

Epigallocatechin Gallate가 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231의 세포증식억제에 미치는 영향

홍은정 · 김우경[†]

단국대학교 식품영양학과, 기초과학연구소

Effect of Epigallocatechin Gallate on Inhibition of Cell Proliferation in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells

Eun-Jung Hong and Woo-Kyung Kim[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, and
Institute of Basic Science, Dankook University, Chungnam 330-714, Korea

Abstract

Epigallocatechin gallate (EGCG), a principal antioxidant derived from green tea, is one of the most extensively investigated chemopreventive phytochemicals. However, the effect of EGCG on proliferation in MDA-MB-231 breast cancer cell is not well known. We investigated the effect of EGCG on protein and mRNA expression related to cell proliferation in MDA-MB-231 human breast cancer cell lines. We cultured MDA-MB-231 cells in the presence of 0, 5, 10 and 20 μm of EGCG. EGCG significantly inhibited the cancer cell proliferation ($p < 0.05$). In MDA-MB-231 human breast cancer cell, EGCG lowered ErbB₂ and ErbB₃ protein as well as mRNA expression. In addition, protein and mRNA expression of phosphorylated Akt and total Akt were significantly decreased ($p < 0.05$). We suggest that EGCG inhibits cell proliferation through ErbB₂, ErbB₃ and Akt cell signaling.

Key words: epigallocatechin gallate, breast cancer, ErbB₂, ErbB₃, Akt

서 론

한국여성의 유방암 발생률은 1995년에 12.1%였던 것이 (1) 2002년에는 16.8%로 증가하는 추세에 있으며(2), 미국의 경우, 2000년 Geogia Cancer Registry 자료에 따르면 유방암의 발생률은 19%로 미국여성에서 가장 발생률이 높은 암으로 보고되고 있다(3). 유방암의 원인으로 여성호르몬인 estrogen의 영향력이 크다고 밝혀지고 있지만 한편에서는 estrogen의 영향보다는 생활양식의 변화로 인해 발생률이 증가하고 있다고 보고되고 있다(4,5). 식이 지방 섭취 증가로 인한 비만의 증가, 출산율 및 수유의 감소, 만혼, 조기 초경 및 폐경기 지연 등의 사회적인 현상으로 인하여 유방암의 발생률은 계속적으로 증가되어질 것이라고 예측되고 있다(6).

암을 예방하기 위한 가장 좋은 방법은 주위환경으로부터 발암 원인을 제거하는 것이지만 이것은 현대 사회에서는 거의 불가능하기 때문에 암의 발생을 예방하고 치료할 수 있는 천연 화합물의 예방효과에 대한 역학조사 및 실험들이 진행되고 있다(7,8). 암 치료 방법의 하나인 화학요법은 악성세포뿐만 아니라 정상세포까지 손상시킨다. 따라서 항암요법을

받는 암 환자는 오심, 구토 증상을 동반하게 되며 이로 인해 음식섭취가 부족해지고 영양 상태는 더욱 악화되어 치료를 계속할 수 없는 상태에까지 이를 수 있기 때문에 부작용이 없는 암 치료제의 개발이 요구되고 있다(9).

유방암과 관련된 다양한 in vivo 실험에서 녹차추출물이 화학적으로 종양을 유발한 쥐에게서 종양의 성장을 억제시키는 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다. 녹차의 폴리페놀 성분 중 epigallocatechin gallate(EGCG)가 가장 항암효과가 높다고 알려져 있고, 그 기전은 전사인자의 불활성화, lipooxygenase와 cyclooxygenase의 불활성화, 세포주기 G1 정지와 관련이 있다고 한다(10). 또한 EGCG의 항산화 효과가 비타민 C, E보다 우수하다고 보고하고 있으며(11), 항 돌연변이 작용(12), 체중감소, 신생 혈관 억제 작용(13), 대장암, 전립선암, 자궁암세포 등의 증식 억제와 과산화수소의 생성과 전사인자의 활성화 등으로 인하여 세포사멸 작용을 유도하여 암 치료제로서의 역할이 가능하다고 한다(14-16). 유방암 세포인 MCF-7 세포에서 EGCG는 TNF- α 경로와 관련하여 암세포 증식을 억제한다고 보고되고 있으나(17), EGCG의 암증식억제에 대한 그 작용 메커니즘은 여전히 불

[†]Corresponding author. E-mail: wkkim@dankook.ac.kr
Phone: 82-2-709-2407, Fax: 82-2-792-7960

분명할 뿐만이 아니라, 유방암 세포주중에서도 전이성이 강하다고 알려진 MDA-MB-231에 대한 구체적인 연구는 부족하다.

그러므로 본 논문은 전이성이 강하다고 알려져 있는 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231에서 녹차성분 중 항산화 작용이 가장 크다고 알려진 EGCG의 암세포 증식억제가 epidermal growth factor receptor(EGFR), AKT와 관련이 있는지를 알아보려고 하였다

재료 및 방법

세포 배양

실험에 사용한 인체 유방암 세포 MDA-MB-231은 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양액은 Dulbecco modified Eagle's medium/Nutrient Mixture Ham's F12(DMEM/F12 Gibco/BRL, USA)에 fetal bovine serum(FBS, Gibco/BRL)을 10% 농도가 되도록 첨가하고, 1,000 units/mL penicillin, 1,000 µg/mL streptomycin(Gibco/BRL)이 포함되도록 하였고, 배양액은 2~3일마다 교환해 주었다. 녹차로부터 추출한 EGCG (Sigma E4143, St. Louis, MO, USA)는 dimethyl sulphoxide(DMSO, Sigma D2650)에 100 µM stock으로 용해하여 사용하였으며 모든 well과 dish에는 DMSO의 농도를 일정하게 하였다.

세포 증식 실험

EGCG 첨가 농도가 증가함에 따라, 인체 유방암세포 MDA-MB-231의 세포증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 세포는 24 well plate에 well 당 2.5×10^4 cells/mL 농도가 되도록 1 mL씩 분주하였다. 48시간 후, FBS를 첨가하지 않은 serum free medium(SFM, 0.1% BSA, 0.5 µg/mL transferrin, 5 ng/mL selenium)으로 교환하여 24시간 동안 starvation을 한 후, EGCG를 0, 5, 10, 20 µM로 SFM에 희석하여 배양하였다. 0, 24, 48, 72시간 후에 PBS 1 mL에 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma, USA] 1 mg을 희석한 용액 1 mL씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양시킨 후에 각 well에 iso-propanol 0.5 mL를 첨가하여 microplate reader(Molecular device, USA)를 이용하여 490 nm의 파장으로 흡광도를 측정하였다.

단백질 발현

세포 증식에 관련된 단백질의 발현을 알아보기 위해서 western blot을 실시하였다. MDA-MB-231 세포를 100 mm 배양접시에 10×10^6 cells/dish 농도로 분주하였다. 48시간 배양 후에, SFM으로 교체하여 24시간 동안 starvation 하였다. Starvation 후, SFM에 EGCG를 0, 5, 10, 20 µM 농도로

첨가하여 배지를 교환하고 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, 차가운 rinse buffer(PBS, 1 mM PMSF, 1 mM sodium orthovanadate)로 세척하고 세포를 모아 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상층 액을 제거하고 500 µm의 lysis buffer(137 mM NaCl, 20 mM Tris-Cl, 1% Triton X-100, 10% glycerol, 1 mM sodium orthovanadate, 1 mM PMSF, 20 µg/mL aprotinin, 10 µg/mL antipain, 10 µg/mL leupeptin, 80 µg/mL benzamidine HCl)를 첨가하고 40분간 4°C에서 end of end shaker로 배양시키고, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층 액을 모아 시료로 준비하였다. Bio-rad 방법으로 595 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질을 정량하였다. 시료 40 µg을 4~20% gradient sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)에서 단백질을 분리한 후, immobilon™-P membrane(Millipore, Bedford, MA, USA)에 4°C, overnight로 transfer하였다. Membrane은 5% milk/TBST(20 mM Tris-HCL, 137 mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH 7.4)로 실온에서 1시간 배양한 후, 알아보려고 하는 단백질의 antibody(ErbB₂, ErbB₃, p-AKT, Py-20: sataacruz, USA, Akt: cell signaling, USA)를 5% milk/TBST 또는 1% BSA/TBS-T에 희석하여 3~5시간 동안 실온에서 배양하였다. 그리고 TBST로 세척한 후 다시 anti-mouse Ig horseradish peroxidase/TBST (Amersham Buckinghamshire, England)로 1시간 동안 배양하였다. Supersignal^R West Dura extended Duration Substrate(Pierce, IL, USA)를 사용하여 발색시켜 X-Omat film으로 현상하여 high molecular weight marker (Amersham, England)로 분자량을 비교하여 분석하였다. 각 밴드는 imaging program인 Image J Launcher(provided by NCBI)를 이용하여 밀도를 측정하였다.

mRNA 발현

EGCG가 암세포의 증식억제에 영향을 주는 단백질의 mRNA 발현에도 영향을 미치는지 알아보았다. 단백질 발현과 같은 조건으로 MDA-MB-231 세포를 배양하였다. Tri reagent를 이용하여 RNA를 분리하고, OD₂₆₀/OD₂₈₀ ratio로 RNA purity(1.7~2.0)를 알아보고 OD₂₆₀ 값으로 RNA 농도를 계산하였다.

정량한 RNA sample 양이 3 µg이 되도록 tube에 준비하고 oligo DT(0.5 µg/µL, invitrogen) 1 µL를 포함하여 총량이 12 µL 되도록 멸균수를 첨가하였다. 이것을 70°C에서 10분 동안 배양하고 여기에 reaction buffer(5X first standard buffer 4 µL, 0.1 M DTT 2 µL, 10 mM dNTP mix 1 µL) 7 µL를 첨가하여 42°C에서 5분간 배양하고, superscript II reverse transcriptase(Invitrogen) 0.5 µL를 첨가하여 42°C에서 1시간 45분, 70°C에서 15분간 배양하였다. RNase (Invitrogen) 0.5 µL를 첨가하고 37°C에서 1시간 배양하고 80 µL의 DEPC water를 첨가하여 -20°C에서 보관하며 시료로 사용하였다. 준비된 시료에 2.5 λ mix buffer(10X PCR

Table 1. Sequence and RT-PCR program of proteins

Protein	Primer	Sequence	Cycle
β -actin	sense	5'-GTTTGAGACC TTCAACACCCC-3'	94°C 1 min 60°C 1 min 72°C 1 min
	antisense	5'-GTGGCCATCT CCTGCTCGAAGTC-3'	
ErbB ₂	sense	5'-GTTTCCCAGATGA GGAGGGCGCATGCC-3'	94°C 1 min 62°C 1 min 72°C 1 min
	antisense	5'-TTCTCCCCATCAG GGATCCAGATGCC-3'	
ErbB ₃	sense	5'-GGTGCTGGGCTT GCTTTT-3'	94°C 1 min 57°C 1 min 72°C 1 min
	antisense	5'-CGTGGCTGGGCTT GCTTTT-3'	
Akt	sense	5'-CAACTTCTCTGTC GCGCAGTG-3'	94°C 1 min 58°C 1 min 72°C 1 min
	antisense	5'-GACAGGTGGAAG AACAGCTCS-3'	

buffer, 50 mM MgCl₂ 10 mM dNTP mix, autoclaved water) 와 sense, antisense primer tag polymerase를 혼합하여 Table 1처럼 cycle을 실행한 후에 ethidium bromide로 염색한 1% agarose gel로 전기영동을 실시하였다.

통계처리

본 연구의 실험은 독립적으로 3번 반복하였으며, 결과는 SAS 통계 프로그램을 사용하여 평균과 표준편차를 구하였다. ANOVA 분석 후, $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 하여 처리 농도간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

세포 증식 억제 효과

EGCG가 인체 유방암 세포 MDA-MB-231의 증식에 어떤 영향을 미치는지 알아보았다. 그 결과 EGCG 처리 48시간 이후부터 EGCG의 농도 증가와 시간 변화에 따라서 세포 증식이 유의적으로 감소하였다(Fig. 1).

Human biliary tract carcinoma cell(TGBC-2, SK-ChA-1, NOZC-1)에 0, 25, 50, 100, 200 mM로 EGCG를 48시간 처리하였을 때 처리 농도가 증가할수록 농도별로 세포성장양이 모두 유의적인 감소를 보였으며, 특히 200 mM에서 27.2% (TGBC-2 cell), 16%(SK-ChA-1 cell), 10.1%(NOZC-1 cell)의 세포 성장 감소를 보였다(18). 또한 유방암 세포주인 MCF-7에 EGCG를 처리하였을 때에는 약 80%의 증식 저해 효과가 있어 EGCG가 세포 증식 억제에 효과가 높음을 알 수 있었다(17).

ErbB₂, ErbB₃의 단백질 및 mRNA 발현

세포 성장 신호를 전달하는 수용체인 ErbB₂, ErbB₃ 단백질의 발현을 알아본 결과 EGCG 첨가 농도가 10 μ m 이상일

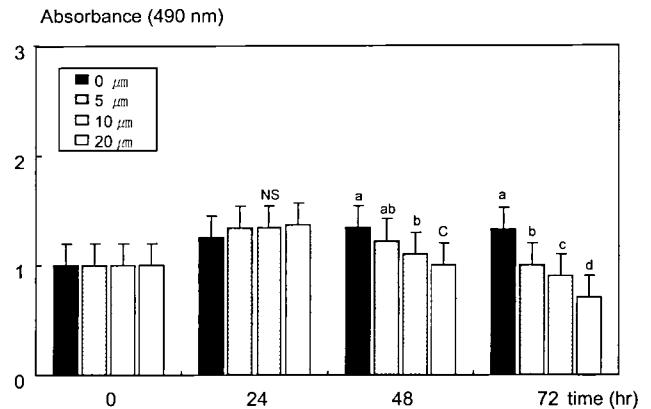


Fig. 1. Effect of EGCG on cell proliferation in MDA-MB-231 cells.

Each bar represents the mean \pm SD. Comparisons among different concentrations of EGCG that yielded significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

때 단백질 발현이 유의적으로 감소하였으며 mRNA 발현은 5 μ m 이상일 때 유의적으로 감소하였다(Fig. 2, 3). 또한 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231에서 발현되는 단백질의 tyrosine에 인산화를 알아보기 위해서 anti-phosphotyrosine antibody(Py-20)를 사용하여 인산화된 단백질 발현 정도를 알아보았다. 그 결과 발현되는 대부분의 단백질이 감소되는 경향을 보였으며 185 kDa, 200 kDa의 분자량을 가지는 ErbB₂, ErbB₃가 발현되는 부분이 EGCG의 처리 농도가 증가할수록 발현이 감소하는 경향을 통하여 ErbB₂, ErbB₃의 인산화가 EGCG에 의해 감소되었음을 확인하였다(Fig. 4).

세포 수용체인 EGFR중에서 ErbB₂(HER2)와 ErbB₃(HER)은 특정 ligands에 의해 활성화된다. 이들의 ligand binding은 homo-, heterodimerization receptor를 이루어서 tyrosine 잔기의 인산화와 downstream cell signaling을 활성화시킨다. 이러한 성장인자 수용체의 이상 과발현은 악성종양의 증식에 중요한 역할을 하며 종양생장의 초기 단계에서 발생한다(19). Masuda 등(20)의 연구에서 human head and neck 세포인 YCU-H891, YCU-N861에서 EGCG를 10~30 μ g/mL를 처리하였을 때 ErbB₂의 발현이 대조군에 비해 50% 감소됨을 보였다. 또한 대장암 세포 HT-29와 SW-480에 EGCG를 처리하였을 때에도 EGFR의 인산화가 억제되어 세포 내 증식 신호전달이 억제되었다(16). NF639(Her-2/neu-driven breast cancer cells)에서도 EGCG의 처리로 인해 EGFR의 발현이 유의적으로 감소하였다고 한다(21). Yeh 등(22)의 연구에서는 lipogenesis인 fatty acid synthases (FAS)가 MCF-7 세포에서 과발현되어 EGF의 발현을 증가시키지만 녹차 폴리페놀 성분이 FAS의 발현을 억제시켜 EGFR의 발현이 억제되었다고 보고하였다. MDA-MB-231 세포에서 EGCG가 EGFR의 발현에 미치는 영향은 보고된 바 없었는데 전이성이 강한 MDA-MB-231 세포에서 EGCG는 EGFR인 ErbB₂와 ErbB₃의 단백질과 RNA발현, 각 단백질

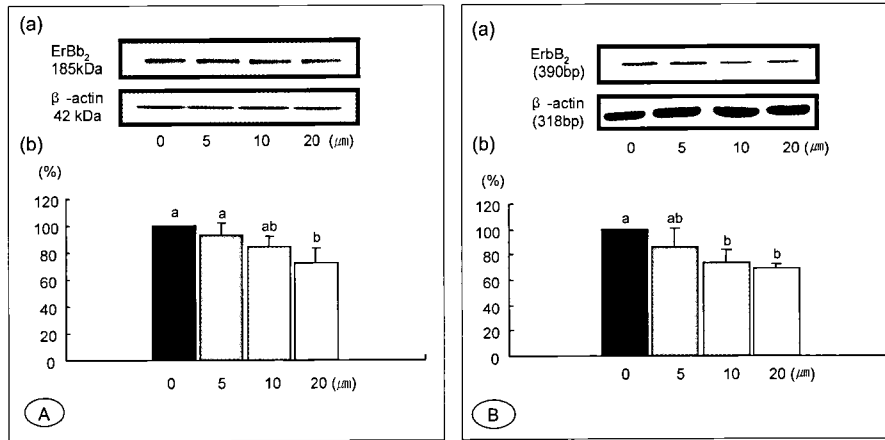


Fig. 2. Effect of EGCG on ErbB₂ protein and mRNA expression in MDA-MB-231 cells.

A: ErbB₂ protein levels; (a) photograph of ErbB₂ protein bands, (b) quantitative analysis of the bands. B: ErbB₂ mRNA levels; (a) photograph of the ErbB₂ mRNA bands, (b) quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean ± SD calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of EGCG that yielded significant difference (p<0.05) are indicated by different letters above each bar.

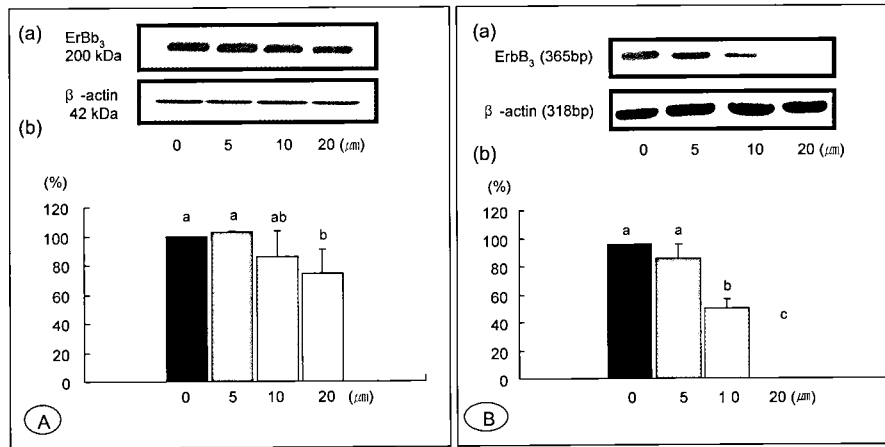


Fig. 3. Effect of EGCG on ErbB₃ protein and mRNA expression in MDA-MB-231 cells.

A: ErbB₃ protein levels; (a) photograph of ErbB₃ protein bands, (b) quantitative analysis of the bands. B: ErbB₃ mRNA levels; (a) photograph of the ErbB₃ mRNA bands, (b) quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean ± SD calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of EGCG that yielded significant difference (p<0.05) are indicated by different letters above each bar.

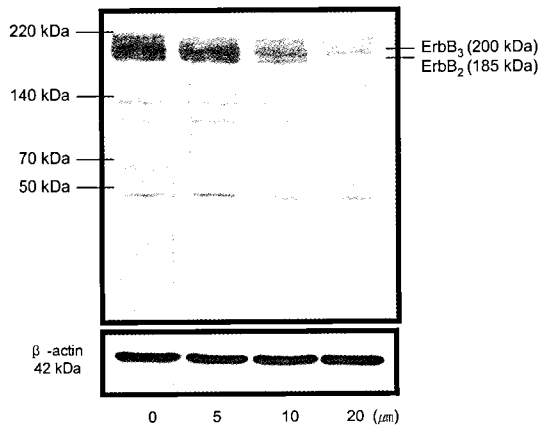


Fig. 4. Effect of EGCG on ErbB₂ and ErbB₃ phosphorylation in MDA-MB-231 cells.

의 인산화를 감소시키는 것을 확인하였다.

Akt 단백질 및 mRNA 발현

Akt의 경우 EGCG의 처리 농도가 10 μM 이상일 때, 단백질과 mRNA 발현이 유의적으로 감소하였다(Fig. 5). 또한 활성형인 p-Akt 발현은 EGCG 처리 농도가 10 μM 이상일 때 유의적으로 감소하였다(Fig. 6).

Akt는 세포증식 신호전달 경로에서 EGFR보다 하위단계에서 신호를 전달하며, 핵 안으로 증식 신호를 전달한다. EGFR의 신호를 전달 받은 phosphatidylinositol-3-kinase(PI3k)는 세포막 지질인 phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate를 인산화 시켜 serine-tyrosine kinase인 Akt와 같은 수많은 단백질과 연결하게 된다. 연결된 Akt는 신속하게 인산화 되어 핵 안으로 증식을 촉진하는 신호를 전달하

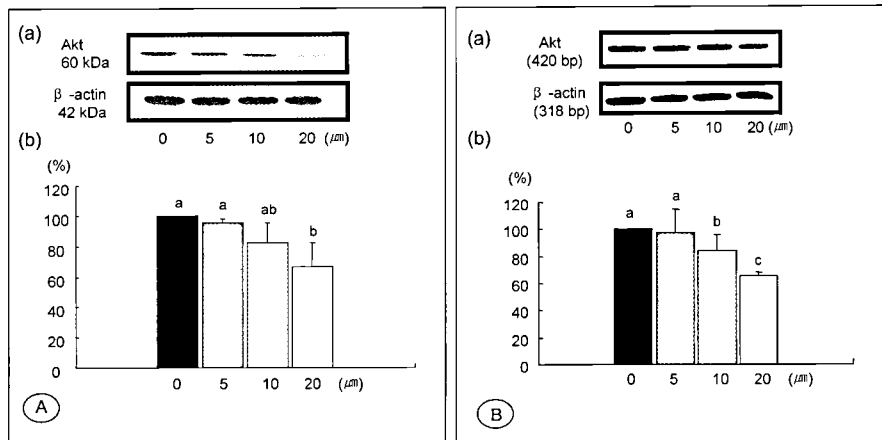


Fig. 5. Effect of EGCG on Akt protein and mRNA expression in MDA-MB-231 cells.

A: Akt protein levels; (a) photograph of Akt protein bands, (b) quantitative analysis of the bands. B: Akt mRNA levels; (a) photograph of the Akt mRNA bands, (b) quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean \pm SD calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of EGCG that yielded significant difference ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

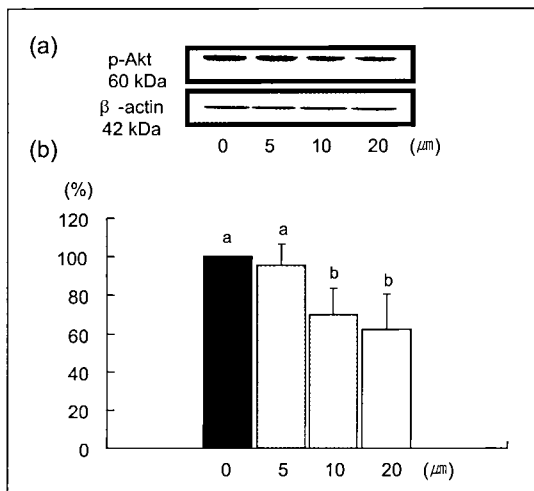


Fig. 6. Effect of EGCG on p-Akt protein expression in MDA-MB-231 cells.

(a) Photograph of p-Akt protein bands. (b) Quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean \pm SD calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of EGCG that yielded significant difference ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

게 된다(23). Pianetti 등(24)의 연구에 의하면 NF639 세포에 EGCG 처리로 인한 Akt와 PI3k 단백질 발현의 감소와 NK- κ B의 발현 감소는 EGFR의 발현 억제로 중재되어졌다고 보고하였다. Shimizu 등(16)의 연구에 따르면 대장암 세포주인 HT-29에 EGCG를 처리하였을 때 EGFR의 신호를 전달 받은 ERK와 Akt 단백질의 발현 또한 저해되었다고 보고하였으며 같은 조건에서 CDK1 promoter의 전사활동 또한 저해되었고 하였다. Sah 등(25)의 연구에 의하며 자궁경부암 세포에 EGCG를 처리하였을 때 Akt와 ERK의 발현은 감소하였으며 이들 변화는 cyclin E1과 CDK2 kinase의 활성이 감소되는 동안에 p53, p21^{WAF1}, p27^{KIP1} 발현 증가와 관련이

있다고 하였다. 본 연구에서도 Akt의 단백질과 mRNA 발현이 EGCG 처리로 인해 억제되었음을 확인하였다. 또한 활성화형인 p-Akt 단백질 발현도 감소되었다.

요 약

본 연구는 녹차의 폴리페놀 성분 중에서 항암효과가 가장 크다고 알려진 EGCG가 인체 유방암 세포 MDA-MB-231의 세포증식억제 기전을 알아보려 실시하였다. EGCG 처리 농도가 증가할수록 48시간 후에 유방암 세포의 증식이 유의적으로 감소되었다. 세포증식 관련 단백질인 ErbB₂, ErbB₃, Akt의 단백질 발현은 EGCG의 첨가농도 10 μM 이상일 때부터 유의적으로 발현이 감소하였고, mRNA 발현은 5 μM 이상부터 유의적으로 감소되었다. Py20, p-Akt로 단백질의 인산화를 알아본 결과 EGCG 첨가농도가 증가할수록 ErbB₂, ErbB₃, Akt의 인산화가 감소함을 확인할 수 있었다. 본 연구 결과를 종합해 보면 인체 유방암 세포 MDA-MB-231에서 EGCG는 암세포에서 과발현되는 ErbB₂, ErbB₃, Akt의 세포신호 전달과정 억제를 통하여 암세포의 증식을 억제시키는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 2005학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

문 헌

1. National Cancer Center. 1995 Cancer statistics in Korea.
2. National Cancer Center. 2002 Cancer statistics in Korea.
3. American Cancer Society. 2000. California Cancer Facts and Figures 2000. American Cancer Society California

- Division and Public Health Institute, Atlanta.
4. Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. 1996. Nurses's Health Study Research Group. Risk factors for breast cancer according to family history of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 88: 365-371.
 5. Wiseman RA. 2004. Breast cancer: critical data analysis concludes that estrogens are not the cause, however life-style changes and alter risk rapidly. *J Clin Epidemiol* 57: 766-772.
 6. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. 1993. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 15: 36-47.
 7. Yang JH. 2005. The Effects of foot reflexology on nausea, vomiting and fatigue of breast cancer patients undergoing chemotherapy. *J Korean Acad Nurs* 35: 177-185.
 8. Fujiki H. 2005. Green tea: health benefits as cancer preventive for humans. *Chem Rec* 5: 119-132.
 9. Matassarini-Jacobs E. 1989. The nursing licensure process and the NCLEX-RN. *Nurse Educ* 14: 32-35.
 10. Shimizu M, Deguchi A, Joe AK, Mckoy JF, Moriwaki H, Weinstein IB. 2005. EGCG inhibits activation of HER3 and expression of cyclooxygenase-2 in human colon cancer cells. *J Exp Ther Oncol* 5: 69-78.
 11. Rice-Evance C. 1999. Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants in vitro for chemoprevention in humans. *Proc Soc Exp Biol Med* 220: 262-266.
 12. Hermaez JF, Dashwood RH. 1998. Antimutagenic activity of tea towards 2-hydroxyamino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline: effect of tea concentration and brew time on electrophile scavenging. *Mutat Res* 402(1-2): 299-306.
 13. Yamakawa S, Asai T, Uchida T, Matsukawa M, Akizawa T, Oku N. 2004. (-)-Epigallocatechin gallate inhibits membrane-type 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP, and tumor angiogenesis. *Cancer Lett* 210: 47-55.
 14. Dong ZG, Ma WY, Huang C, Yang CS. 1997. Inhibition of tumor promoter-induced activator protein-1 activation and cell transformation by tea polyphenols (-)epigallocatechin gallate and theaflavins. *Cancer Res* 57: 4414-4419.
 15. Cao Y, Cao R. 1999. Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature* 398: 381.
 16. Shimizu M, Deguchi A, Lim JT, Moriwaki H, Kopelovich L, Weinstein IB. 2005. (-)-Epigallocatechin gallate and polyphenon E inhibit growth and activation of epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor-2 signaling pathways in human colon cancer cells. *Clin Cancer Res* 11: 2735-2746.
 17. Mittal A, Pate MS, Wylie RC, Tollefsbol TO, Katiyar SK. 2004. EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis. *Int J Oncol* 24: 703-710.
 18. Takada M, Ku Y, Hazuto K, Ajiki T. 2002. Inhibitory effect of epigallocatechin-3-gallate on growth and invasion in human biliary tract carcinoma cells. *World J Surg* 26: 683-686.
 19. Cross M, Dexter TM. 1991. Growth factors in development, transformation and tumorigenesis. *Cell* 64: 271-280.
 20. Masuda M, Suzui M, Lim JT, Weinstein IB. 2003. Epigallocatechin-3-gallate inhibits activation of HER-2/neu and downstream signaling pathways in human head and neck and breast carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 15: 3486-3491.
 21. Guo S, Lu J, Subramanian A, Sonenshein GE. 2006. Microarray-assisted pathway analysis identifies mitogen-activated protein kinase signaling as a mediator of resistance to the green tea polyphenol epigallocatechin 3-gallate in her-2/neu-overexpressing breast cancer cells. *Cancer Res* 15: 5322-5329.
 22. Yeh CW, Chen WJ, Chiang CT, Lin-Shiau SY, Lin JK. 2003. Suppression of fatty acid synthase in MCF-7 breast cancer cells by tea and tea polyphenols: a possible mechanism for their hypolipidemic effects. *Pharmacogenomics J* 3: 267-276.
 23. Cantley LC. 2002. The phosphoinositide 3-kinase family. *Science* 296: 1655-1657.
 24. Pianetti S, Guo S, Kavanagh KT, Sonenshein GE. 2002. Green tea polyphenol epigallocatechin-3 gallate inhibits Her-2/neu signaling, proliferation, and transformed phenotype of breast cancer cells. *Cancer Res* 62: 652-655.
 25. Sah JF, Balasubramanian S, Eckert RL, Rorke EA. 2003. Epigallocatechin-3-gallate inhibits epidermal growth factor receptor signaling pathway. Evidence for direct inhibition of ERK1/2 and AKT kinases. *J Biol Chem* 26: 12755-12762.

(2007년 5월 21일 접수; 2007년 8월 2일 채택)