

한국 자생식물 추출물 23종의 Aldo-keto reductase family 1 B10 (AKR 1 B10) 효소 억제효과

이주영 · 송대근 · 정상훈, 김종환¹ · 안수용¹ · 노주원 · 판철호*
한국과학기술연구원 강릉분원, ¹강원도 농업기술원 특화작물시험장

Inhibitory Effects of 23 Korean Local Plant Extracts on Aldo-keto reductase family 1 B10 (AKR 1 B10)

Joo Young Lee, Dae-Geun Song, Sang Hoon Jung, Jong Hwan Kim¹, Soo Young Ahn¹,
Chu Won Nho and Cheol-Ho Pan*

Natural Products Research Center, Korea Institute of Science and Technology (KIST) Gangneung Institute,
Gangneung 210-340, Korea

¹Specialty Crops Experiment Station, Gangwondo Agricultural Research and Extension Services, Gangneung 210-851, Korea

Abstract – We examined ethanol extracts prepared from 23 Korean local plants obtained in Pyeongchang, Gangwon-do for their inhibitory effects on recombinant human AKR 1 B10 (rhAKR1B10) *in vitro*. To do this, rhAKR1B10 was first expressed in *E. coli* as a biological active form and purified by using Ni-affinity chromatography followed by gel permeation chromatography. Then, rhAKR1B10 was used for screening out 23 Korean local plant extracts having an inhibitory activity against itself. Among them, six extracts showed more than 50% inhibition of rhAKR1B10 activity at the concentration of 10 µg/ml. Especially, the extracts of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* Nakai and *Rhus trichocarpa* Miq. were the most potent because their IC₅₀ values were 2.94 and 2.00 µg/ml, respectively.

Key words – Aldo-keto reductase family 1 B10, aldose reductase-like 1, anti-cancer, *Ligularia fischeri*, *Rhus trichocarpa*

서 론

Aldo-keto reductases (AKRs)는 인체 내의 다양한 aldehydes 와 ketones를 해당 alcohols로의 환원을 촉매하는 NAD(P)H 의존 산화환원 효소로 생합성, 대사, 해독에 관여한다.^{1,2)} 인간에서는 13개의 AKR 효소들이 보고되었는데, 이들은 각각 AKR 1 A1, AKR 1 B1, AKR 1 B10, AKR 1 C1, AKR 1 C2, AKR 1 C3, AKR 1 C4, AKR 1 D1, AKR 6 A3, AKR 6 A5, AKR 6 A9, AKR 7 A2, AKR 7 A3로 명명되고 있다.²⁾ AKRs는 내생적 기질로 당이나 지질의 aldehydes, 프로스타글란딘, 레티날, 스테로이드 호르몬 등을 이용하며, 핵 수용체의 신호전달을 조절하는 것으로 알려졌다.²⁾ 또한, AKR은 다양한 약물이나 발암 물질과 같은 xenobiotics의 해독에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다.¹⁾

인간의 13개 AKR 효소들 가운데 Aldo-keto reductase family 1 B10 (AKR 1 B10)은 Cao 등³⁾과 Hyndman과 Flynn⁴⁾에 의하여 1998년 처음 보고되었으며, aldose reductase-like 1 (ARL1) 또는 small intestine aldose reductase로 불리기도 하며, 특히 소장, 결장, 간, 흉선, 부신에서 주로 발견되었다. 한편, AKR 1 B10이 간암,³⁾ 폐암,⁵⁾ 구강암,⁶⁾ 자궁암⁷⁾ 등에서 강하게 발견되는 것이 확인되었으며, 그 역할을 밝히기 위한 연구가 진행 중이다. siRNA를 이용한 AKR 1 B10의 발현 억제는 직장암 세포의 성장을 저해하였으며,⁸⁾ AKR 1 B10의 세포분열 촉진 효과는 암 세포에서 높게 발현된 AKR 1 B10 활성이 retinoic acid의 농도를 감소시켜 세포 분화를 억제하고 암 세포의 성장을 촉진시킨 결과로 추정하고 있다.⁹⁾ 또한, AKR 1 B10은 항암제인 daunorubicin 와 항구토제인 dolasetron 등의 약물을 효과적으로 분해하는 것이 보고되어 암 세포의 항암제 내성에도 관련이 있을 것으로 추정하고 있다.¹⁰⁾

이상과 같은 최근의 연구 결과로부터 AKR 1 B10은 암

*교신저자 (E-mail): cheolpan@gmail.com
(Tel): 82-33-650-7115

진단 및 치료의 신규 표적으로 대두되고 있으나,¹¹⁻¹³⁾ 임상에서 사용 가능한 AKR 1 B10 저해제의 개발은 전무한 실정이다. 본 연구자들은 AKR 1 B10 저해 활성을 가지는 천연물 식의약 소재를 개발하기 위한 연구를 수행하고 있으며, 여기에서는 AKR 1 B10 저해 활성의 탐색 방법 개발 및 한국의 자생식물 추출물 일부로부터 AKR 1 B10 저해 활성 탐색 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 자생식물 추출물 제조 - 본 연구에 사용한 자생식물은 총 23종으로 2008년 7월, 강원도 평창 소재의 강원도 농업기술원 특화작물시험장에서 수집하였고, 강원대학교 이우철 명예교수가 동정하였다. 각 자생식물 시료는 건조하여 95% 에탄올로 추출 후, 감압 건조하여 DMSO에 20 mg/ml로 녹여 활성 측정에 사용하였다.

시약 - BSA, DL-Glyceraldehyde, DTT, NADPH, 3,3-tetramethylene glutaric acid는 Sigma (St. Louis, MO, 미국), ampicillin, IPTG, imidazole은 USB Corporation (Cleveland, OH, 미국), 제한효소를 비롯한 분자생물학 시약은 인트론 (성남), 발현 플라스미드인 pET23b는 Merck (Darmstadt, 독일)에서 구입하여 사용하였다. 인간 AKR 1 B10 유전자는 21C Frontier Human Gene Bank (대전)에서 구입하였고, PCR primer는 COSMO (서울)에서 제작하였으며, DNA 염기서열 분석은 솔젠트 (대전)에 의뢰하였다. 그 밖의 시약은 EP 또는 GR 등급을 사용하였다.

재조합 인간 AKR 1 B10 (rhAKR1B10) 제조 - 구입한 유전자를 주형으로 5'-gaagaacatattgcccacgtttgtggagctc-3'와 5'-gaagaactcgagatattctgcatcgaaggatagtc-3' 프라이머를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR)으로 open reading frame (ORF)을 증폭하였다. 얻어진 PCR 산물을 제한효소 *Nde*I과 *Xho*I으로 처리하여 동일한 제한효소를 처리한 대장균용 발현 벡터인 pET23b에 클로닝하였다. DNA 염기서열 분석을 통하여 유전자의 변이가 없음을 확인하고 재조합한 발현 플라스미드를 대장균 BL21 (DE3) 균주에 도입하여 형질전환 대장균을 얻었다. 이 균주를 50 µg/ml의 ampicillin이 함유된 LB 배지에서 37°C, 200 rpm으로 배양하여 600 nm 흡광도가 0.8에 이르면 0.5 mM의 IPTG를 첨가하여 rhAKR1B10의 발현을 유도하였다. 30°C, 200 rpm으로 4시간 배양한 후, 대장균 균체를 회수하여 완충용액 A (20 mM Tris-Cl/pH 8.0, 0.5 M NaCl, 5 mM imidazole, 1 mM DTT)에 현탁하여 초음파로 세포를 파쇄하고 원심분리하여 rhAKR1B10 조효소 상정액을 회수하였다. 이를 완충용액 A로 평형시킨 니켈 친화 컬럼에 주입하고, 완충용액 B (20 mM Tris-Cl/pH 8.0, 0.5 M NaCl, 20 mM imidazole, 1 mM DTT)로 세척한 후, 완충용액 C (0.1 M potassium phosphate/pH 6.2,

0.5 M NaCl, 250 mM imidazole, 1 mM DTT)로 용출하여 rhAKR1B10을 정제하였다. 비특이적으로 응집한 단백질을 제거하기 위하여 완충용액 D (0.1 M potassium phosphate/pH 6.2, 0.5 M NaCl, 1 mM DTT)로 평형시킨 겔 여과 크로마토그래피를 수행하여 rhAKR1B10의 정제를 완료하였다.

단백질 분석 - 용액 중의 단백질 농도를 측정하기 위하여 BSA를 표준 용액으로 사용한 Bicinchoninic acid 방법을 사용하였으며,¹⁴⁾ 단백질의 순도를 확인하기 위하여 SDS-PAGE를 사용하였다.¹⁵⁾

rhAKR1B10 활성 측정 - rhAKR1B10의 활성 측정은 Cao 등³⁾과 Martin 등¹⁰⁾의 방법을 일부 수정하여 수행하였다. 활성 측정을 위한 반응액은 0.1 M potassium phosphate/pH 7.0 완충용액 148 µl, 100 mM DL-Glyceraldehyde 기질 20 µl, 1.6 mM NADPH 조효소 20 µl, 0.3 unit/ml rhAKR1B10 효소 10 µl, 1 mg/ml로 희석한 식물 추출물 2 µl를 포함하는 200 µl로 구성되었다. rhAKR1B10 효소 1 unit는 식물 추출물을 제외한 위의 반응 조건에서 분당 1 µM의 NADPH를 소모하는 효소의 양으로 정의하였다. 한편, 현재까지 AKR 1 B10의 저해제로 알려진 화합물이 없어, AKR 1 B10과 아미노산 상동성이 높은 AKR 1 B1 (aldose reductase, E.C. 1.1.1.21) 효소의 저해제인 3,3-tetramethylene glutaric acid를 대조약제로 사용하여 rhAKR1B10 효소의 활성 저해 정도를 비교하였다. rhAKR1B10 활성은 반응액 중의 NADPH 농도를 반영하는 340 nm 흡광도 변화량을 5분 동안 측정하여 계산하였다. rhAKR1B10 효소 활성을 50% 저해하는 자생식물 추출물의 농도인 IC₅₀는 자생식물 추출물의 여러 농도에서 rhAKR1B10의 잔류 활성을 최소자승 회귀분석법을 사용하여 구하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 강원도 평창 일대에서 채집한 23종의 자생식물 추출물로부터 최근 암 진단 및 치료의 신규 표적으로 대두되고 있는 AKR 1 B10 단백질의 활성 억제 소재를 찾자 수행하였다.

먼저, 천연물 소재로부터 효과적으로 AKR 1 B10 활성 억제 소재를 탐색하기 위하여 인간 AKR 1 B10의 재조합 단백질을 생산하여 탐색에 사용하기로 하였다. 구입한 인간 AKR 1 B10 유전자를 주형으로 PCR하여 951 bp의 ORF를 얻었다. 이를 대장균용 발현 벡터인 pET23b에 Fig. 1과 같이 클로닝하여 발현 플라스미드 pET23b-AKR1B10을 얻었다. 재조합 단백질인 rhAKR1B10은 C-말단에 6개의 히스티딘 잔기가 첨가되어 니켈 친화 컬럼을 이용하여 쉽게 정제할 수 있도록 하였다. 대장균에서 생산한 rhAKR1B10은 니켈 친화 컬럼 크로마토그래피로 정제하였으며, 비특이적

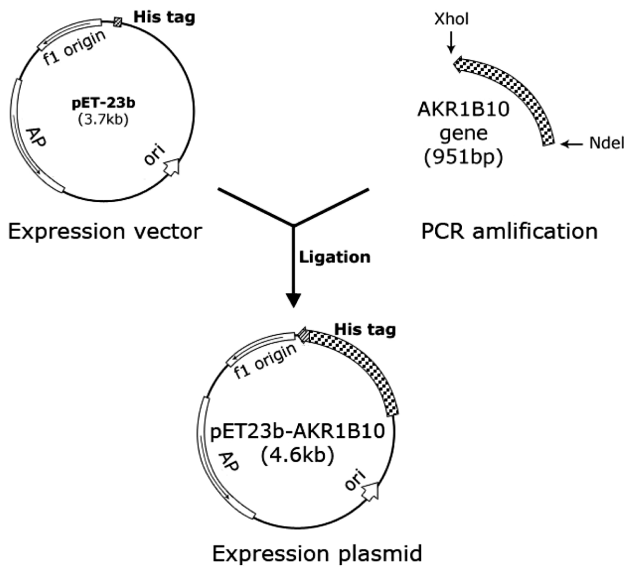


Fig. 1. Construction of expression plasmid pET23b-AKR1B10. Human AKR1B10 gene fragment amplified by PCR was digested with both *NdeI* and *XhoI* and was cloned into the same restriction sites of expression vector pET23b resulting in expression plasmid pET23b-AKR1B10. His tag means six histidin residues having an affinity with nickel ion.

으로 응집한 단백질을 제거하기 위하여 겔 여과 크로마토그래피를 수행하였다. 겔 여과 크로마토그래피 결과로부터 대장균에서 생산한 rhAKR1B10은 비특이적 응집이 없는 단량체로 생산되었음을 확인하였으며 (Fig. 2 (A)), SDS-PAGE를 통하여 순도를 확인하였다 (Fig. 2 (B)). rhAKR1B10은 대장균 1리터 배양으로부터 11 mg을 획득할 수 있었으며, 완충용액 D에 0.3 unit/ml (20 μ M) 농도로 제조하여 실험에 사용하였다. 분자량은 예상 값인 35 kDa으로 확인하였다. 대장균에서 생산한 rhAKR1B10을 저해제 탐색에 사용할 수 있는 지를 확인하기 위하여 효소 특성 중 K_m 값을 구하여 문헌에 보고된 값과 비교하였다. 기질로 사용한 DL-glyceraldehyde에 대한 rhAKR1B10의 K_m 은 3.7 mM로 나타났다으며, Cao 등에 의하여 보고된 AKR 1 B10의 K_m 은 1.9 mM이었다.³⁾ 따라서, 본 연구의 rhAKR1B10은 기질로 사용한 DL-glyceraldehyde에 대한 친화도가 조금 낮으며, 이러한 차이는 효소반응의 조건 차이에 기인하는 것으로 추정하였다. 이상의 결과로부터 rhAKR1B10이 세포에서의 활성 상태를 반영할 수 있음을 확인하고, 이를 이용한 저해제 탐색 연구를 수행하였다.

AKR 1 B10 단백질의 활성 억제 소재를 찾기 위한 자원으로서는 한국의 자생식물을 선택하였으며, 강원도 평강 일대에서 먼저 확보한 23종의 자생 식물 추출물에 대하여 rhAKR1B10 활성 저해 효과를 탐색하였다. 각 자생 식물의

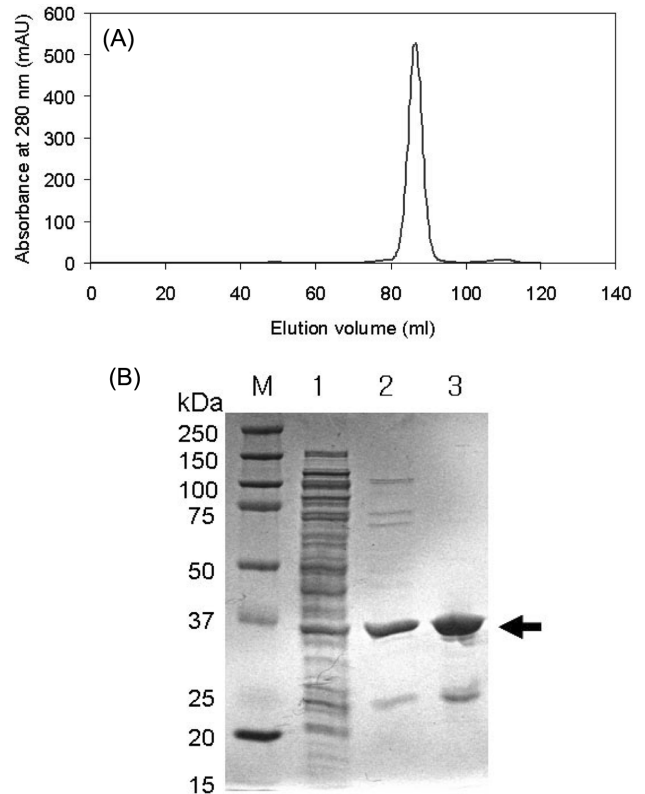


Fig. 2. Analysis of rhAKR1B10 by gel permeation chromatography (A) and SDS-PAGE (B). (A) rhAKR1B10 purified with Ni-affinity chromatography was analyzed by gel permeation chromatography using Superdex 200 column (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) to check protein aggregation. (B) The purity of rhAKR1B10 was shown in 8-25% gradient SDS polyacrylamide gel (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) by Coomassie brilliant blue R-250 staining. The molecular masses of the protein standards were given on the left side. The arrow indicates rhAKR1B10 band. lane M, protein standards; lane 1, soluble fraction of cell lysate from *E. coli* (DE3) transformed with pET23b-AKR1B10; lane 2, rhAKR1B10 purified by Ni-affinity chromatography; lane 3, rhAKR1B10 purified by gel permeation chromatography.

95% 에탄올 추출물을 DMSO에 20 mg/ml로 녹여 시료를 준비하였으며, 10 μ g/ml 시료 농도에서 0.003 unit의 rhAKR1B10 활성 저해 정도를 측정하였다. 자생 식물 시료 대신 동일 부피의 DMSO를 사용하여 측정된 rhAKR1B10 활성에 대한 상대 활성을 측정하여 Table I의 결과를 얻었다. rhAKR1B10 활성을 50% 이상 저해하는 시료는 망초 (*Erigeron canadensis* L.), 별개미취 (*Gymnaster koraiensis* (Nakai) Kitam.), 한대리곰취 (*Ligularia fischeri* var. *spiciformis* Nakai), 달맞이꽃 (*Oenothera biennis* L.), 개웃나무 (*Rhus trichocarpa* Miq.), 찔레 (*Rosa multiflora*

Table I. Inhibitory effects of Korean plant extracts on rhAKR1B10

Korean name	Scientific name	Family name	Part used	Dry weight (g)	Solvent used (L)	Extract weight (mg)	rhAKR1B10 inhibition ^{a)} (%) ^{b)}
진범	<i>Aconitum pseudolaeve</i> Nakai	Ranunculaceae	whole	44	1.2	3.91	26.95±1.63
영경귀	<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>maackii</i>	Compositae	stem+leaf	35	1.5	3.75	39.31±2.80
큰영경귀	<i>Cirsium pendulum</i> Fisch. Ex DC.	Compositae	stem+leaf	30	0.9	3.46	22.03±3.22
사위질빵	<i>Clematis apiifolia</i> DC.	Ranunculaceae	stem+leaf	31	0.9	4.64	29.17±1.13
까치고들빼기	<i>Crepidiastrum chelidoniifolium</i> (Makino)	Compositae	stem+leaf	11	0.9	0.41	42.41±6.73
개망초	<i>Erigeron annuus</i> (L.) Pers.	Compositae	stem+leaf	526	1.5	4.22	46.64±2.22
망초	<i>Erigeron canadensis</i> L.	Compositae	stem+leaf	16	0.9	1.64	51.60±1.27
별개미취	<i>Gymnaster koraiensis</i> (Nakai) Kitam.	Compositae	stem+leaf	60	2.1	10.18	57.66±3.30
환삼덩굴	<i>Humulus japonicus</i> Siebold & Zucc.	Cannabaceae	stem+leaf	21	2.7	1.32	40.27±5.59
수국	<i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser.	Saxifragaceae	stem+leaf	24	0.9	2.86	40.16±1.43
물봉선	<i>Impatiens textori</i> var. <i>textori</i>	Balsaminaceae	stem+leaf	13	0.9	0.45	36.03±3.18
활랑나물	<i>Lathyrus humilis</i> (Ser.) Spreng.	Leguminosae	stem+leaf	39	1.5	3.36	35.19±1.27
한대리곰취	<i>Ligularia fischeri</i> var. <i>spiciformis</i> Nakai	Compositae	stem+leaf	20	0.5	2.12	79.79±1.28
중나리	<i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i> (Regel) Baker	Liliaceae	root	36	0.9	1.01	30.39±2.29
중나리	<i>Lilium leichtlinii</i> var. <i>maximowiczii</i> (Regel) Baker	Liliaceae	stem+leaf	38	1.5	4.21	33.66±4.64
지치	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold & Zucc.	Boraginaceae	stem+leaf	113	1.8	3.82	33.72±2.44
박주가리	<i>Metaplexis japonica</i> (Thunb.) Makino	Asclepiadaceae	stem+leaf	22	0.9	2.34	30.63±6.55
달맞이꽃	<i>Oenothera biennis</i> L.	Onagraceae	stem+leaf	38	1.5	2.59	62.80±2.50
샷갓나물	<i>Paris verticillata</i> M.Bieb.	Liliaceae	stem+leaf	15	1.8	0.74	29.85±2.37
개웃나무	<i>Rhus trichocarpa</i> Miq.	Anacardiaceae	stem+leaf	39	0.9	9.35	78.69±2.31
찔레	<i>Rosa multiflora</i> Thunb. Var. <i>multiflora</i>	Rosaceae	stem+leaf	18	0.9	0.86	60.98±2.08
밀나물	<i>Smilax riparia</i> var. <i>ussuriensis</i> (Regel)	Liliaceae	stem+leaf	28	0.9	2.53	36.85±1.09
우산나물	<i>Syneilesis palmata</i> (Thunb.) Maxim	Compositae	stem+leaf	42	1.8	3.15	40.83±10.87
수리취	<i>Synurus deltoides</i> (Aiton) Nakai	Compositae	stem+leaf	16	0.9	1.47	44.37±1.49

^{a)}The concentrations of rhAKR1B10 and plant extracts used in the study are 1 μ M (0.003 unit) and 10 μ g/ml, respectively.

^{b)}Results are means±S.E. of 3 separate experiments.

Thunb. Var. *multiflora*) 등 6종이었으며, 한대리곰취와 개웃나무 추출물은 rhAKR1B10 저해활성이 각각 79%, 78%로 탐색한 시료 가운데 가장 높게 나타났다. rhAKR1B10 활성을 50% 이상 저해한 6종의 시료에 대하여 rhAKR1B10 효소 활성을 50% 저해하는 시료의 농도인 IC₅₀를 측정하였다. Fig. 3에서 보듯이 망초, 별개미취, 한대리곰취, 달맞이꽃, 개

웃나무, 찔레에 대한 각각의 IC₅₀는 6.96, 6.28, 2.94, 7.01, 2.00, 9.94 μ g/ml로 나타났다. 대조약제로 사용한 3,3-tetramethylene glutaric acid의 IC₅₀는 3.3 μ g/ml (17.5 μ M)로 나타나 한대리곰취와 개웃나무 추출물은 유망한 AKR 1 B10 활성 억제 소재로 탐색되었으며, 활성물질의 분리 및 구조 동정 연구가 진행 중이다.

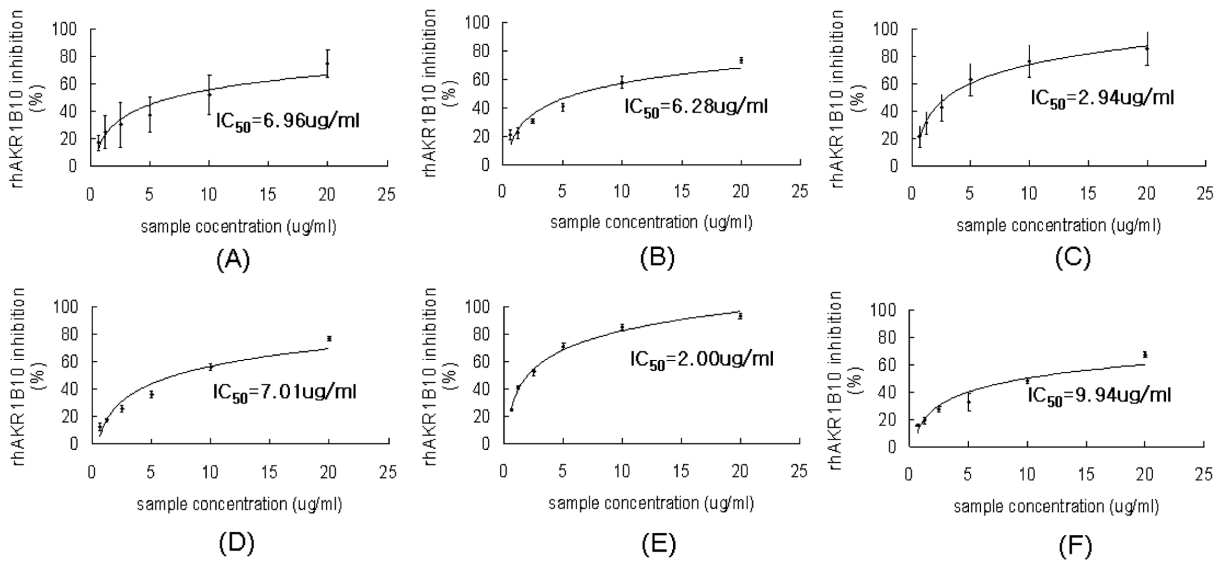


Fig. 3. IC_{50} measurements of Korean local plant extracts showing more than 50% inhibition of rhAKR1B10 activity at 10 μ g/ml. The concentration of extracts giving 50% inhibition of rhAKR1B10 activity (IC_{50}) was calculated from the least-squares regression line of the logarithmic concentrations plotted against the residual activity. Results were obtained by 3 separate experiments. (A) *Erigeron canadensis* L.; (B) *Gymnaster koraiensis* (Nakai) Kitam.; (C) *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* Nakai; (D) *Oenothera biennis* L.; (E) *Rhus trichocarpa* Miq.; (F) *Rosa multiflora* Thunb. Var. *multiflora*.

결론

본 연구를 통해서 간암, 폐암, 구강암, 자궁암 등에서 강하게 발현되며, 단백질 발현 억제제를 통하여 직장암 세포 성장을 저해할 수 있고, 항암제인 daunorubicin을 무독화할 수 있어 최근 암 진단 및 치료의 신규 표적으로 대두되고 있는 AKR 1 B10의 저해 소재를 천연물로부터 찾고자 하였다. 이를 위하여 인간 AKR 1 B10 재조합 단백질인 rhAKR1 B10을 대장균에서 생산하여 효과적인 탐색 방법을 구축하였고, 강원도 평창 일대에서 채집한 23종의 자생식물 추출물에 대하여 rhAKR1B10 활성 저해 효과를 탐색하였다. 망초, 별개미취, 한대리곰취, 달맞이꽃, 개울나무, 찔레 등은 IC_{50} 가 각각 6.96, 6.28, 2.94, 7.01, 2.00, 9.94 μ g/ml로 측정되어 유망한 소재 후보군으로 나타났다. 본 연구에서 얻어진 결과를 바탕으로 각 자생 식물의 추출물로부터 활성물질을 분리하여 동정하는 연구가 진행되고 있다.

사사

본 논문의 연구는 한국과학기술연구원 강릉분원 기관고유과제 (2Z03300) 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

- Jin, Y. and Penning, T. M. (2007) Aldo-keto reductases and bioactivation/detoxication. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **47**: 263-292.
- Barski, O. A., Tipparaju, S. M. and Bhatnagar, A. (2008) The aldo-keto reductase superfamily and its role in drug metabolism and detoxification. *Drug Metab. Rev.* **40**: 553-624.
- Cao, D. L., Fan, S. T. and Chung, S. S. M. (1998) Identification and characterization of a novel human aldose reductase-like gene. *J. Biol. Chem.* **273**: 11429-11435.
- Hyndman, D. J. and Flynn, T. G. (1998) Sequence and expression levels in human tissues of a new member of the aldo-keto reductase family. *Biochim. Biophys. Acta.* **1399**: 198-202.
- Fukumoto, S., Yamauchi, N., Moriguchi, H., Hippo, Y., Watanabe, A., Shibahara, J., Taniguchi, H., Ishikawa, S., Ito, H., Yamamoto, S., Iwanari, H., Hironaka, M., Ishikawa, Y., Niki, T., Sohara, Y., Kodama, T., Nishimura, M., Fukayama, M., Dosaka-Akita, H. and Aburatani, H. (2005) Overexpression of the aldo-keto reductase family protein AKR1B10 is highly correlated with smokers' non-small cell lung carcinomas. *Clin. Cancer Res.* **11**: 1776-1785.
- Nagaraj, N. S., Beckers, S., Mensah, J. K., Waigel, S., Vigneswaran, N. and Zacharias, W. (2006) Cigarette smoke condensate induces cytochromes P450 and aldo-keto reductases in oral cancer cells. *Toxicol. Lett.* **165**: 182-194.
- Yan, R. L., Zu, X. Y., Ma, J., Liu, Z. W., Adeyanju, M. and Cao, D. L. (2007) Aldo-keto reductase family 1 B10 gene silencing results in growth inhibition of colorectal cancer cells: Implication for cancer intervention. *Int. J. Cancer.* **121**:

- 2301-2306.
8. Yoshitake, H., Takahashi, M., Ishikawa, H., Nojima, M., Iwanari, H., Watanabe, A., Aburatani, H., Yoshida, K., Ishi, K., Takamori, K., Ogawa, H., Hamakubo, T., Kodama, T. and Araki, Y. (2007) Aldo-keto reductase family 1, member B10 in uterine carcinomas: a potential risk factor of recurrence after surgical therapy in cervical cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer*. **17**: 1300-1306.
 9. Gallego, O., Ruiz, F. X., Ardevol, A., Dominguez, M., Alvarez, R., de Lera, A. R., Rovira, C., Farres, J., Fita, I. and Pares, X. (2007) Structural basis for the high all-trans-retinaldehyde reductase activity of the tumor marker AKR1B10. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**: 20764-20769.
 10. Martin, H. J. O., Breyer-Pfaff, U., Wsol, V., Venz, S., Block, S. and Maser, E. (2006) Purification and characterization of AKR1B10 from human liver: Role in carbonyl reduction of xenobiotics. *Drug Metab. Dispos.* **34**: 464-470.
 11. Penning, T. M. (2005) AKR1B10: A new diagnostic marker of non-small cell lung carcinoma in smokers. *Clin. Cancer Res.* **11**: 1687-1690.
 12. Balendiran, G. K., Martin, H. J., El-Hawari, Y. and Maser, E. (2009) Cancer biomarker AKR1B10 and carbonyl metabolism. *Chem.-Biol. Interact.* **178**: 134-137.
 13. Zu, X., Yan, R., Ma, J., Liao, D.-F. and Cao, D. (2009) AKR1B10: A potential target for cancer therapy. *Bioscience Hypotheses*. **2**: 31-33.
 14. Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J. and Klenk, D. C. (1985) Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* **150**: 76-85.
 15. Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. **227**: 680-685.

(2009년 8월 14일 접수)