

# 루테올린의 간암세포 성장 억제효능 및 새로운 작용기전

황진택\* · 양혜정

한국식품연구원 바이오제론 연구단

## Anti-cancer Effects of Luteolin and Its Novel Mechanism in HepG2 Hepatocarcinoma Cell

Jin Taek Hwang\* and Hye Jung Yang

Biogeron Research Group, Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

**Abstract** In this study, we investigated the ability of luteolin, a plant derived flavonoid on hepatocarcinoma cell growth using HepG2 cell culture system. We found that luteolin increased the Smac/DIABLO releases, a mitochondrial protein that potentiates apoptosis. Luteolin also induced either transcriptional activity or expression of PPAR-gamma, a target of cancer growth that PPAR-gamma agonist sensitizes to apoptosis in certain cancer types. To find the possible upstream target molecules of PPAR-gamma activated by luteolin treatment, we used compound C, a specific inhibitor of AMP-activated protein kinase. Pre-treatment of Compound C significantly restored the activation or expression of PPAR-gamma stimulated by luteolin. This result indicated that AMPK signaling might be involved in the activation or expression of PPAR-gamma signaling pathway stimulated by luteolin. Moreover, we also found that luteolin inhibited the insulin-stimulated Akt phosphorylation as well as AICAR, a specific AMPK activator. These results propose that luteolin significantly induces cancer cell death through modulating survival signal pathways such as PPAR-gamma and Akt. AMPK signaling pathway may be an upstream regulator for survival signal pathways such as PPAR-gamma and Akt stimulated by luteolin.

**Keywords:** Luteolin, Anti-cancer, PPAR-gamma, AMP-activated protein kinase, Akt.

### 서 론

환경의 급속한 변화와 불규칙한 식습관 및 과도한 스트레스는 암을 포함한 다양한 질병의 발생을 촉진시키는 중요한 원인으로 알려져 있다. 이러한 인자들은 세포 내부의 암 발생에 관여하는 단백질들의 과도한 발현을 야기하고 또한 조절되지 않는 활성을 증가시킴으로써 암을 증식시키는 결과를 초래하게 된다. 여러 가지 암 증식에 관여하는 단백질 중 최근의 보고들에 의하면 PPAR $\gamma$ 의 agonist를 암 세포에 투여 했을 때 암 세포의 사멸을 효과적으로 유도하여 PPAR $\gamma$ 가 암 세포사멸에 중요한 타겟으로 쓰일 수 있음이 알려져 있다 [1,2]. PPAR는 nuclear receptor transcription factor family로서 PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and PPAR $\delta$ 로 이루어져 있다 [1,2]. 이들 중 PPAR $\gamma$ 는 지방산대사, 포도당 항상성 등

에 관여하는 대표적인 단백질로 이들의 agonist들은 임상에서 당뇨병 치료제로 쓰이고 있다. 최근에는 PPAR $\gamma$ 가 tumor progression과 염증반응에 관여한다고도 알려져 있다 [2,3]. 또 다른 항암표적 단백질인 Akt는 대표적인 세포 증식유도 단백질로서 세포의 survival 단백질들의 발현을 촉진하고 반대로 apoptosis유도 단백질들의 발현을 억제하여 tumor의 증식을 증가시키는 것으로 알려져 있다 [4,5]. 따라서 많은 경우의 항암제들이 Akt를 타겟으로 개발되고 있으며 임상에서 실제적으로 많은 효과를 나타내고 있다. Akt와 더불어, AMP-activated protein kinase는 세포의 에너지를 감지하여 항상성을 유지시키는 대표적인 단백질로서 최근 여러 종류의 천연물 유래 활성성분들이 이 단백질을 타겟으로 하여 항암 작용을 나타내는 것이 보고되고 있다 [6,7]. 폭발적으로 증가하는 암을 해결하기 위하여, 위의 제시된 여러 가지 암 표적 단백질들을 타겟으로 한 암 억제 약물 및 천연물에서 유래된 여러 가지 활성물질들에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이중 천연물 유래 활성물질은 합성약물에 비해 비교적 안전하기 때문에 최근 암 예방 및 치료약물 연구 분

### \*Corresponding author

Tel: +82-31-780-9315, Fax: +82-31-709-9876

e-mail: jthwang@kfri.re.kr

야에서 각광받고 있으며 천연물 유래 활성물질들은 대부분이 강력한 항산화 물질로서 이들은 또한 다른 여러 가지 생리활성을 나타낸다 [8,9].

많은 종의 천연물 유래 활성물질 중에 루테올린 (Luteolin)은 전형적인 flavonoid로서 과일, 야채 등의 많은 식물에 포함되어 있으며 항암, 항알러지, 항염증 등의 다양한 생리학적 효능을 나타낸다고 보고되어 있다 [8-10].

이에 본 연구에서는 루테올린의 간암 세포주에서 항암 효과여부를 타진하고 이에 더하여 이들이 어떠한 신호전달 경로를 통하여 항암효과를 나타내는지 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 세포배양 및 재료

HepG2 cell은 American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. 세포는 RPMI1640 (HepG2 cell) 또는 Dulbecco's modified Eagle's medium (HEK293 cell)에 10%의 fetal bovine serum (Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD, USA), 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 첨가하고, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터의 37°C 조건에서 배양하였다. Acetyl-CoA carboxylase ser<sup>79</sup>, Akt ser<sup>473</sup>, Akt, 및 β-actin antibody는 Cell Signaling Technology (Danvers, MA, USA), Luteolin, Insulin, AICAR 및 compound C는 sigma에서 구입하였다 (St. Louis, MO, USA). Smac/DIABLO ELISA kit는 R&D systems에서 구입하였다 (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN).

### 단백질 추출 및 웨스턴 블롯팅

각각의 세포는 ice-cold phosphate-buffered saline (PBS)에 두 번 washing하였다. 그 후 lysis buffer (50 mM Tris-HCl [pH 7.4], 1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF, 1mMsodium orthovanadate, 1 mM NaF, 1 µg/mL aprotinin, 1 µg/mL leupeptin, and 1 µg/mL pepstatin)를 이용하여 세포를 모은 후 40 µg의 단백질을 SDS 샘플 buffer와 섞고 5분간 heating하여 SDS-polyacrylamide (10%) gel 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 gel을 nitrocellulose membrane (NC membrane)을 이용하여 100 volt 조건에서 1시간 동안 transfer 한 후 NC membrane을 5% nonfat dry milk in TBST (25 mmol/l Tris (pH 7.5), 150 mmol NaCl, 0.1% Tween 20)를 이용하여 한 시간 동안 blocking하였다. 그 후 primary antibody (Acetyl-CoA carboxylase ser<sup>79</sup>, Akt ser<sup>473</sup>, Akt, 및 β-actin antibody)로 4°C 조건에서 overnight 인큐베이션을 하였고, membrane은 TBST로 한 시간 동안 5번 washing을 실시하였다. washing이 끝난 후 horseradish peroxidase-conjugated rabbit 이차

항체로 한 시간 동안 membrane을 인큐베이션 한 후 다시 TBST로 한 시간 동안 다섯 번을 washing하였다. 그 후 각각의 단백질 발현을 Chemiluminescent detection kit를 사용하여 측정하였다. (Amersham Pharmacia Biotech, London, UK)

### RT-PCR

세포를 Trizol을 이용하여 total RNA를 분리한 후 이중 1 µg을 이용하여 cDNA를 합성하였다. 그 후 2 µg의 cDNA를 이용하여 95°C for 5 min, 94°C for 1 min, 58°C for 1 min, 72°C for 1 min, 25 cycles 조건에서 PCR을 통해 PPAR $\gamma$  및 beta actin을 증폭하고 1% agarose gel을 이용하여 전기영동 하고 각각의 발현을 UV하에서 관찰하였다. 사용되어진 Primer 조건은 다음과 같다.

- PPAR $\gamma$

Sense 5'-ATG ACC ATG GTT GAC ACA GAG-3'

anti-sense 5'-GCT TCA ATC TGA TTG TTC TCC-3'

- beta actin

Sence 5'-CCA GGC ACC AGG GCG TGA TG-3'

anti-sense 5'-CGG CCA GCC AGG TCC AGA CG-3'

### PPAR감마 전사활성측정

세포는 PPAR- $\gamma$ , RXR $\alpha$ , β-galactosidase and α luciferase reporter plasmid, PPAR response element (PPRE)와 함께 transfection하였다. 24시간 후에, 세포를 각각 시료처리 후 lysis하여 Cell lysate를 Luciferase assay reagent (Promega, Madison, WI)와 mix하였다. Luciferase activity는 ELISA로 측정하였다.

### Statistical analysis

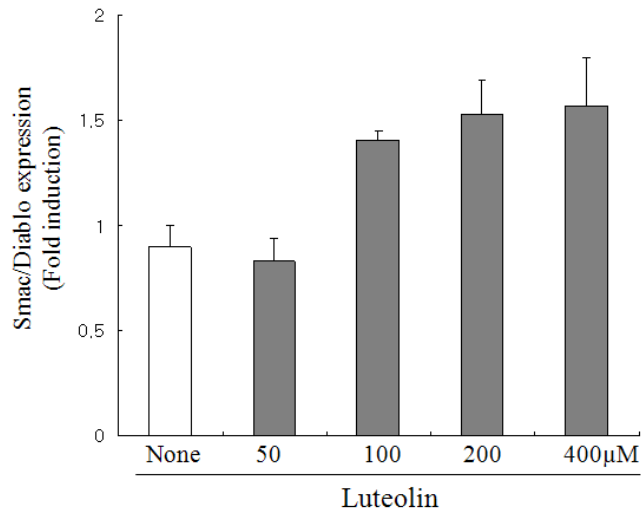
본 연구에서 도출된 실험결과는 SPSS (v.12.0)프로그램을 이용하여 처리하였는데, 각 실험군의 유의성은 분산분석 (ANOVA)을 실시하였다. 그 후 p values < 0.05수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

## 결 과

### Smac/DIABLO의 발현에 대한 루테올린의 효과

루테올린은 간암을 포함한 여러 가지 암 세포주에서 세포의 사멸을 효과적으로 유도할 수 있음이 보고되어 있다. Lee HJ et al.의 보고에 따르면 루테올린은 간암 세포의 apoptosis를 효과적으로 유도할 수 있음을 보고하였는데, 우리의 실험 조건하에서도 루테올린이 간암세포의 apoptosis를 유도할 수 있는지를 Smac/DIABLO assay를 통하여 알아보았다 [11]. Smac/DIABLO는 미토콘드리아에 존재하는 단백질로서 세

포의 apoptosis 유도 시 cytosol로 분비된다 [12]. 루테올린의 Smac/DIABLO 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여, HepG2 간암 세포 주에 루테올린을 각각 농도별로 48시간동안 처리한 후 세포를 수집한 후 Smac/DIABLO의 미토콘드리아로부터 cytosol로의 releases를 ELISA를 이용하여 측정하였다. Fig. 1에서 보여주는 바와 같이 루테올린은 농도 의존적으로 Smac/DIABLO의 release를 증가시킴으로 간암세포의 apoptosis를 유도하는 것을 관찰할 수 있었다.

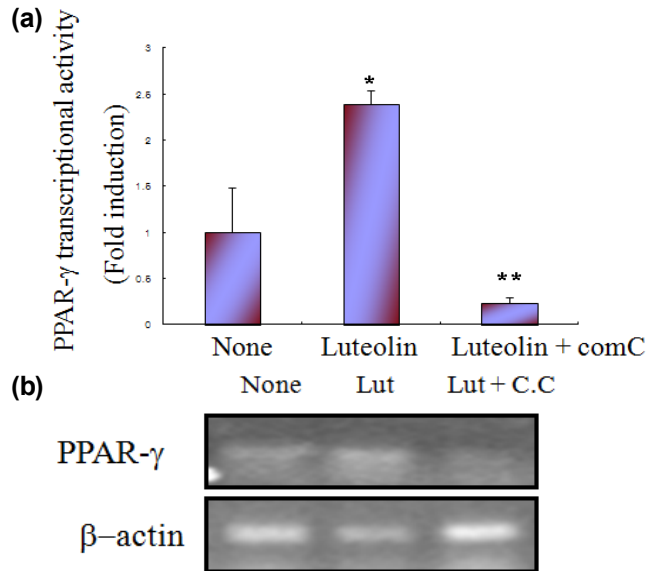


**Fig. 1.** The effects of luteolin on Smac/DIABLO expression in HepG2 hepatocarcinoma cells. HepG2 cells were treated with luteolin in a dose dependent manner. After 48 h, Smac/DIABLO expressions were measured by ELISA kit.

**PPAR $\gamma$ 의 발현 및 전사활성에 대한 루테올린의 촉진 및 AMPK 억제제에 의한 이들 효과의 억제**

보고에 따르면 PPAR $\gamma$  agonist가 여러 가지 암세포의 증식을 억제할 수 있음이 보고되었는데 [13], Patel L.과 그 동료연구자에 따르면 tumor cell에서 PPAR $\gamma$ 의 agonist는 Akt의 활성을 억제하고 세포의 성장을 억제할 수 있음을 보고하였고 [14], Farrow B.과 동료연구자에 따르면 PPAR $\gamma$ 의 활성은 췌장암세포에서 PTEN의 expression을 증가하고 세포의 성장을 억제한다고 주장하였다 [15]. 그 외에도 여러 연구자들에 의해 PPAR $\gamma$ 의 활성이 항암효과를 나타낼 수 있음이 보고되었다. [16,17]. 이에 다음으로 우리는 루테올린이 PPAR $\gamma$ 의 agonist로서 작용할 수 있는지 그리고 또한 이들은 AMPK라는 또다른 항암 타겟단백질의 활성에 의해 조절될 수 있는지를 알아보기 위하여 PPAR $\gamma$ 전사활성을 측정하였다. Fig. 2(a)에서 보는바와 같이 PPAR $\gamma$ 의 전사활성을 루테올린이 유의하게 증가 시키는 것으로 나타났고 이것의 증가는 AMPK inhibitor에 의해 억제 되는 것으로 관찰되었다. 더불어 AMPK의 inhibitor는 루테올린에 의한 PPAR $\gamma$ 의 mRNA level 증가 또한 감소시키는 것으로 나타났다 (Fig. 2(b)). 이들의 결과로 유추 할 수 있는 사실은 루테

올린의 항 암 효과는 PPAR $\gamma$ 의 전사활성 및 발현의 증가를 수반하고 이들의 효과에 있어 AMPK가 upstream의 조절자가 될 수 있음을 알 수 있었다.

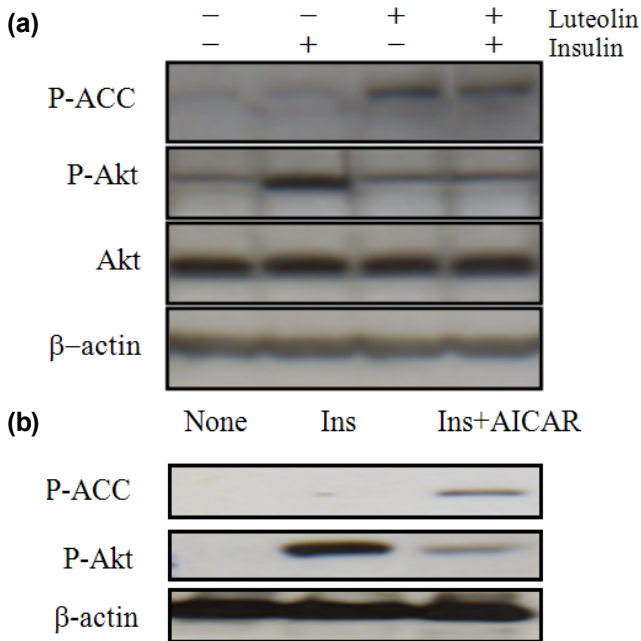


**Fig 2.** Luteolin significantly induces PPAR gamma transcriptional activity or expression and is inhibited by AMPK inhibitor. HepG2 cells were co-transfected with PPAR-g expression vector and the PPRE-luc vector. After 24 h, cells were exposed to luteolin (100 μM) for 6hour in absence or presence of compound C, an AMPK inhibitor. Luciferase activity was measured with luciferase assay kit (Promega) (A). Cells were exposed to luteolin (100 μM) for 6 h in absence or presence compound C. After collection of total RNA, RT-PCR was performed with PPAR-gamma or beta actin primer (B). \* Significant differences were compared with None, as control at p < 0.05; \*\* Significant differences were compared with Luteolin treated group at p < 0.05.

**루테올린과 AMPK활성제의 인슐린에 의한 Akt 인산화에 대한 억제 효과**

Akt는 임상적으로 사용되는 다양한 항암제의 표적이 되는 단백질로서 이 단백질의 과 발현은 암 세포의 이상 증식으로 이어지게 된다 [6,7]. 이에 본 연구진은 마지막으로 루테올린이 Akt의 활성에 영향을 주는지를 알아보기 위해 다음과 같은 실험을 진행하였다. HepG2 간암세포주에 인슐린을 처리하여 Akt의 인산화를 증가시킨 후 루테올린을 처리하였는데, Fig. 3(a)에서 보는바와 같이 인슐린은 Akt의 인산화를 증가시키게 되고 이 증가된 인산화는 루테올린에 의해 감소하는 것으로 나타났다. 같은 조건하에서 AMPK의 substrate인 ACC의 인산화는 증가한 것을 관찰할 수 있었고, 이때 루테올린 단독처리에 의한 Akt의 인산화에 미치는 영향은 없었다. 마지막으로 AMPK가 인슐린에 의한 Akt의 인산화에 영향을 미치는지 아닌지를 확인하였는데, Fig. 3(b)에서 보는바와 같이 인슐린에 의해 증가된 Akt의 인산화는 AMPK

활성제인 AICAR에 의해 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 AMPK의 활성화는 Akt의 인산화를 억제할 가능성이 있음을 예상할 수 있었다. 이들의 모든 결과로 유추할 수 있는 것은 루테올린은 AMPK를 활성화시키고 PPAR $\gamma$ 의 활성화증가 또는 Akt의 억제를 통하여 암 세포의 사멸을 유도하는 것으로 사료된다.



**Fig 3.** The effect of luteolin on insulin-stimulated Akt phosphorylation. Cells were treated with luteolin (100  $\mu$ M) for 3 h in presence or absence of insulin 100 nm and then cells were lysed with cell lysis buffer. Western blotting was performed with specific antibodies (A). Cells were treated with insulin 100 nm for 3 h in presence or absence of AICAR, an specific AMPK activator (500  $\mu$ M) and then cells were lysed with cell lysis buffer. Western blotting was performed with specific antibodies (B).

## 고 찰

천연식물유래 활성물질들은 예로부터 다양한 생리학적 효능을 나타낸다고 보고가 되어 지고 있으며 이들은 세포내의 다양한 신호전달 경로를 활성화 또는 억제 함으로써 효능을 나타내고 있음이 계속하여 보고되고 있다 [18-20]. 본 연구에서 우리는 천연식물에 많이 함유되어 있는 활성 소재인 루테올린의 간암세포에 대한 항암 효능을 검증하였는데, 루테올린은 간암 세포 주에서 강력한 항암 효능을 나타내었으며 이들의 효능은 AMPK, PPAR $\gamma$  또는 Akt의 상호조절에 의해 나타나는 것을 알 수 있었다. PPAR $\gamma$ 는 항 비만 또는 항 당뇨의 타겟으로 잘 알려져 있는데, 최근 보고에 의하면 PPAR $\gamma$ 의 agonist들이 암세포의 증식을 억제할 수 있음을 알 수 있다. thiazolidinediones (TZDs)는 당뇨병의 치료제로서 PPAR $\gamma$ 의 agonist인데 이것은 지방암, 전립선암 및 대장암

세포의 증식을 억제할 수 있음이 보고되었다 [21]. 본 연구에서 루테올린은 PPAR $\gamma$ 의 agonist로서 작용하는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2(a), (b)). 결국 루테올린은 PPAR $\gamma$ 의 활성을 촉진시켰고, 암 세포의 사멸을 유도하였는데, 이 결과는 보고된 결과들처럼 PPAR $\gamma$ 의 활성 촉진이 암 세포사멸을 유도할 수 있다는 결과와 일치하는 것을 알 수 있다 [14-16]. 이에 더하여 본 연구진은 루테올린이 PPAR $\gamma$ 의 활성 또는 발현을 증가시킴에 있어서 그것의 upstream 조절자가 무엇인지 검증하기 위하여 알려진 항암효능 타겟인 AMPK의 억제제를 사용하였다. 최근 AMPK는 천연물에 의한 항암효능 연구에 있어서 중요한 타겟이 됨이 밝혀지고 있다 [18-20]. 예를 들어 포도에 많이 함유되어 있는 Resveratrol은 강력한 항암 효능을 나타내는데 이것은 AMPK의 활성을 유도하는 것으로 잘 알려져 있다. 또한 EGCG 역시 다양한 생리학적 효능 중 항암효능 또한 보고되고 있는데 EGCG도 AMPK의 활성을 유도할 수 있음이 보고되어 있다 [18-20]. 우리의 결과에서 보여주었듯이 AMPK의 억제제는 루테올린에 의한 PPAR $\gamma$ 의 발현 또는 활성을 감소시키는 것으로 나타났다 (Fig. 2(a), (b)). 이 결과로 유추할 수 있는 것은 루테올린의 PPAR $\gamma$ 에 대한 효능은 AMPK가 관여하고 있음을 알 수 있었다. 이로서 루테올린의 항암 효능에 있어서 적어도 AMPK의 활성화가 필요할 수 있음을 예상할 수 있게 되었다.

다른 한편으로 PPAR $\gamma$ 와 더불어 잘 알려진 항암제의 표적 단백질이 되는 Akt의 발현에 대한 루테올린의 효능을 타진하였다. 보고에 의하면 Akt는 세포의 대사, 증식 및 생존에 필수적인 단백질로서 많은 암 종에서 발현이 증가되어 있다. 증가된 Akt는 Bax, Bad 등 세포의 사멸을 유도하는 단백질들의 발현을 억제하고, 반대로 세포의 survival에 관여하는 단백질인 Bcl-2 등의 발현을 증가시켜 암세포의 사멸을 억제하는 것으로 알려져 있다 [22,23]. 따라서 많은 경우의 항암제들이 이 Akt신호전달 경로를 표적으로 하여 개발되고 있으며 Akt의 억제제들은 강력한 항암 작용을 나타낸다. 더 최근의 연구에 의하면 AMPK는 Akt의 upstream regulator로서 작용할 수 있음이 보고되었는데, 지방암 세포에서 adiponectin에 의해 활성화된 AMPK는 Akt의 탈인산화를 통해 invasion을 억제하는 것을 보고하였다 [24]. 이들의 결과는 AMPK가 암 세포에서 Akt의 upstream regulator로 작용할 수 있음을 가늠할 수 있게 하는 결과로서, Fig. 3에서 보여주듯이 루테올린은 AMPK를 활성화 할 수 있고 이 활성화된 AMPK는 insulin에 의한 Akt의 활성을 효과적으로 억제하는 것을 관찰할 수 있었다. 이에 더하여 AMPK의 direct한 활성제인 AICAR 역시 루테올린과 마찬가지로 인슐린에 의해 증가되는 Akt의 인산화를 효과적으로 억제하는 것으로 관찰되었다. 따라서 루테올린에 의한 간암세포의 사멸효과는 여러 가지 다양한 기전 중에 적어도 AMPK의 활성화에 따른 PPAR $\gamma$ 의 활성화증가 및 Akt의 억제에 의한 기전이 포함되어 유도됨을 알 수 있었다.

본 연구에서 루테올린의 항암 작용에 있어서 PPAR $\gamma$ 활성화 및 AMPK 활성화가능성 그리고 Akt에 대한 억제 가능성을

밝혀냈음에도 불구하고, 어떻게 AMPK가 PPAR $\gamma$ 를 조절하는지 그리고 AMPK는 어떻게 Akt를 조절하는지는 밝혀내지 못했다. 향후 연구에서 루테올린의 항암 효과에 있어서 단백질 상호간의 명확한 조절기작은 반드시 밝혀져야 할 것이다. 본 연구는 다만 루테올린의 항암 효능은 적어도 PPAR $\gamma$ /AMPK/Akt의 조절이 필요함을 알 수 있었다.

## 결론

루테올린이 간암 세포주의 사멸에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- ① 루테올린은 HepG2 간암세포모델에 있어 효과적으로 세포의 사멸을 유도한다.
- ② 루테올린의 항암효능의 작용기전은 세포내 에너지대사의 필수 단백질인 AMPK의 활성화가 필요하고 이는 PPAR $\gamma$ 의 활성화 및 발현을 효과적으로 증가시킨다.
- ③ 루테올린은 항암제의 표적 단백질인 Akt의 발현을 효과적으로 억제하며 AICAR(AMPK활성제)또한 Akt의 발현을 효과적으로 억제한다.

이상의 결과로 루테올린의 간암세포에 있어서 항암효능은 적어도 AMPK의 활성화, PPAR $\gamma$ 의 활성화 및 Akt의 억제를 통하여 이루어짐을 알 수 있다.

## 감사

이 연구는 한국식품연구원의 사업연구비 및 Korea Science and Engineering Foundation (KOSEF) for Biofoods Research Program, Ministry of Science & Technology의 지원을 받아 수행한 연구결과로 이에 감사드립니다.

접수 : 2010년 9월 13일, 게재승인 : 2010년 12월 3일

## REFERENCES

1. Nakagama, H. (2010) PPAR $\gamma$  and cancer. *Nippon Rinsho*. 68: 323-9.
2. Lyon, C. M., D. M. Klinge, K. C. Do, M. J. Grimes, C. L. Thomas, L. A. Damiani, T. H. March, C. A. Stidley, and S. A. Belinsky (2009) Rosiglitazone prevents the progression of preinvasive lung cancer in a murine model. *Carcinogenesis* 30: 2095-9.
3. Yu, J., B. Shen, E. S. Chu, N. Teoh, K. F. Cheung, C. W. Wu, S. Wang, C. N. Lam, H. Feng, J. Zhao, A. S. Cheng, K. F. To, H. L. Chan, and J. J. Sung (2010) Inhibitory role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in hepatocarcinogenesis in mice and *in vitro*. *Hepatology* 51: 2008-19.
4. Carnero, A. (2010) The PKB/AKT pathway in cancer. *Curr. Pharm. Des.* 16: 34-44.
5. Wysocki, P. J. (2010) Targeted therapy of hepatocellular cancer. *Expert Opin. Investig. Drugs* 19: 265-74.
6. Luo, Z., M. Zang, and W. Guo (2010) AMPK as a metabolic tumor suppressor: control of metabolism and cell growth. *Future Oncol.* 6: 457-70.
7. Hien, T. T., H. G. Kim, E. H. Han, K. W. Kang, and H. G. Jeong (2010) Molecular mechanism of suppression of MDR1 by puerarin from *Pueraria lobata* via NF-kappaB pathway and cAMP-responsive element transcriptional activity-dependent up-regulation of AMP-activated protein kinase in breast cancer MCF-7/adr cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 54: 918-28.
8. Guo, W., E. Kong, and M. Meydani (2009) Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. *Nutr. Cancer* 61: 807-10.
9. Tachibana, H. (2009) Molecular basis for cancer chemoprevention by green tea polyphenol EGCG. *Forum Nutr.* 61: 156-69.
10. López-Lázaro M. (2009) Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev. Med. Chem.* 9: 31-59.
11. Lee, H. J., C. J. Wang, H. S. Kuo, F. P. Chou, L. F. Jean, and T. H. Tseng (2005) Induction apoptosis of luteolin in human hepatoma HepG2 cells involving mitochondria translocation of Bax/Bak and activation of JNK. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203: 124-131.
12. Gradzka, I. (2006) Mechanisms and regulation of the programmed cell death. *Postepy Biochem.* 52: 157-65.
13. Nishizuka, M. and M. Imagawa (2010) PPAR $\gamma$  target genes and the molecular mechanism of transcriptional control by PPAR $\gamma$ . *Nippon Rinsho*. 68: 189-93.
14. Patel, L., I. Pass, P. Coxon, C. P. Downes, S. A. Smith, and C. H. Macphee (2001) Tumor suppressor and anti-inflammatory actions of PPAR-gamma agonists are mediated via upregulation of PTEN. *Curr. Biol.* 11: 764-8.
15. Farrow, B. and B. M. Evers (2003) Activation of PPAR $\gamma$  increases PTEN expression in pancreatic cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301: 50-3.
16. Chen, W. C., M. S. Lin, and X. Bai (2005) Induction of apoptosis in colorectal cancer cells by peroxisome proliferators-activated receptor gamma activation up-regulating PTEN and inhibiting PI3K activity. *Chin. Med. J. (Engl)* 118: 1477-81.
17. Lee, S. Y., G. Y. Hur, K. H. Jung, H. C. Jung, S. Y. Lee, J. H. Kim, C. Shin, J. J. Shim, K. H. In, K. H. Kang, and S. H. Yoo (2006) PPAR-gamma agonist increase gefitinib's antitumor activity through PTEN expression. *Lung Cancer* 51: 297-301.
18. Giovannini, C., B. Scazzocchio, R. Vari, C. Santangelo,

- M. D'Archivio, and R. Masella (2007) Apoptosis in cancer and atherosclerosis: polyphenol activities. *Ann. Ist. Super Sanita.* 43: 406-16.
19. Huang, C. H., S. J. Tsai, Y. J. Wang, M. H. Pan, J. Y. Kao, and T. D. Way (2009) EGCG inhibits protein synthesis, lipogenesis, and cell cycle progression through activation of AMPK in p53 positive and negative human hepatoma cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 53: 1156-65.
  20. Puissant, A., G. Robert, N. Fenouille, F. Luciano, J. P. Cassuto, S. Raynaud, and P. Auberger (2010) Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. *Cancer Res.* 70: 1042-52.
  21. Lea, M. A., M. Sura, and C. Desbordes (2004) Inhibition of cell proliferation by potential peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma agonists and antagonists. *Anticancer Res.* 24: 2765-71.
  22. Horbinski, C. and C. T. Chu (2005) Kinase signaling cascades in the mitochondrion: a matter of life or death. *Free Radic. Biol. Med.* 38: 2-11.
  23. Maddika, S., S. R. Ande, S. Panigrahi, T. Paranjothy, K. Weglarczyk, A. Zuse, M. Eshraghi, K. D. Manda, E. Wiechec, and M. Los (2007) Cell survival, cell death and cell cycle pathways are interconnected: implications for cancer therapy. *Drug Resist. Updat.* 10: 13-29.
  24. Kim, K. Y., A. Baek, J. E. Hwang, Y. A. Choi, J. Jeong, M. S. Lee, D. H. Cho, J. S. Lim, K. I. Kim, and Y. Yang (2009) Adiponectin-activated AMPK stimulates dephosphorylation of AKT through protein phosphatase 2A activation. *Cancer Res.* 69: 4018-26.