

## 준계 미니세미나 강연 1

### 대장암 예방과 식품 중 생리활성 성분

#### - 사포닌을 중심으로 -

성 미 경

숙명여자대학교

암은 노화와 함께 진행되는 질환이다. 정상세포에 변이가 초래된 후 이 세포가 암 조직으로 전환되는데에는 20년 이상이 소요되는 것으로 보이고 따라서 장·노년층에서의 발생이 빈번하다. 한편 아프리카 탐험가였던 David Livingstone 박사는 암을 '근대화질병'이라고 칭하였는데<sup>1)</sup> 그 후 20여년이 지난 지금, 의학, 보건학, 역학 등의 연구결과를 통해 그의 지적이 매우 정확한 것으로 인정되고 있다.

전세계적으로 볼 때 암은 그 발생을 뿐 아니라 발생부위 면에서도 많은 변화를 보이고 있다. 1997년 세계암연구재단(World Cancer Research Fund)에서 그 간의 암 관련통계를 모두 모아 정리한 자료에 의하면 1960년에서 1985년 사이 식습관과 관련이 있는 것으로 추정된 여섯 부위의 암 중 위암만이 감소추세를 보이고 있고 그 이외 식도암, 폐암, 대장암, 유방암, 전립선암 등은 모두 증가하고 있는 것으로 나타났다<sup>2)</sup>. 우리 나라 통계청에서 발표한 사망원인통계연보에 따르면 지난 10년간 뇌혈관질환, 심장질환 및 간질환으로 인한 사망률은 감소하고 있는 반면 당뇨병과 암으로 인한 사망률은 꾸준히 증가하고 있다<sup>3)</sup>. 보건복지부의 한국중양암등록사업 연례보고서에 발표된 암 부위별 사망율은 남자의 경우 위암>간암>폐암>대장암>방광암의 순 이었고 여자의 경우는 위암>유방암>자궁경부암>대장암>간암의 순 이었다<sup>4)</sup>.

특히 주목할 것은 우리 나라에서 대장암, 유방암, 전립선암 등 서구형 암의 발생빈도가 급속히 증가하고 있다는 점이다(Table 1). 1980년대 초에 행해진 Kolonel 등<sup>5)</sup>의 연구에 의하면 같은 유전적 배경을 소유한 인구집단인 경우에도 생활환경이 바뀌게 되면 유전적 요인이 아닌 환경적 요인에 의해서 암의 발생양상이 변하는 것으로 나타났고 특히 암 발생의 40~70%는 식습관의 변화에 의해 조절되어질 수 있다고 하였다. 따라서 식습관이 점차로 서구화되어 가고 있는 우리 나라에서 대장암, 유방암, 전립선암 등의 발생율이 급속하게 증가하고 있다는 것은 생활관리 및 영양관리 측면에서 중요한 의미를 가진다.

## 1. 암의 발생기전

### 1) 암의 발생단계

암화과정(carcinogenesis)은 대개 initiation - promotion - progression의 세 단계로 나뉜다(Fig. 1). Initiation 단계에서는 발암원이 체 내에서 활성화된 후 세포 내에서 DNA, 단백질, 지질 등의 분자에 결합하게 되어 세포 변이를 초래하게 된다. 이 때 손상된 DNA는 복구기전에 의해 복구가 일어나거나 세포의 자살(apoptosis)이 유도될 수 있다. 그러나 이러한 제어기능에 결함이 생긴 경우, 변이된 세포의 분열이 계속되게 되고 이 단계를 promotion 이라 한다. Promotion 단계를 거친 후 세포는 악성종양(malignant tumor)으로 발달하게 되며(pro-gression) 이 때 다시 여러 가지 유전자의 변이와 손상이 초래되게 된다.

### 2) 암의 발생원인

#### (1) Chemical carcinogen

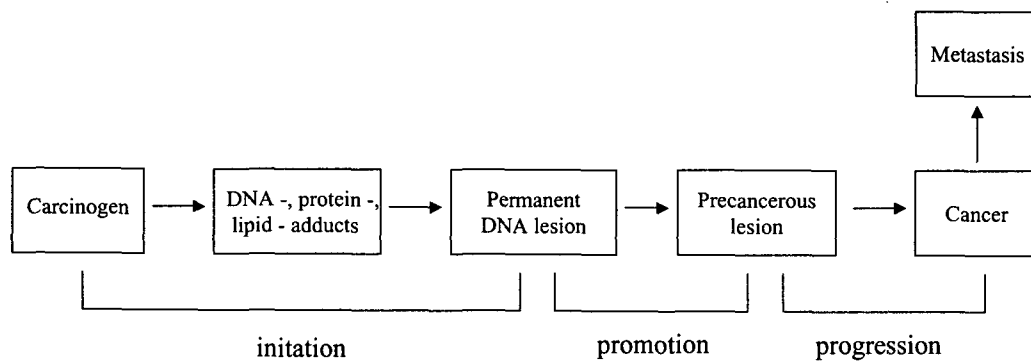
발암성을 가진 화학물질 및 각 중 조사선(irradiation)은 DNA 손상을 일으킴으로써 암 조직을 생성하게 된다. 지

금까지 수많은 종류의 물질이 발암성을 가지는 것으로 조사되었고 그 대표적인 예로는 polycyclic aromatic hydrocarbons, aminoazo dyes, heterocyclic amines, N-nitroso compounds 등 인위적인 합성화합물과 자연계에 존재하는 aflatoxin 및 safrole 등을 들 수 있다. Polycyclic aromatic hydrocarbons는 공장폐수 등에 의한 환경오염이나 고온 가열한 식품 등에서 생성되어 인체에 노출되는 물질이다. Heterocyclic amines는 육류와 어류 등의 단백질 식품에 존재하는 크레아틴과 아미노산이 가열되면서 발생하는 화합물의 일종으로 굽거나 튀긴 쇠고기, 양고기, 돼지고기, 생선 등에서 많게는 70~80 ng/g에서 적게는 1 ng/g 정도의 heterocyclic amines가 검출되었다<sup>6)</sup>. N-nitroso compounds는 식품 중에 존재하는 아미노산 또는 단백질 등에서 생성되는 amine 화합물에 nitrite가 결합하여 생성되는 화합물로 강한 발암성을 가진다. 이 때 nitrite는 식품가공 시 발색, 착향 및 보존의 목적으로 사용하는 sodium nitrite가 그 급원이 되는 경우가 많고 비료를 사용하여 재배한 식품에도 존재한다. 또 식품 내에 존재하는 amine 화합물은 섭취 후 인체 내에서 nitro화 되기도 한다.

**Table 1. Deaths from different cancers**

(단위: per 100,000)

		total cancer	stomach cancer	liver cancer	lung cancer	colon cancer	pancrease cancer	breast cancer	uterus cancer	prostate cancer
Total	1990	110.4	31.5	24.1	14.4	4.5	3.3	3.5	7.8	1.6
	1999	114.7	24.0	20.7	22.1	7.9	5.4	4.8	5.6	1.8
	% change	3.9	23.8	14.1	▲53.5	▲75.6	▲63.6	▲37.1	28.2	▲12.5
Male	1990	136.7	39.1	35.4	20.8	4.4	3.8	-	-	1.6
	1999	146.4	30.3	31.7	32.8	8.5	6.2	-	-	1.8
	% change	7.1	22.5	10.5	▲57.7	▲93.2	▲63.2	-	-	▲12.5
Female	1990	83.0	23.6	12.0	7.7	4.5	2.8	3.5	7.8	-
	1999	82.8	17.6	9.5	11.3	7.2	4.5	4.8	5.6	-
	% change	0.2	25.4	20.8	▲46.8	▲60.0	▲60.7	▲37.1	28.2	-



**Fig. 1. Cancer process.**

이들 돌연변이 유발물질이 체 내에 유입되면 대개 간의 phase I 대사효소에 의해 산화된 후 phase II 대사효소의 작용으로 수용성물질로 전환되어 배설되게 된다. 그러나 phase I 대사산물은 친전자성이 강한 중간산물로 phase II 대사로의 진행이 이루어지기 전 세포 내의 DNA, 단백질, 지질 등과 결합하면서 세포변이를 일으킬 수 있다. 많은 종류의 세포돌연변이 유발물질들이 DNA-adduct를 형성하는 것으로 알려졌다고 이러한 DNA 손상이 적절히 복구(repair)되지 않을 때 세포변이가 일어나게 된다.

특히 이들 세포돌연변이 유발물질들은 빈번하게 DNA 내 oncogenes 또는 tumor suppressor genes에 변이를 일으켜 oncogene은 활성화시키고 suppressor gene을 불활성화시킴으로써 세포의 정상적인 성장과 조절의 균형을 깬다.

지금까지 알려진 대표적인 oncogene의 예로는 *ras gene*이 있고 suppressor gene으로는 *p53 gene*을 들 수 있다. 몇몇 돌연변이 유발물질을 제외하고는 세포변이를 일으킨 것만으로 암 조직을 생성할 수는 없으며 promotion 단계에는 진행시키기 위한 세포성장 촉진물질(endogenous promotor)를 필요로 하는 것으로 알려졌다. Promotion 단계에는 과다세포분열, apoptosis (세포자살), 염증반응 등 다양한 기전에 관여하는 유전자들에 변화가 초래되는 것으로 보이며 이 변화는 다시 initiation에 관련되는 것으로 생각된다. 특히 apoptosis는 *Rb*, *p53*, *bcl2* 등의 유전자에 의해 조절되고 있으나 유전자 손상이 초래된 경우 정상적인 조절이 이루어지지 않게 된다. 이 이외에 암의 전이 및 악성종양으로의 진행단계에도 발암원에 의한 유전자 손상이 관여하는 것으로 나타났다.

이와 같이 인체에서 발생하는 대부분의 암은 암 조직을 생성하기 전 장기간의 병리학적 변화를 거치게 되고 초기 연구를 통해 밝혀졌던 initiation-promotion-progression의 세 단계로의 일방적인 진행이라기 보다는 oncogenes, tumor suppressor genes, apoptotic regulating genes 및 DNA repairing genes 등 세포의 homeostasis을 조절하는 유전자 변이가 축적되어 발생하는 과정이라고 할 수 있고<sup>7)</sup> 이 과정 중에 다양한 환경적 인자가 작용하여 변화의 기간을 단축시킬 수도 있고 연장시킬 수도 있다.

## (2) Viruses

암을 일으키는 virus 들로는 Burkitt lymphoma와 후두암의 원인이 되는 Epstein-Barr virus, 간암의 원인인 hepatitis B와 C virus, 자궁경관암을 일으키는 papilloma virus 및 T-cell leukemia virus 등이 있다. 근래에는 박테리아의 일종인 *Helicobacter pylori*가 위암의 원인이 된다는 증거가 많이 발표된 바 있다. 이들 virus 역시 직접적으로 세포돌연변이를 일으키는 것으로 보인다.

## (3) Radiation

태양에서 조사되는 자외선은 피부암의 원인이 되는 것으로 잘 알려져 있고 X-ray와  $\gamma$ -ray 역시 암 조직을 생성하는데 특히 혈액과 림프관암을 빈발시키며 그 이외에 갑상선암, 유방암, 뇌종양과도 연관되는 것으로 보인다. 그러나 radiation에 의한 암 발생율은 전체 암 발생율의 3% 정도로 매우 적은 부분을 차지하고 있다<sup>8)</sup>.

## 2. 대장암 병리

대장암은 양성 대장선종이 악성종양으로 전환되면서 발생하는 것으로 알려져 있다<sup>9)</sup>. 동물모델을 이용한 다수의 실험에서는 대장암 발생초기에 나타나는 현상으로 대장 용모 상피세포의 과다분열이 관찰된 바 있다<sup>10)</sup>. 대장암의 발생 시에는 대개 초기에 APC (tumor suppressor gene) 손실과 *K-ras* (proto-oncogene) 변이가 관찰되고 그 후 *p53* (tumor suppressor gene) 손실이 초래되게 된다. 특히 가족성 대장선종증 (familial adenomatous polyposis)을 소유한 경우는 대장암이 발생할 확률이 100%에 가깝고<sup>2)</sup> HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer)가 유전된 경우 역시 대장암을 비롯한 난소암, 요도암, 위암 및 췌장암 등의 발생율이 높다<sup>11)</sup>. 그러나 전체 대장암 환자 중 이러한 유전적 배경을 가진 경우는 극히 일부에 지나지 않으므로 환경적 요인에 의한 영향이 클 것으로 생각된다.

## 3. 암의 발생에 있어 식품의 역할

다단계로 진행되는 암화과정에서 식품 중에 존재하는 영양소 및 기타 식품성분들에 의해 조절될 수 있는 것은 다음과 같다. 즉 개시단계 (initiation stage)에서는 ① 발암원을 활성화시키는데 관여하는 효소작용의 억제 ② 발암원 무독화효소의 활성 촉진 ③ DNA와 반응할 수 있는 친전자성 물질 (활성화된 발암원 이나 반응성산소종 등)과의 결합 ④ DNA 복구과정 촉진 등을 통해 암의 발생을 억제하는 것으로 보인다. 한편 변이가 일어난 세포의 성장단계 (proliferation stage)에서는 ① 신호전달, 세포성장, 세포자살, 세포재분화를 담당하는 유전자발현 조절 ② 면역능 조절 ③ 선택적인 세포독성 등을 통해 암화과정을 억제하는 것으로 보인다(Fig. 2).

#### 4. 식품성분이 대장암 발생 및 예방에 미치는 영향

##### 1) 섬유소

Howe 등<sup>12)</sup>이 13개의 case-control 연구를 meta analysis를 통해 분석한 결과에 의하면 섬유소의 대장암 예방 효과는 비교적 근거가 있는 이야기로 생각된다. 지금까지의 연구결과에 의하면 섬유소의 대장암예방 효과에는 다음과 같은 기전이 관여하는 것으로 보인다. ① 대변의 용적을 늘여 대변 중에 존재하는 돌연변이원성 물질의 농도를 낮춘다. ② 대변의 장 내 통과속도를 빠르게 하여 돌연변이원과 대장점막을 접촉기회를 줄인다. ③ 담즙과 발암물질을 결합한다. ④ 대장 내에서 발효되어 항암효과가 있는 단쇄지방산을 만들고 장 내 pH를 낮추어 변이세포의 분열촉진 인자로 잘 알려진 2차 담즙산의 생성을 저해하며 담즙산의 용해도를 낮춘다. ⑤ 장 내 균의 조성을 바꾼다.

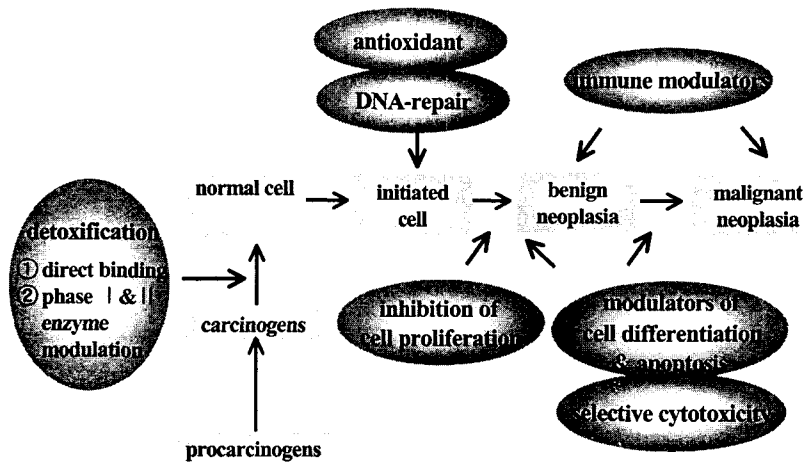


Fig. 2. Diet and cancer process.

그러나 섬유소의 대장암 예방효능 입증에 실패한 실험도 다수에 이르며 섬유소의 종류에 따른 발효 정도와 용해도의 차이 등에 의해 그 효과가 달라질 것으로 생각된다. 특히 관찰을 통한 역학조사(observational studies) 연구결과에서는 섬유소의 대장암 예방효과가 뚜렷이 나타나지 않았는데 이는 위에서 언급한 섬유소의 종류에 따른 차이뿐 아니라 섬유소 함량이 높은 식품 중에는 암 예방효과가 있을 것으로 생각되는 다양한 생리활성물질들이 존재하기 때문인 것으로 보인다. 즉 이들 각각의 효과와 섬유소의 효과가 모두 조합되었을 때 대장암에 발생에 대한 억제효과가 결정되는 것으로 생각된다.

##### 2) 지방

지방섭취량은 대장암의 발생을 증가시키는 식이 인자로 잘 알려져 있다. 이와 관련된 기전으로는 ① 담즙산 생산량의 증가로 인한 이차담즙산 생성량 증가 및 ② 지방산화물에 의한 DNA 손상 증가가 제시되었다. 담즙산은 위에서 언급되었듯이 대장 상피세포의 분열을 자극할 뿐 아니라 DNA 손상을 일으킬 수 있다. 한편 최근의 연구에 의하면 포화지방산과 오메가-6 계열의 불포화지방산은 phospholipase A<sub>2</sub>와 cyclooxygenase-2의 활성을 상승시킴으로써 prostaglandins의 합성량이 증가하게 되어 대장상피세포의 분열을 촉진시키는 것으로 보인다<sup>13)</sup>.

그러나 대장암과 섬유소 섭취량과의 관계에 대한 연구에서와 마찬가지로 지방섭취와 대장암 발생간에도 일관된 결과가 관찰된 것은 아니며 그 이유로는 지방의 종류에 따른 영향, 총 칼로리 섭취량에 대한 보정 여부, 연구대상 인구 집단 내에서 식습관 확립성 등을 들 수 있다. 실제로 몇몇 역학연구에 의하면 포화지방 및 동물성지방 섭취량은 odd ratio 1.5에서 2.6 범위에서 대장암의 발생 위험을 증가시키는 것으로 나타났으나 이와 대조적으로 불포화지방산과 오메가-3 지방산의 섭취량은 대장암의 발생율과 음의 상관성을 지니는 것으로 보고된 바 있다<sup>2,14)</sup>.

### 3) 칼슘

많은 수의 동물실험에서 칼슘은 대장암을 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되었으며 그 대표적인 기전을 살펴보면 담즙산 결합효과 이외에 tyrosin kinase의 활성 억제 등을 통한 세포분열 억제, 세포재분화 촉진 등이 있다<sup>15)</sup>. 역학조사 결과들은 아직 뚜렷한 칼슘의 대장암생성 억제효능을 입증하지 못하였으나 24개의 case-control 및 cohort 연구를 종합하여 분석한 Bergsma-Kadijk 등<sup>16)</sup>의 보고에 의하면 칼슘섭취 따른 relative risk가 평균 0.89 (0.79~1.01)인 것으로 나타났다. 한편 산재성 대장선종(sporadic colon adenoma) 환자를 대상으로 칼슘을 보충한 최근의 연구결과 대장상피 세포의 분열속도가 칼슘에 의해 억제되는 것으로 나타났다<sup>17)</sup>.

### 4) 항산화비타민

채소나 과일 중에는 비타민 C와 베타카로틴 등의 항산화 비타민이 다량 존재하며 이들에 의한 반응성 산소종의 제거 역시 세포의 돌연변이 및 기타 암화과정 중 다양한 단계에 관여하는 것으로 보인다. 앞에서 언급하였듯이 정상 세포의 암세포로 전환되기 위해서는 많은 경우에 정상세포내의 proto-oncogene이 oncogene으로 변환되고 tumor suppressor gene이 손상된 것을 볼 수 있다<sup>18,19)</sup>. 그 원인으로 산화스트레스를 들 수 있는데 체 내에서 형성된 반응성산소종 및 반응성질소종 들은 ① DNA의 염기 또는 디옥시리보오즈 손상을 일으킴으로써 유전자 변이 (mutation, deletion, strand break)를 초래하고 ② DNA 복구시스템을 저해하며 ③ 세포의 성장, 분화, 자살에 관여하는 각종 세포신호전달체계의 이상을 초래하여 암화과정에 직접적으로 관여하게 된다.

한편 최근의 연구에 의하면 위, 간, 췌장 등에서의 만성염증이 지속되는 경우 암의 발생율이 높아지며 이는 염증과정 중에 발생하는 반응성산소종 이나 반응성질소종에 의한 DNA damage와 연관이 되는 것으로 보인다<sup>20)</sup>.

많은 수의 연구에서 베타카로틴, 비타민 C, 비타민 E 등의 섭취는 암의 발생율과 역의 관련성을 지니는 것으로 나타났다으며 최근에는 플라보노이드 등의 비영양화합물의 항산화성과 항암효능에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 그러나 흡연으로부터 유래한 산화물로 인해 폐암 발생확률이 높은 18,000여명의 흡연자를 대상으로 베타카로틴을 장기간 투여한 임상실험 결과 암 예방 효과가 없는 것으로 밝혀졌고 베타카로틴, 비타민 E 및 비타민 C의 투여가 유의한 대장종양발생 예방효과가 없는 것으로 나타나 이들 항산화비타민이 암 발생과정에 미치는 영향에 관해 명확한 결론을 내리기는 아직 어렵다<sup>21)</sup>.

### 5) Phytochemicals(생리활성물질)

현재까지 이루어진 역학조사 결과 대장암의 발생율과 가장 뚜렷한 음의 관련성을 보인 것이 채소와 과일의 섭취량이다. 채소와 과일은 섬유소의 함량이 높을 뿐 아니라 다양한 종류의 생리활성물질을 함유하고 있다. 최근 기능성식품 개발의 활성화와 함께 생리활성물질들의 암 예방효과에 관한 방대한 연구가 이루어지고 있으나 암화과정의 복잡성과 이들 물질의 다양성, 뿐만 아니라 작용기전의 다양성으로 인해 아직 그 연구는 초기단계에 있다고 볼 수 있다. 지금까지 암화과정을 저해하는 것으로 알려진 생리활성물질의 대표적인 예로는 십자화과 식물에 함유된 indoles와 isothiocyanates, 채소와 citrus 과일에 함유된 coumarins, 대부분의 채소와 과일에 함유되어 있는 polyphenols, 대두에 존재하는 isoflavones, saponins, inositol hexaphosphate 와 양파 및 마늘에 존재하는 allium 화합물 등 다양한 종류의 화합물을 들 수 있다. 이들은 Fig. 4에서 나타난 것처럼 발암전구물질의 활성화 억제 및 무독화 촉진, 발암물질과 DNA 결합 억제, 반응성친전자체 결합, arachidonic acid 대사 저해 등의 과정에 작용하여 암 발생을 억제하는 것으로 보인다.

대장암의 발생과 관련하여 예방효능이 알려진 대표적인 화합물로는 curcumin과 diallyl sulfide가 있다. Curcumin은 tumeric 식물에 존재하는 색소의 일종으로 항산화력을 소유하고 있다. 동물실험에 의하면 식이를 통해 curcumin을 0.2~0.4% 수준으로 보충한 결과 화학적 발암원으로 유도된 대장암 발생이 감소하는 것으로 관찰되었고 이 효과는 promotion 및 progression이 진행되고 있는 시기에 투여한 때에도 나타나 polyps 환자의 사용가능성도 제시된 바 있다<sup>22)</sup>. 그 기전과 관련하여 Xu 등<sup>23)</sup>은 curcumin이 세포분열 시 신호전달과 관련되는 효소의 활성화와 nuclear

factor- $\kappa$ B 활성화에 관여하는 것을 보고하였다. 한편 유기황화합물의 일종인 dially sulfide 역시 화학적 발암원으로 유도된 쥐의 대장암 발생을 억제하는 것이 보고된 바 있고 그 기전은 phase II 대사효소의 활성 증가에 의한 것으로 보인다<sup>24)</sup>.

한편 다양한 종류의 폴리페놀화합물 역시 항암효과를 소유하는 것으로 보고되었다<sup>25-27)</sup>. 폴리페놀은 DNA의 산화손상을 방지하고 발암원을 무독화시키며 변이유전자 발현을 억제하는 등의 여러 기전을 통해 암화과정에 관여하는 것으로 보인다. 본 연구실에는 최근 폴리페놀 화합물인 플라보놀의 일종으로 식품을 통해 섭취하는 폴리페놀 중 양적으로 가장 중요하고 과일이나 채소 등에 주로 존재하는 quercetin의 항암활성을 시험하였다. Quercetin 등의 플라보놀은 당이 결합한 배당체 형태로 식품 중에 존재하며 회장 이하 장에서 존재하는 박테리아에 의해 당이 분리된 후 흡수되는 것으로 알려져 있다.

식이의 0.2% 및 2% 수준으로 quercetin을 섭취시킨 후 발암원에 의하여 유도된 DNA 산화손상정도를 측정한 결과 0.2% 수준의 quercetin은 간의 DNA 산화손상을 유의하게 억제하였으나 대장에서는 유의차가 나타나지 않았다 (Table 2, 3). 특히 2% 수준의 quercetin 섭취는 오히려 산화스트레스를 가중시키는 것으로 보여 항산화물질의 사용수준과 그 생리적 효능과 관련한 보다 주의 깊은 해석이 요구될 것으로 생각된다. 한편 발암원을 주사한 12주 후 대장암의 암화표지자인 ACF(aberrant crypt foci)를 측정한 결과 quercetin 섭취가 ACF 생성율에는 유의한 영향을 주지 않는 것으로 나타났고 (Table 4) 이것은 발암원으로 사용한 DMH에 의한 대장세포변이에는 많은 양의 반응성 산소종이 관여하지 않는 것에 그 일부 원인이 기인한 것으로 보인다. 지금까지 보고된 quercetin에 의한 대장암 생성 억제 실험 결과는 매우 다양하게 나타나고 있고<sup>28-30)</sup> 이는 발암원의 종류, quercetin의 투여량, 실험모델 등에 의한 영향일 것으로 사료되므로 이들 변인을 고려한 보다 구체적인 실험이 수행되어야 할 것으로 보인다.

**Table 2. Effect of quercetin on DMH-induced liver 8-OHG(8-hydroxyguanine) formation in rats**

Group	8-OHG(fmol/ug DNA)
Control	263.8 ± 100.5 <sup>a</sup>
2% quercetin	470.8 ± 432.1 <sup>ab</sup>
DMH	727.5 ± 767.3 <sup>b</sup>
DMH + 2% quercetin	290.3 ± 172.9 <sup>a</sup>
DMH + 0.2% quercetin	327.0 ± 282.3 <sup>b</sup>

Means with different letters(a, b) are significantly different from each other at  $p < 0.05$  as determined by Duncan's multiple range test

**Table 3. Effect of quercetin on DMH-induced colon 8-OHG(8-hydroxyguanine) formation in rats**

Group	8-OHG(fmol/ug DNA)
Control	1187.2 ± 654.3
2% quercetin	1716.1 ± 540.0
DMH	1175.5 ± 589.4
DMH + 2% quercetin	1947.0 ± 1489.2
DMH + 0.2% quercetin	1010.9 ± 421.8

Table 4. Effect of quercetin on DMH-induced colonic ACF formation rats

Group	ACF <sup>1)</sup> /colon	AC <sup>2)</sup> /colon	AC/ACF
Control	0	0	0
2% quercetin	0	0	0
DMH	158.1 ± 36.2	462.3 ± 106.9	2.9 ± 0.2
DMH + 2% quercetin	147.5 ± 20.7	398.5 ± 100.6	2.7 ± 0.5
DMH + 0.2% quercetin	141.6 ± 21.9	412.5 ± 58.6	3.0 ± 0.4

<sup>1)</sup>ACF: Aberrant Crypt Foci

<sup>2)</sup>AC: Aberrant Crypt

## 5. 대장암 예방과 사포닌

### 1) 사포닌이란

사포닌은 일종의 배당체로 steroid 또는 triterpenoid ring에 당이 1개 또는 그 이상 결합한 구조를 가지고 있고 이러한 화학구조상의 특징으로 인해 기름과 물을 섞는 유화제의 역할을 한다. 지금까지 약 500여 종의 식물이 사포닌을 함유하고 있는 것으로 밝혀졌으며 식물에 따라 사포닌의 종류, 즉 화학구조에는 차이가 있다<sup>31)</sup>. 특히 결합된 당의 종류 및 수, steroid ring에 존재하는 기능기의 차이에 따라 사포닌의 hydrophobicity, polarity 및 acidity가 결정되며 이것이 사포닌의 생물학적 활성과 밀접한 관련을 갖는 것으로 보인다. 사포닌의 생리활성 중에는 영양소 이용율의 감소, 효소활성의 감소, 세포막 파괴 작용 등이 있어 사포닌은 항영양물질로 많이 알려져 왔다. 그러나 최근 사포닌이 소유한 혈 중 콜레스테롤 감소효과<sup>32)</sup>, 항암효과<sup>33)</sup>, 면역증진효과<sup>34)</sup> 등이 밝혀지면서 각 종 만성퇴행성 질환을 예방할 수 있는 물질로써 사포닌에 대한 새로운 연구가 진행되고 있다.

### 2) 사포닌의 항암효능

사포닌의 급원에는 다양한 식용성 및 비식용성 식물이 포함된다. 지금까지 사포닌의 항암효능과 관련된 연구는 주로 비식용성식물로부터 추출된 사포닌을 이용하여 이루어져왔다. 예로부터 약재로 사용되어 온 식물들, 예를 들면 *Agave cantala*, *Asparagus curillus* 및 인삼에서 추출된 사포닌이 자궁내막암세포, 혈액암세포 및 피부암 세포에 독성 또는 성장저해작용을 나타내었으며<sup>35-37)</sup> 특히 인삼사포닌의 경우는 세포분화를 유도하였다<sup>38,39)</sup>. 또한 *Maxim frequent* 속 식물에서 추출한 사포닌은 암조직을 이식한 동물의 체 내 암조직성장을 효과적으로 저해하는 것이 밝혀졌다<sup>40)</sup>. 이러한 직접적인 암세포 성장억제능 이외에도 사포닌은 면역반응을 증가시키며<sup>41)</sup> 담즙산과 결합하여<sup>42)</sup> 간접적으로 암의 발생을 억제하는 것으로 보인다.

### 3) 대두 사포닌의 항암효능

식품 중 사포닌의 가장 중요한 급원은 두류, 특히 대두(soybeans) 이다. 역학조사에 의하면 대두의 섭취량이 많은 지역에서는 유방암, 대장암 및 전립선암 등의 발생율이 낮은 것으로 나타났다<sup>43)</sup>. 대두 사포닌을 추출하여 실험한 결과 2% 사포닌 식이는 화학적으로 암을 유발시킨 쥐의 대장암 생성을 억제하였고<sup>44)</sup> in vitro에서 대장암세포의 성장을 저해하는 것으로 나타났다<sup>45)</sup>. 그와 관련된 기전 연구가 본 연구실에서 행해지고 있으며 연구결과는 다음과 같다.

#### ① DNA-adduct 형성 억제

발암원 또는 반응성산소종은 DNA와 adduct를 형성하여 암화과정에 관여하게 된다. 이 단계에서는 발암원이나 발암원의 전구물질이 세포 안으로 이동하게 되며 사포닌이 소유한 세포막과 사포닌의 결합은 이 과정에 영향을 주게 되는 것으로 보인다. 그러나 사포닌은 그 종류별로 세포막 결합 양상에 차이가 있는 것으로 나타났다. 예를 들어 quallaja bark에서 추출한 사포닌은 콜레스테롤 결합능이 뛰어났고 대두 사포닌은 스펅고미엘린과의 결합능이 높았다<sup>46)</sup>. 이들 사포닌을 적혈구와 배양했을 시에는 대두 사포닌은 quallaja bark 사포닌에 비해 약한 용혈작용을 나타내고

이는 세포막지질과의 결합능 차이에 의한 것으로 보인다. 이러한 사포닌-세포막의 결합은 세포막의 투과성과 유동성을 변화시키는 것으로 보이며 이는 발암원의 이동에도 영향을 줄 것으로 보인다.

대두 사포닌이 aflatoxin B<sub>1</sub>-DNA adduct 형성에 어떤 영향을 미치는 지를 살펴보기 위해 인체 대장상피세포와 대두 사포닌을 배양한 후 aflatoxin B<sub>1</sub>을 투여한 결과 30 ug/ml의 농도로 사포닌을 처리한 군에서 DNA-aflatoxin B<sub>1</sub> adduct 형성이 50.71% 감소하였다(Table 5)<sup>47)</sup>. 이러한 DNA-adduct감소는 세포막의 투과성 변화에 의한 영향 또는 aflatoxin B<sub>1</sub>의 대사중간산물로 DNA와 직접 결합하는 것으로 알려진 epoxide와 사포닌의 결합에 의한 것으로 사료된다. 실제로 잘 알려진 항산화제들의 DNA-adduct 형성 저해효과를 사포닌의 효과와 비교해 본 결과 30 ug/ml의 농도에서 L-ascorbic acid는 38.4%의 억제율을 보였고 BHT는 32.6%의 억제율을 나타내어 대두 사포닌에 비해서는 그 효과가 적었다.<sup>47)</sup>

### ② 항산화작용

세포의 산화손상은 암화과정과 직접적으로 연관되며 체 내에는 반응성산소종을 포함한 다양한 산화스트레스로부터 세포를 보호하기 위해서 효소적 방어체계와 비효소적 방어체계가 존재한다. 효소적 방어체계로는 superoxide dismutase (SOD), catalase와 glutathione peroxidase (GPx)가 존재하며 glutathione은 세포원형질에 존재하는 주요 전자전달체로 GPx와 GST의 보조인자로 중요하다. 한편 식이 중에 존재하는 ascorbic acid, tocopherol, carotenoids 및 기타 항산화물질 들을 비효소적 방어물질로 중요한 역할을 하고 있다.

**Table 5. Effect of soybean saponins on [<sup>3</sup>H]AFB<sub>1</sub>-DNA adduct formation in CCD-18Co normal human colon cells**

Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	AFB <sub>1</sub> -DNA adduct (fmol/ $\mu\text{g}$ DNA)	Inhibition (%)
0	0.94 $\pm$ 0.15	0 <sup>c</sup>
10	0.72 $\pm$ 0.05	23.76 $\pm$ 4.92 <sup>b</sup>
30	0.46 $\pm$ 0.03	50.71 $\pm$ 3.53 <sup>a</sup>
50	0.48 $\pm$ 0.03	49.47 $\pm$ 3.51 <sup>a</sup>

최근 대두 사포닌 역시 항산화능을 소유한 것으로 밝혀진 바 있다. 즉 대두 사포닌의 aglycon에 결합한 DDMP (2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4-H-pyran-4-one)은 주요 대두 사포닌에 모두 함유되어 있으며 사포닌에 항산화능을 부여하는 것으로 보인다. 대두 사포닌 1ppm은 17.1 unit의 SOD와 동등한 superoxide quenching ability를 나타낸다고 하였으며<sup>48)</sup> 본 연구실에서 실험한 결과에 의하면 대두 사포닌은 지질과산화물을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다 (Fig. 3)<sup>49)</sup>. 즉, 주요 항산화물질과 대두 사포닌의 지질과산화물 형성 억제효과와 항산화효소 활성 억제효과를 살펴보기 위해 간세포(HepG2)를 산화개시물질인 tert-butyl hydroperoxide와 45분간 배양한 후 대두 사포닌, L-ascorbic acid, alpha-tocopherol을 각각 첨가하여 48시간 배양하였다. 그 결과 대두 사포닌은 매우 효과적으로 지질과산화물의 생성을 억제하였으며 세 군 모두에서 항산화효소의 활성이 증가된 것으로 관찰되었다.

### ③ PKC 조절에 의한 세포성장 억제

다수의 growth factor와 hormone 들은 세포성장을 조절하고 이 과정에는 세포막 수용체와의 결합과 이에 따른 신호전달이 선행되어야 한다. 따라서 대두 사포닌에 의한 세포막의 물리적 변화는 이러한 세포성장에 영향을 미칠 것으로 보인다. 지금까지 알려진 세포성장을 조절하는 신호전달을 위해서는 다음의 세 가지가 주를 이루어 선행되는 것으로 보인다. 즉, (a) tyrosine kinase과 수용체의 결합 (b) guanine nucleotide-binding protein과 수용체의 결합으로 인한 adenylate cyclase 조절과 이를 통한 phosphoinositide hydrolysis 및 PKC를 포함한 protein kinase의 활성화 (c) 세포 내의 호르몬 수용체와 호르몬의 결합과 이에 수반되는 유전자 발현의 조절이다. 이러한 과정들은 암세



포의 성장에도 밀접한 관련을 가지는 것으로 생각된다.

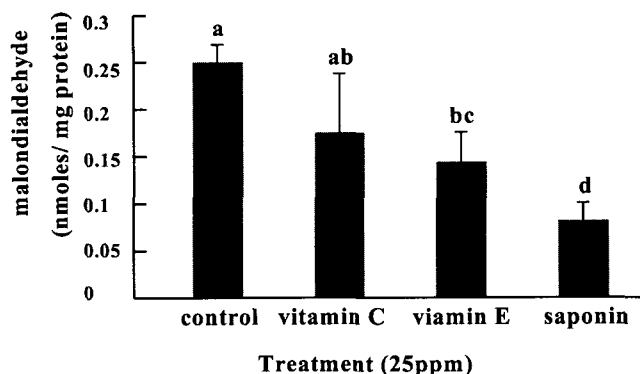
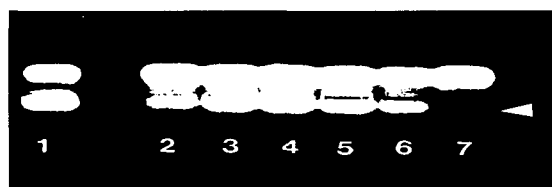


Fig. 3. Effect of saponin, vitamin C, vitamin E on lipid peroxide values of t-BHP treated hepatocytes.

PKC는 실험모델에서 tumor promotor로 많이 쓰이는 TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)에 의해 활성화되어 세포 내에서 세포막 쪽으로 이동한 후 세포분열 등에 관여하는 것으로 보이고 다양한 종류의 종양성장 촉진제의 target으로 알려져 있다. 특히 PKC는 대장상피에서의 세포분열, 세포분화 및 세포자살 등과 밀접한 관련을 가지는 것으로 생각된다. 앞서 언급하였듯이 대두 사포닌은 세포막 활성을 소유한 화합물이고 따라서 세포막에서 이루어지는 신호전달관련 반응들에 영향을 줄 것으로 보인다.

이를 시험하기 위해서 인체 대장암 세포(HT-29)를 대두 사포닌과 배양한 후 PKC 활성을 살펴보았다(Fig. 4)<sup>50)</sup>. PKC 활성은 기질인산화에 의해 측정하였으며 인산화된 기질이 음전하를 띠어 전기영동 시 그렇지 않은 기질과 이동거리가 달라지는 원리를 이용하였다. 그 결과 대두 사포닌을 처리한 후 세포에 TPA처리를 한 경우 사포닌 농도 의존적으로 PKC 활성이 저하되는 것을 관찰할 수 있었다. 이 결과는 사포닌과 세포막의 상호작용이 PKC 활성화에도 관여할 수 있음을 제시한다. 그러나 그 이외의 기전 (예: PKC 합성에 관여하는 유전자의 발현변화 등)에 의한 가능성도 배제할 수는 없으며 이와 관련한 연구가 더 필요할 것으로 보인다.



1: Positive	4: +TPA, +150ppm
2: -TPA, -saponin	5: +TPA, +300ppm
3: +TPA, -saponin	6: +TPA, +600ppm
	7: Negative

HT 29 cells were incubated for 72 hours with various concentrations of saponins, followed by TPA(100ng/ml) stimulation. The arrow indicates phosphorylated band by PKC. Reduced activation of PKC was observed.

Fig. 4. Effects of soybeans on PKC activity induced by TPA in HT-29 colon adenocarcinoma cells.

#### ④ 세포분화 촉진

일반적으로 암세포는 정상세포와 비교해 분화가 미숙하며 세포의 분화정도는 암의 진행억제를 보기 위한 표지자로

많이 사용되고 있다. 많은 종양성장 촉진제들이 세포의 분화를 억제하는 것으로 증명된 바 있는 반면 레티노이드 등의 항암제는 세포 분화의 정상화를 통하여 그 효과를 나타내는 것으로 보인다<sup>51)</sup>. 세포분화가 진행되게 되면 세포분화에 관련하는 다양한 물질들이 생산되게 되며 특히 대장상피세포의 분화표지자로 대표적인 것이 carcinoembryonic antigen(CEA) 이다<sup>52)</sup>. 이 이외에도 미분화된 상피세포인 경우에는 alkaline phosphatase(AP), sucrase-isomaltase 및 dipeptidyl peptidase 등의 효소활성이 저하되게 된다<sup>53,54)</sup>.

대두 사포닌이 이러한 세포분화에 미치는 효과를 HT-29 세포를 이용해 실험한 결과 사포닌은 CEA 분비를 촉진하는 것으로 나타났고 AP의 활성도 유의하게 증가시킴으로써 세포분화를 유도하는 것으로 보인다(Fig. 5, 6)<sup>50)</sup>. HT-29 세포의 분화를 촉진시키는 것으로 알려진 물질로는 이 이외에도 sodium selenite, butyrate, retinoic acid, 비타민 D<sub>3</sub> 등이 있으며 특히 비타민 D<sub>3</sub>는 칼슘의 이동에 관여하여 세포 내 칼슘농도를 높임으로써 세포분화에 관여하는 것으로 밝혀졌다. 대두 사포닌 역시 세포막과의 상호작용을 통해 칼슘이동에 영향을 미침으로써 분화를 촉진시킬 수 있을 것으로 보이나 그 정확한 기전은 알려진 바 없다.

**⑤ 암세포에 대한 선택적 성장억제**

많은 종류의 항암제들이 가진 가장 큰 문제는 암세포와 정상세포의 구분없이 작용을 함으로써 정상세포의 사멸을 유도한다는 점이다. 그러나 일부 생리활성물질들은 암세포에 대해 선택적으로 작용하는 것으로 밝혀졌으며 대두 사포닌 역시 그 중 한가지 인 것으로 보인다. 본 연구실에서 대장암세포와 건강한 대장상피세포에 대두 사포닌을 처리하여 그 성장을 비교해 본 결과 대장암 세포의 경우에만 그 성장이 억제되는 것으로 밝혀졌다<sup>45)</sup>.

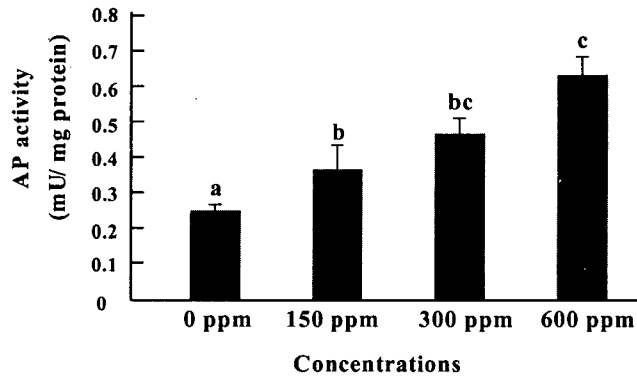


Fig. 5. Effects of soybeans on alkaline phosphatase activity in HT-29 colon adenocarcinoma cells.

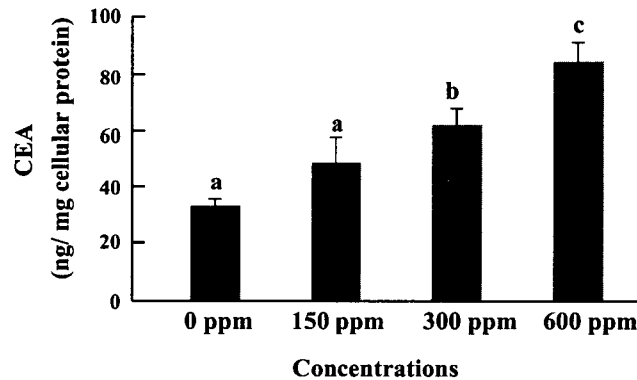


Fig. 6. Effects of soybeans on CEA production in HT-29 colon adenocarcinoma cells.

### ⑥ COX-2 조절에 의한 세포성장 억제

최근 대장암의 발생은 promotor 단계에서 대장상피세포의 염증반응과 관련되는 것으로 밝혀진 바 있다. 염증반응을 억제하는 anti-inflammatory 약제를 투여한 실험 결과를 보면 이들 약제는 염증반응 시에 활성화되는 cyclooxygenase-2의 활성을 억제하고 이는 결과적으로 세포성장 억제, apoptosis 유도 및 세포분화 촉진 등과 관련되는 것으로 보인다<sup>55)</sup>. Promotion 단계에서 대두 사포닌의 대장암예방 효능과 관련된 구체적인 기전을 규명하는 연구의 1 단계로 본 연구실에서는 대장암 세포와 대두 사포닌을 배양한 후 COX-2 생성량 변화를 살펴보았다. 그 결과 사포닌을 처리한 군에서 COX-2의 생성량이 현저하게 저하되는 것이 관찰되었고 (Fig. 7) 따라서 대두 사포닌에 의한 세포 성장억제 및 분화가 일어나는 일부 기전은 이에 근거하는 것으로 보인다.

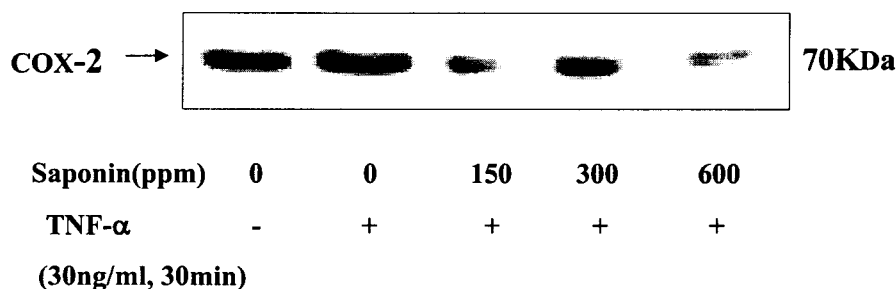


Fig. 7. TNF- $\alpha$  stimulated COX-2 expressions in HT-29 cells treated with or without saponins.

## 6. 결론

지금까지의 연구결과들에 기초하면 대장암의 발생율과 가장 뚜렷한 음의 관련성을 보이는 것은 과일과 채소의 섭취량이다. 과일과 채소 중에는 암의 발생과정에 관여하는 다양한 물질들이 존재하며 이들은 세포의 DNA 손상억제 뿐 아니라 세포성장, 분화 및 세포자살 유도 등의 매우 다양한 기전을 통해 항암효능을 나타내는 것으로 보인다.

한편 전통적으로 대두의 섭취량이 많은 우리나라나 일본 등에서도 대장암 및 유방암 등 식습관 관련 암의 발생율이 낮고 이에 기초하여 사포닌의 항암효능에 대한 연구가 수행되었다. 그 결과 대두사포닌 역시 다단계에서 암화과정을 억제할 수 있는 것으로 밝혀지고 있다.

그러나 항암기전규명 및 이들 성분을 이용한 기능성식품의 개발을 활성화시키기 위해서는 다양한 phytochemicals 들의 대사, 구조와 활성의 상관성 및 이를 기초로 한 인체실험 등이 좀 더 활발히 이루어져야 할 것으로 생각된다.

본 연구의 일부는 과학재단 2001 특정기초연구사업연구비(R01-2001-00231)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## Literature Cited

- 1) Maugh TH (1979) Cancer and environment: Higginson speaks out. *Science* 205: 1363-1366
- 2) American Institute for Cancer Research (1997) Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global prospective. Washington DC, American Institute for Cancer Research, pp.216-251
- 3) Korea National Statistical Office (2001) Mortality Statistics.
- 4) National Cancer Center (2001) Annual Reports on Korea Central Cancer Registry Project.
- 5) Kolonel LN, Hinds MW, Hankin JH (1980) Cancer patterns among migrant and native-born Japanese in Hawaii in relation to smoking, drinking, and dietary habits. In: Gelboin HV et al. (eds.) Genetic and Environmental Factors in Experimental and Human Cancer. Japan Science Society Press, Tokyo, pp.327-340
- 6) Layton DW, Bogen KT, Knize MG, Hatch FT, Johnson MJ, Felton JS (1995) Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research. *Carcinogenesis* 16: 39-52.
- 7) Stanley LA (1995) Molecular aspects of chemical carcinogenesis: the role of oncogenes and tumor suppressor genes. *Toxicol* 96: 173-194
- 8) Tomatis L, Aitio A, Day NE, Heseltine E, Kaldor J, Miller AB, Parkins DM, Riboli E (1990) Cancer: causes, occurrence and control. IARC Scientific Publishing 100, Lyon: International Agency for Research on Cancer
- 9) Hill MJ, Morson BC, Bussey HJR (1978) Aetiology of adenoma-carcinoma sequence in large bowel. *Lancet* I: 245-247
- 10) Bird RP (1987) Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen; preliminary findings. *Cancer Lett* 37: 147-151
- 11) Lynch HT, Lynch JF, Cristofaro G (1989) Genetic epidemiology of colon cancer. In: Lynch HT, Hirayama T (eds.) Genetic epidemiology of cancer. CRC Press, Boca Raton, pp.251-277
- 12) Howe GR, Benito E, Castelletto R et al. (1992) Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *J Natl Cancer Inst* 84: 1887-1896
- 13) Reddy BS (2000) Novel approaches to the prevention of colon cancer by nutritional manipulation and chemoprevention. *Cancer Epi Biomarkers Prev* 9: 239-247
- 14) Caygill CP, Charlett A, Hill MJ (1996) Fat, fish, fish oil and cancer. *Br J Cancer* 74: 159-164, 1996
- 15) Newmark HL, Wargovich MJ, Bruce WR (1984) Colon cancer, dietary fat, phosphate, and calcium: a hypothesis *JNCI* 72: 1323-1325
- 16) Bergsma-Kadijk JA, van't Veer P, Kampman E, Bureman J (1996) Calcium does not protect against colorectal neoplasia. *Epidemiol* 7: 590-597
- 17) Wargovich MJ, Isbell G, Shabot M, Winn R, Lanza F, Hochman L, Larson E, Lynch P, Rouben L, Levin B (1992) Calcium supplementation decreases rectal epithelial cell proliferation in subjects with sporadic adenoma. *Gastroenterol* 103: 92-97
- 18) Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC (2001) Tumor suppressor genes: at the crossroads of molecular carcinogenesis, molecular epidemiology and human risk assessment. *Lung Cancer* 34(Suppl 2): S7-S15
- 19) Bertram JS (2000) The molecular biology of cancer. *Mol Aspects Med* 21: 167-223
- 20) Fitzpatrick FA (2001) Inflammation, carcinogenesis and cancer. *Int Immunopharmacol* 1: 1651-67
- 21) Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen JHJ, Barnhart S, Cherniack MG, Brodtkin CA, Hammar S (1996) Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *JNCI* 88: 1550-1559
- 22) Kawamori T, Lubet R, Steel VE, Kelloff GJ, Kaskey RB, Rao CV, Reddy BS (1999) Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring antiinflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Res* 59: 597-601

- 23) Xu YX, Pindolia KR, Janakiraman, N, Chapman N, Gautam SC (1997) Curcumin inhibits IL-1 $\alpha$  and TNF- $\alpha$  induction of AP-1 and NF- $\kappa$ B DNA-binding activity in bone marrow stromal cells. *Hematopathol Mol Hematol* 11: 49-62
- 24) Reddy BS, Rao CV, Revenson A, Kelloff G (1997) Chemoprevention of colon carcinogenesis by organosulfur compounds. *Cancer Res* 53: 3493-3498
- 25) Gensler HL, Timmermann BN, Valcic S, Wachter GA, Dorr R, Dvorakova K, Alberts DS. Prevention of photocarcinogenesis by topical administration of pure epigallocatechin gallate isolated from green tea. *Nutr Cancer* 26: 325-335
- 26) Constantinou A, Stoner GD, Mehta R, et al. (1995) The dietary anticancer agent ellagic acid is a potent inhibitor of DNA topoisomerases in vitro. *Nutr Cancer* 23: 121-130
- 27) Noroozi M, Angerson WJ, Lean MEJ (1998) Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am J Clin Nutr* 67: 1210-1218
- 28) Dexchner E, Ruperto J, Wong G, Newmark HL (1991) Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethane-induced colonic neoplasma. *Carcinogenesis* 12: 1193-1196
- 29) Mahmoud NN, Carothers AM, Grunberger D, Bilinski R, Churchill MR, Martucci C, Newman HL, Bertagonolli MM (2000) Plant phenolic decrease intestinal tumors in an animal model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis* 21: 921-927
- 30) Pereira MA, Grubbs CJ, Barnes LH, Li H, Olso GR, Eto I, Juliana M, Whitaker LM, Kelloff GJ, Steel VE, Lubber RA (1996) Effects of the phytochemicals, curcumin and quercetin, upon azoxymethane-induced colon cancer and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary cancer in rats. *Carcinogenesis* 17: 1305-1311
- 31) Price KR, Johnson IT, Fenwick GR (1987) The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 26: 27-135
- 32) Sidhu GS and Oakenfull DG (1986) A mechanism for the hypocholesterolemic activity of saponins. *Br J Nutr* 55: 643-649
- 33) Tokuda H, Konoshima T, Kozuka M, Kimura T (1991) Inhibition of 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate-promoted mouse skin papilloma by saponins. *Oncol* 48: 77-80
- 34) Wu R-T, Chiang H-C, Fu W-C, Chein K-Y, Chung Y-M, Horng L-Y (1990) Formosanin-C, an immunomodulator with antitumor activity. *Int J Immunopharmacol* 12: 777-786
- 35) Sati OT, Pant G, Nohara T, Sato A (1985) Cytotoxic Saponins from Asparagus and Agave. *Pharmazie* 40: H 8
- 36) Ravikumar PR, Hammesfahr P, Sih CJ (1979) Cytotoxic Saponins from the Chinese Herbal Drug Yunan Bai Yao. *J Pharm Sci* 68: 900-903
- 37) Konoshima T, Lee K-L (1986) Antitumor Agents. 82. Cytotoxic Saponins from *Aesculus hippocastanum*. *J Nat Prod* 49: 650-656
- 38) Ota T, Fujikawa-yamamoto K, Zong Z-P, Yamazaki M, Odashima S, Kitagawa I, Abe H, Arichi S (1987) Plant-glycoside modulation of cell surface related to control of differentiation in culture B16 melanoma cells. *Cancer Res* 47: 3863-3867
- 39) Abe H, Ohya N, Yamamoto KF, Shibuya T, Arichi S, Odashima S (1987) Effect of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on growth and melanogenesis in cultured B16 melanoma cells. *Eur J Cancer Clin Oncol* 23: 1549-1555
- 40) Yu L, Ma R, Wang Y, Nishino H, Takayasu J, He W, Chang M, Zhen J, Liu W, Fan S (1992) Potent anti-tumorigenic effect of tubeimoside I isolated from the bulb of *Bolbostemma paniculatum (Maxim) Franquet*. *Int J Cancer* 50: 635-638
- 41) Chavali SR, Campbell JB (1987) Adjuvant Effects of orally administered saponins in humoral and cellular immune responses in mice. *Can J Pharmacol* 174: 347-359
- 42) Oakenfull DG, Sidhu GS (1983) A physicochemical explanation for the effects of dietary saponins in cholesterol and bile salt metabolism. *Nutr Rep Int* 27: 1253-1259
- 43) Messina M, Barnes S (1991) The role of soy products in reducing risk of cancer. *J Natl Cancer Inst* 83: 541-546
- 44) Koratkar R, Rao AV (1997) Effect of soya bean saponins on azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the colon of

- the mice. *Nutr Cancer* 27: 206-209
- 45) Sung M-K, Kendall CWC, Koo MM, Rao AV (1995a) Effect of soybean saponins and gypsophilla saponin on growth and viability of colon carcinoma cells in culture. *Nutr Cancer* 23: 259-270
  - 46) Sung M-K, Rao AV (1995b) Mechanistic studies on biological effects of soybean saponins on cell membrane. *Kor J Nutr* 28: 1022-1030
  - 47) Jeon H-S, Sung M-K (1999) Effect of soybean saponins on aflatoxin B<sub>1</sub>-induced mutagenicity. *Kor J Nutr*, 32: 110-117
  - 48) Yoshiki Y, Okubo K (1995) Active oxygen scavenging activity of DDMP(2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one) saponin in soybean seed. *Biosci Biotech Biochem* 59: 1556-1557
  - 49) Jeon, H-S (1998) Effect of soybean saponins and major antioxidants on aflatoxin B<sub>1</sub>-induced mutagenicity and DNA-adduct formation. Master's thesis, Sookmyung Women's University.
  - 50) Oh Y-J, Sung M-K (2001) Soybean saponins inhibit cell proliferation by suppressing PKC activation and induce differentiation of HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Nutr Cancer* 39: 132-138
  - 51) Tsao D, Morita A, Bella A Jr., Luu P, Kim YS (1982) Differential effects of sodium butyrate, dimethyl sulfoxide, and retinoid acid on membrane-associated antigen, enzymes, and glycoproteins of human rectal adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 42: 1052-1058
  - 52) Reynolds S, Rajagopal S, Chakrabarty S (1988) Differentiation-inducing effect of retinoic acid, difluoromethylornithine, sodium butyrate and sodium suramin in human colon cancer cells. *Cancer Lett* 134: 53-60
  - 53) Aviram R, Deutsch A, Patya M, Nordenberg J, Mor C, Reiss R, Novogrodsky A (1988) A biochemical tissue markers of human colorectal carcinoma. *Dis Colon Rec* 31: 176-180
  - 54) Wiltz O, Ohara CJ, Steele GD Jr, Mercurio AM (1991) Expression of enzymatically active sucrase-isomaltase is a ubiquitous property of colon adenocarcinomas. *Gastroenterol* 100: 1266-1278
  - 55) Prescott SM, Fitzpatrick FA (2000) Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta*, M69-M78