

## 하고초 에탄올추출물이 유방암 예방효소계에 미치는 영향

남경수 · 김한규 · 손윤희\*

동국대학교 난치병한양방치료연구센터 및 의과대학 약리학교실

### Effect of Ethanol Extract from *Thesium chinense* Tunczaninov on Chemopreventive Enzymes of Breast Cancer

Kyung-Soo Nam, Han-Gyu Kim, and Yun-Hee Shon\*

Intractable Diseases Research Center and Department of Pharmacology,  
College of Medicine, Dongguk University, Kyongju 780-714, Korea

**Abstract** – Ethanol extract from *Thesium chinense* Tunczaninov (TCTE) was tested for breast cancer chemopreventive activity by measuring 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) - induced cytochrome P450 1A1 activity, induction of quinone reductase and glutathione S-transferase, and glutathione level. TCTE significantly inhibited cytochrome P450 1A1 activity at the concentration of 90 and 150 mg/ml. TCTE induced quinone reductase activity in a dose-dependent manner in a concentration range of 3–150 mg/ml. In addition glutathione S-transferase activity and glutathione level were increased with TCTE in cultured murine hepatoma HepalC1c7 cells. These results suggest that TCTE has breast cancer chemopreventive potential by inhibiting cytochrome P450 1A1 activity, inducing quinone reductase and glutathione S-transferase activities, and increasing GSH level.

**Key words** – *Thesium chinense* Tunczaninov, cytochrome P450 1A1, quinone reductase, glutathione S-transferase, glutathione

암예방 (chemoprevention)이란 발암과정의 초기단계에서 암발생 (carcinogenesis)을 억제시키며, 암으로 진행된 것을 전환시키는 것을 의미한다.<sup>1)</sup> 최근 선진각국에서는 암연구를 암의 치료보다는 예방쪽으로 비중을 두고 있으며, 암예방 효과와 관련된 물질 탐색에 많은 노력을 기울이고 있다. 특히 유방암은 전 세계적으로 매년 약 100만명의 새로운 환자가 발생하며, 서구 여러나라에서 가장 빈번한 여성 사망의 원인질환 중 하나이다. 우리나라도 식생활 및 생활양식의 서구화, 출산율 및 모유수유 감소, 조기발견하는 환자수 증가 등으로 유방암 환자가 수년동안 지속적으로 증가하고 있고 여성암 중에서 자궁암, 위암 다음으로 많은 비중을 담당하였으나 1998년 복지부의 통계에 따르면 여성암 중 유방암이 차지하는 비율이 14%로 위암 다음으로 두 번째로 흔한 암이 되었다. 유방암 유발의 위험요인은 가족 중의 유방암에 대한 병력, 초경과 폐경의 나이, 첫임신의 나이등이 있지만 이러한 위험요인은 유방암환자의 약 25% 정도에서만 나타나므로<sup>2)</sup> 유방암 발생기전을 연구하여 새

로운 위험요인을 증명하는 것이 유방암 예방과 검정에 매우 중요하다.

발암물질 대사효소는 발암물질이나 성호르몬의 활성화에 관여한다. 그러므로 각개인의 발암물질 대사의 차이는 간이나 표적조직(target tissue)에서의 대사효소의 활성화도와 관계가 있으며 이러한 차이에 의해 유방암 발병의 감수성에도 차이가 있다. 특히 외부의 발암물질은 cytochrome P450 효소에 의해 대사되어 전자친화적물질 (electrophilic product), epoxides 또는 매우 독성이 강한 물질이 된다. 사람의 유선 상피세포에서 cytochrome P450 1A1, 2B6와 2E1의 활성이 검정되었으므로<sup>3)</sup> cytochrome P450 효소의 활성 억제효과는 곧 유방암예방의 효과를 의미한다.

Quinone reductase (QR)이나 glutathione S-transferase (GST)와 같은 phase II 효소의 유도는 화학적인 스트레스와 암 발생과정 중의 개시 (initiation)단계에서 돌연변이물질, 발암물질로부터 세포를 보호하는 주요 대사이다.<sup>4)</sup> 특히 GST 유전자는 사람의 유선조직에서 발현됨이 증명되었다.<sup>3)</sup> Glutathione (GSH)는 다단계 발암과정 중 개시 (initiation)와 촉진 (promotion)단계에서 세포를 보호하는 것으로 알려

\*교신지자(E-mail) : yhshon@dongguk.ac.kr  
(FAX) : 054-770-2477

저 있다. 즉, 개시단계에서는 발암물질 분자의 전자친화적 부위와 작용하여 독성이 강한 물질에 의한 DNA의 공격을 저해하는 역할을 하며, 촉진 (promotion) 단계에서는 산화적 유리 라디칼의 공격을 제한함으로써 세포를 보호하는 역할을 한다.<sup>5)</sup>

하고초 (夏枯草, *Prunellae Herba*)는 단향과 (Satalaceae)에 속한 땀싸리하고초<sup>6)</sup> (제비꽃) *Thesium Chinese Turczaninow*의 전초와 꿀풀과 (Labiatae)에 속하는 다년생 *Prunella Herba vulgaris* L.의 지상부 전초인 꿀풀과하고초<sup>7)</sup>를 지칭하며, 땀싸리하고초는 flavonoid 유도체, mannitol, K, Na, Ca, Mg, Al, Fe등을 함유하고 보간(補肝), 화농성유선염, 유방암, 해열, 소염, 이뇨, 정신불안, 명목(明目), 치창등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>8)</sup>

본 논문에서는 땀싸리하고초(*Thesium chinense* Turczaninow)의 에탄올추출물이 cytochrome P450 1A1 활성, QR과 GST 효소활성과 GSH 함량에 미치는 영향을 측정하여 하고초의 유방암 유발 억제활성을 측정하고자 한다.

## 재료 및 방법

**시약** - Minimum essential medium eagle's (MEM), antibiotics, flavin adenine dinucleotide (FAD), 3-4,5-dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), glucose-6-phosphate,  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate ( $\beta$ -NADP), glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase, menadione, sodium dodecyl sulfate, dicoumarol, crystal violet, NADP<sup>+</sup>, chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), glutathione reductase, triton X-100, Na-EDTA, bovine serum albumin (BSA), tween-20, 5, 5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), Tris-HCl, bovine serum albumin (BSA), 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), ethoxyresorufin, bicinchoninic acid protein kit는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, fetal bovine serum (FBS)은 JBI사 (Daegu, Korea)제품을 사용하였다. 기타 시약은 세포 배양용 및 분석용 특급시약을 사용하였다.

**시료제조** - 하고초는 동국대학교 부속한방병원에서 구입하였고, voucher specimen (no. 00T-36)은 동국대학교 난치병한양방치료연구소에 보관되어 있다. 땀싸리하고초 에탄올추출물은 하고초 60 g을 정량하여 정제수 400 ml을 가한 뒤 rotary evaporator (Büchi RE121, Switzerland)에서 3시간 전탕하여 추출하고 여과한 후 4°C, 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 감압농축하였다. 이 농축된 용액에 99.9% ethanol을 가하여 75%, 85%, 95%의 ethanol 용

액이 되게 하여 침전물을 여과하고, pH 7.4로 적정하였다. 저온에서 24시간 방치하여 여과 멸균하고 동결건조하였다. 90과 150 mg/ml은 30 mg/ml을 감압농축하여 사용하였고, 3과 15 mg/ml 농도는 증류수로 희석하여 조제하였다.

**세포배양** - 계대 보존 중인 생쥐의 간암세포인 HepalC17 세포를 10% fetal bovine serum이 포함된 MEM을 배양액으로 하여 CO<sub>2</sub> 배양기 (5% CO<sub>2</sub>, 37°C)에서 배양하였고, 배양액은 3 또는 4일 간격으로 교환해 주었다. 세포는 액체질소에 보존해 두었다가 같은 passage 번호를 가진 세포를 녹여서 사용하였으며, 세포의 생존은 trypan blue dye exclusion 방법으로 확인하였다.

**마이크로솜의 분리** - 흰쥐 (Sprague-Dawley계, 자성)의 간조직으로부터 마이크로솜의 분리는 Phol과 Fouts<sup>9)</sup>의 방법을 참고하여 실시하였고, 관류법으로 DMBA (30 mg/마리)를 처리하였다. 24시간 뒤 흰쥐를 diethyl ether로 질식사킨 다음, 복피를 절개하여 1.15% KCl 완충용액으로 간을 perfusion 시킨 후 적출하였다. 적출된 간은 다시 여러번 세척 후, 흡습지로 수분을 완전히 제거시켰다. 수분이 제거된 간은 마쇄 (Teflon Plotter Elvehjem Homogenizer, Glas-Col, U. S. A.)한 후, 1.15% KCl 완충용액을 첨가하여 마쇄액을 만들었다. 이 마쇄 균질액을 7,000×g에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 다시 77,000×g에서 60분간 원심분리하였다. 형성된 침전물은 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 재현탁하여 microsome 분획으로 실험에 사용하였다. 이상의 모든 과정은 4°C에서 실시하였다. Microsomal 단백질은 bicinchoninic acid protein kit를 사용하여 BSA를 표준 단백질 용액으로 표준 검량선을 구하고 그 양을 산출하였다.

**Cytochrome P450 1A1 활성 저해 측정** - Cytochrome P450 1A1 활성은 ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) 활성으로 측정하였다.<sup>10)</sup> 즉, 흰쥐로부터 분리한 microsomal protein (2 mg/ml) 200  $\mu$ l에 640  $\mu$ l의 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.5), 100  $\mu$ l의 BSA (10 mg/ml in Tris-HCl buffer), 20  $\mu$ l의 0.25 M MgCl<sub>2</sub>, 40  $\mu$ l의 cofactor solution, 2.5 unit의 glucose-6-phosphate dehydrogenase, 10  $\mu$ l의 substrate (1 mg of ethoxyresorufin in 10 ml of methanol), 10  $\mu$ l의 하고초 에탄올추출물을 농도별로 첨가하였다. 모든 시약들을 잘 섞은 후, 37°C에서 4분간 반응시키고, 2 ml의 methanol로 반응을 종결시켰다. 2,000×g에서 20분 동안 원심분리하여 상층액을 취하고, 형광분광광도계 (BIO-TEK SFM25, USA)로 측정 (550 nm excitation and 585 nm emission) 하였다. Positive control로는  $\beta$ -naphthoflavone을 사용하였고, negative control로는 증류수를 사용하였다. 이 실험은 3회 반복 실험으로 수행하였으며, 각각의 결과는 control에 대한 각 시료들의 저해도 정도를 percentage로 나타내었다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[ 1 - \frac{(\text{tested sample} - \text{blank})}{(\text{solvent} - \text{blank})} \right] \times 100$$

**Quinone reductase (QR) 활성 측정** - QR 생성 유도 효과는 Prochaska와 Santamaria (1988)의 방법<sup>11)</sup>을 수정하여 사용하였다. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 활성은 분당 환원된 MTT의 흡광도와 crystal violet의 흡광도에 의해 산출하였고, QR의 활성 유도는 대조군의 QR 활성에 대한 시료에 의한 활성의 비로 계산하였으며, 이때 도입된 3247 nmol/mg은 crystal violet과 MTT의 흡광계수를 결정하는 비례상수이다.

$$\text{Specific activity} = \frac{\text{Absorbance change of MTT/min}}{\text{Absorbance of crystal violet}} \times 3247 \text{ nmol/mg}$$

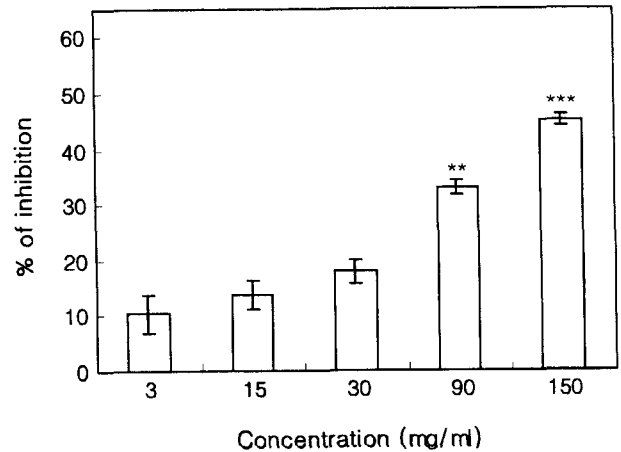
**세포내 glutathione S-transferase 생성량 측정** - GST 활성 측정은 윤<sup>12)</sup> 등의 방법으로 실시하여 3분간 흡광도의 증가를 380 nm에서 측정하였다. GST 활성은 slop/min/mg protein으로 계산하여 시료를 처리하지 않은 대조군의 GST 활성에 대한 시료를 처리한 GST 활성의 비로 나타내었으며, 세포내 총단백질은 bicinchoninic acid protein kit를 사용하여 BSA를 표준 단백질 용액으로 표준 검량선을 구하고 그 양을 산출하였다.

**세포내 glutathione 함량 측정** - 세포 내의 총 glutathione 함량은 윤<sup>12)</sup> 등의 방법으로 측정하였다. GSH 함량은 GSH 표준곡선으로 계산하였고, nmol/mg protein으로 표시하였으며, GSH 함량의 비는 대조군에 의한 GSH 양과 시료에 의해 생성된 GSH 양의 비율로 측정하였다. 세포내 총단백질은 bicinchoninic acid protein kit를 사용하여 BSA를 표준 단백질 용액으로 표준 검량선을 구하고 그 양을 산출하였다.

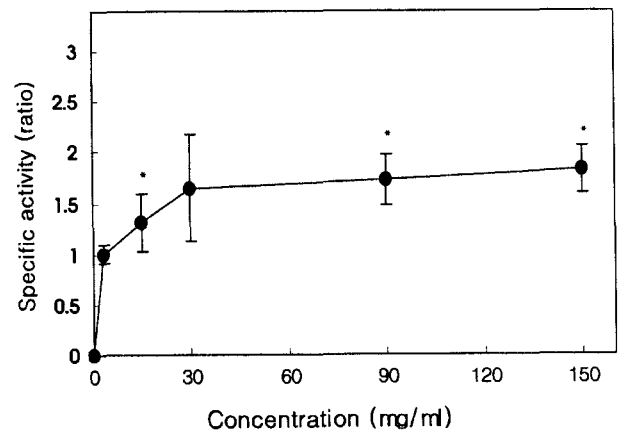
**통계학적 처리** - 실험결과는 평균±표준편차 (standard deviation, SD)로 나타내었으며, 실험에 대한 유의성 검정을 위해 student's t-test를 수행하여 결과치는 p 값이 0.05 미만을 통계학적으로 의미있는 것으로 간주하였다.

## 결 과

**Cytochrome P450 1A1의 활성 저해효과** - Cytochrome P450 효소활성 억제효과는 암예방 효과를 의미하므로 덩싸리하고초 에탄올추출물이 DMBA에 의해 유도된 cytochrome P450 1A1 효소활성 억제율을 측정된 결과, 3, 15, 30, 90과 150 mg/ml에서 각각 10%, 14%, 18%, 33%과 45%의 저해율이 나타났으므로(Fig. 1), 덩싸리하고초 에탄올추출물이 cytochrome P4501A1 활성을 저해시키는데 효과가 있음을



**Fig. 1.** Effect of TCTE on DMBA-induced cytochrome P4501A1 activity. Experimental details are described in Material and Methods. Values represent mean±SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (\*\*p<0.01, \*\*\*p<0.005).

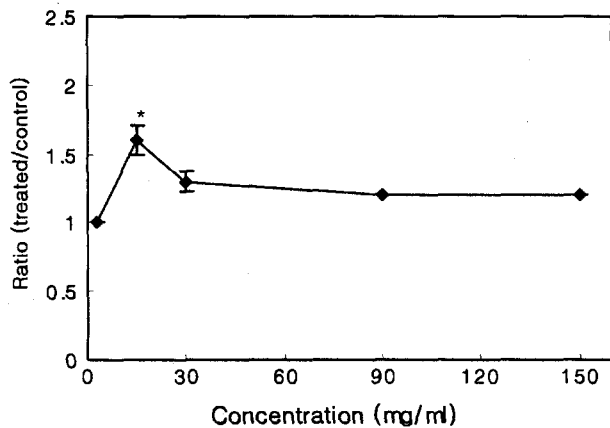


**Fig. 2.** Induction of quinone reductase (QR) in murine hepatoma Hepa1c1c7 cells by TCTE. Experimental details are described in Material and Methods. The values are mean±SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (\*p<0.05).

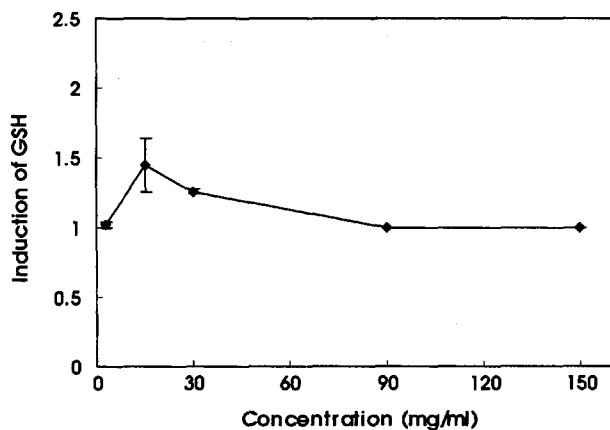
알 수 있었다.

**세포내 QR 활성 유도 효과** - 덩싸리하고초 에탄올추출물을 Hepa1c1c 7에 처리하였을 때 30 mg/ml 농도에서 대조군에 비하여 QR활성이 1.7배 증가 되었으며, 150 mg/ml 농도에서 가장 높은 수치인 1.8배의 생성 유도율을 보였다 (Fig. 2). 그러므로 덩싸리하고초는 돌연변이원성, quinone에 의한 세포내 독성 및 세포내 DNA 손상을 제거할 것으로 추측된다.

**세포내 GST 활성 유도** - 덩싸리하고초 에탄올추출물에 의한 GST 활성을 관찰한 결과, 15 와 30 mg/ml의 농도에서 control에 비해 1.7배와 1.3배의 유도율을 보였고, 실험에



**Fig. 3.** Induction of glutathione S-transferase by TCDE in murine hepatoma Hepalclc7 cells. Experimental details are described in Material and Methods. The values are mean $\pm$ SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (\*p<0.05).



**Fig. 4.** Increase of glutathione (GSH) levels by TCDE in murine hepatoma Hepalclc7 cells. Experimental details are described in Material and Methods. The values are mean $\pm$ SD (n=3).

사용된 그밖의 농도에서는 뚜렷한 유도효과를 관찰할 수 없었다(Fig. 3).

**세포내 GSH 생성 유도** - 댕싸리하고초에 의한 GSH 생성을 살펴본 결과, 15 mg/ml에서 1.5배, 30 mg/ml 농도를 처리한 세포에서 GSH 함량 1.3배의 증가를 나타내었다(Fig. 4).

## 고 찰

암예방물질은 발암과정의 전단계에서 여러기전으로 작용하며 그 중 중요한 기전의 하나가 전발암물질(procarcinogen)을 발암대사물(carcinogenic metabolites)로 전환시키는 cytochrome P450 효소와의 상호작용에 의해 암예방효과를 나타낸다. 특히 cytochrome P450 1A1은 polycyclic aryla-

mines과 polyaromatic hydrocarbons의 활성화에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>13)</sup>

Phase II drug-metabolizing enzymes의 유도는 chemical stress나 발암과정의 개시단계에 대한 중요한 방어기작이다. 암예방물질의 효소 유도 패턴에 의하면 drug-metabolizing 효소를 유도하는 물질은 phase I (cytochrome P450 효소)과 phase II 효소(QR, GST, UDP-glucuronosyltransferase)를 모두 증가시키는 bifunctional inducers와 phase II 효소만을 증가시키는 monofunctional inducers가 있다.<sup>14)</sup> Phase I 효소 유도는 발암물질을 활성화된 발암물질 (ultimate carcinogens)로 바꾸기 때문에 암 유발 위험인자이다. 그러므로 이상적인 암예방물질은 암예방활성을 가진 monofunctional 효소 유도체이다. 간세포에서 주로 생성되는 phase II enzyme의 한 종류인 QR은 quinone을 환원시켜 무독하게 만들고, 발암물질에 의해 일어나는 돌연변이와 종양화 효과를 막아주는 역할을 한다. GST는 외부 이물질의 대사 과정 중 생성된 친전자성 대사산물을 GSH와 결합하여 용해되기 쉬운 수용성 물질로 만들어 배설시키는 효소로서,<sup>15)</sup> 세포질내에 다량으로 존재하며 여러종류의 isozyme이 밝혀져 있다.<sup>16)</sup> 또한, 이 효소는 생체내의 GSH를 기질로 이용하여 발암의 직접적인 원인이 되는 활성 중간대사산물을 제거함은 물론 항산화 활성화의 역할도 한다. 따라서, 암예방 물질을 검색하는데 있어서 GST는 phase II enzyme 중의 하나로서 initiation 단계의 biomarker로 이용되고 있다.

GSH는 외부의 독성물질이 세포내 침입했을 때 직접 반응하거나 glutathione S-transferase (GST)에 의해 독성물질과 결합하여 무독하게 하는 기능을 가지고 있다. 세포내 GSH가 고갈되면 독성이 강한 대사산물이 생성되어 세포내 손상과 암의 발생이 일어난다.<sup>5)</sup> Sulfur를 포함한 화합물 등은 체내 GSH 함량을 증가시켜 GST나 QR과 같은 독성억제 효소의 활성을 증가시켜 발암물질의 생성을 억제시키는 것으로 Benson 등<sup>17)</sup>에 의해 보고되었다.

특히 조직특이적 발암으로 유방암 유발에서 에스트로젠은 유방암유발의 위험인자이다. 에스트로젠은 유방상피세포의 분열능을 증가시켜 발암의 위험성을 증가시키며, 에스트로젠 대사물이 DNA adduct를 형성하여 돌연변이를 일으킴이 증명되었다.<sup>18)</sup> 그러므로 cytochrome P450이나 QR, GST 효소활성이 발암물질이나 에스트로젠에 미치는 영향이 유방암 유발의 예측 및 예방을 위한 좋은 표적이 된다. 에스트로젠은 cytochrome P450에 의해 산화되며 특히, C-4나 C-16에서의 산화에 의하여 돌연변이물질로 변성된다. 또한 에스트로젠은 GST에 의해 conjugation을 통한 대사로 용해성이 증가되어 배설이 촉진되는 것으로 알려져 있다.<sup>18)</sup> 그러므로 최근의 유방암예방에 대한 연구는 cytochrome P450

이나 QR, GST 효소의 유전적 발현에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. Tamoxifen이 cytochrome P450 효소 활성억제 효과가 있으며 이것이 tamoxifen의 암예방효과의 중요한 기작이라는 보고가 있었다.<sup>19)</sup> 그리고 Helzlsouer 등<sup>20)</sup>은 GST 유전자가 존재하지 않으면 유방암 유발의 위험이 증가한다고 보고하였고, Maugard 등<sup>21)</sup>도 361명의 유방암 환자와 437명의 정상인에서 GST 유전자형을 비교한 결과 55세 이상의 유방암환자에서 GST 유전자가 존재하지 않음을 확인하였다. 그러므로 본 연구의 결과에 의하면 땀싸리하고초가 phase I 효소인 cytochrome P450 효소활성을 억제시키고 phase II 효소(QR과 GST)의 활성을 증가시켰으므로 mono-functional 유도체임이 확인되었으며, 이러한 활성은 target site에서 발암물질의 활성을 억제시킬 가능성이 있으므로, 유방암 억제기전에 관련된 더 많은 연구를 통하여 땀싸리하고초는 유방암예방물질로서 개발 가능성이 있다.

### 감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R03-2002-000-20008-0)에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

### 인용문헌

- Sharma, S., Stutzman, J. D., Kelloff, G. J. and Steele, V. E. (1994) Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of carcinogenesis. *Cancer Res.* **54**: 5848-5855.
- Osborne, M. P., Bradlow, H. L., Wong, G. Y. and Telang, N. T. (1993) Upregulation of estradiol C16 alpha-hydroxylation in human breast tissue: a potential biomarker of breast cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst. (Bethesda)* **85**: 1917-1920.
- Forrester, L. M., Hates, J. D., Millis, R., Barnes, D., Harris, A. L., Schlager, J. J., Powis, G. and Wolf, C. R. (1990) Expression of glutathione S-transferases and cytochrome P450 in normal and tumor breast tissue. *Carcinogenesis* **11**: 2163-2170.
- Prochaska, H. J. and Talalay, P. (1988) Regulatory mechanisms of monofunctional and bifunctional anticarcinogenic enzyme inducers in murine liver. *Cancer Res.* **48**: 4776-4782.
- Mitchell, J. R., Hinson, J. A., and Nelson, S. D. (1976) Glutathione and drug induced tissue lesions: metabolism and function, *In* Arias, I. M. and W. B. Jakoby (eds.), *Glutathione*, 357-367. Raven Press. New York, NY.
- 康秉秀(1991) 本草學, **169**: 永林社, 서울.
- 安德均(1982) 韓藥臨床應用, **108-110**: 成輔社, 서울.
- 김동일(1991) 鄉藥集成方, **152**: 여강출판사, 서울.
- Pohl, R. J. and Fouts, J. R. (1980) A rapid method for assaying the metabolism of 7-ethoxyresorufin by microsomal subcellular fractions. *Anal. Biochem.* **107**(1): 150-155.
- Rodrigues, A. D. and Prough, R. A. (1991) Induction of cytochromes P450IA1 and P450IA2 and measurement of catalytic activities. *Methods Enzymol.* **206**: 423-431.
- Prochaska, H. J. and Santamaria, A. B. (1988) Direct measurement of NAD(P)H : Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells: A screening assay for anti-carcinogenic enzyme inducers. *Anal. Biochem.* **169**: 328-336.
- 윤성목, 조경희, 손윤희, 남경수, 임종국(2001) 생약 약침액에 의한 phase II 효소 활성 유도. *대한경락경혈학회지* **18**: 1-9.
- Yang, C. S., Smith, T. J. and Hong, J. Y. (1994) Cytochrome P450 enzymes as targets for chemoprevention against chemical carcinogenesis and toxicity: opportunities and limitations. *Cancer Res.* **54 (Suppl.)**: 1982s-1986s.
- De Long, M. J., Santamaria, A. B. and Talalay, P. (1987) Role of cytochrome P1-450 in the induction of NAD (P)H:quinone reductase in a murine hepatoma cell line and its mutants. *Carcinogenesis*, **8**: 1549-1553.
- Bora, P. S., Spilburg, C. A. and Lange, L. G. (1989) Metabolism of ethanol and carcinogens by glutathione transferases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **86**: 4470-4473.
- Wattenberg, L. W. and Bueding, E. (1986) Inhibitory effect of 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione(oltipraz) on carcinogenesis induced by benzo(a)pyrene, diethylnitrosamine, and uracil mustard. *Carcinogenesis* **7**: 1379-1381.
- Benson, A. M. and Barretto, P. B. (1985) Effects of disulfiram, diethyldithiocarbamate, bisethylxanthogen, and benzyl isothiocyanate on glutathione transferase activities in mouse organs. *Cancer Res.* **45**: 4219-4223.
- Pike, M. C., Spicer, D. V., Dahmouch, L. and Press, M. F. (1993) Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol. Rev.* **15**: 17-35.
- Sridar, C., Kent, U. M., Notley, L. M., Gillam, E. M. and Hollenberg, P. F. (2002) Effect of tamoxifen on the enzymatic activity of human cytochrome CYP2B6. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **301**: 945-952.
- Helzlsouer, K. J., Selmin, O., Huang, H. Y., Strickland, P. T., Hoffman, S., Alberg, A. J., Watson M., Comstock, G. W. and Bell, D. (1998) Association between glutathione S-transferase M1, P1, and T1 genetic polymorphism and development of breast cancer. *J. Nat. Cancer Inst. (Bethesda)* **90**: 512-518.
- Maugard, C. M., Charrier, J. and Bignon, Y. J. (1998) Allelic deletion at glutathione S-transferase M1 locus and its association with breast cancer susceptibility. *Chem. Biol. Interact.* **111-112**: 365-375.

(2003년 5월 19일 접수)