>2)</sup> 현재 국내 대장암으로 인한 사망률은 간암이나 위암에 의한 사망률보다는 낮지만, 서구화된 식생활로 인해 대장암으로 인한 사망률 증가폭이 매우 커지고 있다.<sup>3)</sup>

대두에는 다량의 단백질과 지질이 함유되어 있으며, 레시틴, 단백질 분해효소 억제제, phytate, 식물성 sterols, isoflavones 및 사포닌 등과 같은 생리활성 물질을 함유하고 있다.<sup>4)</sup> Genistein과 diadzein을 포함하는 isoflavones은 골다공증<sup>5)</sup> 및 대장암<sup>6)</sup>의 진행을 억제하는 것으로 알려져 있으며, 사포닌 또한 혈청 콜레스테롤 저하 및 면역증강과 함께 항암활성이 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>7)</sup> 대두 단백질 추출물은 대장 세포가 세균의 활성을 조절하는데 도움을 주며<sup>8)</sup> 항암활성에 탁월한 효과가 있는 것으로 보고되어,<sup>9~11)</sup> 대두는 chemoprevention agent로 주목 받고 있다.

암은 개시(initiation), 촉진(promotion), 진행(progression)의 복잡한 단계를 거쳐서 발생되며,<sup>12)</sup> 식품 속에 함유된 특정 성분들은 특히 개시단계에서 발암물질 또는 촉진물질로의 역할을 하는 반면, 그러한 물질들의 작용을 억제시키는 역할도 할 수 있는 것으로 알려져 있다.<sup>13)</sup> 대장암의 진행을 나타내는 지표로는 대장암 초기 진행시 aberrant crypt foci (ACF)가 있는데 이는 1,2-dimethylhydrazine (DMH)와 같은 carcinogen으로 처리된 쥐의 대장 조직 상피세포에서 암화 진행 초기단계에서 발생한다.<sup>14)</sup> 또한 nitric oxide (NO)는 중요한 생리 활성 물질로 혈관 확장, 신경 신호전달, 면역 반응 및 철 대사 등의 여러 기본적인 생리 현상을 매개하는 신호전달 물질이지만 과도한 NO의 생성은 암을 비롯한 여러 질환의 발병 기전

에 관여하는 것으로 알려져 있다. NO는 생체 내에서 nitric oxide synthase (NOS)의 효소계에 의해 생성되며, Ca<sup>++</sup>의존성 NOS (neuronal NOS, endothelial NOS)는 인체 항상성을 유지하기 위해 일정하게 발현하며, Ca<sup>++</sup>비의존성 NOS (inducible NOS)는 활성 유도에 의해 발현되어 NO의 생성을 촉진한다.<sup>15)</sup> Ambros 등<sup>16)</sup>은 암화 과정의 진행에 있어서 NO와 iNOS의 기전이 명확히 밝혀지지 않았으나 NO가 신생혈관형성과 종양의 혈류 증가를 유도한다고 보고하였다. Kojima 등<sup>17)</sup>의 연구에서 인간의 대장 직장암에서 iNOS의 양이 정상 조직에 비해 높다고 발표하였다. COX는 두 개의 isoform (COX-1, COX-2)이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>18)</sup> COX-2 유전자는 염증 반응을 비롯한 외부 자극에 대한 여러 생체 반응에서 초기에 발현되는 유전자(inducible immediate-early response gene)로써 알려져 있다.<sup>42)</sup> 보고된 연구에 의하면, 대장암 동물 모델에서도 대장암 또는 선종에서 COX-2 및 PG의 증가가 보고되고 있다.<sup>19)</sup> 이러한 연구들은 COX-2 유전자의 발현이 선종의 형성, 유지 및 대장암으로 진행 과정에서, 특히 대장암 암종화에서 COX-2 유전자가 중요한 역할을 한다는 결과라고 할 수 있다.<sup>20)</sup>

따라서 대장암의 치료와 예방을 위하여 대장암 암화과정의 생리적, 생화학적 변화를 이해함으로써 대장암을 유발시키는 위험인자를 줄이며, 가능성 있는 치료방법 및 예방법을 모색하는 것이 도움이 되리라 생각된다. 본 연구는 soypowder의 항암효과를 위하여 DMH를 처리한 흰쥐에게 공급한 후 암화과정의 생체지표를 측정함으로써 암의 억제 기전을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 실험 설계 및 재료

실험동물은 생후 3주된 Fisher344 ((주)샘타코, 용인, 한국) 계열의 웅성 흰쥐를 사용하였다. 실험에 사용하기 전까지 12시간 명암주기, 25°C로 유지된 동물실에서 사육하였으며 실험 기간 동안 실험동물용 5L79사료((주)오리엔트, 서울, 한국)를 일정한 시간에 제공하였으며, 음용수를 자유 섭취시켰다. 일주일간 적응 후 실험 동물에 화학적 발

암원인 DMH (Sigma Chemical Co. St Louis, USA)를 일주일에 1회씩(20 mg/kg body weight) 4주간 피하 주사하여 대장의 암화과정을 유도하였다. DMH 주사 후 동물들은 대조군과 soypowder 실험군으로 나누었다. 대조군은 실험동물용 사료 5L79를 공급하였으며, soypowder 실험군은 soypowder (Sigma Chemical Co. St Louis, USA)를 5% 함유한 사료 5L79를 공급하였으며 사료의 함량은 Table 1과 같다. 생후 5주부터 8주간의 시료 섭취 후 12시간 절식시킨 후 해부하여 각 조직을 적출하였다.

**2) 체중 및 식이량 측정**

전 실험기간 중 매일 09:00~10:00시경에 임상 증상과 빈사 및 폐사동물의 유무를 관찰하였으며 체중은 모든 실험동물에 대하여 일주일에 3회, 2일 간격으로 측정하였고, 음수 및 사료 섭취량은 체중측정과 동일한 시간에 측정하여 군별 평균치를 산출하여 식이섭취량을 구하였다.

**3) Cecum의 pH 및 Aberrant Crypt (AC)/ Aberrant Crypt Foci (ACF)의 측정**

도서 후 cecum의 바로 위아래를 잘라 내용물을 꺼내어 증류수로 5배 희석하였다. 증류수로 5배 희석 시킨 cecum을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상층액에서 pH를 측정(NOVA-100s, pH meter)로 하였다. 실험 동물의 cecum 바로 아래부터 anus 바로 위까지 절개하고 대장조직이 포르말린에 완전히 침투하면 4% methylene blue에 염색하여 광학현미경에서 AC 및 ACF의 숫자를 확인하였다.

**4) 혈장에서 Nitric Oxide (NO)의 측정**

분리된 혈장에서 수정된 Griess reaction으로 NO (nitrate)를 측정하였다. 96 well에 혈장 10 ul와 10 mM Tris Buffer, 1 mM FAD, 10 mM NADPH, nitrate reductase 10 unit/ml in Tris buffer를 함께 37°C에서 1시간 동안 incubation 하였다. 200 mM sodium pyruvate: lactate dehydrogenase (500:30)을 첨가하여 37°C에서 30분 동안 incubation한 후 5% O-phosphoric acid, 1% sulfonic acid, 0.1% N-naphtylene-diamine-H-choride를 첨가하여 10분 동안 상온에서 반응시켜 560 nm에서 농도를 측정하였다.

**Table 1.** Composition of diet

Ingredient	(unit : g)	
	Control	SP <sup>1)</sup>
Casein	20.0	20.8
Cornstarch	40.0	38.0
Sucrose	27.5	27.5
Corn oil	7.5	8.1
Fiber	5.0	4.9
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.0	1.0
Mineral mixture <sup>3)</sup>	3.5	3.5
Choline chloride	0.2	0.2
DL-methionine	0.3	0.3
Total calories (kcal)	417.5	417.9

<sup>1)</sup>SP: soypowder

<sup>2)</sup>Mineral mixture (g/100 g): CaHPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.43; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 34.31; NaCl, 25.06; Fe (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>) · 6H<sub>2</sub>O, 0.623; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 9.98; ZnCl<sub>2</sub>, 0.02; MnSO<sub>4</sub> · 4-5H<sub>2</sub>O, 0.121; CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O, 0.156; KI, 0.0005; CaCO<sub>3</sub>, 29.29; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O, 0.0025

<sup>3)</sup>Vitamin mixture (mg/100 g): Vitamin A acetate, 93.2; Vitamin D<sub>3</sub>, 0.5825; α-tocopherol-acetate, 1200; Vitamin K<sub>3</sub>, 6.0; Vitamin B<sub>1</sub> Hydrochloride, 59.0; Vitamin B<sub>2</sub> 59.0; Vitamin B<sub>6</sub> hydrochloride, 29.0; Vitamin B<sub>12</sub>, 0.2; Vitamin C, 588; D-Biotin, 1.0; Folic acid, 2; Pantothenic acid, 235; Nicotinic acid, 294; Inositol, 1176; Lactose, 96257

**5) Colon에서 단백질 iNOS (inducible nitric oxide synthase)/ COX-2 (cyclooxygenase-2)의 측정**

적당량의 lysis buffer에 대장 조직을 균질화한 후 14,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 그 상층액을 사용하였다. Protein은 sample 당 총 50µg을 사용하였으며 8~16% Tris-Glycine gel에서 125V로 전기영동 하였다. 25 V에서 3시간 동안 transfer 하고 blocking buffer에 상온에서 2시간 방치하거나 4°C에서 overnight하였다. iNOS (Santa Cruz Biotech. Inc., USA)와 COX-2 (Santa Cruz Biotech. Inc., USA)의 primary antibody와 secondary antibody (Zymed Co., USA)는 blocking buffer에 희석하여 반응시켰으며 washing buffer로 30분 동안 5번씩 처리하였다. ECL kit (Zymed Co., USA)를 사용하여 결과를 현상하였다.

6) 조직형태학적 관찰

일반적인 처리과정을 거쳐 조직학적으로 관찰하여 대조군과 실험군을 비교하였다.

7) 통계처리

실험에서 나타난 결과에 대해서는 SPSS (SPSS Inc. USA)를 이용하여 각 군마다 평균과 표준편차를 계산하고, 군간의 차이를  $p < 0.05$  수준에서 ANOVA test를 실시한 후 Duncan's multiple range test에 의하여 검증하였다.

결과 및 고찰

1) 체중 및 식이섭취량의 변화

실험동물의 체중 변화는 실험동물의 전반적인 상태를 나타내는 지표로 여겨지는 일반적인 척도라고 할 수 있다. 실험기간 8주 동안의 체중 변화를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 실험을 마친 후 실험동물의 평균체중은 대조군 245.6 g, 실험군 242.1 g이었다. DMH투여 후 체중의 변화량은 대조군 40.0 g, 실험군 39.0 g으로 대조군과 실험군에서 비슷한 증가량을 보였으며, 통계학적으로 군간의 유의적인 차이는 없었다. 식이섭취량의 변화

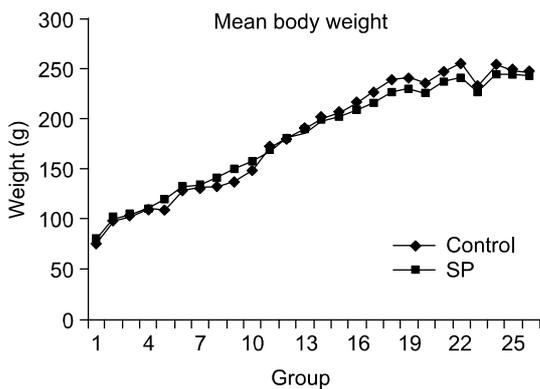


Fig. 1. Change of mean body weight in soy powder treated group during experimental weeks. C: control, SP: soy powder. Each value is the mean (n=15/group). Statistical significance was calculated by one-way ANOVA. Significant difference was not observed between control and treatment group.

는 대조군 255.0 g, 실험군 270.0 g으로 대조군이 실험군보다 증가량이 낮았으며, 통계학적으로 군간의 유의적인 차이는 없었다(data not shown).

2) Cecum의 pH의 변화

Cecum의 평균 pH는 장내 점막의 세포 증식 지표이다. Cecum의 평균 pH를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 대조군이  $7.56 \pm 0.06$ 이었으며, 실험군은  $7.75 \pm 2.00$ 로 나타났으며 통계학적으로 군간의 유

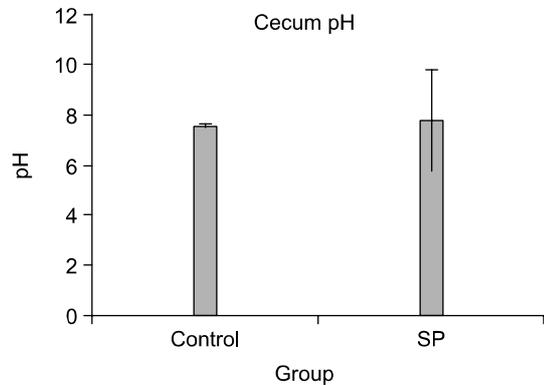


Fig. 2. Effects of soy powder on pH of cecum contents of rats. C: control, SP: soy powder. Each value is the mean  $\pm$  S.D. (n=15/group). Statistical significance was calculated by one-way ANOVA. Significant difference was not observed between control and treatment group.

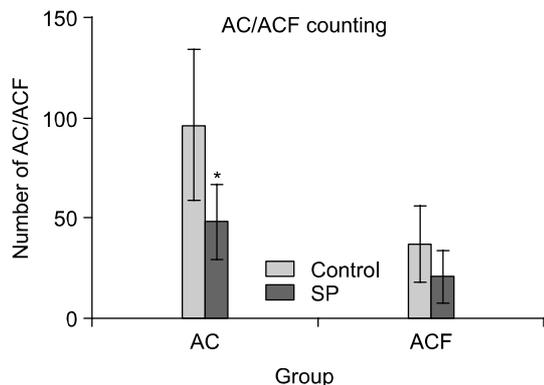


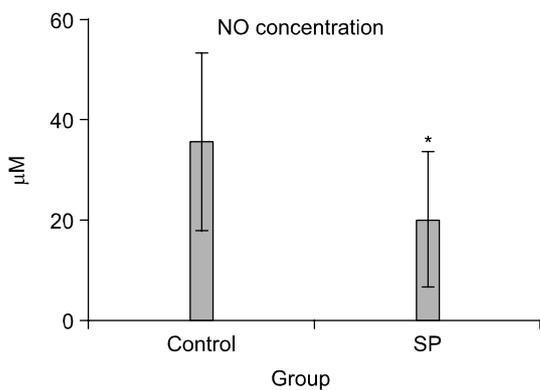
Fig. 3. Effects of soy powder on aberrant crypt in DMH treated rats. C: control, SP: soy powder. Each value is the mean  $\pm$  S.D. (n=15/group). Statistical significance was calculated by one-way ANOVA. \* $p < 0.05$  vs control.

의적인 차이는 없었다. Linda 등<sup>21)</sup>의 실험에서는 대장암을 유발시킨 쥐에게 probiotics을 투여하였을 경우 cecum pH와 aberrant crypt foci수가 유의적으로 감소하여 대장암이 억제되는 것을 증명하였는데, 본 연구결과와 일치하는 것으로 나타났다.

Cecum pH가 낮아 장내 환경이 산성이 될수록 유해한 bacteria의 활성이 낮다는 연구결과를 볼 때, 두유와 Bifidobacterium이 장내 pH에 영향을 주어 대장 세포를 보호하는 것으로 사료된다.

### 3) Aberrant Crypt (AC) 및 Aberrant Crypt Foci (ACF)의 변화

AC 및 ACF의 평균 개수는 Fig. 3과 같다. 대조군에서의 AC의 개수는 96.00±37.45, 실험군은 48.00±15.85으로 나타나 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 대조군에서의 ACF의 개수는 36.66±18.82, 실험군은 20.60±13.34으로 나타나 대조군에 비해 감소하였으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다. ACF는 대장조직의 상피세포에서 대장암 진행 시 전암 병변(preneoplastic lesion)의 초기 단계에서 발생하는 것으로 대장암의 발현을 상징하는 지표로,<sup>22)</sup> Om<sup>23)</sup>의 연구에서는 azoxymethane으로 대장암을 유발시킨 흰쥐에 콩을 급여하였을 때 ACF의 형성이 억제되는 결과를 발표하였는데 이는 본 연구 결과와 일치하였다.



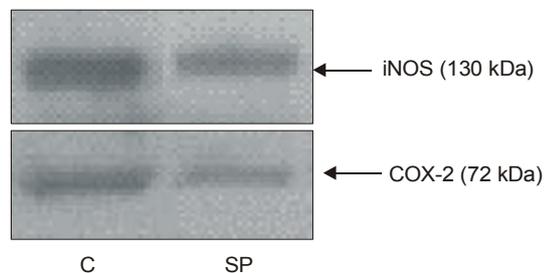
**Fig. 4.** Effects of soypowder on nitric oxide concentration in plasma of rats. C: control, SP: soypowder. Each values is the mean±S.D. (n=15/group). Statistical significance was calculated by one-way ANOVA. \*p<0.05 vs control.

### 5) 혈장에서 Nitric Oxide (NO)의 변화

본 실험의 혈청에서 측정된 NO의 생성량은 Fig. 4와 같다. NO의 농도는 대조군 33.55±17.74 μM, 실험군 20.13±13.39μM으로 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다(p<0.05). NO는 신생혈관의 형성에 관여하는 것으로 알려져 있으며 이를 통해 종양의 성장에 따른 혈류 유지에 중요한 작용을 하며, 또한 과도한 NO의 생산이 항종양 림프구에 영향을 미쳐 암세포에 대한 면역반응 저하를 일으켜 암의 성장 및 전이에도 관여하는 것으로 보고되고 있다.<sup>24)</sup> Ambs 등<sup>16)</sup>은 대장 선종에서 거의 60%의 iNOS가 발현되고 대장암에서는 20~25%가 발현되며 병기가 진행할수록 발현이 감소하는 것을 관찰하여 iNOS에 의한 NO의 과도한 생산은 종양의 초기 발암 과정에만 영향을 미친다고 주장하였다. Swapna 등<sup>25)</sup>은 대장암을 유발시킨 군에 폴리페놀을 10~100 mg/kg씩 10일간 공급하여 NO의 생성을 억제하여 암화과정을 억제하였다고 보고하였다. 본 연구결과에서도 soypowder 실험군에서 NO생성이 억제되었으므로 대장암의 암화과정에 억제효과가 있는 것으로 생각된다.

### 6) Colon에서 단백질 iNOS와 COX-2의 발현 양상

본 실험에서 iNOS와 COX-2의 발현은 Fig. 5와 같다. iNOS와 COX-2의 대장 조직에서 발현은 대조군에서 가장 강하게 발현되었으며 실험군에서는 약하게 발현되었다. Ohshima 등<sup>20)</sup>에 의하면



**Fig. 5.** Expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) on colon tissue of rats. C: control, SP: soypowder.

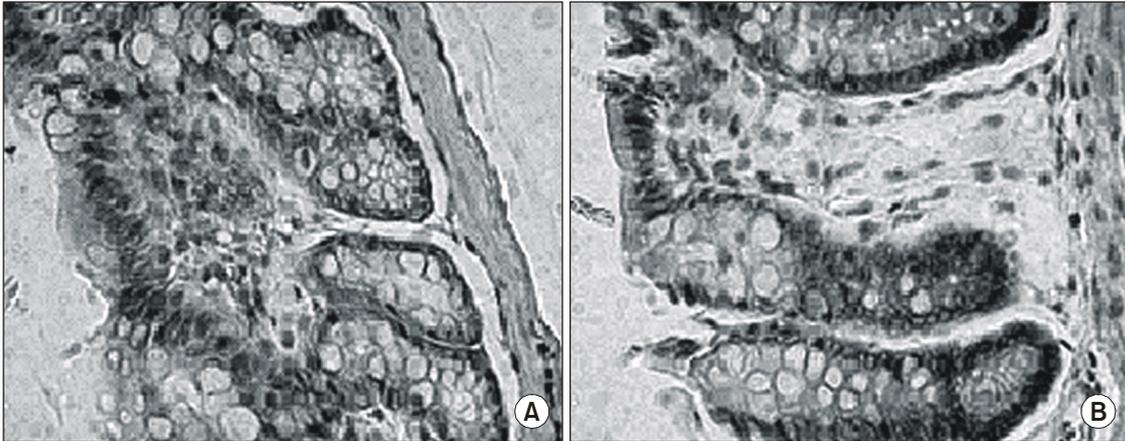


Fig. 6. Effects of soy powder on histochemistry in DMH-induced colon carcinogenesis rats (H&E stain, 400). (A) control, (B) soy powder.

iNOS 발현 증가는 NO의 과도한 생성을 유도하여 직접 세포독성을 유발하고 p53과 같은 종양억제 유전자의 변이를 유발하며, 종양의 신생혈관 형성을 촉진시키는 역할을 함으로서 종양의 발생과 진행에 관여하는 것으로 보고하고 있다. Cyclooxygenase-2 (COX-2)은 아라키도닉 산(arachidonic acid)을 프로스타그란딘(prostaglandin)과 에이코사노이드(eicosanoid)로 변환시키는 cyclooxygenase (COX)효소 중 하나이며 이는 여러 종류의 cytokine, 성장인자 등에 의해 발현되어 종양 내 신생혈관 형성 증가, 종양세포의 세포자멸사(apoptosis) 억제, 종양에 대한 면역 반응 방해 작용 등을 통해 종양 발생과 진행에 관여한다.<sup>27)</sup> 본 연구에서는 soy powder 실험군에서 iNOS와 COX-2의 발현을 억제되었으므로 대장암의 암화과정에 억제효과가 있는 것으로 생각된다.

#### 7) 조직형태학적 관찰

정상대장세포는 세포막으로 잘 둘러싸여 있으므로 다른 조직을 침투할 수 없고, 형태의 변형과 세포구성물의 변형이 없다. 또한 세포분열이 천천히 이루어져 성장 속도가 느리고 세포구성물이 잘 분화되어 있으면서 다른 조직으로 전이할 수 없다. 반면 대장암세포는 세포막이 붕괴되어 세포 형태와 세포구성물이 변형되어 잘 분화되어 있지

않으며, 세포분열이 매우 빨리 일어나 성장이 빠르고, 다른 조직으로 전이할 수 있는 특징을 가진다. 본 실험에서 관찰한 대장조직은 Fig. 6과 같다. 대조군에서는 crypt의 세포막이 소실되고 완전히 붕괴되어서 암세포의 형태를 나타내고 있다. 실험군의 경우 대조군 보다는 세포막의 파괴의 정도가 약하여 soy powder 투여가 대장의 암화과정을 다소 지연시키는 것을 볼 수 있다.

이상에서 soy powder 여러 가지 기전을 통해 대장암 암화과정을 억제할 수 있는 것으로 보여진다. 이는 soy powder가 대장에서 이상세포로의 초기 전환단계인 AC 및 ACF의 형성을 억제하고, NO의 생성을 감소시키며, iNOS 및 COX-2의 발현을 억제시켜 대장암의 진행을 억제하기 때문으로 생각되나 앞으로 이들 생체지표들과의 상호작용 및 그 기전에 대해서는 더 많이 연구되어야 할 것이다.

#### 참 고 문 헌

- 1) American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2000. American Cancer Society, Atlanta, GA, 2000.
- 2) 2003년 사망원인 통계결과. 통계청. 2004.
- 3) 한국인 사망 원인. 경제 기획원 통계과. 1991.
- 4) Lee JS, Son KH, Kwon CS, Lee YW, Kwon TW, Kim JS. Partial purification of soy component(s)

- promoting cancer cell differentiation. *Korean Soybean Digest* 2003; 20: 12-27.
- 5) Sung CJ, Yun ME, Lee JW, Kim MH, Lee HS. Effects of soy isoflavone supplementation and exercise on bone mineral density and urinary deoxy-pyrimidine in postmenopausal women. *Korean Nutrition Society* 2004; 37: 291-301.
  - 6) Om AS. Effects of soy isoflavones in AOM-induced colon cancer rats on tumor growth. *Korean Soybean Digest* 2001; 18: 43-46.
  - 7) Kim YH. Biological activities of soyasaponins and their genetic and environmental variations in soybean. *Korean J Crop Sci* 2003; 48(Suppl): S49-S57.
  - 8) Sandra KK, James L, Robert HM. Partially purified soy hydrolysates retard proliferation and inhibit bacterial translocation in cultured C2BBc cells. *J Nutr* 1997; 127: 1744-1751.
  - 9) Reza H, Soheila K, Martin JJR, Jeffery MJ, Thomas MB. Soy protein isolate consumption protects against azoxymethane-induced colon tumors in male rats. *Cancer Letters* 2001; 166: 27-32.
  - 10) Rijin X, Thomas MB, Frank AS. Dietary exposure to soy or whey proteins alters colonic global gene expression profiles during rat colon tumorigenesis. *Molecular Cancer* 2005; 4: 1-17.
  - 11) Amanda LL, Rijin X, James GP, Pippa MS, Thomas MB, Frank AS. Feeding of soy protein isolate to rats during pregnancy and lactation suppresses formation of aberrant crypt foci in their progeny's colons: interaction of diet with fetal alcohol exposure. *J Carcinogenesis* 2004; 3: 1-14.
  - 12) Harris CC. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990's. *Cancer Res* 1991; 51(Suppl): 5023S-5044S.
  - 13) Johnson IT, Williamson G, Musk SR. Anticarcinogenic factors in plant foods: a new class of nutrients. *Nutr Res Rev* 1994; 7: 715-204.
  - 14) Wargovich MJ, Harris C, Chen CD, Palmer C, Steele VE, Kelloff GJ. Growth kinetics and chemopreventive of aberrant crypts in the rats colon. *J Cell Biochem* 1992; 16(Suppl): S51-S54.
  - 15) Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 6: 3051-3064.
  - 16) Ambs S, Merriam WG, Bennett WP, Felley Bosco E, Ogunfusika MPO, Oser SM, Klein S, Shields PG, Billiar TR, Harris's CC. Frequent nitric oxide synthase-2 expression in human colon adenomas: Implication for tumor angiogenesis and colon cancer. *Progression Cancer Res* 1998; 58: 334-341.
  - 17) Kojima M, Morisaki T, Tsukahara Y, Uchiyama A, Matsunari Y, Mibu R, Tanaka M. Nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in human colon carcinoma tissue. *Journal of Surgical Oncology* 1999; 70: 222-229.
  - 18) Williams CS, Dubois RN. Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoform? *Am J Physiol* 1996; 270: G393-G400.
  - 19) Dubois RN, Radhika A, Reddy BS, Entingh AJ. Increased cyclooxygenase-2 levels in carcinogen-induced rat colonic tumors. *Gastroenterology* 1996; 110: 1259-1262.
  - 20) Gustafson-Svard C, Lilja I, Hallbook O, Sjudahl R. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 gene expression in human colorectal adenocarcinomas and in azoxymethane induced colonic tumors in rats. *Gut* 1996; 38: 79-84.
  - 21) Linda BJ, Gallaher DD, Busta FF. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *J Nutr* 2000; 130:410s.
  - 22) Wargovich MJ, Harris C, Chen CD, Palmer C, Steele VE, Kelloff GJ. Growth kinetics and chemopreventive of aberrant crypts in the rats colon. *J Cell Biochem* 1992; 16(Suppl): S51-S54.
  - 23) Om AS, Miyagi Y, Chee KM, Bennink MR. Chemoprevention of azoxymethane induced colon cancer in rats by feeding orange juice, soy wheat bran and flaxseed. *Nutr & Cancer* 1999; 36: 224-229.
  - 24) Buttery LD, Springall DR, Andrade SP, Riveros-Moreno V, Hart I, Piper PJ, Polak JM. Induction of nitric oxide synthase in the neo-vasculature of experimental tumors in mice. *J Pathol* 1993; 171: 311-319.
  - 25) Swapna M, Anindita U, Sudipan K, Neeta D, Tirthankar C, Vedasiromoni JR, Ganguly DK, Das PK. Thearubigin, the major polyphenol of black tea, ameliorates mucosal in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *European Journal of Pharmacology* 2003; 470: 104-112.
  - 26) Oshima H, Bartsch H. Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutation Research* 1994; 305: 253-264.
  - 27) Cianchi F, Cortesini C, Bechi P, Fantappie O, Messerini L, Vannacci A, Sardi I, Baroni G, Boddi Mazzanti R, Masini E. Up-regulation of cyclooxygenase-2 gene expression correlates with tumor angiogenesis in human colorectal cancer. *Gastroenterology* 2001; 121: 1339-1347.