

식이 Capsaicin이 마우스의 주요 장기조직에서의 Proto-oncogenes Expression에 미치는 영향

김정미 · 한인섭* · 김병삼* · 유리나†

울산대학교 식품영양학과

*울산대학교 생물학과

Effect of Dietary Capsaicin on Proto-oncogenes Expression in Various in Mice

Jung-Mi Kim, In-Seob Han*, Byung-Sam Kim* and Rina Yu†

Dept. of Food and Nutrition, *Dept. of Biology, University of Ulsan, Ulsan 640-749, Korea

Abstract

Capsaicin(8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide: CAP) is a major ingredient of hot pepper that has been used as a spicy food additive, preservative, and medicine. In this study, we evaluated the effect of dietary CAP on the selected proto-oncogene(*c-jun*, *c-myc*, *H-ras*, *erbB*, *p53*) expressions in various tissues of mice. Male ICR mice were divided into four groups and fed the experimental diets containing CAP at the levels of 0, 5, 20 and 100ppm for four weeks. Steady state RNA levels in various tissues were measured by slot blot hybridization assay. *C-jun* expression level was enhanced in stomach tissue from mice fed 20ppm CAP and significantly reduced from mice fed 100ppm CAP. The *c-jun* expression levels were differentially altered in organ-specific manner. Tumor suppressor gene *p53* expression level appeared to be slightly increased in the liver from mice fed 20ppm CAP. These results suggested that dietary CAP differentially modulates *c-jun* and *p53* expression in various organs.

Key words: capsaicin, proto-oncogene expression, *c-jun*, *p53*

서 론

암유전자(oncogene)는 세포의 형질 전환(neoplastic transformation)을 유발시킬 수 있는 즉, 암을 일으킬 수 있는 유전자들이다. 한편, proto-oncogene은 모든 정상 세포에 존재하며 바이러스 유래인 v-oncogene과 아주 유사한 homology를 가지는 유전자로서, 이들 proto-oncogene이 비정상적으로 발현하게 되면 정상세포와는 기능이 다른 tumor 세포로 전이가 일어난다(1,2). 이들 proto-oncogene은 암종류에 따라 과다발현(overexpression)되는 정도와 종류들이 달라지는데, 각종 암과 암세포에서 특정 proto-oncogene 발현이 대폭적으로 증가한다고 보고되어 있다(3-9). 예를 들면, *c-myc*은 cell의 분화와 증식에 관여할 뿐만 아니라, 세포주기를 조절하는 등 중요한 역할을 하며(10), adenocarcinoma cell에서 그 발현이 증가한다(10). *C-erbB-2* gene은 mammary

cell의 기능적 분화와 세포 증식에 중요한 역할을 한다고 알려져 있는데(11), 유방암, 난소암, 폐암, 그리고 위암조직에서 overexpression된다(11,12). *C-myc*과 *c-jun*은 흰쥐의 myoblast에서 overexpression되며 (13), *c-jun*은 폐암 조직에서도 발현이 증가한다고 알려져 있다(14). 한편, 암억제 유전자(tumor suppressor gene) *p53*은 transcription factor로 작용하며, cell cycle에서 G₁기를 지연시켜 apoptosis를 일으키는데(8), *p53*의 mutation은 다양한 cancer에서 발견된다(15). 골육종, 유방, 뇌, 폐, 간, 피부종양에서 *p53*의 비정상적인 발현이 증가하며(15), 대부분의 결장직장암에서(8), 사람의 위암 세포에서도 mutant *p53*의 발현빈도가 높은 것으로 보고되어 있다(15).

자외선조사나 화학적인 발암물질은 특정 proto-oncogene을 비정상적으로 발현시킨다(16). 예를들면, 위암유발 물질인 N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine

† To whom all correspondence should be addressed

(MNNG)는 *c-myc*의 발현을 증가시킨다고 보고되어 있으며(17), aflatoxin에 노출된 경우, 사람의 간세포에서 암억제 유전자인 *p53*의 변이 형질의 발현이 증가된다고 보고되어 있다(17). 한편, 위암의 발생과 관련이 있을 것으로 우려되고 있는 고추의 매운맛 성분인 capsaicin (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide, CAP) 25mg/kg 을 SD rat에게 피하주사한 경우, 세포의 transcription factor로 알려져 있는 *c-jun*과 *c-fos*가 부신에서 발현이 증가한다고 보고 되어 있다(7). 그러나, 매운맛 성분 CAP이 *in vivo*에서 carcinogenesis에 관여하는지에 대해서는 아직도 논란이 많으며(18-21), CAP이 특정 proto-oncogene들의 비정상적인 발현 등 분자수준에서의 변화를 초래하는지에 대해서는 아직 연구가 미흡한 실정이다. 특히, 매운 음식을 통해 섭취 가능한 낮은 수준의 CAP이 proto-oncogene의 발현을 유도할 수 있는지에 대해서는 전혀 알려진 바가 없다.

본 연구에서는, 식이CAP이 생체에 미치는 영향에 대한 분자수준에서의 기초 정보를 확보하기 위해, 일상적인 식생활에서 섭취가능한 수준의 식이CAP이 마우스의 주요 장기조직 중 proto-oncogene의 발현정도에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

CAP은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였다. DNA조작에 사용된 제한효소들 중 EcoRI은 Amersham Life Science(UK)의 제품을 사용하였으며, ApaI, PstI, BamHI, PvuII, XbaI 등의 효소들은 Boehringer Mannheim(Germany)사의 제품을 사용하였다. 또한, DNA 조작에 사용된 Tris 시약은 International Biotechnologies (USA)사의 제품이며, ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt(EDTA), phenol, chloroform, isopropanol, agarose 등의 시약은 Sigma사(USA)의 제품을, ethanol은 Hayman Limited사(UK)의 제품을 사용하였다. RNA 조작 및 추출시에 사용한 diethyl pyrocarbonate(DEPC), 2-mercaptoethanol, sodium acetate, sodium citrate, lauryl sarcosine 등의 시약은 Sigma사(USA)의 제품을 사용하였으며, guanidine thiocyanate는 Fluka Biochemika(USA)의 제품을 사용하였다. PCR에 사용된 Taq polymerase는 대한 Medical사의 제품을 사용하였으며, Slot blot hybridization은 Boehringer Mannheim(Germany)사의 blocking reagent, CDP-StarTM, anti-digoxigenin-AP, digoxigenin-11-2'-deoxy-5'-triphosphate (DIG-11-dUTP)으로 수행하였으며, nylon membrane은

Amersham Life Science(UK) 제품을 구입하였다.

동물사육 및 사료조제

체중 20~30g 정도의 ICR mouse 수컷을 5마리씩 4 group으로 분류하여, 식이CAP을 각각 0, 5, 20, 100ppm의 농도로 사료에 섞어서 자유식이 형태로 동물에게 공급하며, 4주 동안 사육하였다. 동물사육용 사료(삼양사) 성분은 옥수수, 소맥, 대두박, 소맥분, 말분, 어분, (옥)글루텐, 밀배아, 대두유, 석회석, 식염, 인산칼슘, 비타민, 미네랄을 포함하고 있으며, 조단백질 23.2% 이상, 조지방 4.0% 이상, 조섬유 6.0% 이하, 조회분 10.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.45% 이상이었다. 미세입자로 분쇄한 사료에 미리 조제해둔 CAP용액을 농도가 0, 5, 20, 100ppm이 되도록 첨가하여 잘 혼합하여 실험용 사료로 사용하였다.

Total RNA 준비

사육종료 후 동물로부터 각 주요장기를 적출하였으며, 조직 중 total RNA는 guanidium thiocyanate-acid phenol-chloroform 추출방법을 사용하였다(22). 각 동물의 조직 1g을 denaturing solution(4M guanidine thiocyanate, 25mM sodium citrate, 0.5% lauryl sarcosine, 0.1M 2-mercaptoethanol)에 넣고 분쇄한 후, 여기에 2M sodium acetate 60μl, phenol 0.6ml, chloroform 120μl를 첨가시킨 다음 vortex하여 잘 섞어준 뒤 15분간 얼음에 넣어두었다. 이것을 14,000rpm, 40°C에서 20분간 원심분리시킨 후 조심스럽게 상층액을 취하여 phenol-chloroform extraction을 수행하였다. 상층액을 취해 0.6 vol의 isopropanol을 혼합한 다음 -20°C에서 3시간 이상 놓아두었다. 이것을 다시 14,000rpm, 4°C에서 20분간 원심분리하고 침전을 75% ethanol로 세척 후 DEPC용액을 첨가하여 완전히 용해시켰다. 여기에 8M LiCl를 첨가하여 total RNA를 분리한 후 -80°C 냉동고에 보관하였다. Total RNA량은 260nm 파장에서의 흡광도(O.D.)를 측정하여 total RNA(μg/μl)=O.D.×0.04×회석배율로서 계산하였으며, 0.2% formamide agarose gel에서 전기영동으로 확인하였다(23,24).

Probe의 준비

Plasmid를 추출하기 위한 *E. coli*의 배양을 위해서 circle-grow(Biol01 Inc.) 배지에 50μg/ml의 ampicillin을 첨가하여 사용하였고 37°C에서 150rpm으로 흔들어서 14시간 배양하였다. Plasmid를 추출한후, 각각의 probe(*erbB*, *c-jun*, *H-ras*, *c-myc*)를 제한효소(Apa I과

Pst I, BamH I, EcoR I, EcoR I, Pvu II, XbaI과 Pst I)로 37°C에서 절단하여 0.8% agarose gel에 전기영동하여 NA45 membrane(Schleicher & Schuell, U.S.A.)을 사용하여 분리하였다(25-27). pBluscript SK +/-vector도 probe와 동일한 제한효소를 사용하여 절단한 후 같은 방법으로 분리하였다. 분리된 DNA분자는 에탄올 침전으로 농축하여 probe DNA와 vector DNA의 분자량의 비율을 3 : 1로 적정하여 T4 ligase를 이용하여 16°C에서 2시간 ligation을 하였으며, 0.8% agarose gel 전기영동하여 ligation 여부를 확인하였다(27,28). Ligation된 plasmid를 -80°C에 보관된 40µl의 competent cell에 1µl 첨가한 뒤 progenator™ II (Hoefer scientific instruments)를 사용하여 375 voltage, 100 capacitance, 2500 µsec의 discharge interval의 조건에서 electroporation을 하였다(29). Electroporation을 한 sample에 500µl의 액체 circle-grow를 첨가하여 37°C에서 1시간 배양한 뒤 고체 circle-grow배지에 50µl의 시료를 도말해서 37°C, 150rpm으로 흔들어 주면서 15시간 배양하였다. Transformation에서 얻어진 colony 중 probe가 들어간 recombinant DNA를 선별하기 위해서 β-galactosidase의 기질과 유도체인 X-gal(30ug/ml)과 IPTG(30ug/ml)를 고체배지에 첨가하였다. 재조합으로 인해 Lac Z가 파괴된 white colony를 액체배지에 접종하여 15시간 37°C에서 배양한 후 일반적인 alkaline lysis방법으로 plasmid DNA를 추출하였다(30,31). 추출된 plasmid DNA는 특정 restriction enzyme을 사용하여 probe의 유무를 확인하였다(Fig. 1).

Genomic DNA 추출

P53 probe를 준비하기 위해 실험동물의 간조직으로부터

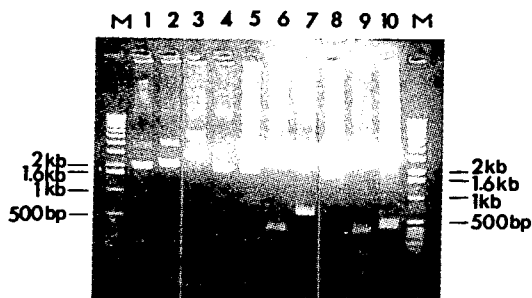


Fig. 1. Identification of insert size of cloned plasmids. M: size marker, 1: pBS-*bcl2*, 2: pBS-*erbB*, 3: pBS-*jun*, 4: pBS-*myc*, 5: pBS-*ras*, 6: Digested pBS-*bcl2* with Apa I and Pst I (400bp), 7: Digested pBS-*erbB* with BamH I (700bp), 8: Digested pBS-*jun* with EcoR I (2.0Kb), 9: Digested pBS-*myc* with Xba I and Pst I (500bp), 10: Digested pBS-*ras* with EcoR I (500bp).

터 genomic DNA를 추출하였다. 막자사발에 간장을 넣고 dry ice와 함께 조직이 균질하도록 잘게 부수었다. 잘게 부서진 조직을 microcentrifuge tube에 담고 500µl의 lysis buffer(5M guanidine thiocyanate, 25mM sodium citrate, 100mM 2-mercaptoethanol, pH 7.0)를 넣고 잘 녹였다. 조직이 균질하게 녹은 lysis buffer에 250µl의 phenol과 250µl의 chloroform을 넣고 잘 흔든다음, 14,000rpm에서 5분간 원심분리를 해서 상층액만 새 tube로 옮겼다. 다시 500µl의 chloroform을 넣어서 잘 흔든 후, 14,000 rpm에서 5분간 원심분리를 해서 상층액을 새 tube로 옮겼다. 옮긴 상층액에 동일한 양의 isopropanol을 넣고 -20°C에서 1시간 이상 둔 다음, 14,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리를 해서 상층액은 버리고 pellet을 70% EtOH로 2번 세정하였다. Pellet은 0.5mg/ml의 RNase A가 있는 TE buffer로 녹인 후 260 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 DNA 농도를 구했으며, 전기영동하여 상태를 확인하였다(22,27).

PCR에 의한 probe labelling

Proto-oncogene probe(*erbB*, *c-jun*, *c-myc*, *p53*)들을 DIG-dUTP(Boehringer Mannheim, Germany)와 함께 PCR mixture(dNTP, 10X reaction buffer, 10X enzyme dilution buffer, 5' primer, 3' primer, polymerase)에 첨가하여 capillary PCR방법으로 labelling하였다(Fig. 2)(32).

Slot blot hybridization

각 동물의 조직에서 추출해둔 total RNA를 각각 30 µg씩 취하여 5배씩 2번 연속적으로 희석해서 65°C에서 15분간 변성시킨 다음 slot manifold에 걸어 nylon membrane으로 옮긴 다음 UV cross-linker 방법으로 고정하였다(33). Nylon membrane을 prehybridization solution

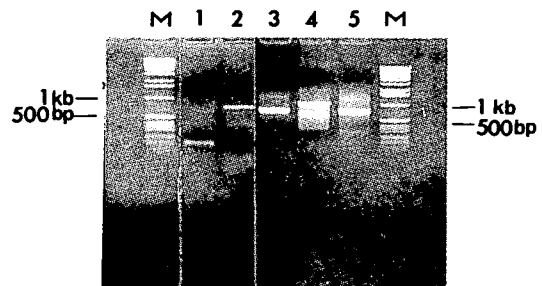


Fig. 2. Electrophoresis of amplified probe DNA by capillary PCR. T7 and T3 primers were used. M: size marker, 1: *bcl2*(400bp), 2: *erbB*(700bp), 3: *c-myc*(500bp), 4: *p53*(800bp), 5: *h-ras*(500bp).

(0.3% SDS, 50% formamide, 5X SSC, 2% blocking solution, 50mM phosphate buffer, 0.1% N-lauryl sarcosine)이 담긴 tube에 넣고 42°C에서 2시간 동안 pre-hybridization 시킨 후 DIG-dUTP로 labeling된 probe를 넣고 12시간 동안 hybridization을 수행하였다(33). Hybridization을 한 membrane을 2X SSC, 0.1X SDS로 room temperature에서 5분씩 2번, 0.1X SSC, 0.1X SDS로 55°C에서 10분간 2번, 실온에서 washing buffer (Buffer I, 0.3% Tween 20)로 5분간 washing을 한 후, buffer II (Buffer I with 1% blocking reagent)에 membrane을 담구어서 37°C에서 1시간 처리하였다. 다시 antibody solution(Buffer II with 1 : 10000 diluted antidigoxigenin-AP)을 1시간 처리한 뒤, buffer I(0.1M maleic acid, 0.15M NaCl, pH 7.5)으로 실온에서 15분간 2번, buffer III(0.1M Tris-HCl, 0.1M NaCl, pH 9.5)로 실온에서 2분간 2번 세정하고, CDP-star-solution(buffer III, 1 : 100 diluted CDP-star)을 처리하여 5분간 반응을 시킨 후 X-ray film (AGFA CURIX-RP1)에 감광하였다.

결과 및 고찰

고추의 매운맛 성분인 capsaicin(8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide : CAP)이 *in vivo*에서 carcinogenesis에 미치는 영향에 관해서는 아직도 논란이 분분하다. 예를들면, 식이CAP의 처리로 Swiss albino mice에 십이지장 종양이 발생하였다고 보고 된 반면(18), 발암물질을 처리한 쥐에게서 폐암 발생빈도는 CAP 투여시 감소하는 것으로 나타났으며(19-21), *fusarium*에 의한 식도암의 발생률도 CAP 투여에 의해 저해된다고 보고되어 있다(20). 이와같이 서로 상반되는 결과가 관찰되는 요인으로는 실험동물종, CAP 투여량, 투여방법 등이 연구자에 따라 크게 다르기 때문일 것으로 이해된다.

본 연구에서는 고추의 매운맛 성분인 CAP의 섭취가 암 유발과의 관련성에 대한 분자수준에서의 기초정보를 확보하기 위해, 한국인의 일상적인 식생활에서 섭취할 수 있는 수준의 식이CAP을 0, 5, 20, 100ppm의 농도로 ICR mouse에 자유식이 형태로 투여하여 4주 동안 사육한 후, CAP이 동물의 각 주요 장기조직 중의 proto-oncogene(*c-jun*, *p53*, *c-myc*, *erbB*, *H-ras*)의 발현정도에 미치는 영향을 살펴 보았다(Fig. 3, 4).

Control probe로 사용한 18SrRNA는 모든 조직에서 일정하게 발현되었으며(Fig. 3), *c-myc*, *erbB*, *H-ras* 등은 본 실험 조건하에서는 검출되지 않았다. Transcription factor로 작용하는 *c-jun* 유전자의 경우, 주요 장기 조직에 따라 발현 양상이 다르게 나타났는데

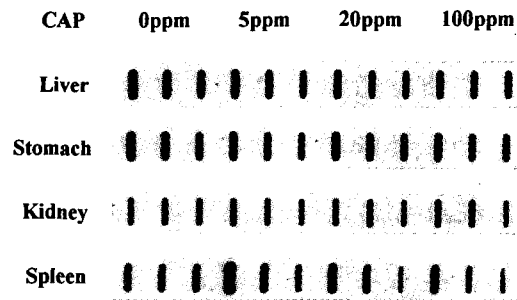


Fig. 3. Effect of dietary capsaicin on 18SrRNA expression level in various tissues of ICR mice. Total RNAs were isolated from liver, stomach, kidney, spleen in mice fed dietary CAP 0, 5, 20, 100ppm for 4 weeks. Each well contains 25µg, 5µg and 1µg of the total RNA, respectively.

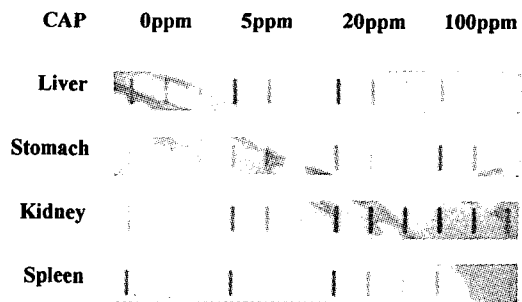


Fig. 4. Effect of dietary capsaicin on *c-jun* expression level in various tissues of ICR mice. Total RNAs were isolated from liver, stomach, kidney, spleen in mice fed dietary CAP 0, 5, 20, 100ppm for 4 weeks. Each well contains 25µg, 5µg and 1µg of the total RNA, respectively. Expression of *c-jun* mRNA was examined by salt blot hybridization method as described in "Materials and methods."

(Fig. 4), 간과 신장에서 CAP 처리에 의해 증가하는 경향을 나타내며, 비장에서는 감소하는 경향을 나타내었다(Table 1). 최근 Tomas Hokfelt 등은, CAP을 25mg/kg B.W.로 피하주사한 SD rat의 부신에서 *c-jun*과 *c-fos* oncogene의 발현이 증가한다고 보고하였다(7). 본 실험에서 사용한 20ppm의 낮은 농도에서의 식이CAP이 간과 신장의 *c-jun* oncogene의 발현을 증가시킨 것으로 보아, *c-jun* 발현은 그 투여량 및 투여 형태에 관계없이 CAP에 민감하게 반응하는 것으로 사료된다.

한편, 암의 발생은 하나의 암유전자의 발현이 증가함에 의해 일어나지 않는다(29). 예를들면, 위암의 경우, 발암과정에 있어서 *c-met*, *k-sam*, *c-erbB-2* 등의 tyrosine kinase 수용체 계열의 암유전자나 *ras* 암유전자의 활성화가 관여하며, 암억제 유전자인 *p53*과 APC

Table 1. Effect of dietary capsaicin on proto-oncogenes expression in various tissues of ICR mouse

| Organs | Dietary CAP (ppm) | Probe | | |
|---------|-------------------|---------|--------------|------------|
| | | 18SrRNA | <i>c-jun</i> | <i>p53</i> |
| Liver | 0 | +++++++ | ++ | - |
| | 5 | +++++++ | +++ | - |
| | 20 | +++++++ | ++++ | + |
| | 100 | +++++++ | +++ | + |
| Stomach | 0 | +++++++ | +++ | - |
| | 5 | +++++++ | ++++ | - |
| | 20 | +++++++ | ++++ | - |
| | 100 | +++++++ | + | - |
| Kidney | 0 | ++++ | ++ | - |
| | 5 | ++++ | +++ | - |
| | 20 | ++++ | +++ | - |
| | 100 | ++++ | +++ | - |
| Spleen | 0 | ++++ | +++ | - |
| | 5 | ++++ | ++++ | - |
| | 20 | ++++ | +++ | - |
| | 100 | ++++ | + | - |

Total RNAs were isolated from liver, stomach, kidney, and spleen in mice fed dietary CAP 0, 5, 20, 100ppm, respectively. 30µg of total RNA was analyzed for mRNA expression of *c-jun*, *p53* by slot blot analysis. The expression levels were determined by a scanning densitometry. 1× += 25 density unit

의 변이가 관련되어 있는 것으로 알려져 있다(34). 즉, 세포의 genetic instability에 의해 intestinal metaplasia가 발생하며, 이후에 *p53*, *k-ras*, *APC* 등의 유전자들에 변이가 일어나 adenoma로 발전되어진다. 여기에 *c-met* 암유전자가 관여하거나 *bcl2* 유전자의 손실이 있을 경우, 조기암단계로 이어지며, 계속적으로 암억제 유전자의 일종인 DCC 유전자가 손실되어 진전된 암으로 진행되고, *c-erbB-2*의 증폭이 일어나면, 전이가 일어나는 등의 다단계의 과정을 거치는 것으로 알려져 있다(34). 이와같이, carcinogenesis 과정은 서로 다른 몇몇 proto-oncogene들의 비정상적인 발현 뿐만 아니라 세포의 증식과정에 관여하는 여러 단계의 신호전달 과정에서 최후의 단계에 까지 비정상적인 상태가 이르렀을 경우 암이 발생하게 된다(29,16). 따라서, 현재 본 실험에서 관찰된 *c-jun*의 발현증가를 암과 관련지어 생각하기는 어려울 것으로 사료된다. 또한, 조직 병리학 검사결과 대조군과 식이CAP 투여군간에 차이가 없는 것으로 보아(미발표자료), 본 실험에서의 식이CAP에 의한 *c-jun*의 발현의 증가는 CAP의 다양한 생리작용, 예를 들어, 에너지 대사항진, 생리활성 펩타이드 방출 항진 등으로 인한 세포의 대사 활성화에 기인한 것이라 추정된다.

암억제 유전자인 *p53*은 tumor suppressor gene으로 DNA에 손상을 입었을 경우, 세포주기에서 G₁기를 정지시켜서 DNA를 회복할 수 있게 하거나, 종양으로 전환되었을 경우에는 그 cell의 apoptosis를 유도하는 것으로 알려져 있다(8). 본 실험에서 대조군에서는 *p53*의 발현이 검출되지 않았으나, CAP 20ppm, 100ppm투여군의 간장에서 *p53*의 발현이 증가하는 경향을 띠었다(Table 1). 간에서 식이CAP 처리에 의한 *p53*의 발현의 증가는 그 발현정도가 약하기는 하나 대조군에 비해 증가한 점으로 보아, CAP이 항종양 활성을 나타낼 가능성을 시사하는 것으로 추정된다.

결론적으로, 식이 CAP의 투여는 조직 특이적인 형태로 *c-jun*의 발현정도에 영향을 미치는 것으로 사료되며, 식이CAP에 의한 이들 특정 proto-oncogene의 발현 조절은 CAP의 생리활성과 밀접한 관련을 가지고 있을 것으로 추측되나, 이에 대하여는 향후 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

매운맛 성분(capsaicin, CAP)이 암발생에 미치는 영향에 대한 분자적인 수준에서의 기초 정보를 확보하기 위해, 식이CAP의 투여가 동물 조직 중 proto-oncogene의 발현에 미치는 영향을 조사하였다. ICR mouse를 4 group으로 분류하여 각각 식이CAP 농도가 0, 5, 20, 100 ppm이 되도록 조제한 먹이로 4주 동안 사육하였다. 사육기간 종료 후 동물들의 중요장기를 절출하여 total RNA를 분리하고, proto-oncogene(*c-jun*, *c-myc*, *H-ras*, *erbB*, *p53*)의 발현 수준을 slot blot hybridization assay를 통해 살펴 보았다. 이때, control probe로는 18SrRNA를 사용하였다. 그 결과, *c-jun* proto-oncogene의 발현은 각 주요 장기조직에 따라 다른 양상을 나타내었는데, 식이CAP 투여량이 증가함에 따라 간과 신장에서 그 발현이 증가하며, 위에서는 CAP 20ppm까지는 *c-jun*의 발현이 증가하다 100ppm 투여시에는 감소하는 것으로 나타났으며, 비장에서는 식이CAP 투여량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 한편, tumor suppressor gene인 *p53*의 경우, 간에서만 CAP 20, 100ppm 처리시 약하게 발현되었다. 이들 결과로 보아, 식이 CAP에 의한 proto-oncogene의 발현은 CAP 투여량에 따라 그 정도를 달리하며, 그 발현 정도는 조직 특이성을 나타내는 것으로 평가된다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 한국과학재단 산학협력 연구비

지원(과제번호 : 94-2-15-05-01-3)에 의한 결과이며, 본 연구의 협력기관인 울산 동강의료재단측에 감사드립니다. Probe 유전자를 분양해 주신 부산대학교 분자생물학과 김규원교수께 감사드립니다.

문헌

- Lewin, B. : Genes V. Oxford University Press, p.1181 (1994)
- Glover, D. M. and Hames, B. D. : Oncogenes. Oxford University Press(1989)
- Kim, S. W., Beauchamp, R. D., Townsend, C. M. and Thompson, J. C. : Vasoactive intestinal polypeptide inhibites *c-myc* expression and growth of human gastric carcinoma cells. *Surgery*, **110**, 270(1991)
- De Bortoli, M., Dati, C., Antoniotti, S., Maggiora, P. and Sapei, M. L. : Hormonal regulation of *c-erbB-2* oncogene expression in breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Moles. Biol.*, **43**, 21(1992)
- Dati, C., Antoniotti, S., Taverna, D., Perroteau, Z. and De Bortoli, M. : Inhibition of *c-erbB-2* oncogene expression by estrogens in human breast cancer cells. *Oncogenes*, **5**, 1001(1990)
- Taverna, D., Groner, B. and Hymes, N. E. : Epidermal growth factor receptor and *c-erbB-2* receptor activation all promote growth but have distinctive effects upon mouse mammary epithelial cell differentiation. *Cell Growth Diff.*, **2**, 145(1991)
- Pelto-Huikko, M., Dagerlind, A., Ceddatelli, S. and Hokfelt, T. : The immediate-early genes *c-fos* and *c-jun* are differentially expressed in the rat adrenal gland after capsaicin treatment. *Neuroscience Letters*, **126**, 163(1991)
- Levine, A. J. : Tumor suppressor genes. Scientific American Science and Medicine, p.28(1995)
- Greenwald, P., Nixon, D. W., Malone, W. G., Kelloff, G. J., Steron, H. R. and Witkin, K. M. : Concepts in cancer Chemoprevention Research. *Cancer*, **65**, 1483(1990)
- Tatsuta, M., Iishi, H., Baba, M., Nakaizumi, A., Uehara, H. and Taniguchi, H. : Expression of *c-myc* mRNA as an aid in histologic differentiation of adenoma from well differentiated adenocarcinoma in the stomach cancer. *Cancer*, **73**, 1795(1994)
- Bea, C. D., Park, S. E., Seong, Y. S. and Park, J. B. : The mechanism of *c-erbB-2* gene product increase in stomach cancer cell lines. *J. Korean Medical Science*, **2**, 153(1993)
- Mizutani, T., Onda, M., Tokunaga, A., Yamanaka, N. and Sugiaski, Y. : Relationship of *c-erbB-2* protein expression and gene expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer*, **72**, 2083(1993)
- Abshire, M. K., Buzard, G. S., Shiraishi, N. and Waalkes, M. P. : Induction of *c-myc* and *c-jun* proto-oncogene expression in rat L6 myoblasts by cadmium is inhibited by zinc preinduction of the metallothionein gene. *J. Toxicol. Environ. Health*, **48**, 359(1996)
- Szabo, E., Riffe, M. E., Steinberg, S. M., Birrer, M. J. and Linnolia, R. I. : Altered *c-jun* expression : An early event in human lung carcinogenesis. *Cancer Research*, **56**, 305(1996)
- Ozbun, M. A. and Butel, J. S. : *p53* tumor suppressor gene; structure and function, encyclopedia of cancer 2. Academic Press, INC., p.1240(1996)
- Cooper, G. M. : Elements of human cancer : Genetic alterations in tumor development. Jones and Bartlett Publishers. Inc., p.157(1992)
- Furihata, C., Yamakoshi, A., Hatta, A., Tatematsu, M., Iwata, H., Hayashi, K., Umezawa, K. and Matsushima, T. : Induction of *c-fos* and *c-myc* oncogene expression in the pyloric mucosa of rat stomach by *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine and taurocholate. *Cancer Letters*, **83**, 215(1994)
- Surh, Y. J. and Lee, S. S. : Capsaicin in hot chili pepper; carcinogen, co-carcinogene or anticarcinogene? *Fd. Chem. Toxic.*, **34**, 1(1996)
- Jang, J. J., Kim, S. H. and Yun, T. K. : Inhibitory effect of capsaicin on mouse lung tumor development. *in vivo*, **3**, 49(1989)
- Jang, J. J., Cho, K. J., Lee, Y. S. and Bae, J. H. : Different modifying responses of capsaicin a wide-spectrum initiation model of Fisher 344 rat. *J. Korean Med. Sci.*, **6**, 31(1991)
- Kang, J. Y., Alexander, B., Baker, F. and Man, W. K. : The effect of chilli ingestion on gastrointestinal mucosal proliferation and azoxymethane-induced cancer in the rat. *J. Gastroenterol Hepatol*, **7**, 194(1992)
- Chomczynskip, S. N. : Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem*, **162**, 156(1987)
- Goldberg, D. A. : Isolation and partial characterization of the drosophila alcohol dehydrogenase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **77**, 5794(1980)
- Leharch, H., Diamond, D., Wozney, J. M. and Boedtker, H. : RNA molecular weight determinations by gel electrophoresis under denaturing conditions, a critical reexamination. *Biochemistry*, **16**, 4743(1977)
- Brimboin, H. C. and Doly, J. : A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.*, **7**, 1513(1979)
- Ish-Horowicz, D. and Burke, J. F. : Rapid and efficient cosmid cloning. *Nucleic Acids Res.*, **9**, 2989(1981)
- Sharp, P. A., Sugden, B. and Sambrook, J. : Detection of two restriction endonuclease activities in *Haemophilus parainfluenzae* using analytical agarose-ethidium bromide electrophoresis. *Biochemistry*, **12**, 3055(1973)
- Weiss, B., Jacquemin-Sablon, A., Live, T. R., Fareed, G. C. and Richardson, C. C. : Enzymatic breakage and joining properties of polynucleotide ligase from *Escherichia coli* infected with bacteriophage T₄. *J. Biol. Chem.*, **24**, 4543(1968)
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D. : Molecular Biology of The Cell. Garland Publishing INC., p.1255(1994)
- Vieira, J. and Messing, J. : The pUC plasmids, on

- M13mp7-derived system for insertion mutagenesis and sequencing with synthetic universal primers. *Gene*, **19**, 259(1982)
31. Norrander, T., Kempe, T. and Messing, J. : Construction of improved M13 vectors using oligodeoxy nucleotide-directed mutagenesis. *Gene*, **26**, 101(1983)
32. Chien, A., Edgar, D. B. and Trela, J. M. : Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *J. Bacteriol*, **127**, 1550(1976)
33. White, B. A. and Bancroft, F. C. : Cytoplasmic dot hybridization simple analysis of relative mRNA levels in multiple small cell or tissue samples. *J. Biol. Chem.*, **257**, 8569(1982)
34. Morris, J. C. and Bruckner, H. W. : Gastric cancer: Molecular and cellular abnormalitis, encyclopedia of cancer. Academic Press, Vol. 2, p.681(1996)

(1996년 8월 26일 접수)