

에스트로겐 수용체를 통한 카드뮴 독성 및 항산화제에 의한 독성경감에 관한 연구

김태성 · 강태석 · 강호일 · 문현주 · 강일현 · 이영주 · 최은희 · 홍진태¹ · 한순영 · 홍진환*
국립독성연구원 독성연구부 내분비장애물질팀
¹충북대학교 약학대학

Study on the Estrogen Receptor Mediated Toxicity of Cadmium and Protective Effects of Antioxidant

Tae Sung Kim, Tae Seok Kang, Hoil Kang, Hyun Ju Moon, Il Hyun Kang, Young Joo Lee, Eun Hee Choi, Jin Tae Hong¹, Soon Young Han, and Jin Hwan Hong*

Department of Toxicological Research Team of Endocrine Toxicology
National Institute of Toxicological Research, KFDA, Seoul 122-704, Korea
¹College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

(Received February 15, 2006 / March 15, 2006)

ABSTRACT : Cadmium, a human carcinogen, can induce toxicity in various cell lines and organs. Despite extensive research, the mechanisms of cadmium-induced cell toxicity and estrogenic potential in human are not clear. This study was performed to investigate cadmium-induced toxicity on human breast cancer cells : MCF-7 cells, an estrogen receptor (ER) positive breast cancer cells, and MDA-MB-231 cells, an ER negative breast cancer cells. MCF-7 cells was proved to be more sensitive than the other cell lines (IC₅₀ = 50 μM at MCF-7 cells and 120 μM at MDA-MB-231). The expression of JNK and AP-1 transcription factors such as c-Jun and c-Fos dependent transcription were increased by cadmium treatment. Inhibition of ER activation by ER antagonist (tamoxifen or ICI 182,780) significantly recovered the viability and inhibited apoptotic cell death. This suggested that cadmium-induced cell death in ER (+) cells was mediated by JNK/AP-1 pathway and this pathway was more stimulated by ER activated by cadmium. Co-treatment of antioxidants such as selenium (Se), butylated hydroxyanisole (BHA), glutathione (GSH), or N-acetyl-L-cysteine (NAC) recovered the cadmium-induced cell death in MCF-7 cells. Cadmium-induced lipid peroxidation was decreased by GSH, NAC, or BHA in MCF-7 cells. The expression of SOD protein was decreased by cadmium (100 μM) but recovered by GSH, NAC, BHA, or Se. Our data showed that the cadmium-induced cell toxicity in human breast cancer cells could be protected by the antioxidants (Se, BHA, NAC, GSH, or NAC) and ER antagonist (tamoxifen or ICI 182,780). Therefore, toxicity of cadmium in breast cancer were mediated by oxidative stress and ERα.

Key words : Cadmium, Estrogen receptors, MCF-7 cells.

서 론

중금속의 일종인 카드뮴은 산업화와 더불어 생성된 부산물로써 생활환경 속에 다양한 식품, 음료수와 담배의 흡연을 통해 인간에게 노출될 수 있다. 또한 최근 인간에 있어 category 1 carcinogen으로써 International Agency for Research on Cancer (IARC, 1994)에 의해 규명되었으며, 남성의 정자생성에 치명적인 결함을 유발하고 랫드에 있어서는 간, 폐장, 신장, 고환 및 중추신경계에 대한 독성이 보고 되어있

다. 카드뮴의 독성 작용장기인 간에서는 estrogen receptor α (ERα) 만이 발현되나 신장의 경우 ERα, β를 모두 발현시키며, 유선이나 자궁, 난소에 비하여는 적으나 다른 장기들과 비교할 때 ERα의 발현이 상대적으로 많다. 따라서 이들 장기에서 나타나는 카드뮴 독성이 ER과 상호 작용할 가능성이 있다. 대부분의 중금속은 hydroxyl radical이나 superoxide와 같은 ROS (reactive oxygen species)를 생성하며 이에 따라 lipid peroxidation 증가와 DNA가 손상되어 다양한 세포와 조직 등에서 apoptosis 및 독성을 초래하게 된다. 카드뮴에 의해 생성되는 ROS는 세포 내 산화적 손상을 유발하는 것으로 알려져 있으며, apoptosis를 유발시킨다 (Ciesielska *et al.*,

*To whom correspondence should be addressed

2000). 카드뮴은 일반적으로 미토콘드리아 cytosol 내의 apoptosis 저해 관련 유전자인 Bcl-x 발현을 감소시키며, Cytochrome c의 방출 유도 및 caspase-9 활성화를 통해 일련의 신호체계에 의존적으로 apoptosis를 유발시킬 수 있는 것으로 보고되었다 (Kondoh *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2000). 카드뮴의 독성에 대한 연구는 산화 스트레스의 영향에 관한 것이 주를 이룬다. 이러한 카드뮴의 산화 스트레스에 대한 연구는 많이 이루어져 왔으나 카드뮴에 의해 유도되는 세포 내 신호전달 과정과 관련한 연구는 부족한 실정이다. 일반적으로 산화 스트레스는 다양한 유전자의 세포 내 신호전달 체계 (signal transduction pathway)에 영향을 준다 (Allen and Tresini, 2000). 산화 스트레스에 의한 세포 내 반응은 cytokine, 성장인자나 호르몬의 작용과 분비의 조절, 이온 수송의 영향, 전사의 변화, apoptosis로 나누어지며 (Lander, 1997), 분자수준에서의 정확한 기전은 알려져 있지 않으나 그 중 가장 많이 연구되고 있는 신호전달 체계는 MAPK 체계와 NF κ B 신호전달 체계를 들 수 있다 (Allen and Tresini, 2000; Bowie and O'Neill, 2000). MAPK 신호전달 체계는 extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase (JNK/SAPK), p38로 구성되어 있으며, 세포 외부로부터의 자극을 인지하여 세포의 성장, 발생, 분화, 사멸 등을 조절한다. JNK는 heat shock, UV, inflammatory cytokine, 독성물질 등의 스트레스에 반응하여 세포사멸을 조절하는 것으로 알려져 있으며 (Chuang *et al.*, 2000), c-Jun은 homodimer 혹은 Fos, ATF/CREB, Maf family 등과의 heterodimer complex를 형성하며, 이것이 전사 인자로 작용하는 activating protein-1 (AP-1)을 구성한다. AP-1의 DNA 결합이 유의적으로 증가되어 카드뮴에 의한 산화 스트레스가 AP-1 의존적 전사를 유도할 수 있음을 보여 주었다 (Souza *et al.*, 2004). MAPK, AP-1과 카드뮴 독성과의 관련성을 보여준 실험들을 통해 볼 때 estrogen receptor를 함유하는 세포에서 독성도도 관련될 가능성을 가진다. 본 연구에서는 카드뮴 처리에 의해 에스트로겐 수용체의 발현 변화를 나타내는 결과로서 카드뮴 독성기전에 있어 에스트로겐 수용체가 직접 혹은 간접적으로 작용하는 것으로 사료된다. 따라서 카드뮴의 에스트로겐 수용체 신호 경유를 통한 세포독성 및 cell apoptosis 유도에 관한 기전 연구가 필요하다. 또한 식품 함유성분 중에서 보다 다양한 항산화제의 카드뮴 독성 경감 기전에 관한 연구를 함께 수행하고자 하였다.

실험재료 및 방법

시험물질

본 연구에 사용된 시험물질인 카드뮴 (CdCl₂), BHA,

NAC, GSH, Se 및 기타 일반시약은 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, ICI 182,780 시약은 TORIS (Avonmouth Bristol, UK)에서 구입하여 사용하였다.

세포배양

본 실험에 사용한 세포주는 인간 유방암 조직에서 유래된 MCF-7 세포, MDA-MB-231로 각각 American Type Culture Collection (ATCC)과 한국 세포주 은행 (KCLB)으로부터 분양 받았다. MCF-7 세포와 MDA-MB-231 세포주 모두 10% fetal bovine serum (FBS)와 1% penicillin/streptomycin이 함유된 RPMI 1640 배지를 사용하여 5% CO₂, 37°C의 조건에서 배양하였다.

시험물질의 처리

카드뮴 (0.1 μ M~400 μ M)을 DMSO (dimethylsulphoxide)에 녹여 처리하였다. 아연, GSH, NAC, Se 및 BHA (0.1, 1, 10, 25, 50, 100, 150, 200 μ M)는 배지 혹은 DMSO에 녹여 카드뮴과 병용처리 하였다.

MTT assay

MCF-7 세포, MDA-MB-231 세포를 1×10^5 /ml로 96 well plate에 분주하고 24시간 안정화시킨 다음 농도 별로 DMSO에 녹인 카드뮴을 농도별로 세포에 처리하였다. 대조군은 DMSO의 농도가 0.5%가 되도록 하였다. 약물이 처리된 세포를 12시간 배양한 후 MTT (5 mg/ml)를 15 μ l씩 넣어 4시간 동안 반응시켰다. MTT 환원 물질을 보기 위하여 배양액을 버리고 DMSO 용액 100 μ l를 가하여 세포내의 MTT 환원물질을 용해시킨 후 570 nm에서 ELISA로 흡광도를 측정하였다.

Apoptotic bodies 관찰 (DAPI염색)

MCF-7 세포, MDA-MB-231 세포를 6 well plate에 2.5×10^4 /ml로 분주하여 24시간 안정화하고 카드뮴을 50 μ M과 항산화제를 병용 처리하여 12시간 후 4% paraformaldehyde로 3시간 동안 고정 후 4',6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI)로 염색하여 형광현미경으로 관찰하였다.

Apoptotic cell death 관찰 (DNA fragmentation)

Apoptosis에 의한 세포사를 확인하기 위하여 카드뮴 단독 또는 항산화제를 병용 처리한 MCF-7 cells에서 DNA fragmentation을 확인하였다. Cells를 lysis buffer [10 mM Tris/HCl, 1M NaCl, 10 mM EDTA, 0.6% (w/v) SDS, pH 8.0]로 4°C에서 overnight한 후, DNA를 phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1)과 isopropyl alcohol을

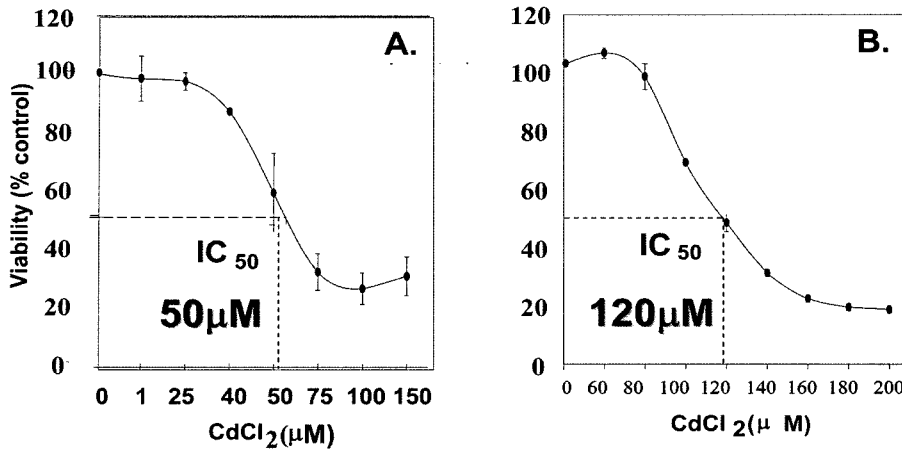


Fig. 1. The viability of MCF-7 cells (A) and MDA-MB-231 cells (B) determined by MTT assay after 12 hrs exposure to cadmium. The IC50 lies in the center of the inflection of the curve.

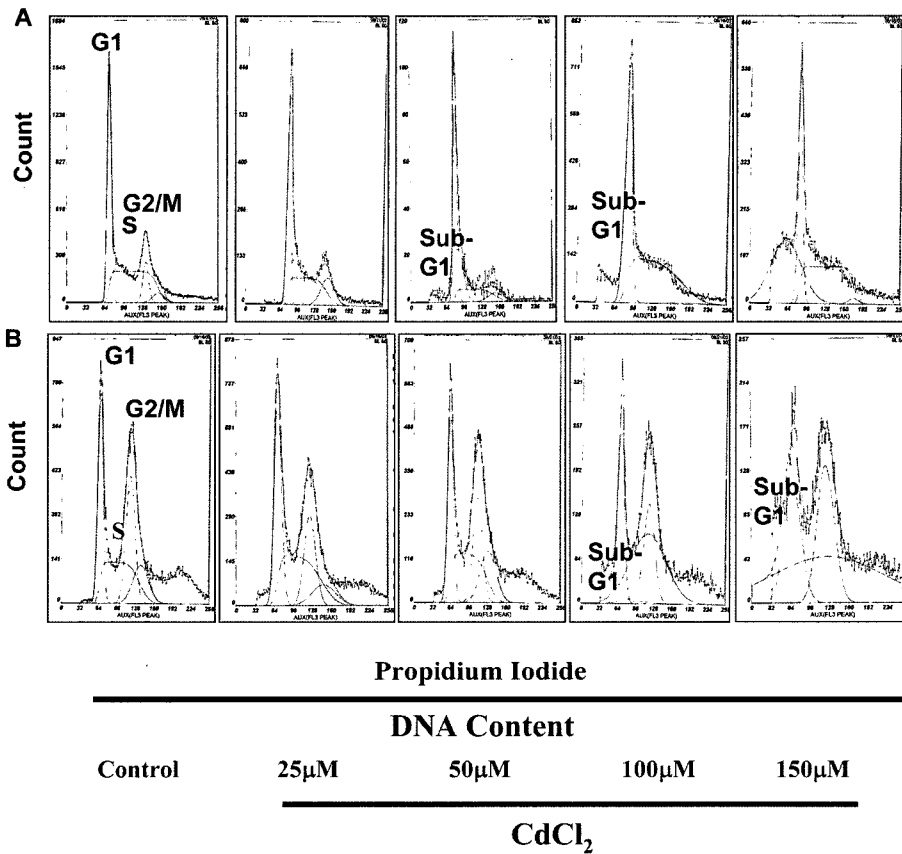


Fig. 2. Cell cycle analysis of untreated or cadmium (25 μM, 50 μM, 100 μM or 150 μM) treated for 12hrs in MCF-7 (A) and MDA-MB-231 (B) cells.

이용하여 추출하였다. 추출된 pellet을 RNase (10 μg/ml)로 37°C에서 30 min간 incubation하여 RNA를 제거 하였다. DNA를 70% 에탄올로 세척 후 멸균수에 녹여 흡광도계를

이용, 정량한 후, 동량을 ethidium bromide를 포함하는 1.5% agarose gel로 정기영동 하였다. DNA ladder는 UV light (312 nm)를 이용하여 관찰하였다.

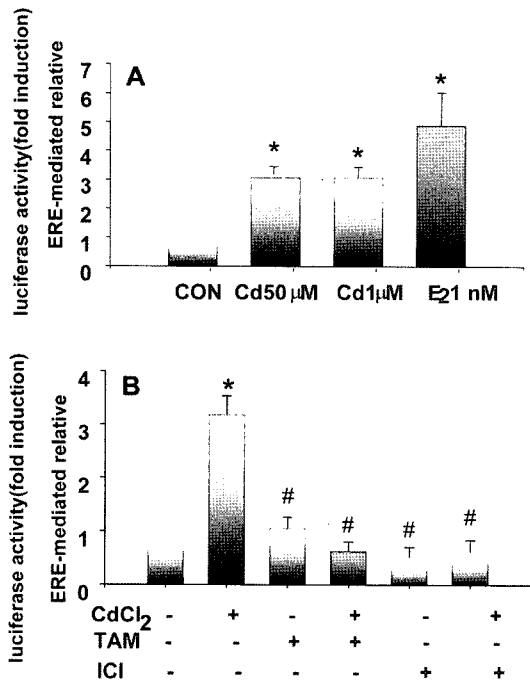


Fig. 3. Estrogen receptor-dependent ERE signaling was significantly increased by cadmium (1 μM, 50 μM) and E2 (1 nM) treated groups (A) and blocked by ER antagonist (B). MCF-7 cells were transfected with ERE-Luc plasmid, and ERE dependent transcription was measured by luciferase reporter gene assay. Transiently transfected cells were incubated with 50 μM CdCl₂ in the presence or absence of 10⁻⁵ M tamoxifen or ICI 182,780. Values were expressed as means ± SD from three independent experiments. Asterisk (*) represents significant difference from the control group; sharp (#) represents significant difference from the group treated with 50 μM CdCl₂ alone (p < 0.05).

Western analysis

MCF-7세포를 2×10⁵/ml로 분주하여 3의 방법에 따라 처리한 세포에 lysis buffer [50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 1 mM EDTA, 1 mM NaF, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), aprotinin, pH 7.4]를 넣은 다음 syringe로 잘게 세포를 파쇄하여 12,000 rpm, 15분간 4°C에서 원심분리하여 상층액으로부터 단백질을 얻었다. 단백질은 Bradford방법 (Bio Rad Protein Assay Kit)을 이용하여 578 nm에서 흡광도를 측정하여 정량 하였다. 정량된 단백질 20 μg/μ을 10% SDS PAGE에 초기 90 V, 이후 100 V로 1 시간 동안 전기영동 하였다. 전개시킨 gel을 PVDF membrane (Bio Rad)에 35V, 4°C에서 24시간 동안 transfer 시켰다. 5% skim milk (PBS, 0.1% Tween-20)로 하루 동안 4°C에서 수평 교반하여 blocking 한 후 3% skim milk에 mouse monoclonal SOD-1, mouse monoclonal ERα, rabbit polyclonal c-Jun, rabbit polyclonal c-Fos (Santa Cruz

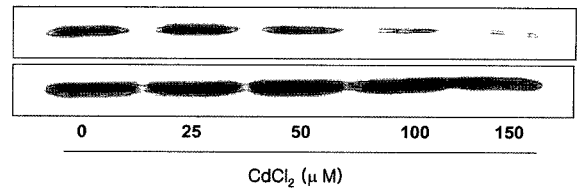


Fig. 4. Effects of cadmium on the protein expression levels of ER-α in MCF-7 cells.

Biotechnology, Inc.), mouse monoclonal Cyclin B1 (Santa Cruz Biotechnology, Inc.), mouse monoclonal NFκB (Cell Signal Technology, Inc.)와 mouse monoclonal β-actin primary antibody를 각각 1:500, 1:1000, 1:500으로 희석하여 4°C에서 하루동안 수평교반 하여 붙이고 PBST로 3회 10분간 세척하였다. Horseradish peroxidase (HRP)로 표지된 secondary antibody를 3% skim milk에 1:1000으로 희석하여 3시간 동안 실온에서 붙이고 PBST로 3회 10분간 세척하였다. 이후 Enhanced Chemiluminescence (ECL kit)를 사용하여 5분간 반응시킨 뒤 X-ray 필름에 노출시켜 단백질 발현 변화 정도를 관찰하였다.

ERE 활성화 측정

ERE reporter gene인 luciferase gene을 포함하는 plasmid (ERE-Luc)(Promega, USA)를 MCF-7 세포에 주입하여 카드뮴 처리 시 ERE 및 활성화를 luciferase assay를 통해 측정하였다.

결 과

카드뮴 노출에 대한 독성효과

카드뮴에 대한 세포독성 평가를 위해 에스트로겐 수용체를 함유한 인간유방암 상피세포 (MCF-7 세포)와 에스트로겐 수용체를 함유하지 않은 인간유방암 상피세포 (MDA-MB-231 세포)에 대한 IC₅₀수치를 조사한 결과 MCF-7 세포, MDA-MB-231 세포의 IC₅₀ 수치는 각각 50 μM, 120 μM로써 세포주에 따라 다소 차이를 보였다. 특히, MCF-7 에스트로겐 수용체를 함유한 인간유방암세포가 카드뮴 독성에 대해 다소 더 민감하였다 (Fig. 1).

카드뮴 노출에 대한 세포주기 분석

세포주기와 관련하여 MCF-7 세포는 12 hr, 카드뮴50 μM 이상의 농도에서 apoptosis signal인 Sub-G1에서 cell population 증가를 나타냈으며, S1에서 cell arrest가 유발되었다. MDA-MB-231 세포에서는 G2/M기에서 cell population이 다소 증가를 보였다 (Fig. 2).

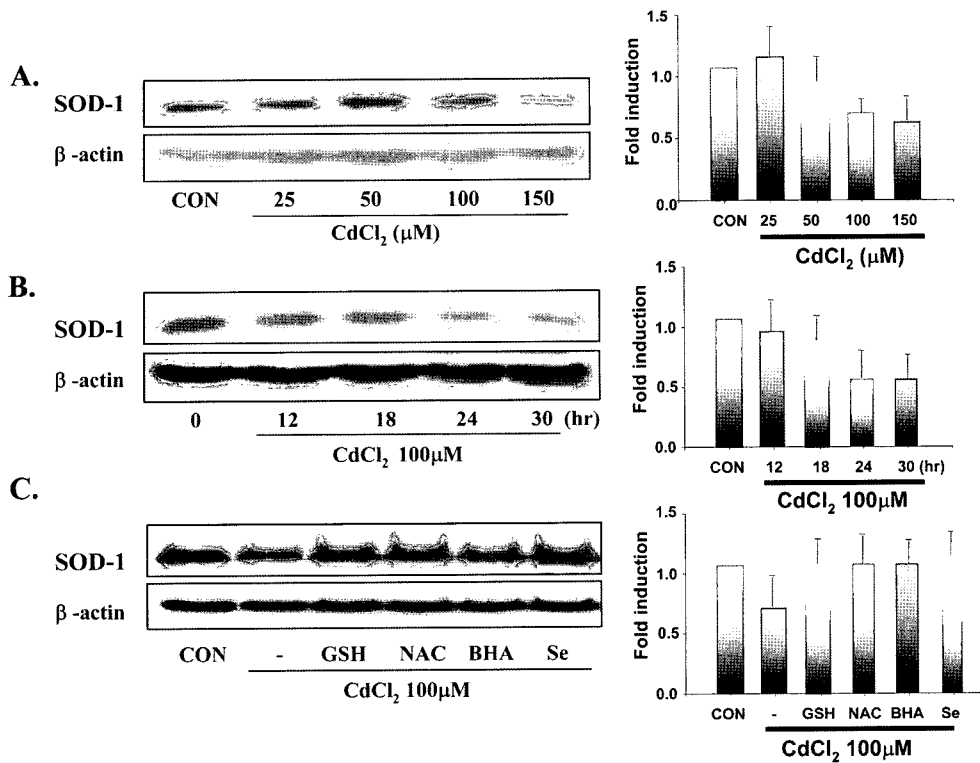


Fig. 5. Effects on SOD-1 expression in MCF-7 cells treated with cadmium in concentration-dependent manner. A representative blot (A), time-dependent manner (B) and co-treated 50 μM CdCl₂ with antioxidants such as GSH 200 μM, NAC 200 μM, BHA 200 μM, Se 200 μM (C).

카드뮴 독성 유발에 대한 에스트로겐 수용체 조절 신호와 상관성 여부 확인

카드뮴에 대한 에스트로겐 활성 여부를 조사하기 위하여 ERE-luciferase 활성을 조사하였다. 카드뮴 1 μM 및 50 μM 농도에서 대조군에 비해 약 3배 정도 ERE-luciferase 활성을 나타냈으며, 에스트로겐 antagonist인 tamoxifen과 ICI를 각각 처리 시 카드뮴에 의해 유도된 ERE 활성이 감소되었다 (Fig. 3). 카드뮴 50 μM 이상의 농도에서 에스트로겐 수용체 α 단백질 발현이 유의적으로 감소하였다 (Fig. 4).

카드뮴에 의한 항산화제 관련 효소인 SOD 및 산화적 스트레스 관련 NFκB 단백질 발현 변화

카드뮴 노출에 따른 세포 내 항산화제 관련 효소인 SOD의 단백질 발현 변화를 조사한 결과 농도의존적으로 감소되었으며, 카드뮴 농도 100 μM 이상의 농도에서와 노출 24 hr 이후에서 낮은 발현량을 나타냈다. 카드뮴 100 μM 농도에서 24시간 노출 후 식품 중 항산화제인 GSH (glutathion), NAC (N-acetyl-L-cysteine), BHA (butylated hydroxyanisole), Se (selenium) 200 μM을 각각 동시 처리 한 결과 카드뮴에 의한 SOD 단백질 발현 변화가 회복되어짐을 보였다

(Fig. 5). 또한, 산화적 스트레스 관련 단백질인 NFκB의 단백질 발현이 50 μM 이상의 농도에서 증가를 나타냈다 (Fig. 6).

항산화제에 의한 카드뮴 독성 경감 확인

카드뮴 50 μM 농도 이상에서 c-Jun, c-Fos, JNK 단백질 발현이 유의적으로 증가하였으며 (Fig. 7, 8), 항산화제인 GSH, NAC, BHA, Se에 의해 발현 감소를 나타냈다. Apoptosis를 DAPI 염색을 이용하여 조사한 결과 카드뮴 50 μM 농도에서 apoptotic bodies가 관찰되었으며, 항산화제인 GSH, NAC, BHA, Se 200 μM 농도로 병용처리 시 apoptosis가 감소됨을 확인하였다 (Fig. 9). 특히, 카드뮴 50 μM 농도에서 DNA fragmentation 유도가 위와 같은 항산화제에 의해 감소되었다. 따라서 이들 항산화제에 의한 세포 독성 경감효과를 확인 하였다 (Fig. 10).

고 찰

본 연구에서는 카드뮴 노출에 따른 세포독성과 에스트로겐 수용체간의 상관성을 규명하고자 하였다. 카드뮴은 일반적인

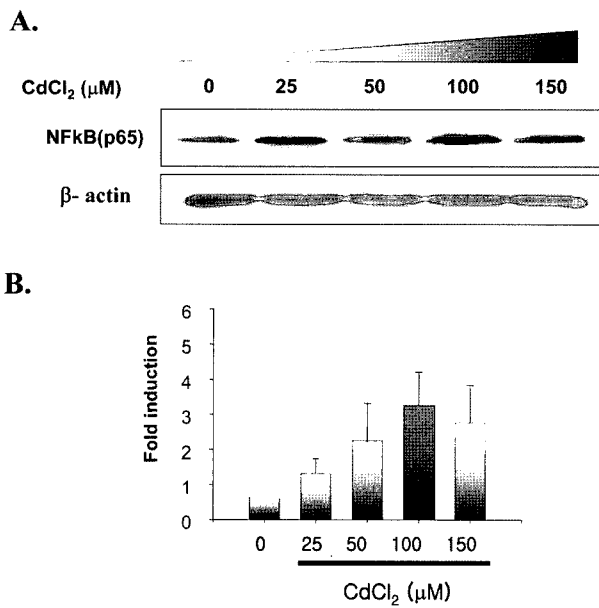


Fig. 6. Effects of cadmium on the protein expression levels of NFκB in MCF-7 cells. A representative blot (A) and densitometric analysis (B).

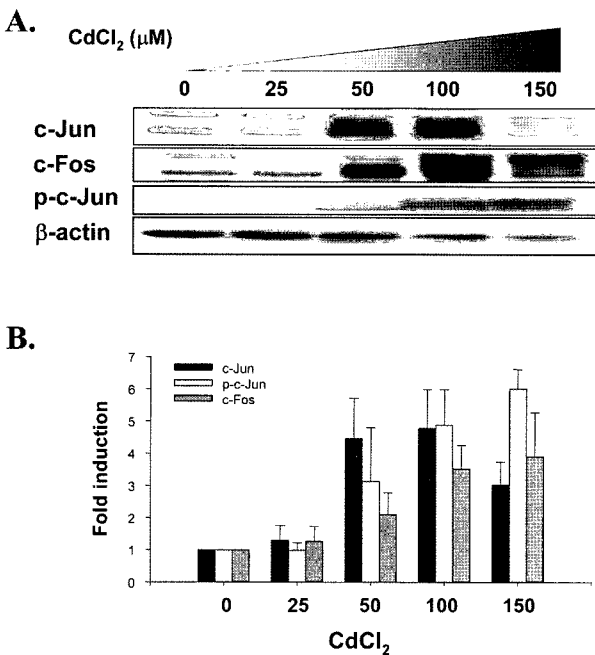


Fig. 7. Effects of cadmium on the protein expression levels of c-Jun and c-Fos in MCF-7 cells. A representative blot (A) and densitometric analysis (B).

로 미토콘드리아 cytosol 내의 세포사 저해 관련 유전자인 Bcl-x 발현을 감소시키며, cytochrome C의 방출 유도

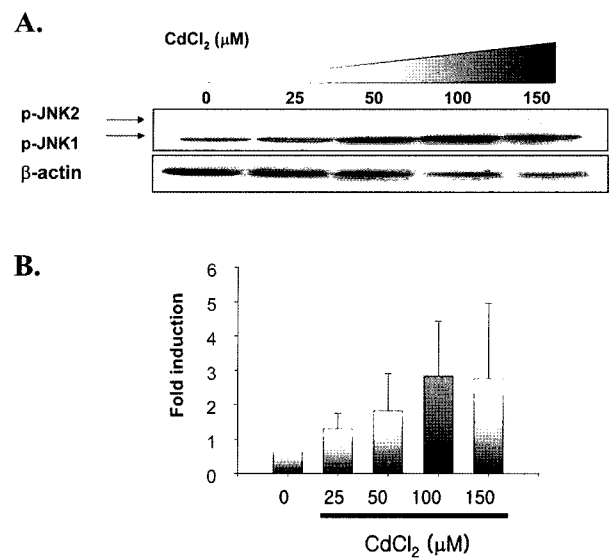


Fig. 8. Effects of cadmium on the expression levels of p-JNK in MCF-7 cells. A representative blot (A) and densitometric analysis (B).

caspace-9 활성화를 통해 일련의 신호체계에 의존적으로 세포사를 유발시킬 수 있는 것으로 보고 되었다 (Yuan *et al.*, 2000; Burw *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2002). 시행 연구결과에서도 마찬가지로 카드뮴에 의해 유발되는 세포사가 활성 산소종과 관계가 있으며, 미토콘드리아 관련 경로에 있어 caspace 활성화를 통해 유발되는 것을 확인하였다. 또한, 항산화제인 아연과 레스베라트롤에 의해 세포사 유발이 억제되고 항산화 관련 효소활성이 회복되는 것을 관찰하였으며, 카드뮴이 인간유방암 상피세포 및 인간 정상 유방 상피세포에서 세포독성을 유발함을 확인하였다 (이수정 등, 2002, 2003). 많은 외인성 화학물질 (xenobiotics) 대사체의 redox cycling에 의해 생성되어진 ROS는 세포 내 산화적 손상을 유발하는 것으로 알려져 있는데 (Bagchi *et al.*, 1995; Zimmermann *et al.*, 2001), ROS는 DNA mutation을 초래하여 genomic DNA의 손상을 초래하기도 하며, protooncogene의 활성화와 tumor suppressor gene을 불활성화 시키기도 한다. 또한, ROS에 의한 DNA 전사 인자와 protein kinase cascade 변형으로 인해 정상적인 cell signaling을 방해함으로써 비정상적인 세포성장과 분화를 통한 세포사 및 cell arrest를 초래하기도 한다 (Chao and Yang, 2001). 본 연구결과에 의하면 세포주기와 관련하여 MCF-7 세포는 S기에서 cell arrest가 유발되었으며, MDA-MB-231 세포에서는 G2/M기에서 cell arrest가 유발되었다. 카드뮴은 세포의 에스트로겐 수용체 존재 여부에 따라 세포주기에서의 cell arrest 유발 정도에 차이를 보였으며, 특히

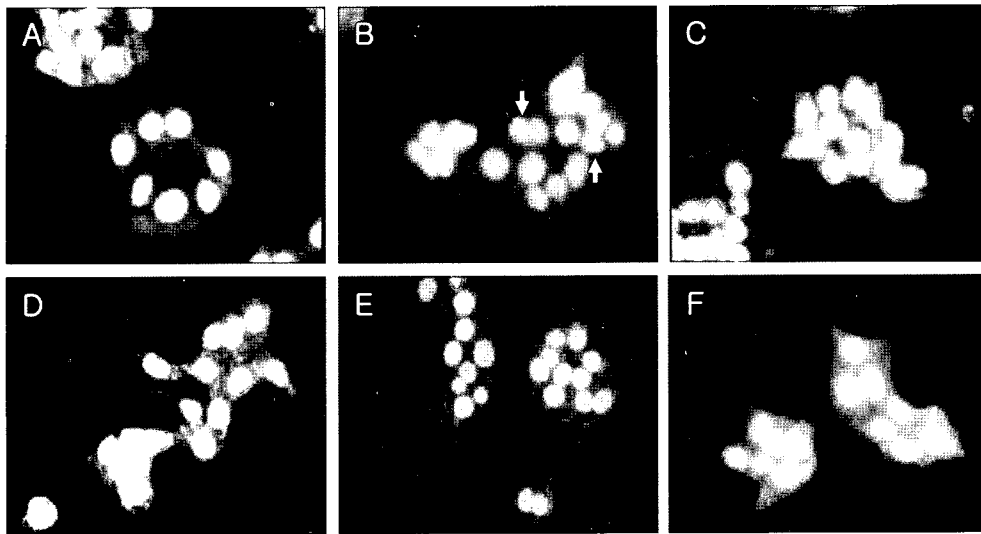


Fig. 9. Apoptosis cells death observed by DAPI staining under fluorescence microscope ($\times 400$) in MCF-7 cells co-treated $50 \mu\text{M}$ CdCl_2 with antioxidants such as BHA $200 \mu\text{M}$ (C), Se $200 \mu\text{M}$ (D), GSH $200 \mu\text{M}$, NAC $200 \mu\text{M}$ (E) and without (B) for 12 hr. Arrows indicate apoptotic bodies.

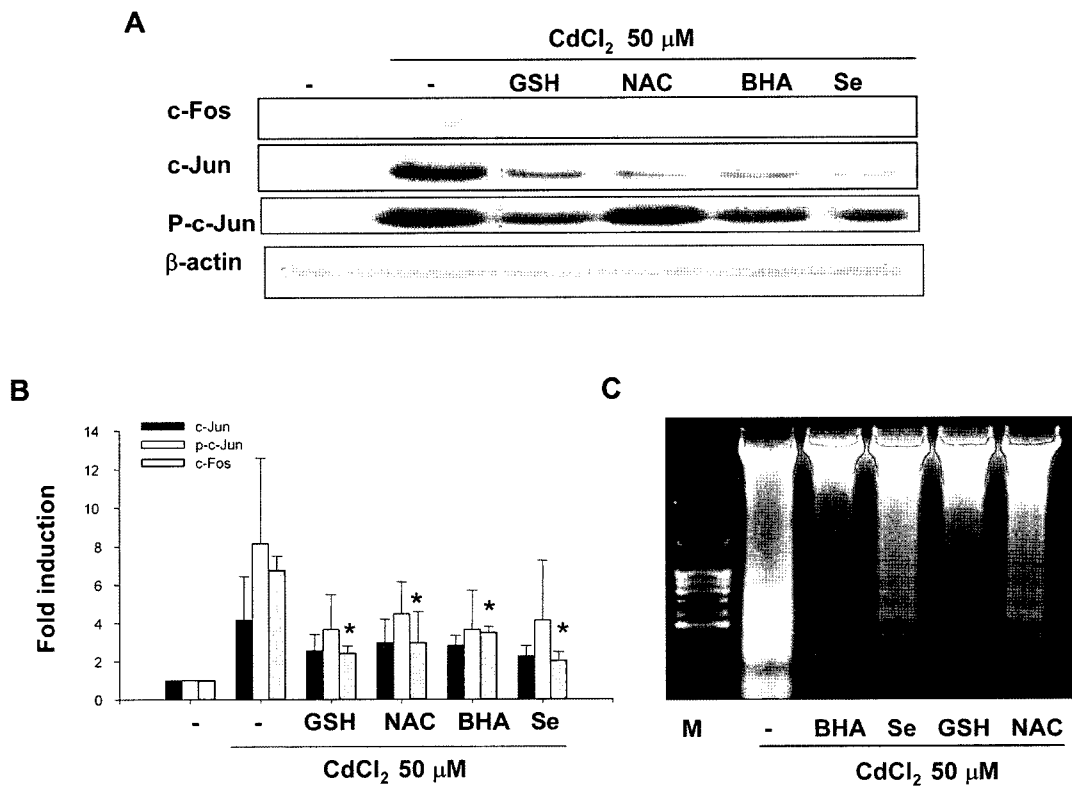


Fig. 10. Effects of antioxidants on the expression levels of c-Jun and c-Fos in MCF-7 cells. A representative blot (A) and densitometric analysis (B) and DNA fragmentation (C).

카드뮴 처리에 의해 에스트로겐 수용체의 발현 변화가 농도 의존적 감소를 나타내는 것으로 볼 때 카드뮴 독성기전에

있어 에스트로겐 수용체가 직접 혹은 간접적으로 작용하는 것으로 사료된다. 카드뮴은 저농도 노출 시 에스트로겐 활성

을 나타내는 것으로 보고 되었으며 (Wilson *et al.*, 2004), 최근 카드뮴의 에스트로겐성 효과에 따른 자궁비대와 유선발달 및 유방암 발생 가능성이 보고됨 (Johnson *et al.*, 2004)에 따라 에스트로겐 수용체를 통한 내분비계장애에 관한 연구가 향후 진행되어야 할 것이다. 에스트로겐 수용체는 c-Fos와 c-Jun이 서로 혼합체를 이루어 AP-1 부위에 결합함으로써 세포 생존 및 사멸에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구 결과 카드뮴이 에스트로겐 수용체 함유한 세포주인 MCF-7 세포주에서는 c-Fos와 c-Jun의 단백질 발현 증가를 나타냈다. 에스트로겐 수용체의 길항제로 알려져 있는 tamoxifen 및 ICI를 처리한 결과 카드뮴에 의한 에스트로겐 수용체에 대한 ERE 활성화 및 세포 독성감소 결과를 통해 카드뮴은 에스트로겐 수용체에 의존적으로 독성이 유발되어지는 것으로 사료된다. 또한 ROS에 의한 SOD 활성 및 발현 감소는 lipid peroxydation 증가에 따른 세포독성 유발가능성을 제시 하고 있으며, 식품 함유성분 중에서 GSH, NAC, BHA, Se와 같은 다양한 항산화제에 의한 카드뮴 독성 경감을 확인 함으로서 카드뮴에 의해 유도된 산화적 스트레스에 의한 독성기전 외에 에스트로겐 수용체에 경유를 통한 독성 유발 가능성을 제시하였다.

참 고 문 헌

- Bagchi, D. and Stohs, S.J. (1995) Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology & Medicine*, **18**, 321-336.
- Burw, M.E., Weldon, C.B., Tang, Y., McLachlan, J.A., and Beckman, B.S. (2001) Oestrogen-mediated suppression of tumour necrosis factor alpha-induced apoptosis in MCF-7 cells: subversion of Bcl-2 by anti-oestrogens. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, **78**, 409-418.
- Chuang, S.M., Wang, I.C., and Yang, J.L. (2000) Roles of JNK, p38 and ERK mitogen-activated protein kinases in the growth inhibition and apoptosis induced by cadmium. *Carcinogenesis*, **21**, 1423-1432.
- Chao, J.I., and Yang, J.L. (2001) Opposite roles of ERK and p38 Mitogen-Activated Protein Kinases in cadmium-induced genotoxicity and mitotic arrest. *Chem. Res. Toxicol.*, **14**, 1193-1202.
- Ciesielska, S.A., Stachura, A., Slotwinska, M., Kaminska, T., Sniezko, R., Paduch, R., Abramczyk, D., Filar, J., and Szerszen, M.K. (2000) The inhibitory effect of zinc on cadmium-induced cell apoptosis and reactive oxygen (ROS) production in cell cultures. *Toxicology*, **145**, 159-171.
- Kim, M.S., Kim, B.J., Woo, H.N., Kim, K.W., Kim, K.B., Kim, I.K., and Jung, Y.K. (2000) Cadmium induces caspase-mediated cell death: suppression by Bcl-2. *Toxicology*, **145**, 27-37.
- Kondo, M.L., Zhao, Q., Li, F.J., Tanabe, K., Arai, Y., Zhou, Z.C., and Kasuya, M. (2000) Apoptosis induced by cadmium in human lymphoma U937 cells through Ca²⁺-calpain and caspase-mitochondria-dependent pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**, 39702-39709.
- Kondoh, M., Araragi, S., Sato, K., Higashimoto, M., Takiguchi, M., and Sato, M. (2002) Cadmium induces apoptosis partly via caspase-9 activation in HL-60 cells. *Toxicology*, **170**, 111-117.
- Li, N., Ragheb, K., Lawler, G., Sturgis, J., Rajwa, B., Melendez, J.A., and Robinson, J.P. (2002) Mitochondrial complex I inhibitor rotenone induces apoptosis through enhancing mitochondrial reactive oxygen species production. *The Journal of Biological Chemistry*, **1**-40.
- Li, M., Kondo, T., Zhao, Q.L., Li, F.J., Tanabe, K., Arai, Y., and Kasuya, M. (2000) Apoptosis induced by cadmium in human lymphoma U937 cells through Ca²⁺-calpain and caspase-mitochondria dependent pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**, 39702-39709.
- Morales, P.G., Saceda, M., Kenney, N., Kim, N., Salomon, D.S., Gottardis, M.M., Solomon, H.B., Sholler, P.F., Jordan, V.C., and Martin, M.B. (1994) Effect of cadmium on estrogen receptor levels and estrogen-induced responses human breast cancer cells. *The Journal of Biological Chemistry*, **269**, 16896-16901.
- Misra, U.M., Gawdi, G., Akabani, G., and Pizzo, S.V. (2002) Cadmium-induced DNA synthesis and cell proliferation in macrophages: The role of intracellular calcium and signal transduction mechanisms. *Cellular Signalling*, **14**, 327-340.
- Stohs, S.J. and Bagchi, D. (1995) Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Biol Med*, **18**, 321-336.
- Stoica, A., Katzenellenbogen, B.S., and Martin, M.B. (2000) Activation of estrogen receptor- α by the heavy metal cadmium. *Molecular Endocrinology*, **14**, 545-553.
- Sarkar, S., Yadav, P., and Bhatnagar, D. (1998) Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes: a study with relation to time. *Biometals*, **11**, 153-157.
- Stohs, S. J., and Bagchi, D. (1995) Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology & Medicine*, **18**(2), 321-336.
- 이수정, 신재호, 김태성, 문현주, 강일현, 김인영, 오지영, 한순영. (2002) 에스트로겐 수용체 경유 세포사 유발기전 및 그 억제에 관한 연구. *식품의약품안전청연구보고서*, **6**, 365-377.
- 이수정, 신재호, 김태성, 문현주, 강일현, 이영주, 오지영, 김안근, 한순영. (2003) 에스트로겐 수용체 함유세포를 이용한 중금속의 독성 및 식품 함유성분에 의한 독성경감에 관한 연구. *식품의약품안전청연구보고서*, **7**, 263-270.
- Waalkes, M.P. and Diwan, B.A. (1999) Cadmium-induced inhibition of the growth and metastasis of human lung carcinoma xenografts: role of apoptosis. *Carcinogenesis*, **20**, 65-70.
- Yuan, C., Kadiiska, M., Achanzar, W.E., Mason, R.P., and Waalkes, M.P. (2000) Possible role of caspase-3 inhibition in cadmium-induced blockage of apoptosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **164**, 321-329.