

하고초 열수추출물이 Aromatase와 Cyclooxygenase 활성에 미치는 영향

남경수 · 손윤희*

동국대학교 난치병한양방치료연구센터 및 의과대학 약리학교실

Effect of Water Extracts from *Thesium chinense* Tunczaninov and *Prunella vulgaris* L. on Aromatase and Cyclooxygenase Activities

Kyung-Soo Nam and Yun-Hee Shon*

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

Abstract – Water extracts from *Thesium chinense* Tunczaninov (TCTW) and *Prunella vulgaris* L. (PVW) were tested for aromatase and cyclooxygenase activities. TCTW and PVW were capable of suppressing aromatase in a human placenta microsomal assay. PVW was shown to be more effective than TCTW in the suppression of aromatase activity. TCTW significantly inhibited cyclooxygenase-2 (COX-2) activity at the concentration of 0.25 ($p < 0.05$), 0.5 ($p < 0.01$) and 2.5 mg/ml ($p < 0.005$). PVW also inhibited COX-2 activity in a dose-dependent manner in a concentration range of 0.05~2.5 mg/ml. The expression of COX-2 was inhibited by TCTW and PVW in western blot analysis. These results suggest that TCTW and PVW may have breast cancer chemopreventive potentials by inhibiting aromatase and cyclooxygenase activities.

Key words – *Thesium chinense* Tunczaninov, *Prunella vulgaris* L., aromatase, cyclooxygenase-2, western blot, breast cancer chemoprevention

유방암은 여성에게 나타나는 가장 흔한 암으로 조기발견과 개선된 보조치료에도 불구하고 1990년과 1997년 사이 유방암 발병률은 100,000명 여성 중 109.7명이며 사망률은 100,000명 중 25.6명이었다.¹⁾ 유방종양은 대부분 estrogen 의존성으로 estrogen이 암세포의 증식을 위해 필수요인이다. 특히, 폐경이후 estrogen 생성이 유방암 발병과정에 중요한 생물학적 요인으로 증명되었다.^{2,3)} Estrogen은 cytochrome P450 효소 복합체인 aromatase에 의하여 세 번의 수산화반응으로 androgen에서 estrogen으로 전환되어 생성되며 aromatase 표현이 유방종양에서 나타나며 종양 증식에 중요한 역할을 하는 것으로 증명되었다.^{2,4)}

Cyclooxygenase (COX, prostaglandin endoperoxide synthase)는 prostanoids (prostaglandins, prostacyclins과 thromboxanes) 합성을 위한 주요 효소이다. COX는 두종류의 isoforms이 있는데, 그 중 하나인 COX-1은 대부분의 조직에서 구성성분으로 표현되어 있고 일반적인 생리기능을 위해 prostaglandin (PG)을 생성하는 것으로 알려져 있다.⁵⁾

그러나 COX-2는 lipopolysaccharide (LPS), tumor promoters, oncogenes, 발암물질, mitogens, 호르몬, 사이토카인과 성장 인자와 같은 여러종류의 자극에 반응하여 유도된다. 또한 COX-2는 유방암, 대장암, 전립선암등의 고형암에서 과대표현되며 특히 COX-2의 주요 생성물인 PGE₂의 증가현상은 사람의 유방암과 실험동물의 유선종양의 모델에서 증명되었다.^{6,7)} 쥐의 유선종양에서 PGE₂가 유방암의 성장과 전이 및 면역반응 조절 기능을 가지고 있다고 발표되었으며,⁸⁾ 높은 농도의 PGE₂는 전이성을 가진 에스트로겐 수용체가 없는 종양과 연관되어 있는 것으로 알려져 있다.^{6,8)} 즉, 많은 유방암세포에서 합성된 PGE₂는 세포간 cAMP 함량을 증가시키고 cAMP는 aromatase 촉진자를 자극하여 estrogen 생합성이 시작된다. 이와같이 COX-2와 aromatase의 전사적 관계는 유방암 발생에 중요하고, 이에 COX에 의한 PGE₂ 생성은 estrogen 생합성과 estrogen-의존성 유방암에 영향을 미친다.

유방암예방 연구에서는 유방암에 의한 사망률과 질병률을 줄이기 위해 더 나은 유방암 예방제 개발에 역점을 두고 있다. Tamoxifen에 의한 호르몬 차단이 유방암 발생의

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

높은 위험인자를 가진 여성에서 유방암 발생을 줄였으며⁹⁾ 다른 호르몬 조절을 위한 연구방법으로 aromatase 활성 저해제를 이용하기도 한다.¹⁰⁾ Aromatase 저해제는 건강한 여성과 동물실험에서 혈청 estradiol 함량을 줄이는 효과가 있음이 증명되었다.¹⁰⁻¹²⁾ 그러므로 유방암의 예방 및 치료를 위한 연구에서는 estrogen 합성의 마지막 단계를 촉매하는 aromatase 활성 저해물질 탐색에 주력하고 있다. 의약제제 사용에 의한 유방암의 치료와 예방이 가능하지만 근래에는 천연물을 이용한 유방암예방에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 생약 추출물, 과일, 야채, 비타민과 무기질 등이 암예방제제로서 그 활성이 검증되고 있다.

하고초(夏枯草, *Prunellae Herba*)는 단향과(Satalaceae)에 속한 땀싸리하고초¹³⁾ (제비꽃) *Thesium Chinese Turczaninow*의 전초와 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 *Prunella vulgaris* L.의 지상부 전초인 꿀풀하고초¹⁴⁾를 지칭하며, 땀싸리하고초의 주성분은 triterpenoid, saponin, ursolic acid, hyperoxide, tannin과 caffeic acid이고 꿀풀하고초 주성분은 rutin, alkaloid, vitamin B1, vitamin C, vitamin K와 칼륨염 등이다. 그리고 보간(補肝), 화농성유선염, 유방암, 이노, 진해지혈, 정신불안, 명목(明目), 치창등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾

본 논문에서는 땀싸리하고초(*Thesium chinense* Tunczaninov)와 꿀풀하고초(*Prunella vulgaris* L.)의 열수추출물이 aromatase와 COX-2 활성에 미치는 영향을 측정하여 하고초의 유방암 유발 억제효능을 측정하고자 한다.

재료 및 방법

시약 - Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), potassium phosphate buffer (pH 7.4), glycerol, sucrose, dithiothreitol, glucose-6-phosphate, β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced tetrasodium salt (β -NADPH), glucose-6-phosphate dehydrogenase, progesterone, bovine serum albumin (BSA), trichloroacetic acid (TCA), activated charcoal, dextran, bicinchoninic acid protein kit는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, fetal bovine serum (FBS)은 Join Bio-Innovation (JBI)사 (Daegu, Korea), [1β -³H(N)]androst-4-ene-3,17-dione은 Amersham Pharmacia Biosciences (Arlington Heights, IL, USA)사 제품을 사용하였다. 기타 시약은 세포 배양용 및 분석용 특급시약을 사용하였다.

시료제조 - 땀싸리하고초와 꿀풀하고초는 동국대학교 부속한방병원에서 구입하였고, 땀싸리하고초(no. 00T-36)와 꿀풀하고초(no. 00P-29)의 voucher specimen은 동국대학교 난치병한방치료연구소에 보관되어 있다. 땀싸리하고초와 꿀

풀하고초 열수추출물은 생약 각각 60 g을 분쇄하여 3차 증류수 400 ml을 가한 뒤 rotary evaporator (BUCHI RE121, Switzerland)에서 3시간 전탕하여 추출하고 여과한 후 4°C, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액 200 ml을 감압농축하여 pH 7.4로 적정하였다. 그리고 저온에서 24시간 방치하여 membrane filter (0.22 μ m, Whatman, Germany)로 여과하고, 여과된 생약 열수추출액을 freezer dryer를 이용하여 완전 건조시킨 후 건조중량 (땀싸리하고초 3.2 g, 꿀풀하고초 3.7 g)을 측정하였다. 그리고 실험 조건에 사용되는 배지 및 증류수에 희석시켜 실험에 사용하였다.

세포배양 - 계대 보존 중인 Raw 264.7 세포를 10% fetal bovine serum이 포함된 DMEM을 배양액으로 하여 CO₂ 배양기(5% CO₂, 37°C)에서 배양하였고, 배양액은 2 또는 3일 간격으로 교환해 주었다. 세포는 액체질소에 보존해 두었다가 같은 passage 번호를 가진 세포를 녹여서 사용하였으며, 세포의 생존은 trypan blue dye exclusion 방법으로 확인하였다.

태반의 aromatase 준비 - 사람의 태반 조직은 1% KCl과 potassium phosphate buffer로 세척한 후, sucrose, potassium phosphate buffer, dithiothreitol과 NADPH가 포함된 용액에서 균질화시킨 후 원심분리하였다(800× g, 15분). 그리고 상층액은 10,000× g에서 15분간 다시 원심분리한 후, 그 상층액은 단백질 정량 후 -70°C에 보관하였다.

Aromatase 활성 측정 - Aromatase 활성은 Thompson과 Siiteri의 방법¹⁶⁾을 변형하여 실시하였다. 즉, 기질 [1β -³H(N)]androst-4-ene-3,17-dione (specific activity 24.7 Ci/mmol) (100 nM), 태반 마이크로솜 (40 μ g), progesterone (10 μ M), bovine serum albumin (0.1%), potassium phosphate (67 mM, pH 7.4)와 시료를 포함한 반응액 500 μ l를 상온에서 10분간 반응시켰다. 그리고 12 mM NADPH를 반응액에 넣고 37°C에서 10분간 다시 반응시킨 후 5% TCA로 반응을 중단시켰다. 1000× g에서 10분간 원심분리 후 동량의 chloroform으로 반응시킨 후 그 상층액은 dextran-charcoal 혼합액에 옮긴 후 원심분리하고 상층액의 radioactivity를 측정하였다.

COX-2 활성 측정 - Raw 264.7 세포의 최종수를 5×10⁵ cells/ml로 조정하여 12 well plate의 각 well에 2시간 부착시킨 후에 시료를 농도별로 50 μ l씩 가하였다. 이를 37°C CO₂ 배양기에서 다시 1시간 배양시킨 후 lipopolysaccharide (*E. Coli*) 100 ng/ml의 농도를 가하여 cyclooxygenase-2를 유도하였다. 이때 positive control로서는 NS-398 (5 μ M)을 사용하였다. 이를 12시간 동안 배양한 후 세포의 lysate를 준비하여 western blot 분석에 사용하였고 배양 상층액은 회수하여 PGE₂ Biotrak kit (Amersham Biosciences)를 이용하여 COX-2 활성 측정에 사용하였다. 즉, PGE₂ Biotrak kit의

96 well plate에 이들 상층액을 50 μ l씩 가한 뒤, 희석한 mouse anti-PGE₂ antibody를 50 μ l씩 넣었다. Peroxidase conjugated second antibody를 50 μ l씩 넣고 상온에서 2시간 배양하였다. Washing buffer로 4회 세척하고 기질시약을 150 μ l씩 가한 뒤, 상온에서 30분간 배양시키고 1 M H₂SO₄ 용액을 사용하여 반응을 정지시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 450 nm에서 그 흡광도를 측정하였다.

Western Blot 분석 - 세포 lysate의 단백질은 전기영동으로 분리하고 20% 메탄올, 25 mM Tris, 192 mM glycine이 포함된 완충액을 사용하여 nitrocellulose 막으로 이동시켰다. 단백질이 이동된 막은 Ponceau 용액으로 이동유무를 확인한 후, 5% non-fat dry milk 용액으로 30분간 실온에서 반응하여 차단하였다. 그리고 차단용 완충액으로 희석한 1차 항체와 막을 4시간 이상 반응하였다. 반응이 끝난 후 Tris-Tween buffered saline (TTBS)을 사용하여 5분 간격으로 6회 세척하였다. 계속하여 horseradish peroxidase가 부착된 2차 항체와 반응시키고 다시 한번 TTBS로 6회 세척하였다. 세척이 끝나면 증류수로 세척하고 ECL 용액으로 2분간 반응하고 Kodac 필름에 감광하여 나타난 band의 두께를 비교하여 단백질 발현 유무 및 그 차이를 확인하였다.

결과 및 고찰

Aromatase 활성 - 호르몬 의존성 유방암은 estrogen이 세포분열을 증가시키는 물질로 알려져 있다. 그러므로 생체의 estrogen 생성을 줄이기 위하여 하수체절제술(hypophysectomy), 부신절제술(adrenalectomy)과 난소절제술(ovariectomy)을 시행하나 다른 조직의 estrogen 합성에는 영향을 주지 못하므로 estrogen antagonist인 tamoxifen을 사용하여 estrogen 수용체를 봉쇄하기도 한다. Estrogen은 androgen에서 aromatase에 의한 세 번의 수산화반응 후 생성되며 유방암발생에 중요한 영향을 미치므로 유방암 세포에서 estrogen 합성의 마지막 단계에 관여하는 aromatase의 과다표현은 유방암의 진행에 매우 중요하다. 이에 본 실험에서는 댁싸리하고초와 꿀풀하고초 열수추출물이 사람 태반에서 분리한 aromatase의 활성에 미치는 효과를 측정하였다. 그리고 aromatase 저해제의 양성대조군으로 5 μ M aminoglutethimide를 사용하였다.¹⁷⁾ 그 결과, 댁싸리하고초 열수추출물은 농도의존적으로 aromatase 활성을 저해하였으며, 특히 0.5와 2.5 mg/ml 농도에서는 양성대조군과 같거나 더 높은 억제효과를 측정할 수 있었다(Fig. 1). 꿀풀하고초 열수추출물도 농도의존적으로 aromatase 활성을 저해하였고 0.25, 0.5와 2.5 mg/ml 농도에서는 양성대조군 aminoglutethimide 보다 더 높은 저

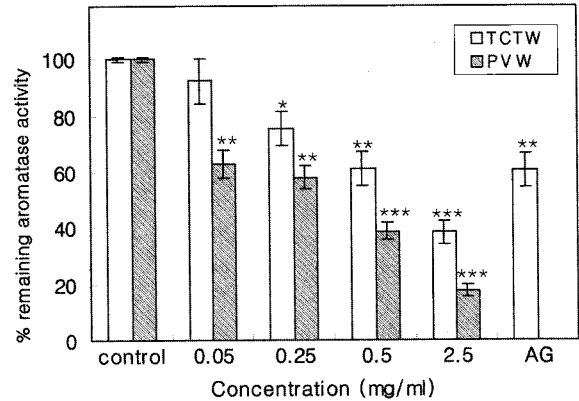


Fig. 1. Inhibition of human placental aromatase activity by water extracts of *Thesium chinense* Tunczaninov (TCTW) and *Prunellae vulgaris* L. (PVW). AG, 5 μ M aminoglutethimide. Experimental details are described in Material and Methods. Values represent mean \pm SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.005).

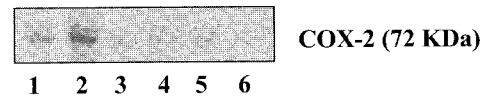


Fig. 2. Effect of *Thesium chinense* Tunczaninov (TCTW) and *Prunellae vulgaris* L. (PVW) on expression of COX-2 protein. Experimental details are described in Material and Methods. Lane 1, no treatment. Lane 2, LPS treatment. Lane 3, LPS and 0.25 mg/ml TCTW treatment. Lane 4, LPS and 0.5 mg/ml TCTW treatment. Lane 5, LPS and 0.25 mg/ml PVW. Lane 6, LPS and 0.5 mg/ml PVW.

해효과를 나타내었다(Fig. 1). 그리고 꿀풀하고초 열수추출물이 댁싸리하고초 열수추출물보다 aromatase 활성 저해효과가 더 높음을 관찰할 수 있었다. Aromatase 활성은 *in vitro*의 유방조직에서 증명되었으며 종양에서의 aromatase 활성 증가와 estrogen 생성이 증명되었다.^{18,19)} Aromatase 활성저해는 endogenous estrogen의 함량을 감소시키므로²⁰⁾ 댁싸리하고초와 꿀풀하고초는 aromatase 활성 감소효과에 의하여 유방암유발을 억제할 수 있을 것이다.

COX-2에 미치는 영향 - 댁싸리하고초와 꿀풀하고초 열수추출물이 COX-2 단백질 표현에 미치는 영향을 western blotting technique으로 분석하였다. 그 결과 COX-2 표현이 댁싸리하고초와 꿀풀하고초 열수추출물에 의해 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 2). COX-2 효소활성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 시료 처리 후 세포상층액으로 PGE₂의 생성을 측정하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 댁싸리하고초는 농도의존적으로 COX-2 효소활성을 억제하였으며 알려진 COX-2 저해제인 5 μ M NS-398에 의해서도 매우 높은

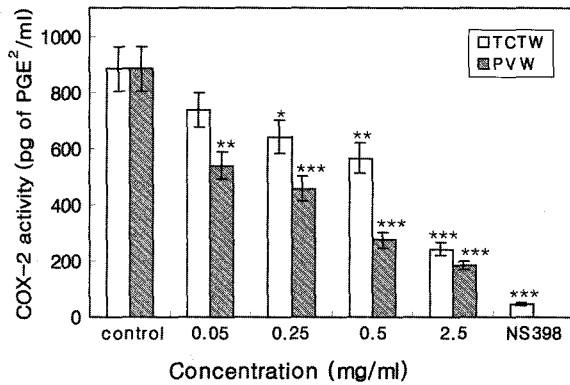


Fig. 3. Effect of water extracts of *Thesium chinense* Tunczianinov (TCTW) and *Prunellae vulgaris* L. (PVW) on COX-2 enzymatic activity. NS398, 5 μ M NS-398. Experimental details are described in Material and Methods. The values are mean \pm SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.005).

저해효과를 측정할 수 있었다. 또한 꿀풀하고초도 COX-2 효소활성을 농도의존적으로 저해하였으며 0.05 (p < 0.01), 0.25 (p < 0.005), 0.5 (p < 0.005)와 2.5 (p < 0.005) mg/ml 농도에서 통계적으로 유의성있는 억제효과를 측정할 수 있었다(Fig. 3). 그리고 꿀풀하고초는 땀싸리하고초보다 COX-2 효소 활성억제효과가 더 높았다.

임상연구에 의하면 높은 PGE₂ 농도는 전이성이 높고 estrogen이나 progesterone 수용체가 없는 유방암과 관련이 있는 것으로 증명되었다.²¹⁾ 또한 Fulton과 Heppner²²⁾도 쥐의 유선암에서는 PGE₂ 함량과 전이성은 강한 상관관계가 있다는 것을 발견하였다. 그리고 nude mice에 이식한 사람의 유방암세포가 indolemethacin (COX-1 저해제)에 의하여 억제되는 것이 관찰되었다.²³⁾ 그러나 indolemethacin은 COX-1 저해제이고 또한 합성제제는 위장장애의 부작용이 있으므로²⁴⁾ 부작용이 없는 천연물제제로서 선택적 COX-2 저해제의 개발이 매우 중요하다. 본 논문의 실험에 의하면 땀싸리하고초와 꿀풀하고초 열수추출물이 COX-2 단백질 발현과 효소활성 억제효과가 매우 탁월하였으며 또한 aromatase 활성 저해효과도 우수하였으므로 땀싸리하고초와 꿀풀하고초 열수추출물에서 성분을 분리하여 더 많은 유방암예방효능을 측정하여 유방암예방 제제로 개발할 수 있을 것이다.

사 사

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

인용문헌

- Ries, L., Wingo, P. A., Miller, S. S., Howe, H., Weir, H. K., Rosenberg, H. M., Vernon, S. W., Cronin, K., and Edwards, B. K. (2000) The annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1997, with a special section on colorectal cancer. *Cancer* **88**: 2398-2424.
- Zhou, C., Zhou, D., Esteban, J., Murai, J., Sitteri, P. K., Wilczynski, S., and Chen, S. (1996) Aromatase gene expression and its exon I usage in human breast tumors. Detection of aromatase messenger RNA by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **59**: 163-171.
- Lu, Q., Nakamura, J., Savinov, A., Yue, W., Weisz, J., Dabbs, D. J., Wolz, G., and Brodie, A. (1996) Expression of aromatase protein and messenger ribonucleic acid in tumor epithelial cells and evidence of functional significance of locally produced estrogen in human breast cancers. *Endocrinology* **137**: 3061-3077.
- Brodie, A., Qing, L., and Nakamura, J. (1997) Aromatase in the normal breast and breast cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **61**: 281-286.
- Kargman, S. L., O'Neill, G. P., Viekers, P. J., Evens, J. F., Mancini, J. A., and Jothy, S. (1995) Expression of prostaglandin G/H synthase-1 and -2 protein in human colon cancer. *Cancer Res.* **55**: 2556-2559.
- Schrey, M. P. and Patel, K. V. (1995) Prostaglandin E₂ production and metabolism in human breast cancer cells and breast fibroblasts. Regulation by inflammatory mediators. *Br. J. Cancer* **72**: 1412-1419.
- Tan, W. C., Privett, S., and Goldyne, M. E. (1974) Studies of prostaglandins in rat mammary tumors induced by 7.12-dimethylbenzanthracene. *Cancer Res.* **34**: 3229-3231.
- Rolland, P. H., Martin, P. M., Jacquemier, J., Rolland, A., and Toga, M. (1980) Prostaglandin production is a marker of high metastatic potential for neoplastic cells. *J. Natl. Cancer Inst.* **64**: 1061-1070.
- Fisher, B., Costantino, J. P., Wickerham, D. L., Resmond, C. K., Kavanah, M., Cronin, W. M., Vogel, V., Robidoux, A., Dimitrov, N., Atkins, J., Daly, M., Wieand, S., Tan-Chiu, E., Ford, L., Wolmark, N., and other National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Investigators (1998) Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J. Natl. Cancer Inst.* **18**: 1371-1388.
- Santen, R., Yue, W., Naftolin, F., Mor, G., and Berstein, L. (1999) The potential of aromatase inhibitors in breast cancer prevention. *Endocr. Relat. Cancer* **6**: 235-243.
- Yates, R. A., Dowsett, M., Fisher, G. V., Selen, A., and Wyld, P. J. (1996) Arimidex (ZD1033): A selective, potent inhibitor of aromatase in postmenopausal female volunteers. *Br. J.*

- Cancer* **73**: 543-548.
12. Lubet, R. A., Steele, V. E., DeCoster, R., Bowden, C., You, M., Juliana, M. M., Eto, I., Kelloff, G. J., and Grubbs, C. J. (1998) Chemopreventive effects of the aromatase inhibitor vorozole (R 83842) in the methylnitrosourea-induced mammary cancer model. *Carcinogenesis* **19**: 1345-1351.
 13. 康秉秀(1991) 本草學, 169, 永林社, 서울.
 14. 安德均(1982) 韓藥臨床應用, 108-110, 成輔社, 서울.
 15. 김동일(1991) 鄉藥集成方, 152, 여강출판사, 서울.
 16. Thompson, E. A. Jr. and Siiteri, P. K. (1974) Utilization of oxygen and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate by human placental microsomes during aromatization of androstenedione. *J. Biol. Chem.* **249**: 5364-5372.
 17. Kitawaki, J. O., Kim, T., Kanno, T., Noguchi, T., Yamamoto, T., and Okada, H. (1993) Growth suppression of MCF-7 human breast cancer cells by aromatase inhibitors: a new system for aromatase inhibitor screening. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **44**: 667-690.
 18. James, V. H. T., McNeill, J. M., Lai, L. C., Newton, C. J., Braunberg, H., Ghilchik, M., and Reed, M. J. (1987) Aromatase activity in normal breast and breast tumor tissues: in vivo and in vitro studies. *Steroids* **50**: 269-279.
 19. Miller, W. R., Mullen, P., Sourdain, P., Watson, C., Dixon, J. M., and Telford, J. (1997) Regulation of aromatase activity within the breast. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **61**: 193-202.
 20. Simpson, E. R., Mahendroo, M. S., Means, G. D., Kilgore, M. W., Hinshelwood, M. M., Graham-Lorence, S., Amarnah, B., Ito, Y., Fisher, C. R., and Michael, M. D. (1994) Aromatase cytochrome P-450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr. Rev.* **15**: 342-355.
 21. Rolland, P. H., Martin, P. M., Jacquemier, J., Rolland, A., and Toga, M. (1980) Prostaglandin in human breast cancer: Evidence suggesting that an elevated prostaglandin production is a marker of high metastatic potential for neoplastic cells. *J. Natl. Cancer Inst.* **64**: 1061-1070.
 22. Fulton, A. M. and Heppner, G. H. (1985) Relationships of prostaglandin E and natural killer sensitivity to metastatic potential in murine mammary adenocarcinoma. *Cancer Res.* **45**: 4779-4784.
 23. Connolly, J. M., Liu, X. H., and Rose, D. P. (1996) Dietary linoleic acid-stimulated human breast cancer cell growth and metastasis in nude mice and their suppression by indomethacin, a cyclooxygenase inhibitor. *Nutr. Cancer* **25**: 231-240.
 24. Loll, P. J. and Garavito, R. M. (1994) The isoforms of cyclooxygenase: structure and function. *Exp. Opin. Invest. Drugs* **3**: 1171-1180.

(2004년 4월 7일 접수)