

천궁이 유방암세포 증식, Nitric Oxide 생성 및 Ornithine Decarboxylase 활성에 미치는 영향

남경수 · 손옥례 · 이경화 · 조현정 · 손윤희*

동국대학교 난치병한양방치료연구센터 및 의과대학 약리학교실

Effect of Cnidii Rhizoma on Proliferation of Breast Cancer Cell, Nitric Oxide Production and Ornithine Decarboxylase Activity

Kyung-Soo Nam, Ok-Lye Son, Kyung-Hwa Lee, Hyun-Jung Cho, and Yun-Hee Shon*

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

Abstract – The effect of water extract from Cnidii Rhizoma (CRW) on proliferation of human breast cancer cells, nitric oxide production, nitric oxide synthase expression, and ornithine decarboxylase activity was tested. CRW inhibited the growth of both estrogen-dependent MCF-7 and estrogen-independent MDA-MB-231 human breast cancer cells. Lipopolysaccharide-induced nitric oxide (NO) production was significantly reduced by CRW at the concentration of 0.5, 1.0 and 5.0 mg/ml. Expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) was also suppressed with the treatment of CRW in Raw 264.7 cells. CRW inhibited induction of ornithine decarboxylase by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, a key enzyme of polyamine biosynthesis, which is enhanced in tumour promotion. Therefore, CRW is worth further investigation with respect to breast cancer chemoprevention or therapy.

Key words – Cnidii Rhizoma, nitric oxide, nitric oxide synthase, ornithine decarboxylase, breast cancer chemoprevention

유방암은 여성에게 나타나는 가장 흔한 암으로 전세계적으로 해마다 600,000 증례의 발병이 보고되고 있으므로, 암 예방연구에서는 여성건강 증진을 위해 유방암의 발병률과 사망률을 줄이기 위한 유방암 예방법의 개발에 중점을 두고 있다. Tamoxifen 같은 호르몬 조절제가 유방암 고위험군 여성의 침입성 및 비침입성 유방암의 발병을 감소시켰지만,¹⁾ 이러한 의약품제제는 부작용이 있으므로 근래에는 천연물을 이용한 유방암 예방 및 치료제 개발이 매우 활발히 진행되고 있다.

Nitric oxide(NO)는 혈관확장(vasodilator), 신경전달(neurotransmitter), 항균(antimicrobial) 효과와 면역조절 등의 여러 기능을 가진 물질로서 세포 기능을 변화시켜 세포사멸, 세포변성 또는 종양 성장과 전이로 발전시키는 것으로 알려져 있다.²⁾ 특히 최근에는 암 발병과의 연관성에 대한 연구결과가 많이 보고되고 있다.^{3,4)} NO는 매우 반응성이 높

으며 유리기(free radicals), 분자산소(molecular oxygen), 중금속등과 반응한다. 특히 세포간 NO는 nitrite나 nitrate, s-nitroso-thiols 또는 peroxynitrite를 형성하고,⁴⁾ NO 대사물은 유전자 독성을 유발하고 여러 기전에 의하여 암유발에 영향을 미친다. 즉, NO는 nitrosative deamination에 의해 DNA 손상, DNA strand breakage 또는 peroxynitrite에 의한 DNA 변성(nitration)을 일으킨다. 이러한 반응들은 발암성의 nitrosamines의 활성, apoptosis와 DNA 수선 효소의 활성 저해 또는 lipid peroxidation에 의한 DNA 손상과 관련이 있다.⁵⁾

NO는 3종류의 nitric oxide synthases(NOS)에 의해 촉매되는 반응의 아미노산 L-arginine에서 생성된다. NOS에는 3종류가 알려져 있는데, 구성성분이며 칼슘 의존적으로 내피세포(endothelial cells)에서 발견되는 eNOS와 신경조직(neuronal tissue)에서 발견되는 nNOS가 있다. 그리고 유도성으로 칼슘 비의존적인 iNOS는 적절한 자극에 의하여 대식세포, 호중구, 내피와 외피에서 표현되는 효소이다.⁶⁾

Polyamine(putrescine, spermidine과 spermine)은 종양형성 시 비정상적으로 생합성되며 발암과정에 밀접한 관계가 있

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

다. Polyamine 생합성과정에서 중요한 효소는 putrescine의 생성에 관여하는 ornithine decarboxylase(ODC)이며 정상세포와 종양세포의 증식에 필수적이다. 또한 ODC의 유도는 암촉진단계(promotion)에도 중요한 기능을 담당하고 있어 생쥐의 여러 조직을 이용한 암촉진 실험에서 ODC활성 유도와 발암물질의 암촉진 능력간의 밀접한 관계가 보고되었다.⁷⁾ 특히 유선조직에서 estradiol이나 peptide growth factor (insuline like growth factor와 epidermal growth factor)에 의하여 ODC 활성이 증가되고, 세포외에서의 polyamine 이동에 의하여 세포내 polyamine의 증가가 관찰되었다.⁸⁾

천궁(Cnidii Rhizoma)은 미나리과(Umbelliferae)에 속한 다년생 초본인 천궁(*Cnidium officinale* Makino)의 근경으로, 성분은 ligustilide, butylidenephthalide, butylphthalide, cnidilide, neocnidilide와 senkyunolide 이며, 풍냉으로 인한 두통, 동통, 추위로 인한 근육의 마비, 무월경, 난산치료에 이용되고 있다. 또한 대뇌활동 억제, 연수의 혈관운동중추, 호흡중추, 척수반사의 흥분작용, 혈압강하, 심근수축, 혈관 확장, 항균작용, 정혈, 진정에 효능이 있는 것으로 알려져 있다.⁹⁾

본 논문에서는 천궁 열수추출물이 estrogen-의존성의 유방암세포(MCF-7)와 estrogen-비의존성 유방암세포(MDA-MB-231)의 증식에 미치는 영향, NO의 생성과 iNOS의 표현 및 ODC 활성에 미치는 영향을 측정하여 천궁의 유방암 유발 억제효능을 측정하고자 한다.

재료 및 방법

시약 - RPMI 1640, Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), trypan blue, lipopolysaccharide (*E. Coli*), sulfanilamide, N-naphthylethylenediamine, phosphoric acid, methanol, Tris, glycine, non-fat dry milk, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA), difluoromethylornithine (DFMO), dithiothreitol, pyridoxal phosphate, 3-4,5-dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT), unlabelled L-ornithine, bicinchoninic acid protein assay kit는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, fetal bovine serum(FBS)은 Join Bio-Innovation(JBI)사 (Daegu, Korea), L-[1-¹⁴C]ornithine은 Amersham Pharmacia Biosciences (Arlington Heights, IL, USA)사 제품을 사용하였다. iNOS(N-20) 항체(rabbit polyclonal IgG)는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서 goat anti-rabbit IgG는 Bio-rad Laboratories(Hercules, CA, USA)에서 구입하였으며, 기타 시약은 세포 배양용 및 분석용 특급시약을 사용하였다.

시료제조 - 천궁은 동국대학교 부속한방병원에서 구입하였고, voucher specimen (no. 00C-21)은 동국대학교 난치병

한양방치료연구소에 보관되어 있다. 천궁 열수추출물은 생약 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 µm, Whatman, Germany)로 여과하고, 여과된 생약 열수추출액을 freezer dryer를 이용하여 완전 건조시킨 후 건조중량(3.4 g)을 측정하였다. 그리고 실험 조건에 사용되는 배지 및 증류수에 회석시켜 실험에 사용하였다.

세포배양 - 계대 보존 중인 MCF-7과 MDA-MB-231 세포는 10% fetal bovine serum이 포함된 RPMI 1640 배지에서 배양하고, Raw 264.7 세포는 10% fetal bovine serum이 포함된 DMEM을 배양액으로 배양하였으며, mouse epidermal cells, line 308을 불필수 아미노산(1x), 5% dialyzed fetal bovine serum과 0.05 mM Ca²⁺이 포함된 S-MEM 배지에서 배양하였다. 세포는 액체질소에 보존해 두었다가 같은 passage 번호를 가진 세포를 녹여서 사용하였으며, 세포의 생존은 trypan blue dye exclusion 방법으로 확인하였다.

유방암세포 증식에 미치는 영향 - Estrogen-의존성인 MCF-7과 estrogen-비의존성인 MDA-MB 231 세포를 96-well plate의 well당 0.5 × 10⁴ cells을 접종시키고 24시간 후에 농도별 시료를 처리하여 2, 4, 6일 동안 배양하였다. 그리고 세포 성장은 MTT assay로 측정하였다.

Nitric Oxide 생성 - 5 × 10⁵ cells/ml로 조성된 Raw 264.7 세포를 12 well plate의 각 well에 24시간 부착시킨 후 시료를 각 농도별로 가하였다. 37°C CO₂ incubator에서 다시 1시간 배양시킨 후 200 ng/ml의 lipopolysaccharide (*E. Coli*)를 가하여 iNOS (NOS2, inducible isoforms of nitric oxide synthase)를 유도하였다. 이를 24시간 동안 배양한 후 기울여 배양 상층액을 회수하고, 세포는 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 후 lysis buffer를 처리하여 단백질을 회수하여 Western blot 분석에 사용하였다. 회수한 상층액으로 생성된 NO의 양은 Griess시약(1% sulfanilamide, 0.1% N-naphthylethylenediamine in 2.5% phosphoric acid)을 사용하여 570 nm에서 그 양을 측정하였다.

Western blot 분석 - 전기영동으로 분리한 단백질은 20% 메탄올, 25 mM Tris와 192 mM glycine이 포함된 완충액을 사용하여 nitrocellulose 막으로 이동시켰다. 비특이적 결합은 5% non-fat dry milk 용액으로 1시간 실온에서 반응하여 차단하였다. 그리고 차단용 완충액으로 회석한 1차 iNOS(N-20) 항체(rabbit polyclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)와 막을 2시간 이상 반응하였다. 반응이 끝난 후 Tris-Tween buffered saline(TTBS)을 사용하여 5분 간격으로 3회 세척하였다. 계속하여 horseradish peroxidase가 부착된 2차 항체(goat anti-rabbit IgG, Bio-rad Labora-

tories, Hercules, CA, USA)와 반응시키고 다시 한번 TTBS 로 3회 세척하였다. 세척이 끝나면 증류수로 세척하고 ECL 용액으로 2분간 반응하고 Kodac 필름에 감광하여 나타난 band의 두께를 비교하고 단백질 발현 유무 및 그 차이를 확인하였다.

Ornithine decarboxylase (ODC) assay – Mouse epidermal cell, line 308을 24-well tissue culture plate에 well 당 2×10^5 cells/ml 세포를 접종시키고, 18시간 후에 TPA와 시료 또는 양성대조군(0.01 mM DFMO)을 처리하여 6시간 동안 배양하였다. 세포를 Ca^{2+} , Mg^{2+} - free PBS(pH 7.4)로 두 번 세척한 후 freeze-thaw cycle을 실시하여 용해시키고 cell extract의 ODC 활성은 L-[1- ^{14}C]ornithine에서 [^{14}C]CO $_2$ 방출에 의하여 측정하였다. 즉 L-[1- ^{14}C]ornithine(200 nCi), 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 7.2), 12.5 mM EDTA, 50 mM dithiothreitol, 5 mM pyridoxal phosphate와 unlabelled L-ornithine을 포함한 200 μ l 반응액을 각 well에 첨가하고 37°C에서 1시간 동안 반응시키며, 방출되는 CO $_2$ 가스를 paper disk로 모아서 radioactivity를 liquid scintillation counting으로 측정하였다. ODC 활성 측정을 위한 단백질 함량은 bicinchoninic acid protein assay kit를 사용하여 측정하였다. ODC specific activity는 pmol $^{14}CO_2$ /h/mg protein으로 나타내며, ODC 활성 억제제는 TPA만 처리한 조절군에 대한 각 시료들의 저해도 정도를 percentage로 나타내었다.

결과 및 고찰

유방암세포의 증식에 미치는 영향 – 천궁열수추출물이 estrogen-의존성의 유방암세포(MCF-7)와 estrogen-비의존성 유방암세포(MDA-MB-231)의 증식에 미치는 영향을 살펴본 결과, 천궁열수추출물 농도 0.1~5.0 mg/ml에 의하여 estrogen-의존성인 MCF-7 세포의 증식이 억제되었다(Fig. 1A). 또한 천궁열수추출물 처리에 의하여 estrogen-비의존성의 유방암 세포 MDA-MB-231의 증식도 억제되었다(Fig. 1B). 천궁이 estrogen-의존성과 estrogen-비의존성의 유방암세포 모두에 증식 억제효과가 있으므로 천궁열수추출물은 estrogen receptor를 이용한 유방암세포 증식억제가 아닌 것으로 보인다.

Nitric Oxide 생성에 미치는 영향 – Raw 264.7 세포에서 천궁열수추출물은 농도의존적으로 LPS에 의해 유도된 NO의 생성을 억제하였다. 특히 0.5($p < 0.01$), 1.0($p < 0.005$)과 5.0 mg/ml($p < 0.005$) 농도에서는 통계적으로 유의성 있는 억제 효과를 나타내었다(Fig. 2). NO가 조직치유와 관련된 angiogenesis에 중요한 역할을 하고, 혈관형성(vascularization)은 종양성장에 필수적이며 종양전이와 관계가 있으므로 NO는 종양축진에 관여하는 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 세포에서의 NO는 직접 DNA를 변화시키든지 또는 G:T mismatch를 수선하는 thymine-DNA glycosylases의 활성을 저해하는 것으로

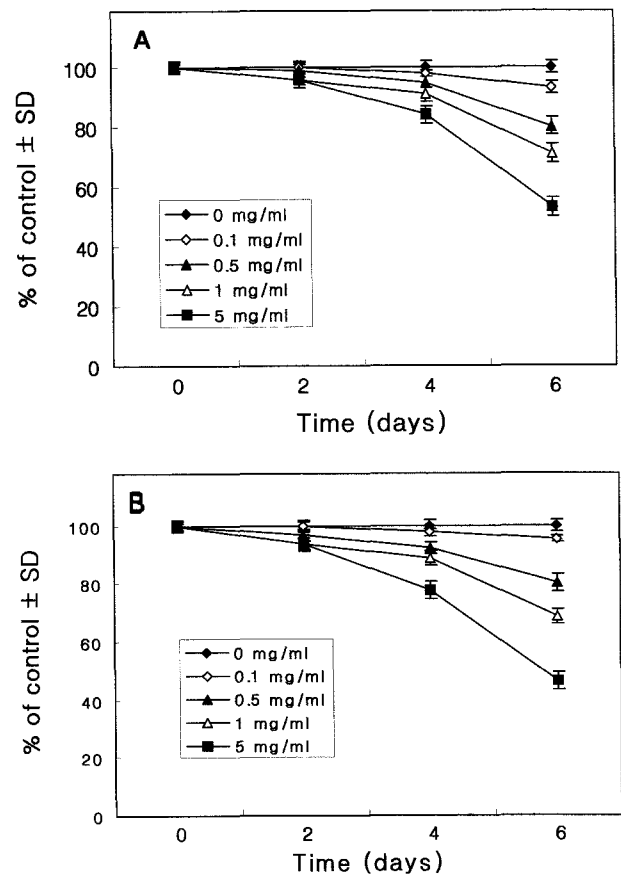


Fig. 1. Effect of water extract of Cnidii Rhizoma on proliferation of estrogen-dependent MCF-7 (A) and estrogen-independent MDA-MB-231 (B) human breast cancer cells. Experimental details are described in Material and Methods. The values are mean \pm SD (n=3).

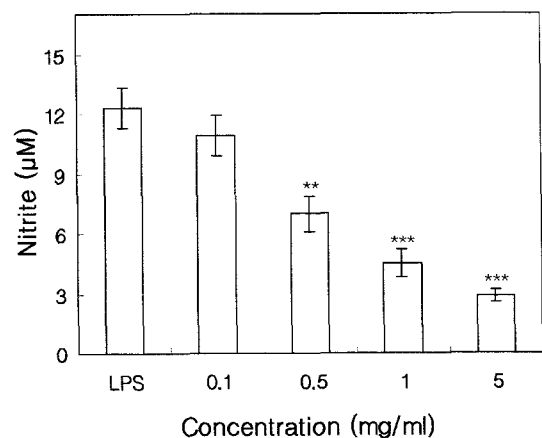


Fig. 2. Inhibition of LPS-induced NO production by water extract of Cnidii Rhizoma. Experimental details are described in Material and Methods. The values are mean \pm SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$).

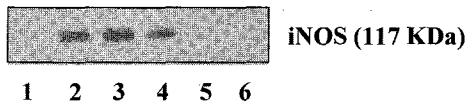


Fig. 3. Inhibition of LPS-induced iNOS expression by water extract of *Cnidii Rhizoma* in Raw 264.7 macrophage. Experimental details are described in Material and Methods. Lane 1, no treatment. Lane 2, 200 ng/ml LPS treatment. Lane 3, LPS and 0.1 mg/ml CRW treatment. Lane 4, LPS and 0.5 mg/ml CRW treatment. Lane 5, LPS and 1.0 mg/ml CRW treatment. Lane 6, LPS and 5.0 mg/ml CRW treatment.

알려져 있다.¹¹⁾ 또한 iNOS에 의해 생성된 NO는 발암과정 중 p53 돌연변이에 관여하고 tyrosine nitration에 의해 p53의 기능을 변화시킨다.¹²⁾ 그러므로 천궁열수추출물은 NO 생성에 높은 억제효과가 있으므로 종양형성 촉진을 억제하고, NO나 NO 대사물에 의한 유전자 독성을 억제하여 암억제효과가 있을 것으로 기대된다.

iNOS 단백질 표현에 미치는 영향 - LPS에 의해 유도된 iNOS의 표현에 미치는 천궁열수추출물의 영향을 Western blot 분석으로 살펴본 결과, 천궁열수추출물이 iNOS 단백질의 표현을 억제하였다(Fig. 3). NO 생성을 위한 iNOS 표현과 활성이 여러 종류의 인체 암에서 관찰되었으며,^{6,13,14)} 특히 iNOS의 활성이 침입성 유방암 조직에서 증명되었으므로 유방암 발병에서 iNOS가 종양 촉진에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾ iNOS 표현 증가는 유방암의 전암성과 암성종양 손상과 연관이 있으며, iNOS의 표현이 유방의 apocrine metaplasia의 종양세포에서도 발견되었다.¹⁶⁾ 그러므로 iNOS의 표현을 억제하는 천궁열수추출물은 유방

암 발생과정의 촉진을 억제하는 효과가 있을 것이다.

ODC 활성 - 천궁 열수추출물에 의한 ODC 활성 억제를 살펴본 결과, 0.5, 1.0과 5.0 mg/ml 농도에서 각각 무처리한 세포의 ODC 활성의 16.2, 27.0와 43.1%의 억제효과가 있었다(Fig. 4). 증가한 ODC 단백질 표현과 polyamine 함량이 유방암조직에서 관찰되었고,¹⁷⁾ 매우 빨리 증식하는 유방 종양에서도 높은 ODC 표현과 polyamine 함량이 측정되었으므로,¹⁸⁾ ODC 활성이 유방암 발생과 관계가 있음이 증명되었다. DFMO(ODC 저해제)는 estrogen-비의존적과 estrogen-의존적 종양형성을 위한 생물학적 진행과정을 방해하고,¹⁹⁾ 동물모델에서의 발암물질이나 임의적으로 유도된 유선암 발생을 감소시키는 효과가 있었다.^{20,21)} 따라서 천궁열수추출물 5.0 mg/ml 농도에서는 DFMO와 비교할 만한 억제효과가 측정되었으므로 천궁은 발암과정의 promotion 단계 억제에 의한 암예방 효과가 있으며 발암물질이나 임의적으로 유도된 유방암 발생을 억제하는 효과가 있을 것으로 기대된다.

결 론

천궁으로 열수추출물을 조제하여 유방암 유발 억제효과를 측정된 결과, 천궁 열수추출물은 estrogen-의존성의 유방암세포(MCF-7)와 estrogen-비의존성 유방암세포(MDA-MB-231)의 증식을 농도 의존적으로 억제하는 효과가 있었으며, 유선세포의 유전자 독성을 유발하는 NO의 생성을 저해하고 높은 농도의 NO 생성을 위한 iNOS의 표현도 억제하였다. 또한 유방암발생의 촉진단계에 주요한 기능을 가진 ODC 활성도 억제하였으므로 천궁열수추출물은 유방암 발생을 저해할 것으로 기대된다.

사 사

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

인용문헌

1. Fisher, B., Costantino, J. P., Wickerham, D. L., Redmond, 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.
2. Kroncke, K. D., Fehsel, K., Suschek, C., and Kolb-Bachofen, V. (2001) Inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide in gene regulation, cell death and cell survival. *Int. Immun-*

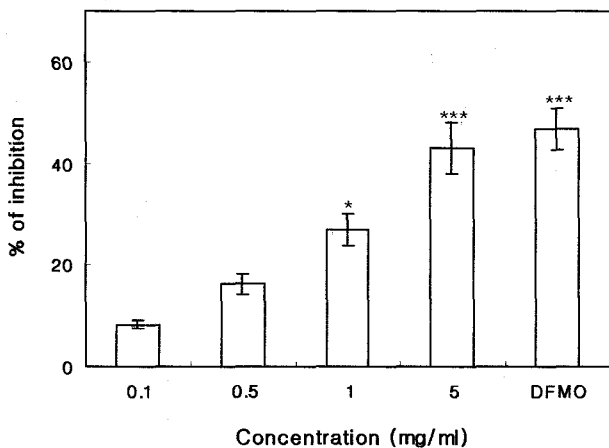


Fig. 4. Effect of water extract of *Cnidii Rhizoma* on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced ornithine decarboxylase (ODC) activity in mouse epidermal cells, line 308. The ODC activity of control is 301±29 pmol ¹⁴CO₂/h/mg protein. DFMO, 0.01 mM difluoromethylornithine. The values are mean±SD (n=3). The value of each group statistically significant as compared with control (*p<0.05, ***p<0.005).

- nopharmacol.* **1**: 1407-1420.
3. Tamir, S. and Tannenbaum, S. R. (1996) The role of nitric oxide(NO) in the carcinogenic process. *Biochim. Biophys. Acta* **1288**: F31-F36.
 4. Ambs, S., Hussain, S. P., and Harris, C. C. (1997) Interactive effects of nitric oxide and the p53 tumor suppressor gene in carcinogenesis and tumor progression. *FASEB J.* **11**: 443-448.
 5. Felley-Bosco, E. (1998) Role of nitric oxide in genotoxicity: implication for carcinogenesis. *Cancer Metastasis Rev.* **17**: 25-37.
 6. Knowles, R. G. and Moncada, S. (1994) Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem. J.* **298**: 249-258.
 7. Li, L., Carol, T., and Susan, K. G. (2000) Inhibition of ornithine decarboxylase (ODC) decreases tumor vascularization and reverse spontaneous tumors in ODC/Ras transgenic mice. *Cancer Res.* **60**: 5696-5730.
 8. Huber, M. and Poulin, R. (1996) Permissive role of polyamines in the cooperative action of estrogens and insulin or insulin-like growth factor I on human breast cancer cell growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **81**: 113-123.
 9. 李尙仁(1998) 本草學, 407-409, 修書院, 서울.
 10. Macchiarini, P., Fontanini, G., Hardin, M. J., Squartini, F., and Angeletti, C. A. (1992) Relation of neovascularization to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* **340**: 145-146.
 11. Wink, D. A., Hanbauer, I., Grisham, M. B., Laval, F., Nims, R. W., Laval, J., Cook, J., Pacelli, R., Liebmann, J., Krishna, M., Ford, P. C., and Mitchell, J. B. (1996) Chemical biology of nitric oxide: regulation and protective and toxic mechanisms. *Curr. Top. Cell Regul.* **34**: 159-187.
 12. Ambs, S., Bennett, W. P., Merriam, W. G., Ogunfusika, M. O., Oser, S. M., Harrington, A. M., Shields, P. G., Felley-Bosco, E., Hussain, S. P., and Harris, C. C. (1999) Relationship between p53 mutations and inducible nitric oxide synthase expression in human colorectal cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **91**: 86-88.
 13. Vakkala, M., Kahlos, K., Lakari, E., Paakko, P., Kinnula, V., and Soini, Y. (2000) Inducible nitric oxide synthase expression, apoptosis, and angiogenesis in situ and invasive breast carcinomas. *Clin. Cancer Res.* **6**: 2408-2416.
 14. Robbins, R. A., Barnes, P. J., Springall, D. R., Warren, J. B., Kwon, O. J., Buttery, L. D., Wilson, A. J., Geller, D. A., and Polak, J. M. (1994) Expression of inducible nitric oxide in human lung epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **203**: 209-218.
 15. Thomsen, L. L., Miles, D. W., Happerfield, L., Bobrow, L. G., Knowles, R. G., and Moncada, S. (1995) Nitric oxide synthase activity in human breast cancer. *Br. J. Cancer* **72**: 41-44.
 16. Tschugguel, W., Knogler, W., Czerwenka, K., Mildner, M., Weninger, W., Zeillinger, R., and Huber, J. C. (1996) Presence of endothelial calcium-dependent nitric oxide synthase in breast apocrine metaplasia. *Br. J. Cancer* **74**: 1423-1426.
 17. Manni, A., Astrow, S. H., Gammon, S., Thompson, J., Mauger, D., and Washington, S. (2001) Immunohistochemical detection of ornithine-decarboxylase in primary and metastatic human breast cancer specimens. *Breast Cancer Res. Treat.* **67**: 147-156.
 18. Glikman, P., Vegh, I., Pollina, M. A., Mosto, A. H., and Levy, C. M. (1987) Ornithine decarboxylase activity, prolactin blood levels, and estradiol and progesterone receptors in human breast cancer. *Cancer (Phila)* **60**: 2237-2243.
 19. Suh, N., Glasebrook, A. L., Palkowitz, A. D., Bryant, H. U., Burris, L. L., Starling, J. J., Pearce, H. L., Williams, C., Peer, C., Wang, Y., and Sporn, M. B. (2001) Arzoxifene, a new selective estrogen receptor modulator for chemoprevention of experimental breast cancer. *Cancer Res.* **61**: 8412-8415.
 20. Marton, L. J. and Pegg, A. E. (1995) Polyamines as targets for therapeutic intervention. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **35**: 55-91.
 21. Green, J. E., Shibata, M. A., Shibata, E., Moon, R. C., Anver, M. R., Kelloff, G., and Lubet, R. (2001) 2-Difluoromethylornithine and dehydroepiandrosterone inhibit mammary tumor progression but not mammary or prostate tumor initiation in C3(1)/SV40 T/t-antigen transgenic mice. *Cancer Res.* **61**: 7449-7455.

(2004년 6월 15일 접수)