

# 황금이 백서의 간 조직 글루타치온 에스-전이 효소 Yc1/2의 발현 효과

김영숙 · 김동현<sup>1</sup> · 최미정 · 김성민 · 박래길<sup>2</sup> · 권강범<sup>3</sup> · 류도곤<sup>3</sup> · 김복량\*

원광대학교 의과대학 생화학교실, 1: 한국과학기술연구원 생체대사 연구센터,  
2: 원광대학교 의과대학 미생물학교실, 3: 원광대학교 한의과대학 생리학교실

## Inductive Effect of Scutellariae radix on Glutathione S-Transferase Yc1/2 from Rat Liver

Young Sook Kim, Dong Hyun Kim<sup>1</sup>, Mi Jung Choi, Sung Min Kim, Rae Kil Park<sup>2</sup>, Kang Beom Kwon<sup>3</sup>, Do Gon Ryu<sup>3</sup>, Bok Ryang Kim\*

Department of Biochemistry, School of Medicine, Wonkwang University,  
1: Bioanalysis and Biotransformation Research Center, Korea Institute of Science and Technology,  
2: Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Wonkwang University,  
3: Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University,

The water extract of Scutellariae radix was treated to rat and the primary culture of hepatocytes, and the expressions of several glutathione S-transferase (GST) isozymes and the activity of GST Yc1/2 were investigated by Western blot and by the use of HPLC. The results were obtained as follows: The water extract of Scutellariae radix did not induce the expressions of cytosolic GST Ya and GST Yp in rat livers. But, the extract increased the expression of cytosolic GST Yc1/2 to 2-4 fold higher than control. The expression of GST Yc1/2 in the primary culture of rat hepatocytes was induced by the water extract of Scutellariae radix in a dose-dependent manner, reaching 21-fold over control with 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  treatment. The induction of the expression of GST Yc1/2 in rat livers increased the formation of AFB<sub>1</sub>-glutathione conjugate from AFB<sub>1</sub>-8,9-epoxide which was made in the metabolism of AFB<sub>1</sub>.

Key words : Scutellariae radix, glutathione S-transferase, GST Yc1/2, AFB<sub>1</sub>, chemoprevention

### 서 론

암 예방 물질이란 암의 생성 자체를 미연에 억제 또는 지연시키는 효과를 나타내는 화합물 또는 이를 함유한 제제인데, 야채, 과일, 약용 식물체에 존재하는 성분 등을 이용하여 발암 물질들에 의해 조장되는 암의 발생을 차단(chemoprevention)하려는 발암 억제제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 미국의 국립암 연구센터(National Cancer Institute)의 경우에도 그 동안 400여 종의 암 예방 후보물질에 대한 연구를 수행하여 60여건의 임상 시험을 실시하고 있는 중이다. 대표적인 예가 glutathione S-transferase (GST)의 발현을 유도하여 DNA를 손상시키는 암

발생 물질 (ultimate carcinogenic metabolite)을 분해하는 체내의 반응을 향진하여 암의 발생을 억제하는 효과이다. GST는 동물과 식물에 존재하면서 소수성물질의 친전자성 부위에 환원형 글루타치온을 접합시키는 효소군으로<sup>1)</sup>, 다이머(dimer)로 존재하며, 100여종이 규명되어 있다<sup>2)</sup>. 전 발암 물질(procarcinogen)인 아플라톡시(aflatoxin) B<sub>1</sub>(이하 'AFB<sub>1</sub>'라 한다), 벤조(a)피렌(benzo(a)pyrene), 7,12-디메틸벤조(a)안트라센들은 시토크롬(cytochrome) P450 효소들에 의해서 반응성이 매우 큰 에폭사이드 유도체, 즉 암 발생 물질로 전환되고, 이들은 DNA와 공유 어덕트(covalent adduct)를 형성하여 정상세포를 암세포로 전환<sup>3,4)</sup>시키는데, GST는 이 에폭사이드 유도체들이 DNA를 손상시키기 전에 에폭사이드 유도체에 글루타치온을 결합시켜 에폭사이드를 무독한 물질로 전환시키면서 동시에 친수성 물질로 전환시켜 체외 배설을 야기시킨다. 따라서, GST의 발현을 유도하는 것은 세

\* 교신저자 : 김복량, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 의과대학  
· E-mail : bokim@wonkwang.ac.kr · Tel : 063-850-6756  
· 접수 : 2003/09/15 · 수정 : 2003/10/21 · 채택 : 2003/11/12

포가 암을 야기하는 전발암 물질에 노출되더라도 정상세포가 암 세포로 전환되는 초기 과정을 차단할 수 있는 것이다. 이러한 기작에 의한 발암 억제제의 구체적인 예로는 숙성된 마늘 추출물, 에톡시퀸(Ethoxyquin), t-부틸 히드록시아니솔(*tert-butyl hydroxyanisole*; BHA), 올티프라즈(*oltipraz*), 페노바르비탈(*phenobarbital*) 등이 있다. 즉, 마늘 추출물은 래트의 간조직과 유방조직등에서 GST활성을 증가시켜 7,12-디메틸벤즈(a)안트라센에 의한 DNA손상을 억제하여 유방암의 발생을 막아준다는 보고가 있다<sup>5)</sup>. 또한, 에톡시퀸, t-부틸 히드록시아니솔, 올티프라즈<sup>6)</sup>, 및 페노바르비탈<sup>7)</sup> 등은 GST Yc를 비롯한 수종의 GST의 발현을 증가시키므로 AFB<sub>1</sub>을 위시한 여러 물질들의 독성작용을 효율적으로 제거한다고 보고되어 있다. 특히, 올티프라즈는 GST Yc2를 포함한 여러 종류의 GST의 발현을 3~4배 증가시키므로<sup>8)</sup>, 미국 Johns Hopkins 대학교의 Kensler 연구진은 음식을 통해 AFB<sub>1</sub>이 지속적으로 오염되어 간암 발생율이 높은 중국의 Qidong지방 사람들에게 올티프라즈를 투여하고 그 간암 예방 효과를 조사한 결과, GST Yc의 발현이 간암 발생을 효율적으로 감소시켜준다고 보고하였다<sup>9,11)</sup>.

이에 본 연구는 황금(*Scutellariae radix*; *Scutellaria baicalensis* Georgi)의 물 추출물이 GST Yc1/2의 발현을 촉진시켜 DNA의 손상을 억제하므로 암의 발생을 억제할 수 있다는 것을 발견하여 이를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

William's E 배지, 콜라게나아제는 Gibco(Grand Island, NY, USA)로부터, 그리고 AFB<sub>1</sub>은 Sigma(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. [<sup>3</sup>H]AFB<sub>1</sub>은 Moravak Biochemical, Inc.(Brea, CA, USA)로부터 구입하였으며, 항-GST Ya-항체, 항-GST Yc1/2-항체 및 항-GST Yp-항체는 Biotrin(Dublin, Ireland)로부터 구입하였다.

### 2. 황금 추출물 분리 및 백서에 투여

황금은 전북 익산소재 보화당 한약방에서 구입하여 한의사의 검정을 받았다. 건조한 황금 100g을 잘게 부순 후 충분한 양의 물을 붓고 54℃에서 3시간 혹은 100℃에서 90분동안 증탕을 하고 동결 건조하여 23g의 추출물을 얻었다. 생후 6주일이 된 Sprague-Dawley계 웅성 백서에 상기 황금 추출물을 4일간 구강으로 1g/kg/day씩 투여하였다.

### 3. 간조직의 시토졸(cytosol) 분리

백서에서 간조직을 분리 한 다음 100 mM KCl, 1.0 mM EDTA, 20 μM BHT가 포함된 차가운 100 mM Tris-HCl (pH 7.4) 완충용액을 4배 부피로 넣고 균질화시켰다. 그 다음, 균질화된 것을 9,000×g로 4℃에서 20분간 원심 분리한 후, 다시 상청액을 105,000×g로 4℃에서 1시간 동안 원심 분리한 상청액을 시토졸 용액으로 이용한다.

### 4. 간 조직과 1차 배양 간 세포에서 Western blot법에 의한 GST 발현 조사

간 조직과 1차 배양 간 세포에서 시토졸을 얻고, 16% SDS-폴리아크릴아마이드 겔에서 전기영동을 실시한 후, 니트로셀룰로오스 필터에 옮기고 3% BSA-Tris buffered saline (pH 7.5)에서 1시간 동안 비특이 결합(nonspecific binding)을 차단한다. 항-GST Ya-항체, 항-GST Yc1/2-항체 또는 항-GST Yp-항체(1/400에서 1/800 희석)용액을 15ml 첨가하고, 4℃에서 하루밤 동안 보관한 다음, Tri-buffered Tween Salt로 3회 세척한다. 그 다음, goat anti-mouse IgG-alkaline phosphatase conjugate를 1:1,000 배로 희석한 2차 항체와 1시간 동안 실온에서 배양시킨 후 3회 세척한다. 발색은 기질로서는 니트로블로 테르졸리움과 5-브로모-4-클로로-3-인돌일 포스페이트(5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)를 사용한다<sup>12)</sup>.

### 5. GST Yc1/2 활성의 측정 방법

반응 혼합물은 총 1 ml이며, 100 pmol의 백서나 사람의 간 마이크로솜(liver microsomes), 50mM의 인산칼슘 완충용액(pH 7.5), 2 mM의 글루타치온, 50 μM AFB<sub>1</sub>, 그리고 NADPH generating system등이 포함된다. GST 활성원으로는 마우스나 백서의 시토졸을 각각 첨가한다. 이 혼합물을 37℃에서 10분간 반응시키고, AFB<sub>1</sub> 대사물들은 Beckman사의 HPLC(Model 142)를 이용하여 분석한다. 컬럼은 Ultrasphere ODS C-18 reversed-phase column(Shiseido, 5 μm, 4.6×250mm)을 사용하고, 용출 용매는 20mM 암모늄 아세테이트(아세트산으로 pH를 4.0으로 조정)인 용매 A와 아세트 니트릴:메탄올:물을 4.5:4.5:1.0의 비율로 혼합된 용매 B를 사용한다. 용출속도는 1.0 ml/min인데, 용매 A와 용매 B를 9:1의 비율로 혼합한 용매로 컬럼을 평형시킨 후, 20μl의 시료를 주입하고, 연속적인 농도 구배 방식으로 30분 동안에 걸쳐서 30% A-70% B의 비율로 용매를 변화시키면서 시료를 용출시킨다<sup>13,14)</sup>.

### 5. 백서에서 1차 배양 간세포의 분리

백서에 우레탄(1g/kg body weight)을 복강으로 주사하여 마취시킨 후, 복부를 절개하고 문맥을 18G 카테테르(catheter)로 연결한 후, Hanks' balanced salt solution(이하 'HBSS'라 한다)용액을 15 -20 ml/min로 흘러보내면서 곧바로 하대정맥(inferior vena cava)을 절단한다. 그 다음, HBSS를 5분간 흘러보낸 후, 상대정맥(superior vena cava)에 14G 카테테르를 연결하여 순환을 시키고, 곧이어 하대정맥을 묶는다. 콜라게나아제를 HBSS용액에 첨가하여 15 -20분간 관류(perfusion)를 시킨 후, 간 조직을 작게 절단하여 간세포(hepatocytes)를 분리하고 HBSS와 Williams' E 배지로 2회 세척한다. 분리된 간세포의 생존율(viability)은 0.4% 트리판블루(trypsin blue)용액으로 염색되는지의 여부로 분석하였으며<sup>15)</sup>, 생존율이 95% 이상인 세포만을 사용한다. 콜라겐이 코팅된 직경이 100mm인 페트리 디쉬에 간세포를 5.0×10<sup>5</sup> cells씩 분고, CO<sub>2</sub> 배양기에서 37℃의 온도로 배양한 다음<sup>12)</sup>, 4시간 후에 신선한 Williams' E 배지로 교환한다.

## 실험성적

### 1. 백서에서 황금 추출물이 GST의 발현에 미치는 효과

백서에 생리 식염수와 황금 추출물 (1g/kg/day)을 각각 6일간 투여하고, 간 조직에서 시토플을 분리한 다음, 분리된 시토플 용액에 존재하는 GST의 양을 Western blot법으로 분석하였다 (Fig.1). 레인 1 ~3은 생리식염수를 처리한 시토플에서 발현된 GST의 양이고, 레인 4 ~8은 황금 추출물을 처리한 시토플에서 발현된 GST들이다. Fig. 1A와 1B에서와 같이, GST Ya와 GST Yp의 발현량은 대조군과 황금 추출액을 투여한 군에서 서로 비슷하였다. 그러나, GST Yc1/2의 양은 황금 추출물을 처리한 백서에서 얻어진 모든 시토플들이 대조군보다 2 ~4배 정도 높았다 (Fig 1C). 한편, 본 시험에서 황금 추출물의 투여는 최적 용량을 조사해서 실시한 것이 아니므로 GST Yc1/2의 발현정도를 더 높이는 황금의 농도를 구할 수 있을 것이다.

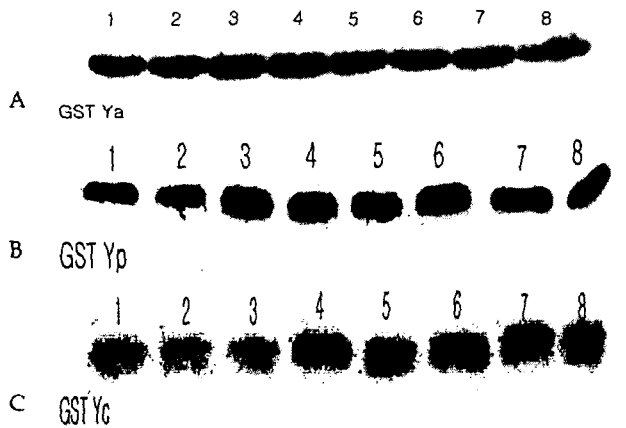


Fig 1. Immunoblot of liver cytosolic GST Ya(A), Yp(B), Yc(C) from control rats (lane 1, 2 and 3) and the water extract of *Scutellariae radix* (1g/kg/day) treated rats for 6days (lane 4, 5, 6, 7 and 8). Western blot analyses were performed as described in the Materials and Methods.

### 2. 백서에서 황금 추출물이 GST Yc의 활성에 미치는 효과

AFB<sub>1</sub>은 시토크롬(microsomal cytochrome) P450효소에 의해서 AFB<sub>1</sub>-8,9-에폭사이드(AFBO), AFQ<sub>1</sub> 그리고 AFM<sub>1</sub>으로 전환되는데, 형성되는 AFBO는 GST Yc에 의해서 글루타치온과 접합되어 무독성 물질로 전환된다. 그러므로 본 연구에서는 AFB<sub>1</sub>-글루타치온의 형성량을 HPLC로 분석하여 GST Yc1/2의 활성을 측정하였다. Fig 2에서와 같이, 독성이 낮은 AFQ<sub>1</sub>과 AFM<sub>1</sub>의 합성 속도는 첨가한 시토플의 종류에 무관하였다. 반면, AFB<sub>1</sub>-글루타치온 접합체의 형성 속도는 마우스, 백서 대조군 및 황금 추출물 처리 군에서 각각 306, 32, 75pmol/min로 나타났다. 이는 마우스 간 조직의 시토플에는 랫드 간조직의 시토플에서 보다 GST Yc1/2의 활성이 많이 존재하고 있음을 의미하는 것이고, 황금 추출물의 투여는 백서 간 조직의 시토플내 GST Yc1/2의 활성을 2.3 배 증가시켰으므로, 황금 추출물은 시토크롬 P450 효소에 의해서 만들어지는 AFB<sub>1</sub>-8,9-에폭사이드를 보다 빠른 속도로 무독한 AFB<sub>1</sub>-글루타치온 접합체로 전이시킨다는 것을 알 수 있다.

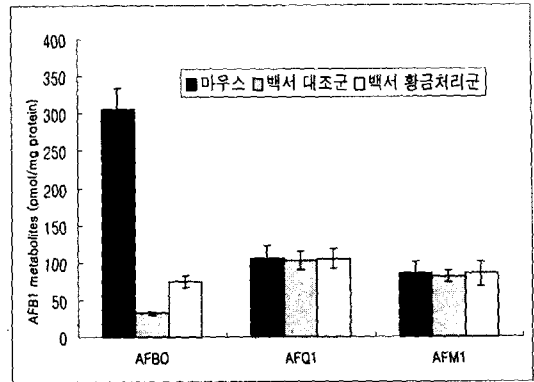


Fig 2. AFB<sub>1</sub> metabolites by liver microsomes in the presence of mouse(■), rat(▨), or *Scutellariae radix*-treated rat(□) cytosol. Rat or human liver microsomes (100 pmol) were incubated with 50 $\mu$ M AFB<sub>1</sub> and NADPH generating system, and the indicated concentration of the water *Scutellariae radix* for 10 min at 37 $^{\circ}$ C. AFB<sub>1</sub> metabolites were analyzed by HPLC. Results presented are means obtained from three experiments ( $\pm$ S.E.M.).

### 3. 1차 배양 간세포에서 황금 추출물이 간세포의 생존율과 GST Yc의 발현에 미치는 효과

간세포를 collagenase를 이용하여 단일 세포로 분리하고 collagen이 도포된 패트리 디쉬에 4시간 동안 부착시킨다. 그 후 배지를 교환하고, 황금 추출물을 각각 12.5, 25.0, 50.0, 100.0 및 150.0  $\mu$ g/ml씩 투여하고 48시간 동안 배양하여, 간세포의 생존율을 측정하고, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 대조군은 황금 추출물을 투여하지 않은 간세포이다. 황금 추출물을 50.0  $\mu$ g/ml까지 투여하는 경우에는 간세포의 생존능력이 거의 영향을 받지 않지만, 100.0  $\mu$ g/ml부터 유의하게 감소하여 150.0  $\mu$ g/ml에서는 51%로 나타났다.

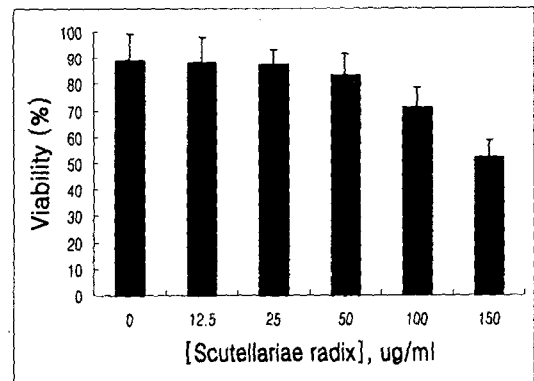


Fig 3. Effect of *Scutellariae radix* on the viability of the primary culture of hepatocytes. Rat primary hepatocytes were treated with 12.5, 25, 50, 100, 150  $\mu$ g/ml of *Scutellariae radix* for 48hrs. MTT assay was used to determine the viability. Bars, SE of triplicate data points.

1차 배양 간세포에 황금 추출물을 12.5, 25.0, 50.0 및 100.0  $\mu$ g/ml의 농도로 각각 처리하고 48시간 동안 배양한 후, GST Ya와 GST Yc1/2의 발현 정도를 Western blot법 분석하였다 (Fig. 4). GST Ya의 발현은 백서의 in vivo 실험 결과와 마찬가지로, 황금 추출물의 처리량에 무관하였다 (Fig. 4A). 반면, GST Yc1/2의 발현은 황금 추출물의 농도가 12.5, 25.0 및 50.0  $\mu$ g/ml에서는 대조군보다 발현량이 6, 10, 21배씩 증가하였다.

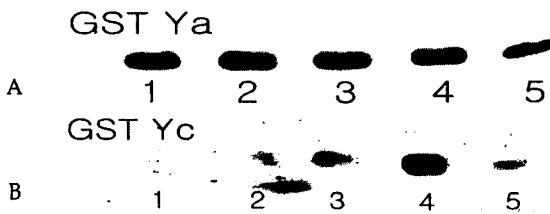


Fig 4. Effect of *Scutellariae radix* on cytosolic GST Ya (A) and Yc1/2 (B) in the primary culture of rat hepatocytes. Hepatocytes were treated with various concentrations of the water extract from *Scutellariae radix* for 48hrs. GST Ya and GST Yc1/2 levels were determined by western blot analysis. Lane 1: *Scutellariae radix* 0µg/ml, Lane 2: 12.5µg/ml, Lane 3: 25µg/ml, Lane 4: 50µg/ml, Lane 5: 100µg/ml.

## 고찰

AFB<sub>1</sub>은 곡류나 장류에 흔히 오염된 *Aspergillus flavus*에 의해서 형성되는 mycotoxin으로 백서에 1 ppm으로 먹이면 대부분의 백서에서 간암이 발생된다. 그러나, 마우스에서는 사료에 10-100 ppm을 투여해도 극소수만이 간암이 발생된다<sup>16)</sup>. 이는 AFB<sub>1</sub>에서 ultimate carcinogen형태인 AFB<sub>1</sub>-8,9-epoxide를 형성하는 CYP3A계와 CYP1A계 활성의 차이가 아니고, AFB<sub>1</sub>-8,9-epoxide를 제거하는 것으로 밝혀진 GST Ya1Yc2과 GST Yc1Yc2<sup>21)</sup>가 마우스에서는 효율적으로 발현되나 백서나 사람에서는 그 발현 정도가 마우스의 2%뿐이 것이기 때문인 것이다<sup>18)</sup>. 따라서, 간세포내의 GST Yc1/2의 활성은 AFB<sub>1</sub>에 의한 암 발생 여부를 결정하는 아주 중요한 요소인 것이다. 그러므로 세포 내에서 GST의 발현을 증가시키는 물질은 발암물질에 의해 유도되는 암의 발생을 효과적으로 억제할 수 있는 것이다.

황금은 항염증 작용, 항 알레르기 작용, 항균작용, 숙취방지 작용, 설사, 천식, 고지혈증 등의 치료에 사용되어 왔다. 최근에는 황금에 포함된 일부 플라보노이드가 *Salmonella typhimurium*에서 항돌연변이 효과<sup>19)</sup> 그리고 동물세포에서 자유라디칼을 제거하는 효과<sup>20)</sup> 등이 보고 되었다. 본 연구는 백서에 황금의 물 추출물을 투여하고, 간조직의 cytosol에서 anti-GST Ya, anti-GST Yc1/2 그리고 anti-GST Yp antibody들을 이용하여 3 종류 GST의 발현 정도를 조사하였다. 그 결과 Fig. 1에서와 같이 AFB<sub>1</sub>의 암 발생능을 현저히 저하시키는 GST Yc1/2의 발현이 황금의 물 추출물에 의해 항진되고 있음을 발견하였다. 또한, AFB<sub>1</sub>-글루타치온 접합체의 합성 속도를 HPLC로 직접 분석한 바, 그 속도가 황금의 물 추출물에 의해서 2배 이상이 증가하였다. 따라서, 황금 추출물은 백서의 간 조직에서 GST Yc1/2의 발현을 촉진시키고, 증가된 GST Yc1/2는 간암을 야기한다고 밝혀진 AFB<sub>1</sub>-8,9-에폭사이드를 효율적으로 제거하므로, 황금 추출물은 GST Yc1/2에 의해서 무독한 물질로 전환되는 AFB<sub>1</sub>을 위시한 여러 발암물질이나 독성물질로부터 간을 보호해 준다고 사료되었다. 이와 같은 in vivo의 결과가 1차 배양 간세포에서도 나타나는 지를 조사하였더니, Fig. 4에서와 같이 GST Yc1/2의 발현 양은 황금 추출물의 투여량에 비례하여 50.0 µg/ml에서 최고 21배 정도까지 증가하였다. 황금 추출물의 농도가 100.0 µg/ml인 경우에는 GST Yc1/2의 발현이 50.0 µg/ml보다 크게 감소하였는데, 이는 Fig. 3에서 알 수 있는 바와 같이, 간세포의 생존능이 감소

하므로, 이로인해 GST Yc1/2의 발현이 억제되는 것으로 사료되었다. 그렇지만 황금을 50.0 µg/ml로 투여하여 얻어진 결과는 지금까지 GST Yc를 발현시킨다고 알려진 에톡시퀸, t-부틸 히드록시아니솔, 울티프라즈<sup>6,8)</sup> 등의 작용보다 초소한 4배 이상 우수한 것이다.

GST Yc1/2는 AFB<sub>1</sub>에 의한 DNA손상을 차단하여 암 발생을 억제시키므로, 간 세포에서 GST Yc의 발현이 황금 추출물에 의해서 촉진되면 AFB<sub>1</sub>과 DNA사이의 어덕트 형성이 감소될 것이다. 이에, 황금 추출물과 [3H]-AFB<sub>1</sub>을 투여하고 48시간동안 배양한 뒤, 간세포의 DNA를 Sharma등 (1994)의 방법으로 분리하였다. 그 결과 DNA내에서 [3H]-AFB<sub>1</sub>에서 유래된 어덕트의 양은 GST Yc발현양과 서로 반비례하였다 (미발표 결과). 따라서, 황금 추출물은 간세포에서 AFB<sub>1</sub>에 의한 DNA손상을 효율적으로 차단하는데 효과가 있음을 알 수 있다.

## 결론

황금의 물 추출물을 백서의 in vivo와 1차 배양 간세포에서 투여하고 수종의 GST 효소들의 발현을 Western blot법으로 측정하고 GST Yc1/2의 활성을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

황금의 물 추출물은 백서의 간 조직에서 GST Ya와 GST Yp의 발현정도에는 영향을 주지 못했으나, GST Yc1/2의 발현을 대조군의 2-4배정도 증가시켰다. 황금의 물 추출물은 백서의 1차 배양 간세포에서 투여한 양에 의존적으로 GST Yc1/2의 발현 양을 증가시켰는데, 50 µg/ml 투여군에서 대조군의 21배 정도를 증가시켰다. 백서에서 GST Yc1/2의 발현 증가는 AFB<sub>1</sub>이 대사될 때 형성되는 AFB<sub>1</sub>-8,9-epoxide를 AFB<sub>1</sub>-글루타치온 복합체로 전환시켜주는 속도를 증가시켰다.

## 감사의 글

이 논문은 2001년도 원광대학교의 지원에 의해 수행됨.

## 참고문헌

1. Chasseaud, L.F. : The role of glutathione and glutathione S-transferases in the metabolism of chemical carcinogens and other electrophilic agents., *Adv. Cancer Res.*, 29;175-274, 1979.
2. Buetler, T.M., Eaton, D.L. : Complementary DNA cloning, messenger RNA expression, and induction of alpha-class glutathione S-transferases in mouse tissues., *Cancer Res.*, 52(2);314-8, 1992.
3. Cai, Y., Kleiner, H., Johnston, D., Dubowski, A., Bostic, S., Ivie, W., DiGiovanni, J. : Effect of naturally occurring coumarins on the formation of epidermal DNA adducts and skin tumors induced by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz [a]anthracene in SENCAR mice.,

- Carcinogenesis., 18(8);1521-7, 1997.
4. Ewaskiewicz, J.I., Devlin, T.M., Ch'ih, J.J. : The in vivo disposition of aflatoxin B1 in rat liver., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 179(2);1095-100, 1991.
  5. Liu, J., Lin, R. I. and Milner, J. A. : Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene- induced mammary tumors and DNA adducts by garlic powder., *Carcinogenesis.*, 13(10);1847-51, 1992.
  6. Buetler, T.M., Gallagher, E.P., Wang, C., Stahl, D.L., Hayes, J.D., Eaton, D.L. : Induction of phase I and phase II drug-metabolizing enzyme mRNA, protein, and activity by BHA, ethoxyquin, and oltipraz., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 135(1);45-57, 1995.
  7. Langouet, S., Morel, F., Meyer, D.J., Fardel, O., Corcos, L., Ketterer, B., Guillouzo, A. : A comparison of the effect of inducers on the expression of glutathione-S-transferases in the liver of the intact rat and in hepatocytes in primary culture., *Hepatology.*, 23(4);881-7, 1996.
  8. Kensler, T.W. : Chemoprevention by inducers of carcinogen detoxication enzymes., *Environ. Health Perspect.* 4;965-70, 1997.
  9. Jacobson, L.P., Zhang, B.C., Zhu, Y.R., Wang, J.B., Wu, Y., Zhang, Q.N., Yu, L.Y., Qian, G.S., Kuang, S.Y., Li, Y.F., Fang, X., Zarba, A., Chen, B., Enger, C., Davidson, N.E., Gorman, M.B., Gordon, G.B., Prochaska, H.J., Egner, P.A., Groopman, J.D., Munoz, A., Helzlsouer, K.J., Kensler, T.W. : Oltipraz chemoprevention trial in Qidong, People's Republic of China: study design and clinical outcomes., *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 6(4);257-65, 1997.
  10. Kensler, T.W., He, X., Otieno, M., Egner, P.A., Jacobson, L.P., Chen, B., Wang, J.S., Zhu, Y.R., Zhang, B.C., Wang, J.B., Wu, Y., Zhang, Q.N., Qian, G.S., Kuang, S.Y., Fang, X., Li, Y.F., Yu, L.Y., Prochaska, H.J., Davidson, N.E., Gordon, G.B., Gorman, M.B., Zarba, A., Enger, C., Munoz, A., Helzlsouer, K.J., et al. : Oltipraz chemoprevention trial in Qidong, People's Republic of China: modulation of serum aflatoxin albumin adduct biomarkers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 7(2);127-34, 1998.
  11. Wang JS, Shen X, He X, Zhu YR, Zhang BC, Wang JB, Qian GS, Kuang SY, Zarba A, Egner PA, Jacobson LP, Munoz A, Helzlsouer KJ, Groopman JD, Kensler TW : Protective alterations in phase 1 and 2 metabolism of aflatoxin B1 by oltipraz in residents of Qidong, People's Republic of China., *J. Natl. Cancer Inst.*, 91(4);347-54, 1999.
  12. Carlson, T.J., Billings, R.E. : Role of nitric oxide in the cytokine-mediated regulation of cytochrome P-450. *Mol. Pharmacol.*, 49(5);796-801, 1996.
  13. Monroe, D.H., Eaton, D.L. : Comparative effects of butylated hydroxyanisole on hepatic in vivo DNA binding and in vitro biotransformation of aflatoxin B1 in the rat and mouse., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 90(3);401-9, 1987.
  14. Kim, B.R., Oh, H.S., Kim, D.H. : Differential inhibition of aflatoxin B1 oxidation by gestodene action on human liver microsomes., *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 43(4);839-46, 1997.
  15. Patterson M.K. Jr. : Measurement of growth and viability of cells in culture., *Methods in Enzymol.* 58;141-152, 1979.
  16. Wogan M., Amdur M., Kupfer D.J., Detre T.P. : The KDS-1: validity, reliability and independence among symptom clusters for clinic and normal samples., *Psychol. Rep.*, 32(2);503-6, 1973.
  17. Hayes J.D., Judah D.J., McLellan L.I., Kerr L.A., Peacock S.D., Neal G.E. : Ethoxyquin-induced resistance to aflatoxin B1 in the rat is associated with the expression of a novel alpha-class glutathione S-transferase subunit, Yc2, which possesses high catalytic activity for aflatoxin B1-8,9-epoxide., *Biochem.J.* 279( Pt 2);385-98, 1991.
  18. Eaton D.L., Gallagher E.P.: Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34;135-72, 1994.
  19. Lee, B.H., Lee, S.J., Kang, T.H., Kim, D.H., Sohn, D.H., Ko, G.I., Kim, Y.C. : Baicalein an in vitro antigenotoxic compound from *Scutellaria baicalensis*., *Planta. Med.*, 66(1);70-1, 2000.
  20. Gao, Z., Huang, K., Yang, X., Xu, H. : Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi., *Biochim. Biophys. Acta.*, 1472(3);643-50, 1999.