꿀풀하고초가 직장암 예방효소 활성에 미치는 영향

손윤희[1] · 서재범 · 남경수*

동국대학교 의과대학 약리학교실, 1 : 동국대학교 난치병한양방치료연구센터

Effect of *Prunella vulgaris L.* on Chemopreventive Enzymes of Colorectal Cancer

Yun Hee Shon[1], Jae Beom Seo, Kyung Soo Nam*

Department of Pharmacology, College of Medicine, Dongguk University, 1 : Intractable Disease Research Center, Dongguk University

Water extract from *Prunella vulgaris L.* (PVW) was tested for colon cancer chemopreventive activity by measuring the activities of cytochrome P450 1A1, phase II detoxification enzyme [quinone reductase (QR) and glutathione S-transferase (GST)] and ornithine decarboxylase (ODC) and glutathione (GSH) levels in cultured human colorectal adenocarcinoma HT-29 cells. PVW significantly inhibited 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced cytochrome P450 1A1 activity at 10 and 50 ㎍/㎖. PVW induced QR activity in a dose-dependent manner over a concentration range of 1~50 ㎍/㎖. GST activity was also induced with the treatment of PVW in HT-29 cells. In addition GSH levels were increased with PVW. PVW inhibited ODC activity, a key enzyme of polyamine biosynthesis, which is enhanced in tumor promotion. These results suggest that *Prunella vulgaris L.* has colon cancer chemopreventive activity by inhibiting cytochrome P450 1A1 and ODC activities and by increasing phase II enzyme activity and GSH levels.

Key words : *Prunella vulgaris L.*, cytochrome P450 1A1, quinone reductase, glutathione S-transferase, glutathione, ornithine decarboxylase

서 론

암예방 (cancer chemoprevention)은 기존의 항암제를 이용한 암세포의 치료라는 개념과는 다른 것으로, 암을 연구하는 데 있어 가장 유망한 영역의 하나이다. 암발생은 정상세포가 외부의 발암물질원에 의해 다단계로 진행되며 크게 개시 (initiation), 촉진 (promotion), 그리고 진행 (progression)의 세 과정으로 진행된다. 이러한 다단계 과정으로 일어나는 암발생과정 (carcinogenesis)은 여러가지 천연물 또는 화학적 화합물에 의해 억제되거나 지연될 수 있다. 특히 직장암은 산업화된 현대에서 발병률과 사망률이 높은 질병 중의 하나이며[1], 직장암 발생은 환경적요인의 영향을 많이 받으므로 암예방 제재가 직장암 발생에 미치는 영향을 살펴보는 것은 매우 중요하다.

외부의 발암물질은 phase I 효소인 cytochrome P 450 효소에 의해 대사되어 활성화된 발암물질 (ultimate carcinogens)로 바뀌어 전자친화적물질 (electrophilic product), epoxides 또는 매우 독성이 강한 물질이 된다[2]. 따라서 cytochrome P450 효소의 활성을 억제시킬 수 있다면 암예방의 효과가 있다.

Quinone reductase (QR)이나 glutathione S-transferase (GST)와 같은 phase II 효소의 유도는 화학적인 스트레스와 암발생과정 중의 개시 (initiation)단계에서 돌연변이물질, 발암물질로부터 세포를 보호하는 주요대사이다[3]. 특히 QR은 quinone을 환원시켜 무독하게 만들고, 발암물질에 의해 일어나는 돌연변이와 종양화 효과를 막아주는 역할을 한다. Glutathione (GSH)는 발암과정 중 개시 단계에서 GSH의 전자친화적인 성질로 인해 외부물질이 DNA와 결합하여 암을 유발하는 것을 막아준다. 또한 촉진단계에서는 산화적 유리 라디칼(oxidative free radical)의 공격을 제한함으로서 발암과정을 저해할 수 있다[4].

Polyamine (putrescine, spermidine과 spermine)은 종양형성시 비정상적으로 생합성되며 발암과정에 밀접한 관계가 있다. Polyamine 생합성과정에서 중요한 효소는 putrescine의 생성에 관여하는 ornithine decarboxylase (ODC)이며 정상세포와 종양세포의 증식에 필수적이다. 또한 ODC의 유도는 암촉진단계

* 교신저자 : 남경수, 경북 경주시 석장동 707, 동국대학교 의과대학 약리학교실
· E-mail : namks@dongguk.ac.kr, · Tel : 054-770-2412
· 접수 : 2007/09/19 · 채택 : 2007/11/26

(promotion)에도 중요한 기능을 담당하고 있어 생쥐의 여러 조직을 이용한 암촉진 실험에서 ODC활성 유도와 발암물질의 암촉진 능력간의 밀접한 관계가 보고되었다[5]. 특히 ODC 활성 유도가 직장암 발생과정에서도 관찰되어졌다[6].

꿀풀하고초 (夏枯草)는 꿀풀과 (脣形科, *Labiatae*)에 속한 다년생 草本인 꿀풀(*Prunellae Herba Vulgaris*)의 지상부 全草를 일컫는다[7]. 임상적으로는 고한(苦寒)한 성미로 간화(肝火)를 청설(淸泄)하여 소종지통(消腫止痛)하고 간화(肝火)가 청설(淸泄)하게되면 혈(血)이 위쪽에 공급되므로 양간명목(養肝明目)의 효과를 겸하게된다고 한다[8]. 하고초의 주성분은 triterpenoid, saponin, ursolic acid, rutin, hyperoxide, tannin, caffeic acid, alkaloid, vitamin B1, vitamin C, vitamin K, 칼륨염 등이며, 그 약리작용을 살펴보면 칼륨염, triterpenoid, ursolic acid 등은 이뇨작용, tannin은 수렴작용, alkaloid는 진해지혈작용을 한다고 알려져 있다[9].

본 연구에서는 꿀풀하고초 물추출물이 사람 직장암 세포(HT-29)에서의 phase I 효소인 cytochrome P450 1A1 효소활성과 phase II 효소인 QR과 GST 활성, GSH 함량 및 ODC 활성에 미치는 영향을 측정하여 꿀풀하고초의 직장암 예방 효능을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시약

RPMI 1640 medium, antibiotics, flavin adenine dinucleotide (FAD), 3-4,5- dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (β-NADP), glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase, menadione, sodium dodecyl sulfate, dicuomarol, crystal violet, NADP+, chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), glutathione reductase, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), Na-EDTA, tert-butyl-hydroquinone(tBHQ), ellagic acid, resveratrol, difluoromethyl-ornithine(DFMO), 5, 5′-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), Tris-HCl, bicinchoninic acid protein kit는 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, fetal bovine serum (FBS)은 웰진사 (Daegu, Korea)제품을 사용하였다. 기타 세포 배양용 시약 및 추출용 유기용매는 특급시약을 사용하였다.

2) 꿀풀하고초 물추출액의 제조

꿀풀하고초는 동국대학교 부속한방병원에서 구입하였고, 꿀풀하고초의 voucher specimen(no. 00P-29)은 동국대학교 난치병 한양방치료연구소에 보관되어 있다. 꿀풀하고초의 물추출물은 생약 60 g을 분쇄하여 3차 증류수 400 ㎖ 가한 뒤 rotary evaporator (BUCHI RE121, Switzerland)에서 3시간 전탕하여 추출하고 여과한 후 4℃, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액 200 ㎖을 감압농축하여 pH 7.4로 적정하였다. 그리고 저온에서 24시간 방치하여 membrane filter (0.22 ㎛, Whatman. Germany)로 여과하고, 여과된 열수추출액을 freezer dryer를 이용하여 완전 건조시킨 후 건조중량 (4.58 g)을 측정하였다. 그리고 실험 조건에 사용되는 배지 및 증류수에 희석시켜 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 세포배양

사람 직장암 HT-29 세포 (KCLB 30038)를 10% FBS가 포함된 RPMI 1640을 배양액으로 하여 CO_2 배양기 (5% CO_2, 37℃)에서 배양하였다. 세포는 액체질소의 기체상태 (-150℃)에 보존해 두었다가 같은 passage 번호를 가진 세포를 녹여서 실험에 사용하였다.

2) 마이크로좀의 분리

Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐의 간으로부터 마이크로좀의 분리는 Pohl과 Fouts[10]의 방법을 참고하여 실시하였다. 관류법을 통하여 DMBA를 처리하고 24시간 뒤 1.15% KCl 완충용액으로 간을 perfusion 시킨 후 적출하였다. 적출된 간은 1.15% KCl 완충용액을 첨가하여 조직균질기에서 마쇄하고 7,000 × g에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 다시 77,000 × g에서 60분간 원심분리하였다. 형성된 침전물은 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 재현탁하여 microsome 분획으로 실험에 사용하였다. Microsomal protein 농도결정은 bicinchoninic acid protein kit로 실시하였다.

3) Cytochrome P450 1A1의 활성 저해 측정

Cytochrome P450 1A1는 ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) 활성으로 측정하였다[11]. 즉, microsomal protein (2 ㎎/㎖) 200 ㎕에 640 ㎕의 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.5), 100 ㎕의 BSA (10 ㎎/㎖), 20 ㎕의 0.25 M $MgCl_2$, 40 ㎕의 cofactor solution, 2.5 unit의 glucose-6-phosphate dehydrogenase, 10 ㎕의 substrate (1 ㎎ of ethoxyresorufin in 10 ㎖ of methanol), 10 ㎕의 하고초 물추출액을 농도별로 첨가하였다. 모든 시약들을 잘 섞은 후, 37℃에서 4분간 반응시키고, 2 ㎖의 methanol로 반응을 종결시켰다. 2,000 × g에서 20분 동안 원심분리하여 상층액을 취하고, 형광분광광도계 (SHIMADZU RF-5000, Kyoto, Japan)로 측정 (550 nm excitation, 585 nm emission) 하였다.

4) Quinone reductase (QR) 활성 측정

HT-29 세포의 QR 활성은 Prochaska와 Santamaria의 방법[12]으로 측정하였다. QR specific activity 계산은 분당 환원된 MTT의 흡광도와 crystal violet의 흡광도에 의해 산출하였고, QR의 활성유도는 대조군의 활성과 시료에 의한 활성의 비로 계산하였다.

5) 세포내 glutathione S-transferase (GST) 활성 측정

HT-29 세포의 GST 활성 측정은 윤[13] 등의 방법으로 실시하여 3분간 흡광도의 증가를 380 nm에서 측정하였다. GST 활성은 slop/min/㎎ protein으로 계산하여 시료를 처리하지 않은 대조군의 GST 활성에 대한 시료를 처리한 GST 활성의 비로 나타내었으며, 세포내 총단백질은 bicinchoninic acid protein kit를 사용하여 그 양을 산출하였다.

6) 세포내 glutathione (GSH) 함량 측정

HT-29 세포내의 총 GSH 함량은 윤[13] 등의 방법으로 측정하였다. GSH 함량은 GSH 표준곡선으로 계산하였고, nmol/㎎ protein으로 표시하였으며, GSH 함량의 비는 대조군에 의한 GSH 양과 시료에 의해 생성된 GSH 양의 비율로 측정하였다. 세포내 총단백질은 bicinchoninic acid protein kit를 사용하여 그 양을 산출하였다.

7) Ornithine decarboxylase (ODC) assay

직장암세포 HT-29를 24-well tissue culture plate에 well 당 2×10^5 cells/㎖ 세포를 접종시키고, 18시간 후에 TPA와 시료 또는 양성대조군인 0.01 mM difluoromethylornithine (DFMO)을 처리하여 6시간 동안 배양하여 세척한 후 용해시키고 cell extract의 ODC 활성은 L-[1-^{14}C]ornithine에서 [^{14}C]CO_2 방출에 의하여 측정하였다[5]. ODC 활성 억제는 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)만 처리한 조절군에 대한 각 시료들의 저해도 정도를 percentage로 나타내었다.

8) 통계학적 처리

실험결과는 평균±표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었으며, 실험에 대한 유의성 검정을 위해 student's t-test를 수행하여 결과치는 p 값이 0.05 미만을 통계학적으로 의미있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. Cytochrome P450 1A1의 활성에 미치는 영향

Cytochrome P450 1A1 효소활성 억제효과는 암예방 효과를 의미하므로 꿀풀하고초 물추출물이 DMBA에 의해 유도된 cytochrome P450 1A1 효소활성 억제율을 측정한 결과, 1, 5, 10 및 50 ㎍/㎖에서 각각 7.4%, 11.8%, 16.4%와 20.9%의 저해율이 나타났으므로(Fig. 1), 꿀풀하고초 물추출물이 cytochrome P450 1A1 활성을 저해시키는데 효과가 있음을 알 수 있었다.

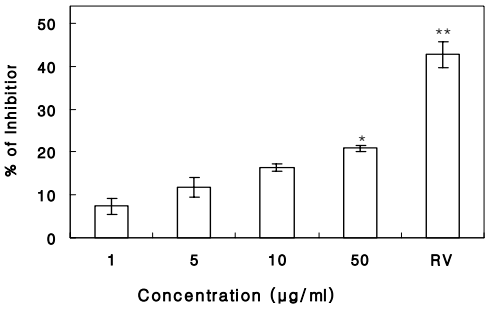

Fig. 1. Effect of water extract from *Prunella vulgaris L.* on DMBA-induced cytochrome P450 1A1 activity. RV, 0.05 nmole resveratrol. Experimental details are described in Material and Methods. Values represent mean±SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (* p<0.05, ** p<0.01).

2. Quinone reductase (QR) 활성에 미치는 영향

꿀풀하고초 물추출물에 의한 QR 활성 유도효과를 HT-29 세포에서 살펴본 결과, 꿀풀하고초 물추출물 1, 5, 10 과 50 ㎍/㎖의 각 농도에서 1.08, 1.12, 1.16 및 1.20배의 유도율을 각각 나타내었다(Fig. 2). 한편, 양성대조군으로 사용한 50 μM tBHQ에서 1.21배의 활성 유도율을 나타내었으며, 꿀풀하고초 물추출물 50 ㎍/㎖ (p<0.05) 농도에서 통계적으로 유의성 있는 활성 유도율이 관찰됨으로 꿀풀하고초는 quinone에 의한 세포내 독성 및 세포내 DNA 손상을 제거할 것으로 추측된다.

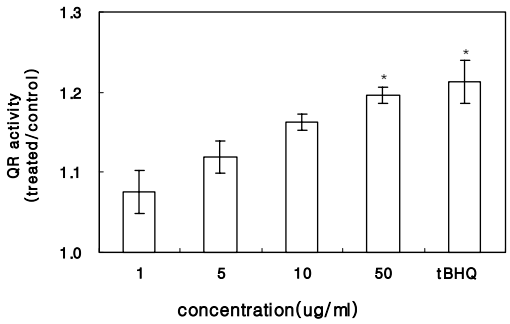

Fig. 2. Induction of quinone reductase (QR) activity in HT-29 cells by water extract from *Prunella vulgaris L.* tBHQ, 50 μM tert-butylhydroquinone. Indicated values represent mean±SD (n=3). Values statistically significant compared with the control are marked as asterisks (* p<0.05).

3. Glutathione S-transferase (GST) 활성에 미치는 영향

꿀풀하고초 물추출물에 의한 GST 활성을 관찰한 결과, 50 ㎍/㎖의 농도에서 대조군에 비해 1.23배의 유의성 있는 (p<0.05) 활성유도율을 보였고, 실험에 사용된 그밖의 농도에서는 뚜렷한 유도효과를 관찰할 수 없었다(Fig. 3).

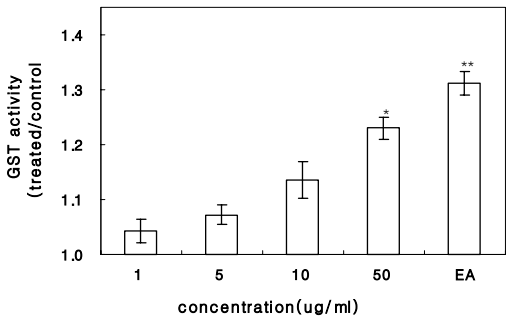

Fig. 3. Induction of glutathione S-transferase (GST) activity in HT-29 cells by water extract from *Prunella vulgaris L.* EA, 50 μM ellagic acid. Indicated values represent mean±SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (* p<0.05, ** p<0.01).

4. Glutathione (GSH) 생성에 미치는 영향

꿀풀하고초 물추출물에 의한 GSH 생성을 살펴본 결과, 10 ㎍/㎖에서 1.25배 (p<0.05), 50 ㎍/㎖ 농도를 처리한 세포에서 GSH 함량 1.30배 (p<0.01)의 유의성있는 증가를 나타내었다(Fig. 4).

5. Ornithine decarboxylase (ODC) 활성에 미치는 영향

HT-29 세포 현탁액에서 꿀풀하고초 물추출물이 TPA에 의해서 유도된 ODC 활성에 미치는 영향을 살펴본 결과, 꿀풀하고초 물추출물 농도 10 과 50 ㎍/㎖ (p<0.05)에서 13.6 및 19.1%의 ODC활성 억제효과가 나타났다(Fig. 5).

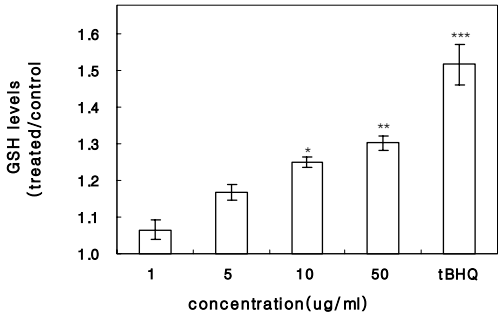

Fig. 4. Increase of glutathione (GSH) levels in HT-29 cells by water extract from *Prunella vulgaris L.* tBHQ, 50 μM tert-butylhydroquinone. Indicated values represent mean±SD (n=3). Values statistically significant compared with the control are marked as asterisks (* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.005).

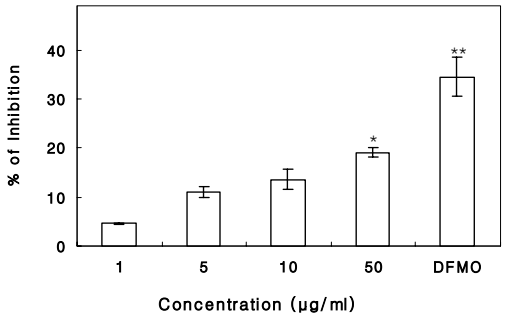

Fig. 5. Effect of water extract from *Prunella vulgaris L.* on TPA-induced ornithine decarboxylase (ODC) activity in human colorectal adenocarcinoma HT-29 cells. DFMO, 0.01 mM difluoromethylornithine. Indicated values represent mean±SD (n=3). Values statistically significant compared with the control are marked as asterisks (* p<0.05, ** p<0.01).

고 찰

Phase Ⅰ 효소인 cytochrome P450 효소 유도는 발암물질을 활성화된 발암물질 (ultimate carcinogens)로 바꾸기 때문에 암 유발 위험인자이다. 따라서 cytochrome P450 효소의 활성을 억제시킬 수 있다면 암예방의 효과가 있을 것이므로 꿀풀하고초 물추출물을 이용하여 DMBA에 의해 유도된 cytochrome P450 1A1 효소의 억제율을 측정한 결과, 효소의 활성을 저해함을 관찰할 수 있었다. Cytochrome P450 1A1 활성을 억제시키는 물질로 vitamin A, phosphorothioate oligonucleotide 등의 물질도 알려져 있다[14,15].

QR은 quinone과 quinoneimines를 환원시켜 세포독성 (cytotoxicity)으로부터 세포를 보호하며, 돌연변이 유발 및 발암물질에 의한 종양효과로부터 보호작용을 한다. GST는 외부 이물질의 대사 과정 중 생성된 친전자성 대사산물을 GSH와 결합하여 용해되기 쉬운 수용성 물질로 만들어 배설시키는 효소로서, 세포질내에 다량으로 존재하며 여러종류의 isozyme이 밝혀져 있다[16]. 또한, 이 효소는 생체내의 GSH를 기질로 이용하여 발암의 직접적인 원인이 되는 활성중간 대사산물을 제거함은 물론 항산화 활성의 역할도 한다. 따라서, 암예방 물질을 검색하는 데 있어서 GST는 phase Ⅱ enzyme 중의 하나로서 개시 (initiation) 단계의 biomarker로 이용되고 있다. 직장암세포주 HT-29에서의 증가한 phase II 생체 해독효소의 활성 증가는 직장에서의 직장암 발생 관련 발암물질의 활성을 억제하여, 결과적으로 직장암 발생을 억제할 수 있는 것으로 보고되었다[17]. 그러므로 꿀풀하고초 물추출물은 phase II 생체해독효소의 활성 증가작용에 의하여 직장암발생의 개시단계를 저해할 수 있을 것으로 보인다.

환원형 glutathione (GSH) 또한 암예방물질의 스크린에 사용된다. GSH는 반응성이 있는 대사중간물로부터 세포를 보호한다. 발암과정의 개시단계에서는 GSH의 전자친화적인 성질로 인해 외부물질이 DNA와 결합하여 암을 유발하는 것을 막아준다. 진행·촉진의 단계에서는 oxidative free radical의 공격을 제한함으로서 발암과정을 저해할 수 있다. 또한 GSH는 외부의 독성물질이 세포내 침입했을 때 직접 반응하거나 GST에 의해 독성물질과 결합하여 무독하게 하는 기능을 가지고 있다. 본 실험에서 GSH의 생성이 꿀풀하고초 물추출물의 농도에 의존적으로 증가하는 경향을 보였다.

ODC는 polyamine 대사물생성에 관여하는 효소로서 polyamine은 정상세포와 종양세포의 증식에 필수적인 성분이다. 또한 ODC 유도는 암화과정의 촉진에 중요한 기능을 담당하고 있어 동물조직에서도 암촉진 물질들이 ODC 활성을 유도하는 것으로 보고되었다[5]. 특히 직장암세포의 성장과 종양 촉진자에 대한 직장암세포의 생물학적 반응에 polyamine과 ODC 활성이 매우 중요한 요소임이 증명되었다[18]. 그러므로 ODC 활성 저해제로 작용하여 polyamine 함량을 변화시킬 수 있는 물질은 직장암 치료에 사용할 수 있을 것이다. 꿀풀하고초 물추출물의 ODC 활성 억제 결과에 의하면 꿀풀하고초가 직장암 발생과정의 촉진 억제에 의한 암예방 효과가 있을 것으로 보인다.

결 론

꿀풀하고초로 물추출물을 조제하여 흰쥐의 간 마이크로좀 (microsome) 분획에서 cytochrome P450 1A1 활성, 사람 직장암세포인 HT-29세포에서 QR과 GST의 활성 및 GSH의 생성 유도율을 측정한 결과, 꿀풀하고초 물추출물은 농도의존적으로 cytochrome P450 1A1 활성을 저해하였다. 그리고 phase II 생체해독효소인 QR과 GST의 활성 및 GSH의 생성을 증가시켰으므로 직장암발생 (carcinogenesis)의 개시 (initiation) 단계를 저해할 수 있을 것으로 보인다. 또한 직장암 발생과정의 촉진단계에 관여하는 ODC 활성도 저해하였으므로 꿀풀하고초 물추출물은 직장암 발생의 개시단계와 촉진단계에 저해효과가 있다. 그러므로 꿀풀하고초는 직장암 발생에 관련된 더 많은 연구를 통하여 직장암예방 제재로서 개발 가능성이 있는 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Parkin, D.M., Pisani, P., Ferlay, J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. Int.

J. Cancer 54: 594-606, 1993.
2. Jollow, D.J., Smith, C. In Jollow, K.J., Kocsis, J.J., Snyder, R., Vainio, H. (eds.), Biologically Reactive Intermediates. Plenum Press. New York, USA, pp 42-59, 1977.
3. Prochaska, H.J., Talalay, P. Regulatory mechanisms of monofunctional and bifuncitonal anticarcinogenic enzyme inducers in murine liver. Cancer Res. 48: 4776-4782, 1988.
4. Mitchell, J.R., Hinson, J.A., Nelson, S.D. Glutathione and drug induced tissue lesions: metabolism and function, In Arias, I. M. and W.B. Jakoby (eds.), Glutathiones, Raven Press. New York, USA, pp 357-367, 1976.
5. Li, L., Carol, T., Susan, K.G. Inhibition of ornithine decarboxylase (ODC) decreases tumor vascularization and reverse spontaneous tumors in ODC/Ras transgenic mice. Cancer Res. 60: 5696-5730, 2000.
6. Tanako, T., Kojima, T., Suzuki, M., Mori, H. Chemoprevention of colon carcinogenesis by the natural product of a simple phenolic compound protocatechuic acid: suppressing effects on tumor development and biomarkers expression of colon. Cancer Res. 53: 3908-3913, 1993.
7. 吳 普. 神農本草經. 台北, 臺灣中華書局, pp 19-20, 1990.
8. 金昌玟. 本草學. 서울, 韓國生藥學敎授協議會, pp 166-168, 1994.
9. 김주선, 강삼식, 이경순, 장승엽, 원도희. 하고초 (夏枯草, Prunellae Herba)로부터 Ursolic acid의 함량분석. 생약학회지 31: 416-420, 2001.
10. Pohl, R.J., Fouts, J.R. A rapid method for assaying the metabolism of 7-ethoxyresorufin by microsomal subcellular fractions. Anal. Biochem. 107: 150-155, 1980.
11. Rodrigues, A.D., Prough, R.A. Induction of cytochromes P450 1A1 and P450 1A2 and measurement of catalytic activities. Methods Enzymol. 206: 423-431, 1991.
12. Prochaska, H.J., Santamaria, A.B. Direct measurement of NAD(P)H:Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells: A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers. Anal. Biochem. 169: 328-336, 1988.
13. 윤성묵, 조경희, 손윤희, 남경수, 임종국. 생약 약침액에 의한 phase Ⅱ 효소 활성 유도. 대한경락경혈학회지 18: 1-9, 2001.
14. Sindhu, R.K., Mitsuhashi, M., Kikkawa, Y. Inhibition of cytochrome P450 1A1 by antisense phosphorothioate oligonucleotide in Hepalclc7 cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 229: 673-680, 1996.
15. Inouye, K., Mae, T., Kondo, S., Ohkawa, H. Inhibitory effects of vitamin A and vitamin K on rat cytochrome P4501A1-dependent monooxygenase activity. Biochem Biophys Res Commun. 262: 565-569, 1999.
16. Wattenberg, L.W., Bueding, E. Inhibitory effect of 5-(2-pyrazinyl)-4- methyl-1,2-dithiol-3-thione (oltipraz) on carcinogenesis induced by benzo(a)- pyrene, diethlnitrosamine, and uracil mustard. Carcinognesis 7: 1379-1381, 1986.
17. Talalay, P., Fahey, J.W., Holtzclaw, W.D., Prestera, T., Zhang, Y. Chemoprotection against cancer by phase II enzyme induction. Toxicol. Lett. (Amst.) 82: 173-179, 1995.
18. Marton, L.J., Pegg, A.E. Polyamines as targets for therapeutic intervention. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 35: 55-91, 1995.