

총 설

황 함유 아미노산의 간기능 보호 작용: 간세포암 예방의 가능성

고 광 석*

이화여자대학교 건강과학대학 식품영양학과

Hepatoprotective Functions of Sulfur Containing Amino Acids: Possibilities of Hepatocellular Carcinoma Prevention

Kwang Suk Ko*

Department of Nutritional Science and Food Management, College of Health Science, Ewha Womans University

Abstract While it is known that sulfur containing amino acids (SCAA) are very important in regulating hepatocyte growth and preventing liver-diseases, the fundamental molecular mechanisms of how they exert their hepatoprotective functions are not well known. Since it is widely understood that the hepatic concentrations of S-adenosylmethionine (SAME) in chronic liver disease patients are severely decreased, the pathophysiological importance of SAME and its downstream antioxidant, glutathione should be discussed in order to see a big picture of relationship between SCAA and liver diseases. Chronic SAME deficient mice have shown spontaneous hepatocellular carcinoma development due to impaired mitochondria functions with low levels of prohibitin1 protein, and through deficiency in many genes which are known to ameliorate genetic instability, such as APEX1 and DUSP1, the functions of which are recovered by SAME treatment. In this review, current knowledge of the basic concepts of the mechanisms through which SCAAs protect the liver will be discussed in detail. Also, a possible tumor suppressor in livers, prohibitin1, and its functional relationship with SAME will be discussed.

Keywords: sulfur-containing amino acids, S-adenosylmethionine, glutathione, prohibitin1, liver cancer

고등동물의 황 함유 아미노산 대사

인체를 구성하는 단백질의 기본 단위인 아미노산은 영양학적인 관점에서 크게 필수아미노산(indispensable amino acids), 비필수아미노산(dispensable amino acids) 및 조건부 비필수아미노산(conditionally dispensable amino acids)으로 구분할 수 있다. 각각의 아미노산은 구조적 중심이 되는 α -탄소(α -carbon)에 부착되어 있는 기능기(functional group)에 따라 분류될 수 있는데, 이 중 기능기에 황(sulfur)을 함유하고 있는 아미노산을 황 함유 아미노산(sulfur-containing amino acid, SCAA)라고 부른다. 이들 중 메싸이오닌(methionine)은 단백질 합성의 시작 코돈(codon)일 뿐만 아니라 진핵세포(eukaryotic cells) 대사의 중요한 메틸기(methyl moiety) 공여자(donor)인 S-adenosylmethionine(SAME)의 직접적인 전구체로서, 세포의 성장과 대사에 중요한 역할을 담당하는 필수 아미노산이다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 세포내로 유입된 메싸이오닌은 methionine adenosyltransferase(MAT)의 촉매작용에 의해 SAME로 전환된다. SAME의 생합성은 모든 포유류의 세포에서 일어나지만 주로 간에서 SAME의 생합성과 이용이 이루어는 것

으로 알려져 있다(1). 생산된 SAME는 DNA 합성에 필요한 polyamine의 합성, 메틸기의 공여를 위한 trans-methylation pathway, 그리고 강력한 항산화물질인 glutathione(GSH)과 생리조절물질인 taurine의 전구체로서 이용되는 cysteine을 합성하는 trans-sulfuration pathway에 이용된다(2). Homocysteine의 경우 betaine 또는 methyl-tetrahydrofolate(MTHF)로부터 메틸기를 공여받아 다시 재메틸화(remethylation)과정을 거쳐 메싸이오닌으로 환원되면서 메싸이오닌사이클(methionine cycle)을 완성하게 된다. 황 함유 아미노산 대사 중에서 가장 중요한 부분을 차지하는 대사는 SAME의 메틸기 공여대사(trans-methylation)라고 할 수 있다. 특히 간장에 유입된 50% 이상의 메싸이오닌이 SAME로 전환되며 간에서 발생하는 모든 trans-methylation 반응의 85%까지를 SAME가 수행한다는 사실로(3) 미루어 봤을 때, 동물체 대사에서도 SAME가 차지하는 중요성을 간과할 수 없다. SAME의 자세한 구조학적, 화학적, 생화학적 특징은 Mato와 Lu의 SAME에 관한 리뷰논문에서 확인할 수 있다(2).

황 함유 아미노산과 간질환과의 관계

황 함유 아미노산 대사 가운데 흥미 있는 사실은 만성적인 간 질환을 가진 환자들에 있어서 간에서의 SAME의 생합성 능력이 현저하게 저하되며, 이러한 현상은 간질환의 악화와 간암으로의 발전에 영향을 주는 것으로 이해되고 있다(1). 좀 더 구체적인 예로 간경변(cirrhosis) 환자의 많은 경우에서 고메싸이오닌혈증(hypermethioninemia)이 발견되었으며(4), 정맥으로 메싸이오닌을 주입할 경우 일반인에 비해 메싸이오닌이 혈류에서 제거되는 속

*Corresponding author: Kwang Suk Ko, Department of Nutritional Science and Food Management, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea
Tel: 82-2-3277-6859
Fax: 82-2-3277-2862
E-mail: kko@ewha.ac.kr
Received August 27, 2012; revised October 25, 2012;
accepted October 25, 2012

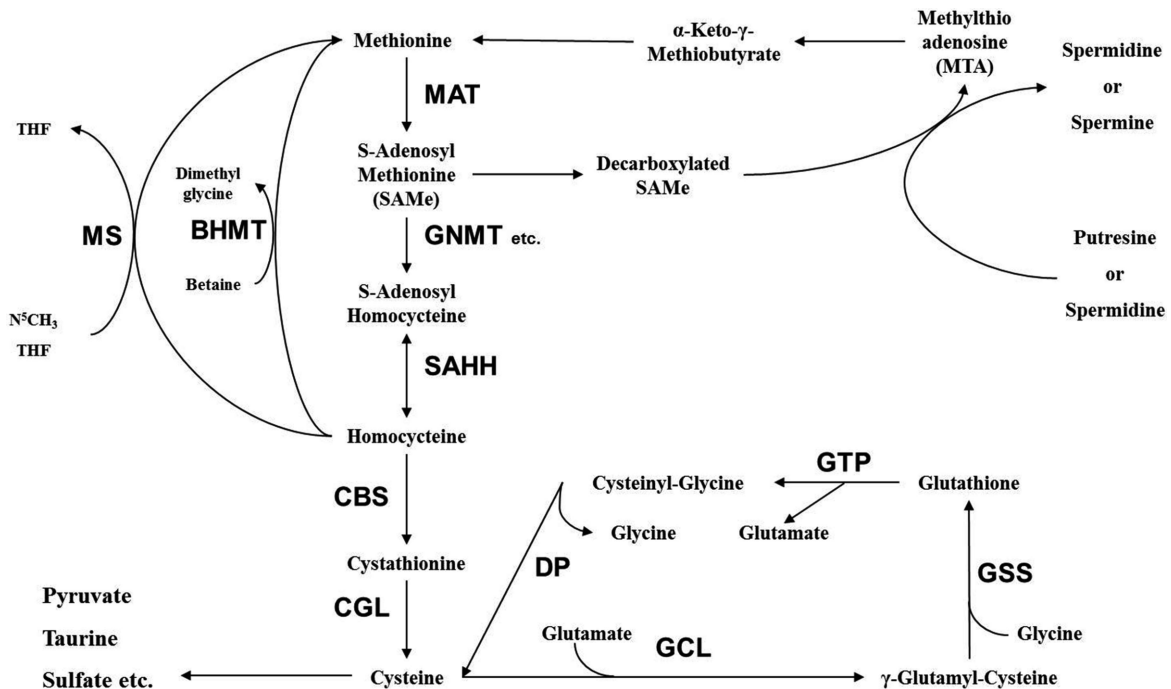


Fig. 1. Sulfur-containing amino acid metabolism in mammalian cells. Bold abbreviations indicate the name of the enzymes that catalyze the corresponding reactions. The numbers in the parentheses represent Enzyme Commission numbers (EC numbers) of the enzymes. BHMT (betaine-homocysteine methyltransferase, 2.1.1.5), CBS (cystathionine beta synthase, 4.2.1.22), CGL (cystathionine gamma lyase, 4.4.1.1), DP (dipeptidase, 3.4.13.19), GCL (glutamate cysteine ligase, 6.3.2.2) GNMT (glycine-N-methyltransferase, 2.1.1.20), GSS (glutathione synthetase, 6.3.2.3), GTP (gamma-glutamyl transpeptidase, 2.3.2.2), MAT (methionine adenosyltransferase, 2.5.1.6), MS (methionine synthase, 2.1.1.13), SAHH (S-adenosylhomocysteine hydrolase, 3.3.1.1)

도가 현저히 저하됨이 보고되었다(5). 간질환 환자에게서 나타나는 메싸이오닌 대사의 비정상적인 변화는 간장 내에서 메싸이오닌으로부터 SAMe로의 대사를 촉매하는 효소인 MAT I/III의 활성이 50% 이상 저하되는 데에 기인한다고 보고되었으며(6) 이에 따른 간 GSH의 농도 저하 또한 간질환 환자에게서 발견되었으나, 그 환자들에게 SAMe를 급여할 경우 간 GSH의 농도가 정상 수준으로 회복되었다(7). 따라서 간장의 MAT I/III를 발현시키는 *MAT1A* 유전자의 역할이 주목받기 시작했으며, 만성적인 SAMe 결핍을 유도할 수 있는 *Mat1a* 유전자 제거(*Mat1a*-KO) 생쥐는 현재 간암의 발병 원인 및 치료의 분자생물학적 메커니즘을 밝혀내는 연구에 현저한 도움을 주고 있다(8). 일반적인 간질환 뿐만 아니라 알콜 섭취에 의한 간질환에서도 *MAT1A*의 발현 저하 및 간 SAMe 농도의 저하가 관찰됨(9)을 고려할 때 SAMe의 간기능 보호 능력은 알콜의 섭취 여부와 관계 없이 발휘된다고 할 수 있다. *Mat1a*-KO 생쥐의 경우 일반 사료 섭취 시 생후 18개월령에 자연적으로 간세포암(hepatocellular carcinoma, HCC)을 발생하였는데 이러한 간세포암 발병의 분자생물학적 메커니즘으로는 증가된 Cytochrome P450 2E1(*Cyp2e1*)(10) 및 손상된 미토콘드리아(mitochondria)의 기능이 지적되었다(11). 또한 최신 연구에 의하면 *Mat1a*-KO 생쥐의 간에서 손상된 DNA를 치료하는 단백질인 apurinic/apyrimidinic endonuclease 1(APEX1)의 발현이 현저히 감소하였으며 SAMe의 급여가 APEX1 단백질의 안정성 회복에 도움을 주는 것으로 보고되었다(12). 또 다른 최신 연구에서는 *Mat1a*-KO 생쥐에서 mitogen-activated protein kinase(MAPK)의 일종인 extracellular signal-regulated kinase(ERK)의 발현이 증가하였으며, ERK 활성을 억제하는 단백질인 dual-specificity mitogen-activated protein kinase phosphatase(DUSP1)의 발현이 현저히 저해되는 것으로 나타났다(13). 같은 연구에서 SAMe의 급여가

DUSP1 단백질의 proteasomal 분해를 저해함으로써 DUSP1의 세포 내 안정성에 기여한다는 사실 또한 보고되었다(13). 하지만 이러한 연구들은 간세포의 성장조절 교란 및 DNA 손상에 의한 간암으로의 발전에 대한 일부 메커니즘을 설명할 뿐, 기존에 보고되었던 세포 내 미토콘드리아의 손상에 의한 간암 생성의 메커니즘에 대한 질문에는 확실한 대답을 줄 수 없었던 것은 사실이다.

만성적인 간질환 환자의 경우 그 병증의 원인과는 상관없이 언제나 산화적 스트레스(oxidative stress)의 증가를 수반한다(14). 황 함유 아미노산 대사물질인 GSH가(Fig. 1) 간에서 강력한 항산화 기전으로 간의 해독작용에 중요한 역할을 수행하므로, 간장의 GSH대사 이상 또한 간과하지 말아야 할 부분이다. 간은 장에서 유입된 그람-음성균(gram-negative bacteria)에서 유래되는 염증 유발 물질인 lipopolysaccharide(LPS)를 제거하는 중요한 역할을 담당한다. 이 과정에서 GSH의 항산화 능력은 매우 중요하며 실제 그 역할의 중심이기도 하다(15). 흔히 LPS에 의해 발생하는 내독소혈증(endotoxemia)은 간경변 환자에게서 많이 발생하는 데, 내독소혈증의 정도와 간 손상의 정도가 직접적인 정의 비례관계를 보인다고 한다(16). 뿐만 아니라 내독소혈증은 여러 가지 알콜 및 비알콜성 간질환 발병의 원인이 되므로(17) 내독소혈증을 예방 또는 완화할 수 있는 간의 방어 기전 및 황 함유 아미노산인 SAMe와 GSH의 간장 내 항상성에 대한 이해가 매우 중요하다. Ko 등(18)은 생쥐에 LPS를 주사할 경우 간 내 GSH의 농도는 감소하는 반면 SAMe의 농도는 증가하고 S-adenosylhomocystein(SAH)의 농도는 감소함을 확인하였다. 이러한 현상은 SAMe를 선처리한 생쥐에게서는 나타나지 않거나 그 정도가 현저히 감소하였기 때문에 SAMe의 강력한 간장 보호 효과는 간장의 GSH의 농도를 유지시키는 것에 의해 그 기능을 수행한 다는 것을 직접적으로

보여주는 결과이다(18). 이러한 GSH 농도의 유지 기능은 SAME가 GSH의 직접적인 전구체일 뿐만 아니라 GSH의 생합성을 조절하는 유전자들, glutamate cysteine ligase(GCL) 및 glutathione synthetase(GSS)의 mRNA 및 단백질의 발현을 조절하는 것으로 간장 보호 효과를 유지하는 것으로 알려졌다(18). 또한 SAME의 처리가 동물체의 xenotoxicity를 해독하는 제2상 효소들의 활성을 조절하는 것으로 알려진 전사인자(transcription factor)인 nuclear factor(erythroid-derived 2)-like 2(NRF-2)의 antioxidant response element(ARE)로의 결합을 촉진하여 제2상 효소군에 속하는 GCL 및 GSS의 발현을 촉진함으로써 그 역할을 수행하는 것으로 보고가 되고 있다(19).

새로운 간암억제 유전자로서의 Prohibitin1

앞에서도 언급한 *Mat1a*-KO 생쥐는 SAME의 생합성을 촉매하는 효소인 MAT I/III의 부족으로 인해 간장에 만성적인 SAME 결핍을 유도한다. 이러한 만성적인 간장 SAME의 결핍은 인간 간질환 환자의 SAME 결핍과 유사한 효과를 나타내며, 그 결과로 *Mat1a*-KO 생쥐는 일반 야생형 생쥐들에 비해 choline 부족 사료(choline-deficient diet)로 인한 간질환에 더욱 취약할 뿐만 아니라(8), 비알콜성지방간(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)을 형성하며(8) 최종적으로 간세포암으로 발전한다(10). *Mat1a*-KO 생쥐의 간세포암 발생의 분자생물학적 기전은 위에서 서술한 바와 같이 일부 밝혀 졌으나, 미토콘드리아 손상으로 인한 정확한 병태생리학적 기전 변화에 대해서는 연구가 없었던 실정이다. 최근 Ko 등은 만성적인 SAME 결핍으로 인한 간암 발생 기전을 Prohibitin1 (PHB1) 단백질을 통하여 설명하려는 시도를 하였다(20).

Prohibitin1은 주로 미토콘드리아의 inner membrane에 위치한 단백질로서, 알려진 주요 기능은 미토콘드리아에서 생산된 단백질을 안정화 시키는 chaperone의 역할이다(21). PHB1이 처음 발견될 당시에는 세포의 항증식(antiproliferative) 기능을 가지고 있는 것으로 보고되었고 항암단백질(tumor suppressor)로 인식되어졌다(22). 그러나 계속된 후속연구에 의하면 많은 암에서 PHB1의 발현이 증가되는 현상이 관찰됨에 따라 항암단백질로서의 PHB1의 위상은 현저히 논란이 되어왔다(23). 하지만 간에서의 PHB1의 역할은 현재까지 많은 연구가 진행되어 있지 않은 상태이며, 더욱이 스스로 간암을 형성하는 모델인 *Mat1a*-KO 생쥐의 경우 태어난 직후부터 계속적으로 간 내 PHB1 단백질의 발현 정도가 일반 야생형 실험생쥐의 경우에 비해 현저히 낮은 것을 보여 주었다(8). 이에 Ko 등(20)은 PHB1의 결핍이 간질환 발생에 영향을 주는 지를 확인하고자 간 특이적 *Phb1*-KO 생쥐(liver-specific *Phb1* KO mouse)의 제작에 착수하였고, 그 결과 간 특이적 *Phb1*-KO 생쥐의 제작에 세계 최초로 성공하였다(20). 일반적인 *Phb1*-KO 생쥐 모델은 태어나기 전에 모두 사망하기 때문에 기관 특이적 KO 생쥐의 제작은 본 연구에 필수적이었다(Lexicon Knockout Mice Phenotype Data Summary NIH-1165; www.informatics.jax.org/external/ko/lexicon/ 2210.html). 간 특이적으로 *Phb1*이 제거된 생쥐는(이하 *Phb1*-KO) 탄생 시점부터 야생형 생쥐에 비해 현저히 체장(體長) 및 체중이 작았으며, 병리학적인 hematoxylin and eosin 염색결과 괴사와 면역세포의 간내 침투가 증가하였으며 bile duct metastasis, anisocytosis 및 dysplastic nodule 또한 관찰되었다(20). *Phb1*-KO의 특이한 점은 생후 3주령에 이미 glutathione S-transferase Pi(GST Pi)와 OV6와 같은 preneoplastic marker에 양성반응을 보였으며 생후 8개월령부터 간세포암이 관찰되었다는 점이다(20). 생쥐의 일반 간세포주인 AML12

세포를 이용한 *in-vitro* 실험을 통해 PHB1이 전사인자 E2F1의 cyclin D1 promoter 지역 결합을 조절하는 것으로 밝혀졌으며, small interference RNA(siRNA)를 이용하여 *Phb1* mRNA를 knock down 시킬 경우 AML12 세포의 증식이 증가하였고, 같은 세포에 *Phb1*을 과발현(overexpression) 시킬 경우 정반대의 결과를 나타내었다. 결론적으로 *Phb1*-KO 생쥐 및 일반간세포주를 이용한 실험에서 PHB1이 최소한 간에서는 항암단백질로서의 기능을 할 것이라는 가능성이 최초로 밝혀졌다(20).

현재 *Phb1*의 항암유전자로서의 기능은 아직 논란의 여지가 있는 것은 사실이다. *Phb1*과 간질환에 관한 최신 연구를 보면 그 대립이 뚜렷하게 구분이 된다. Ko 등(20)을 비롯해 Chen 등(24), Fujinaga 등(25), 그리고 Wang 등(26)은 PHB1의 결핍 또는 그 기능 장애가 간암 발생의 원인이라 결론 내렸다. 특히 Fujinaga 등(25)은 C형간염바이러스(HCV)의 간질환 발생 기전을 HCV 코어 단백질이 PHB1 단백질과 결합해 PHB1의 chaperone기능을 저해함으로써 발생하는 것으로 설명하였다. 이는 *Phb1*이 일반적인 간암 발생 과정 뿐만 아니라 C형간염바이러스에 의한 간암 발생 기전에도 영향을 미친다는 증거를 제시한 중요한 연구라고 할 수 있다. 하지만 이와 반대로 Yoo 등(27), Snchez-Quiles 등(28), Kakehashi 등(29) 그리고 Xu 등(30)은 그들의 연구에서 PHB1의 증가와 간암의 발생을 보고하였다. 한 가지 흥미로운 특징은 *Phb1*의 anti-cancer 효과를 보고한 연구는 모두 *in-vivo* 실험 또는 일반 간세포주(normal liver cell line)를 사용한 실험이었으며, *Phb1*의 pro-cancer 효과를 보고한 연구는 거의 모두 이미 변형된(transformed) 간암세포주(liver cancer cell line)를 사용하였다는 점이다. 다시말해 일반 간세포에서는 *Phb1*의 존재가 간세포의 성장을 억제하고 간세포의 정상적 기능을 제어하는 역할을 하지만 암으로 변형된 간암세포에서는 그 기능이 정상 간세포에서와는 현저히 다를 가능성을 암시한다고 할 수 있다. 가장 최근에 발표된 Snchez-Quiles 등의 *Phb1*과 간질환에 관한 *in-vivo* 연구(31)에 의하면 *Phb1* 이형접합체 생쥐(*Phb1*-heterozygote)는 *Mat1a*-KO 생쥐와 마찬가지로 choline 및 메싸이오닌 부족 사료 급여 시 간내 염증과 지방간에 취약할 뿐만 아니라 염증 유발 유전자 및 세포 증식에 관련된 유전자들 또한 증가한다고 한다. 한 가지 흥미로운 사실은 같은 연구실에서 발표된 간암세포주를 사용한 또 다른 *in-vitro* 연구(28)에서는 정 반대의 결과를 나타내었기 때문에 변형되지 않은 간 세포에서의 *Phb1*의 기능과 이미 변형된 간암세포주에서의 *Phb1*의 세포학적인 기능적인 차이가 있다는 가설을 더욱 뒷받침해 준다고 할 수 있다. 현재까지 PHB1의 기능을 인간 간질환 또는 간암 환자에게 적용한 실험은 전무하다. 따라서 PHB1의 기능 조절을 통한 간질환 치료에의 응용은 아직까지는 그 확실성이 결여되어 있는 것은 사실이다. 하지만 인간 간질환에서의 PHB1 발현 수준의 연구 및 그 기전 연구가 후속되어질 때 새로운 간질환 치료의 타겟으로서의 매력은 충분하다고 할 수 있겠다.

영양 조절을 통한 간기능 보호의 가능성

지금까지 간기능을 보호하는 대표적인 기전은 제2상 효소들의 발현을 촉진시켜 간장의 항산화 기능을 증가시키는 것이다. 실제로 Surh의 총설(32)에 의하면 주위에 흔히 사용되는 기능성 식품들인 curcumin(강황 또는 울금), caffeic acid phenethyl ester(CAPE, 벌꿀), sulphoraphane(브로콜리), 6-(methylsulfinyl)hexyl isothiocyanate(6-HITC, 와사비) 등은 세포질 내의 전사인자 NRF-2의 세포핵 내로의 이동을 도와 DNA 상의 ARE와의 결합을 촉

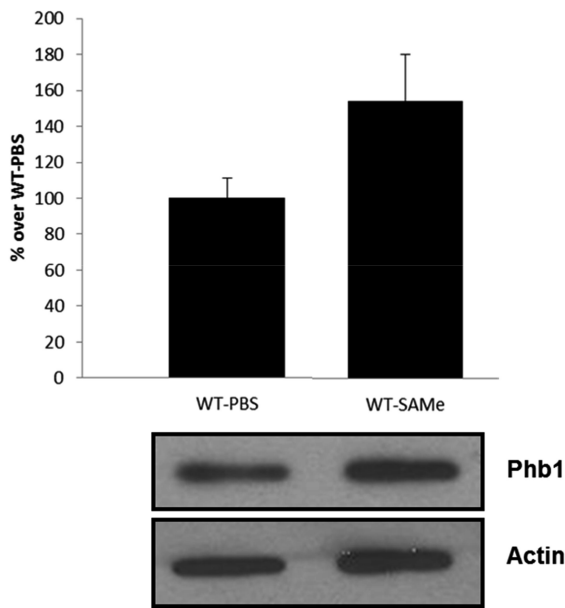


Fig. 2. Western blots of prohibitin1 (Phb1) and beta-actin (Actin) from the protein of wildtype mouse whole livers that fed PBS or S-adenosylmethionine (SAMe) for 2 weeks by oral gavage. Upper panel represents densitometric values of the western blots (bottom panel). The values are expressed as mean \pm SEM (n=4 each group)

진하며, 이로 인하여 제2상효소들을 생산해내는 단백질의 발현을 증가시킨다고한다(32). 앞서서도 언급한 바와 같이 SAMe 역시 같은 기전을 통하여 간 내 GSH의 생성을 촉진할 수 있으며(19), 다른 기능성 물질들과는 차별적으로 SAMe 자체가 GSH의 전구 물질이라는 점에서 SAMe의 항산화 물질로서의 효능은 다른 물질들에 비해 우위에 있다고 예상할 수 있다. 간질환 환자의 SAMe 생산능력은 정상인에 비해 현저히 낮다는 사실은 잘 알려져 있다(1). 따라서 간질환 환자의 병증 치료에 도움을 주기 위해서는 간장 내 SAMe의 수준을 향상시키거나 SAMe 결핍으로 인한 하위 대사의 변화에 영향을 줄 수 있는 영양학적인 노력이 필요할 것이다. 현재 본 연구실에서 진행 중인 간장 내 *Phb1* 대사의 후속 연구에 의하면 야생형 생쥐에게 SAMe를 급여했을 때 간 내 *Phb1* 단백질 발현 수준이 증가하는 것을 발견하였다(Fig. 2, 미 발표자료). 이와 같은 결과는 향후 SAMe를 이용한 *PHB1*의 발현 조절을 통해 간질환 환자의 증상 완화 또는 치료의 목적으로 SAMe를 사용할 당위성을 충분히 제공한다고 할 수 있겠다.

결 론

황함유 아미노산은 인체 영양에 반드시 필요한 필수 아미노산이다. 특히 메싸이오닌 결핍은 동물체의 성장 저해 뿐만 아니라 여러가지 간질환(33) 및 우울증의 증상(34)을 나타낸다고 보고되었다. 이와 같은 현상은 *Mat1a*-KO 생쥐에서 나타나는 현상과 유사하기 때문에 간장 보호를 위한 적절한 수준의 황함유 아미노산의 영양은 매우 중요하다. 그 이유는 과도한 양의 메싸이오닌은 인체 내 독성을 야기할 수 있기 때문이다. 실제로 SAMe의 만성적인 결핍은 간암을 유발하지만 만성적인 과도한 양의 SAMe 또한 간암을 유발하는 것으로 보고가 되어져 있다. Martínez-Chantar 등(35)에 의하면 간에서 SAMe를 제거하는 효소인 glycine-N-methyltransferase(*GNMT*)를 유전자적으로 제거했을 때 간 내

SAMe의 농도는 현저히 증가하며 지방 침착 및 간세포암으로 발전된다고 한다. 결론적으로 영양학적인 관점에서 적절한 수준으로 영양소를 조절하는 것이 질병의 예방 및 치료의 가능성을 높이는 가장 좋은 방법이라고 할 수 있겠으며, 또한 영양의 조절을 통해 병증을 유발할 수 있는 유전자의 변화를 추적해 영양학적인 치료의 개념을 적용한다면 여러가지 만성질환의 예방 및 치료에 도움을 줄 것으로 예상된다. 특히 SAMe의 수준을 조절함으로써 발생되어지는 하위 메커니즘의 분자생물학적인 조절을 통해 간질환의 예방 또는 완화에 도움을 줄 수 있을 것이라고 사료된다.

감사의 글

본 총설의 자료와 실험에 도움을 주신 University of Southern California 의과대학의 Dr. Shelly C. Lu께 감사를 드리며, 본 총설은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 연구비(2012R1A1A1012261)의 지원을 받아 쓰여진 것임을 밝힌다.

문 헌

- Lu SC, Mato JM. S-Adenosylmethionine in cell growth, apoptosis and liver cancer. *J. Gastroen. Hepatol.* 23(suppl 1): s73-s77 (2008)
- Mato JM, Lu SC. Role of S-adenosyl-L-methionine in liver health and injury. *Hepatology* 45: 1306-1312 (2007)
- Mudd SH, Poole JR. Labile methyl balances for normal humans of various dietary regimens. *Metabolism* 24: 721-735 (1975)
- Horowitz JH, Rypins EB, Henderson JM, Heymsfield SB, Moffitt SD, Bain RP, Chawla RK, Bleier JC, Rudman D. Evidence for impairment of transsulfuration pathway in cirrhosis. *Gastroenterology* 81: 668-675 (1981)
- Kinsell LW, Harper HA, Barton HC, Michaels GD, Weiss HA. Rate of disappearance from plasma of intravenously administered methionine in patients with liver damage. *Science* 106: 589-594 (1947)
- Tsakamoto HC, Lu SC. Current concepts in the pathogenesis of alcoholic liver injury. *FASEB J.* 15: 1335-1349 (2001)
- Vendemiale G, Altomare E, Trizio T, Le Grazie C, Di Padova C, Salerno MT, Carrieri V, Albano O. Effects of oral S-adenosyl-L-methionine on hepatic glutathione in patients with liver disease. *Scand. J. Gastroentero.* 24: 407-415 (1989)
- Lu SC, Alvarez L, Huang ZZ, Chen L, An W, Corrales FJ, Avila MA, Kanel G, Mato JM. Methionine adenosyltransferase 1A knockout mice are predisposed to liver injury and exhibit increased expression of genes involved in proliferation. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 5560-5565 (2001)
- Lee TD, Satta ME, Mendler MH, Bottiglieri T, Kanel G, Mato JM, Lu SC. Abnormal hepatic methionine and GSH metabolism in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 28: 173-181 (2004)
- Martnez-Chantar ML, Corrales FJ, Martnez-Cruz LA, Garca-Trevijano ER, Huang ZZ, Chen L, Kanel G, Avila MA, Mato MJ, Lu SC. Spontaneous oxidative stress and liver tumors in mice lacking methionine adenosyltransferase 1A. *FASEB J.* 16: 1292-1294 (2002)
- Santamara E, Avila MA, Latasa MU, Rubio A, Martin-Duce A, Lu SC, Mato JM, Corrales FJ. Functional proteomics of non-alcoholic steatohepatitis: mitochondrial proteins as targets of S-adenosylmethionine. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 3065 - 3070 (2003)
- Tomasi ML, Iglesias-Ara A, Yang H, Ramani K, Feo F, Pascale MR, Martnez-Chantar ML, Mato JM, Lu SC. S-adenosylmethionine regulates apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 stability: Implication in hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology* 136: 1025-1036 (2009)

13. Tomasi ML, Ramani K, Lopitz-Otsoa F, Rodriguez MS, Li TW, Ko K, Yang H, Bardag-Gorce F, Iglesias-Ara A, Feo F, Pascale MR, Mato JM, Lu SC. S-adenosylmethionine regulates dual-specificity mitogen-activated protein kinase phosphatase expression in mouse and human hepatocytes. *Hepatology* 51: 2152-2161 (2010)
14. Medina J, Moreno-Otero R. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. *Drugs* 65: 2445-2461 (2005)
15. Sun S, Zhaing H, Xue B, Wu Y, Wang J, Yin Z, Luo L. Protective effect of glutathione against lipopolysaccharide-induced inflammation and mortality in rats. *Inflamm Res*. 55: 504-510 (2006)
16. Bigatello LM, Broitman SA, Fattori L, Di Paoli M, Pontello M, Bevilacqua G, Nespoli A. Endotoxemia, encephalopathy, and mortality in cirrhotic patients. *Am. J. Gastroenterol.* 82: 11-15 (1987)
17. Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: Implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 2557-2562 (1997)
18. Ko KS, Yang H, Nouredin M, Iglesia-Ara A, Xia M, Wagner C, Luka Z, Mato JM, Lu SC. Changes in S-adenosylmethionine and GSH homeostasis during endotoxemia in mice. *Lab. Invest.* 88: 1121-1129 (2008)
19. Yang H, Ramani K, Xia M, Ko KS, Li TW, Oh P, Li J, Lu SC. Dysregulation of glutathione synthesis during cholestasis in mice: Molecular mechanisms and therapeutic implications. *Hepatology* 49: 1982-1991 (2009)
20. Ko KS, Tomasi ML, Iglesias-Ara A, French BA, French SW, Ramani K, Lozano JJ, Oh P, He L, Stiles BL, Li TW, Yang H, Martinez-Chantar ML, Mato JM, Lu SC. Liver-specific deletion of prohibitin 1 results in spontaneous liver injury, fibrosis, and hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology* 52: 2096-2108 (2010)
21. Nijtmans LG, de Jong L, Artal Sanz M, Coates PJ, Berden JA, Back JW, Muijsers AO, van der Spek H, Grivell LA. Prohibitin act as a membrane-bound chaperone for the stabilization of mitochondrial proteins. *EMBO J.* 19: 2444-2451 (2000)
22. McClung JK, Danner DB, Stewart DA, Smith JR, Schneider EL, Lumpkin CK, Dell'Orco RT, Nuell MJ. Isolation of a cDNA that hybrid selects antiproliferative mRNA from rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 164: 1316-1322 (1989)
23. Nijtmans LG, Sanz MA, Grivell LA, Coates PJ. The mitochondrial PHB complex: Roles in mitochondrial respiratory complex assembly, aging, and degenerative disease. *Cell. Mol. Life Sci.* 59: 143-155 (2002)
24. Chen XL, Zhou L, Yang J, Shen SP, Zhao SP, Wang YL. Hepatocellular carcinoma-associated protein markers investigated by MALDI-TOF MS. *Mol. Med. Rep.* 3: 589-596 (2012)
25. Fujinaga H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K. Hepatocarcinogenesis in Hepatitis C: HCV shrewdly exacerbates oxidative stress by modulating both production and scavenging of reactive oxygen species. *Oncology* 81(suppl 1): 11-17 (2011)
26. Wang B, Wang S, Shao C, Wang G, Li Y, Cai L. Proteomic characterization of the late and persistent effects of cadmium at low doses on the rat liver. *J. Appl. Toxicol.* doi: 10.1002/jat. 1757 [Epub ahead of print] (2011)
27. Yoo DR, Jang YH, Jeon YK, Kim JY, Jeon W, Choi YJ, Nam MJ. Proteomic identification of anti-cancer proteins in luteolin-treated human hepatoma Huh-7 cells. *Cancer Lett.* 282: 48-54 (2009)
28. Sanchez-Quiles V, Santamara E, Segura V, Sesma L, Prieto J, Corrales FJ. Prohibitin deficiency blocks proliferation and induces apoptosis in human hepatoma cells: molecular mechanisms and functional implications. *Proteomics* 10: 1609-1620 (2010)
29. Kakehashi A, Ishii N, Shibata T, Wei M, Okazaki E, Tachibana T, Fukushima S, Wanibuchi H. Mitochondrial prohibitins and septin 9 are implicated in the onset of rat hepatocarcinogenesis. *Toxicol. Sci.* 119: 61-72 (2011)
30. Xu Z, Wu J, Zha X. Up-regulation of prohibitin 1 is involved in the proliferation and migration of liver cancer cells. *Sci. China Life Sci.* 54: 121-127 (2011)
31. Sanchez-Quiles V, Segura V, Bigaud E, He B, O'Malley BW, Santamara E, Prieto J, Corrales FJ. Prohibitin-1 deficiency promotes inflammation and increases sensitivity to liver injury. *J. Proteomics.* 75: 5783-5792 (2012)
32. Surh YJ. Cancer Chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer* 3: 768-780 (2003)
33. Oz HS, Chen TS, Neuman M. Methionine deficiency and hepatic injury in a dietary steatohepatitis model. *Digest. Dis. Sci.* 53: 767-776 (2008)
34. Young SN, Shalchi M. The effect of methionine and S-adenosylmethionine on S-adenosylmethionine level in the rat brain. *J. Psychiat. Neurosci.* 30: 44-48 (2005)
35. Martinez-Chantar ML, Vazquez-Chantada M, Ariz U, Martinez N, Varela M, Luka Z, Capdevila A, Rodriguez J, Aransay AM, Matthiesen R, Yang H, Calvisi DF, Esteller M, Fraga M, Lu SC, Wagner C, Mato JM. Loss of the glycine N-methyltransferase gene leads to steatosis and hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology* 47: 1191-1199 (2008)