

## 플라보노이드의 항암 효능과 면역중재성 항암 작용 및 기작

— 총설 —

이제형<sup>1</sup> · 이용규<sup>2</sup>

<sup>1</sup>동아대학교 의과대학 의학과

<sup>2</sup>동서대학교 화학공학부 식품영양학 전공

### Anticancer Effect and Immunomodulatory Activity of Flavonoids and Their Mechanism

Je Hyung Lee<sup>1</sup> and Yong Kyu Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine, College of Medicine, Dong A University

<sup>2</sup>Food and Nutrition, Division of Chemical Engineering, Dongseo University

**ABSTRACT** The side effects resulting from chemotherapy for cancer treatment are mostly related to immunosuppression or reduced immunity. To prevent such side effects, many studies have started focusing on natural dietary substances that have immunomodulatory effects. Flavonoids have been a particular focus of such research because they are known, for over 20 years, to have outstanding antioxidant and anti-inflammatory effects. New molecular targets of anticancer activities continue to be discovered and a comprehensive overview of various anticancer immunity studies is soon expected, and so this current study reviews the recent study results on flavonoids (quercetin, hesperidin, epigallocatechin, genistein, luteolin, kaempferol, apigenin), their anticancer activities, their anticancer immunity, their anti-inflammatory cancer suppression activity, and the mechanism of these actions. In particular, immunomodulatory flavonoids activate effector cells like macrophages, NK cells, and neutrophil granulocytes, and these cells then infiltrate themselves into tumor to slay these malignant cancer cells. Immunomodulatory flavonoids also suppress the formation and growth of tumor by suppressing T<sub>R</sub> cells, activating T<sub>C</sub> and T<sub>H</sub> cells, increasing IFN- $\gamma$ , and decreasing PD-L1, IL-1 and TLR. Fortunately, there were some recent clinical reports on flavonoids preventing cancer recurrence. However, the number of reports is not enough to support flavonoids' clinical effects and adoption as a standard treatment, because their bioavailability is low. Despite the low bioavailability, flavonoids are highly effective and safe, and each flavonoid has different molecular targets in a cell. That is why more in-depth studies are needed to find the results of combined treatment of various flavonoids or flavonoids treatment combined with other pharmaceutical substances.

**Key words:** flavonoids, anticancer effect, immunomodulatory activities, action mechanism

## 서 론

암은 개시, 촉진 단계를 거쳐서 완전한 악성화로 진행되기까지 여러 해가 걸리므로 그 기간 동안 개시와 촉진 단계를 예방하고 악성화로 진행되기 이전에 암의 발달을 방해할 수 있는 많은 작용점이 있다. 이들 작용점에서 효과적으로 작용할 수 있는 무독성의 화학 물질에 대한 다수의 연구가 이루어졌으며, 그 결과 여러 화학요법제가 발굴 또는 개발되어 암의 치료 및 예방에 적용되고 있다. 화학요법제의 효과에 기반한 많은 예방과 치료가 이루어지고 있지만, 이 요법에 의한 치료는 암세포만 파괴하는 것이 아니라 주위의 정상

세포 파괴, 면역억제 작용 등의 부작용도 동반한다고 알려져 있다.

한편 많은 연구자들은 암 치료의 부작용과 더불어 증가하는 암의 발병률을 고려하여 암 치료를 넘어 암 예방 연구에도 집중하고 있다. 특히 암 치료를 위한 화학요법제는 면역 기능을 억제시켜 종양 억제 효능을 반감시키는 면역 반응을 일으킬 수 있으므로 수년 전부터 항암물질 연구는 종양에 대항하는 면역 반응을 강화하면서 기존 화학요법제의 기능을 갖는 면역 치료 물질의 발견에 치중하고 있다(Sprengers와 Janssen, 2005; Ghiringhelli 등, 2012). 항암 효능을 반감시키는 면역을 억제하여 통합적으로 면역 증강을 나타냄으로써 항암 기능을 갖는 식이성 천연물에 대한 연구가 플라보노이드를 중심으로 한 폴리페놀에 대하여 보고되었다(Yousef 등, 2017; Yahfoufi 등, 2018).

식이성 플라보노이드에 대한 연구는 카테킨과 퀘르세틴을 중심으로 2000년 이후에 활발히 이루어졌다. 플라보노이드는 *in vitro*와 *in vivo*의 여러 연구 결과에서 암세포의

Received 28 March 2019; Accepted 25 July 2019

Corresponding author: Yong Kyu Lee, Food and Nutrition, Division of Chemical Engineering, Dongseo University, Busan 47011, Korea  
E-mail: lyk@dongseo.ac.kr, Phone: +82-51-320-1795

Author information: Je Hyung Lee (Student), Yong Kyu Lee (Professor)

증식, 전이, 혈관 생성을 억제하고 세포자멸사를 일으켜 항종양 효능을 나타낸다고 보고되는 등(Ravishankar 등, 2013) 높은 평가를 받고 있다. 그러므로 플라보노이드의 장점을 이용하여 항암 치료 약물을 개발하거나 플라보노이드의 병용투여로 항암 치료의 효능을 높이기 위한 여러 시도가 이루어지고 있다(Niedzwiecki 등, 2016). 또한 면역중재성 항암 치료제에 대한 재고라는 연구 개발 목표에 따라 최근에는 식이성 플라보노이드의 면역중재성 항암 작용에 대한 보고가 이루어지기 시작하였다. 그러나 각 연구진에 따라서 개별적이고 단편적인 연구 결과가 발표됨에 따라서 각 성분의 효능과 작용 기작에 대한 통합적인 결론을 도출하기 어려운 상황이다. 그러므로 본 연구는 식이성 플라보노이드의 항암 효능과 면역중재성 항암 작용에 대한 종합적인 자료를 제공하고, 플라보노이드의 임상적 적용을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다. 식이성 플라보노이드로서 퀘르세틴(quercetin), 헤스페리딘(hesperidin), 카테킨(epigallocatechin-3-gallate, EGCG), 제니스타인(genistein), 루테올린(luteolin), 캄페롤(kaempferol), 아피게닌(apigenin)(Fig. 1)에 대하여 항암 효능과 면역중재성 항암 작용의 기작이 보고되었으므로, 이를 Table 1에 요약하였다. 이같이 면역중재성 항암 작용을 나타내는 플라보노이드는 항염증성 인자로도 널리 알려져 있으므로 염증성 시스템과 임상적 효능에 관하여는 본 연구의 후반부에 ‘염증성 면역 시스템과 항암 효능’, ‘플라보노이드의 임상적 효능과 역학적 연구 보고’로 기술하였다.

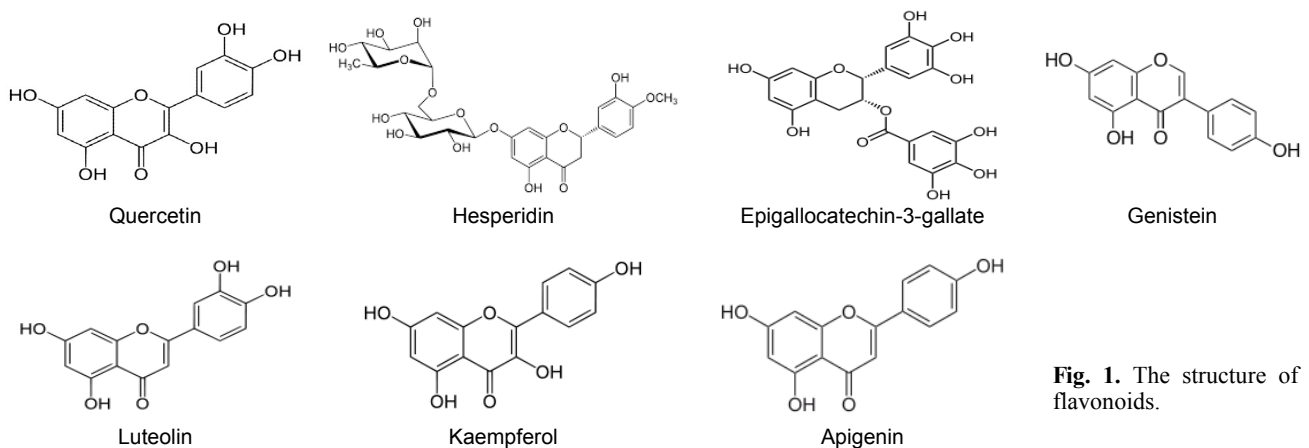
### 항암 효능의 기작

항암 효능을 나타내는 식이성 천연물은 작용 기전에 따라서 작용점이 달라지므로 항암 효능의 작용 기전을 구분하면 아래와 같이 설명할 수 있다. 작용 기전을 고전적으로 나누어 보면 세포자멸사 유도, 세포 분열 억제를 통한 암세포의 증식 억제, 암세포의 혈관 신생·침투·전이 억제를 통한 증식 억제가 있다. 최근에는 암세포 치료 기전에 자식작용(auto-

phage)과 면역중재성 항암 작용에 대하여 관심이 집중되어 여러 보고가 이루어지고 있다.

### 세포자멸사 유도 및 자식작용

세포자멸사(apoptosis)는 death receptor를 통한 외부 경로와 사이토크롬 c 방출을 통한 내부 경로로 나눌 수 있다. 활성 물질이 세포막에 위치한 Fas/FasL 수용체를 자극하면 caspase 단백질들이 활성을 가지게 되며, 활성화된 caspase들은 DNA 분절을 유발하여 세포자멸사를 유발한다(Ham 등, 2014; Park 등, 2013). 내부 경로는 하위 단백질이며 세포자멸사와 밀접한 관련이 있는 Bcl-2와 Bax를 통한 경로이다. Bcl-2와 Bax의 발현으로 인하여 미토콘드리아 막전위에 영향을 주어 결과적으로 사이토크롬 c가 세포질로 방출되면 caspase 9 → procaspase 3 → caspase 3의 활성화로 세포자멸사를 가져올 수 있다(Youle과 Strasser, 2008; Zheng 등, 2016; Vela와 Marzo, 2015). 그러므로 식이성 천연물에 의하여 Bcl-2, Bax, caspase 단백질의 발현으로 항암 효능을 판단할 수 있다. 세포자멸사와 관련이 있는 상위 경로에서 대표인 것은 MAPK/ERK(mitogen-activated protein kinase/extra-cellular signal regulated kinases) 경로이다. MAPK는 serine/threonine kinase로서 세포 밖 신호(세포증식, 분화, 침투, 스트레스 반응, 사이토카인, 성장인자와 mitogen)를 핵 내로 전달하여 이 신호에 의해 유발된 세포 사멸을 조절한다. MAPK에 속하는 신호분자로는 ERK, JNK(c-Jun amino-terminal kinases), p38 kinase가 있으며, MAPK/ERK 경로는 세포자멸사에 관여하는 주경로가 되며, MAPK/JNK, p38 경로는 세포자멸사와 세포 주기 억제에 포함된 유전자 발현을 조절하는 기능을 갖는다(Burotto 등, 2014; Kolch, 2005; Mayor 등, 2007); 또한 이 세 분자(ERK, JNK, p38 kinase) 모두 면역활성의 변화에도 큰 영향을 준다고 보고되었다(Zhang 등, 2017a; Taniguchi와 Karin, 2018). 즉 외부 자극(항암 물질 혹은 면역증강 물질)은 p38 kinase, ERK, JNK의 인산화를 각각 증가시키고, 대식세포의 면역력 증가 활성화는 IkBa의



**Fig. 1.** The structure of flavonoids.

**Table 1.** Action mechanism of flavonoids with anticancer effect and anticancer immunity

Compound (source)	Mechanism of action	Molecular target	Cancer cell line, animal model	References
Quercetin (onion, elderberry, pear, apple)	Apoptosis	p38↑, Bax/Bcl-2↑	Human hepatoblastoma cell (HepG2)	Lee et al., 2015
	Apoptosis, anti-proliferation	Bax↑, caspase-3,9↑, p53↑, p21↑, G <sub>2</sub> /M cycle↓	Human colon cancer cell (SW620)	Zhang et al., 2017b
	Apoptosis	AMPK↑	Human bladder cancer cell (T24)	Wu et al., 2017
	Apoptosis, anti-proliferation	TP53INP1↑, JUNB↑, VEGFB↓, CDK10↓	Human stomach cancer cell (AGS)	Shang et al., 2018
	Anti-metastasis	STAT3↓ MMP-2,9↓, caspase-9↑, Bax/Bcl-2↑	Melanoma cell (A375, A2058)	Cao et al., 2014
	Tumor growth inhibition, apoptosis, anti-proliferation		Mouse colon cancer cell (CT-26), human prostate cancer cell (LNCaP), human leukemia (MOLT-4), MCF-7 and CT-26 implanted tumor mouse	Hashemzaei et al., 2017
	Immunomodulation, apoptosis	Leukocyte↓, macrophage activity↑	EA implanted APC mouse	Orsolić and Basić, 2005
	Immunomodulation tumor growth inhibition, apoptosis, anti-metastasis	Mac3 and CD11b protein↓ in blood, macrophage differentiation↓, T cell proliferation↓, NK activity↑, CD19↑	WHEI-3 (murine leukemia) implanted leukemia mouse	Yu et al., 2010
	Immunomodulation inhibition of tumorigenesis, apoptosis, autophagy	PI3K/Akt/mTOR↓, STAT3↓, cFLIP↓, cyclin D1↓, cMyc↓, IL-6↓	Lymphoma (B-lymphoma)	Granato et al., 2017
	Immunomodulation, anti-proliferation	IL-8↓	Gastric cancer cell (AGS)	Skiba et al., 2016
	Immunotherapy, inhibition of tumor recurrence	IL-6↓	Serum of human	Bobbe et al., 2010
Hesperidin (citrus)	Apoptosis	ASK1/JNK↑, caspase-3↑, Bax/Bcl-2↑	Human breast cancer cell (MCF-7, MDA-MB-231)	Palit et al., 2015
	Tumor growth inhibition, apoptosis, anti-metastasis	G <sub>2</sub> /M cycle↓, Bax/Bcl-2↑, caspase-3↑	Human osteosarcoma cell (MG-63) and MG-63 implanted tumor mouse	Du et al., 2018
	Apoptosis	Bax/Bcl-2↑, caspase-3,9↑	Esophageal cancer cell (Eca 109)	Wu et al., 2016
	Tumor growth inhibition, apoptosis, anti-proliferation	Bax/Bcl-2↑, caspase-3,9↑	Human gastric cancer cell (SGC-7901, MGC-803, HGC-27), MGC-803 implanted tumor mouse	Zhang et al., 2015a
	Tumor growth inhibition, apoptosis, anti-proliferation	Bax/Bcl-2↑, caspase-3,9↑	Human hepatoblastoma cell (HepG2, SMMC-7721, Huh-7), Huh-7 implanted tumor mouse	Zhang et al., 2015b
	Tumor growth inhibition, apoptosis, autophagy	PI3K/Akt/mTOR↓, Bax/Bcl-2↑, caspase-3,9↑, p53-p21↑, PTEN↑, stimulation of beclin-1 and LC3- II	AOM induced colorectal cancer mouse	Saiprasad et al., 2014

Table 1. Continued

Compound (source)	Mechanism of action	Molecular target	Cancer cell line, animal model	References
	Immunomodulation, apoptosis, anti-inflammation	Caspase-3↑, FGF/NF-κB↑, IL-1↑, IL-1/TLR↑, PKCβ↑	Human lung cancer cell (NCI-H358, A549)	Birsu Cincin et al., 2015
	Immunomodulation	B and T-lymphocyte↑, NK cell and Tc activity↑	Splenocyte ( <i>ex vivo</i> )	Sassi et al., 2017
Epigallocatechin-3-gallate (tea, green tea tree)	Apoptosis, anti-proliferation	G <sub>2</sub> /M cycle↓	Human cervical cancer cell (SiHa)	Singh et al., 2010
	Apoptosis, anti-proliferation	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> ↓	Human oral squamous cancer cell (PE/CA-PJ15)	Pons-Fuster et al., 2017
	Apoptosis, anti-proliferation, anti-angiogenesis	PI3K/Akt↓, AP-1↓, NF-κB↓	Human colon cancer cell (HT-29)	Shimizu et al., 2005
	Apoptosis, anti-proliferation, anti-angiogenesis	PI3K/Akt↓, AP-1↓, NF-κB↓	Human breast cancer cell (MDA-MB-231)	Singh et al., 2011
	Anti-proliferation	EGFR kinase↓, c-Met receptor↓	Lung cancer cell (H2122)	Milligan et al., 2009
	Tumor growth inhibition, anti-metastasis, anti-angiogenesis	ERK/Akt↓, VEGF/VEGFR↓	SW-837 (human rectum cancer cell) implanted tumor	Shimizu et al., 2010
	Apoptosis, anti-metastasis	β-Catenin↓, GSK-3β↓, Akt↓, cyclin D1↓	Human cerebral head and neck cancer (KB, FaDu)	Shin et al., 2016
	Immunomodulation, anti-proliferation	AP1↓, ZAP-70 kinase↓, CD-3 mediated T cell↓, CD-3 mediated IL-2↓	Human leukemia cell	Shim et al., 2008
	Immunomodulation, anti-angiogenesis	IL-6 induced VEGF↓	Human gastric cancer (AGS)	Zhu et al., 2011
	Immunomodulation, anti-proliferation, anti-metastasis	IL-1 induced NF-κB/VEGF↓, IL-1 induced IL-6,8 release↓	Human pancreatic adenocarcinoma (colo 357)	Hoffmann et al., 2011
	Immunomodulation, anti-proliferation	IFN-γ induced JAK2/STAT1 (and PD-L1)↓	Human lung cancer cell (A549)	Rawangkan et al., 2018
	Immunomodulation, anti-proliferation	EGFR/Akt↓, PD-L1↓	Lung cancer cell (Lu99)	Rawangkan et al., 2018
	Immunomodulation, anti-proliferation	PD-L1↓, restore IL-2 mRNA	CD3+ T cell transfected melanoma cell (F10 OVA)	Rawangkan et al., 2018
	Immunomodulation	PD-L1↓, tumor cell number↓	Lung cancer mouse	Rawangkan et al., 2018
	Immunostimulation, prevention of cancer formation	Activity of CD4+ T cell and NK cell↑	BALB/c mouse (normal)	Kim et al., 2016
Genistein (soybeans, red bean)	Apoptosis	PI3K/Akt/mTOR↓, G <sub>2</sub> /M↓	Human breast cancer cell (MDA-MB-231, MCF-7)	Zhu et al., 2018b
	Apoptosis, anti-proliferation	CIP2A↓, caspase-3↑	Human breast cancer cell (MCF-7, T47D, HEK 293T)	Zhao et al., 2016
	Anti-proliferation	S cycle↓, G <sub>2</sub> /M cycle↓, Skp2↓, p21↑, p27↑	Human breast cancer cell (MDA-MB-231, SKBR3)	Ye et al., 2018
	Apoptosis, anti-proliferation	MMP-2,9↓, survivin↓, STAT3↓, cyclin D1↓, Bax/Bcl-2↑, caspase-3,9↑, ALDH1A1↓	Human pancreatic cancer cell (Mia-PaCa2, PANC-1)	Bi et al., 2018

Table 1. Continued

Compound (source)	Mechanism of action	Molecular target	Cancer cell line, animal model	References
	Apoptosis, anti-proliferation	G <sub>2</sub> /M cycle↓	Mouse hepatoma cell (Hepa1-6)	Sanaei et al., 2018
	Tumor growth inhibition, anti-proliferation	PI3K/Akt/mTOR↓, G <sub>2</sub> /M↓	MDA-MB-231 implanted tumor mouse	Paul et al., 2017
	Immunomodulation, inhibition of tumor formation	STAT 1, 4↑, Tc↑, NK↑, IFN-γ↑, % of CD4(+)CD25(+) T <sub>R</sub> cells↓	Splenocyte of B6C3F1 mouse (normal)	Guo et al., 2007
	Immunomodulation, inhibition of tumor formation	CTL↑, tumor growth↓	DBA induced tumor mouse	Guo et al., 2007
	Immunomodulation, anti-inflammation	IFN-β↓, IL-10↓, IL-6↓, TNF-α↓, IL-1α↓, IL-1β↓	Macrophage	Cui and Bilitewski, 2014
Luteolin (pear, celery, parsley)	Apoptosis, anti-metastasis	Caspase-3,9↑, Bax/Bcl-2↑, phosphorylation of MEK/ERK and Akt↑	Human lung cancer cell (A549)	Meng et al., 2016
	Apoptosis, anti-proliferation	Caspase-3,9↑, Bax↑, Bcl-2↑, Mcl1↑	Human lung cancer cell (A549)	Chen et al., 2012
	Apoptosis	Caspase-3,8,9↑, Akt/OPN↓	Human liver cancer cell (SK-Hep-1)	Im et al., 2018
	Apoptosis, anti-proliferation	G <sub>1</sub> /S cycle↓, caspase-3↑, Bax/Bcl-2↑	Human hepatoma cell (SMMC-7721, BEL-7402)	Ding et al., 2014
	Apoptosis, anti-proliferation	EGF induced MAPK↓, Akt↓, PLK1↓, cyclin B(1)↓, CDK2↓, CDC2↓, G <sub>2</sub> /M cycle↓, S cycle↓	Human breast cancer cell (MDA-MB-231, ER negative)	Lee et al., 2012
	Anti-metastasis, tumor growth inhibition	MMP 2,9↓	AOM induced colorectal cancer mouse	Pandurangan et al., 2014
	Apoptosis, autophagy	JNK↑, Akt↑, p38↑, caspase-3,8↑, Bcl-2↓	Macrophage (ANA-1)	Liao et al., 2018
	Immunomodulation, tumor growth inhibition	IL-2↓, IFN-γ↑	Splenocyte and serum of DN induced hepatoma mouse	Zhang et al., 2016
Kaempferol (grape, apple, broccoli, tea)	Apoptosis	p53↑, MAPK/ERK↓, c-Jun↓, JUNK↓	Human breast cancer cell (MDA-MB-231)	Srinivas, 2015
	Anti-proliferation	MMP-2,9↓, AP-1/MAPK↓	Human breast cancer cell (MDA-MB-231)	Li et al., 2015
	Apoptosis	PI3K/Akt/mTOR↓, PTEN↑	Human hepatoma cell (HepG2)	Zhu et al., 2018a
	Anti-metastasis	ERK1/2↓, MMP-9↓	Human retinal pigment cell (ARPE-19)	Chien et al., 2019
	Apoptosis, anti-proliferation, anti-metastasis	Akt↓, cyclin D1↓, CDK4↓, pBRCA1↑, pATM↑, p53↑, p21↑, p38↑, Bax/Bcl-2↑, S cycle↓	Human bladder cancer cell (EJ9)	Wu et al., 2018
	Apoptosis, anti-proliferation	Phospho-p38 MAPK↑, caspase-3,8,9↑, p53↑, p21↑, G <sub>2</sub> /M cycle↓	Human colon cancer cell (HCT116, HCT115)	Choi et al., 2018
	Apoptosis, autophagy	PI3K/Akt↓, PTEN↑, miR-340↑	Human gastric cancer cell (A549, SNU-216, AGS, SNU-638)	Kim et al., 2018
	Apoptosis, autophagy	PI3K/Akt↓, PTEN↑	Mouse osteoblastic cell (MC3T3-E1)	Kim et al., 2016

Table 1. Continued

Compound (source)	Mechanism of action	Molecular target	Cancer cell line, animal model	References
	Apoptosis, autophagy	PI3K/Akt↓, PTEN↑	Human lung cancer cell (A549)	Han et al., 2018
	Immunomodulation, tumor growth inhibition, anti-inflammation	IL-8↓	Human gastric cancer cell (AGS)	Skiba et al., 2016
	Immunomodulation, anti-proliferation	IL-2 induced Treg %↑, IL-2 induced IFN-γ↓	Splenocyte of HIS mouse	Li et al., 2017
Apigenin (parsley, onion, rosemary, celery, chamomile)	Apoptosis	JAK2/STAT3↓, caspase-3,8↑	Human breast cancer cell (MDA-MB-231)	Seo et al., 2014
	Apoptosis, anti-proliferation	Caspase-3↑, Wnt/β-catenin↓, Bax/Bcl-2↑	Human colon cancer cell (HT-29)	Yang et al., 2018
	Anti-proliferation anti-invasion	PI3K/Akt↓, MMP-9↓, GSK-3β↓	Human lung cancer cell (A549)	Zhou et al., 2017
	Immunomodulation, anti-proliferation anti-invasion	IL-1β induced ERK1/AP-1 (and JNK/AP-1, ERK1/NF-κB, uPAR)↓	Human bladder cancer cell (T24)	Xia et al., 2018
	Immunomodulation, anti-proliferation	STAT1↓, IFN-γ induced PD-L1↓	Human melanoma cell (A375)	Xu et al., 2018
	Immunomodulation, tumor growth inhibition	T cell infiltration↑, PD1-PD-L1 interaction↓, % of CD4/CD8 T cells↑	Splenocyte of B16-F10 implanted tumor mouse	Xu et al., 2018
	Immunomodulation, tumor growth inhibition	Decreased Ikaros↑, % of CD4/CD8 T cells↑, Treg↓, IFN-γ↑	Splenocyte of mouse pancreatic carcinoma cell (Panc02) implanted tumor mouse	Nelson et al., 2017
	Immunomodulation, tumor growth inhibition	STAT/NF-κB/VEGF↓, IL-6,10↓	AOM induced colon carcinoma mouse	Ai et al., 2017

분해를 촉진함으로써 NF-κB(nuclear factor kappa B)의 신호 활성을 증가시킬 뿐만 아니라 다시 p38 kinase, ERK, JNK의 신호를 보다 강하게 한다(Zhang 등, 2017a; Taniguchi와 Karin, 2018). 그러므로 MAPK는 세포증식 억제, 혈관 생성 억제, 증식 억제를 유도하는 식이성 천연물의 표적이 되고 있다. 또한 여러 암종에서 PI3K/Akt(phosphatidylinositol 3-kinases/protein kinase B)와 JAK/STAT3 (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3) 경로는 항 세포자멸성 단백질인 Bcl-2의 발현을 유도하는 것으로 보고되고 있다(Brown과 Banerji, 2017; Khanna 등, 2015).

비 세포 사멸성 작용으로 알려진 자식작용은 세포의 라이소좀(lysosome)에서 소화 분해된 세포 잔해물을 액포(vacuole)에 처리하여 세포 밖으로 보내는 작용을 일컫는다. 자식작용과 종양 치료와의 관계에 대하여는 상반되는 연구 결과들이 보고되고 있다. 재생된 세포 산물을 세포 내에 새롭게 공급함으로써 암세포가 성장한다는 견해와 세포자멸사와 공동 작용하여 항종양 효능을 증가시킨다는 견해가 보고되었다(El-Khattouti 등, 2013). 세포자멸사는 손상된 세포를 제거하는 매우 제한된 기전인 반면 자식작용은 라이소좀 분

괴로 단백질 및 소기관 재활용을 포함하는 기전이므로 스트레스나 화학요법에 대한 암세포의 생존과 보존에 관여할 수 있다. 따라서 최근에는 자식작용과 세포자멸사의 관계에서 나타나는 복잡한 분자 기전이 종양치료 전략의 표적이 되고 있다. 세포자멸사에 관여한다고 알려졌던 PI3K/Akt-mTOR (mammalian target of rapamycin complex)와 MAPK 경로의 중재를 통하여 자식작용성 세포자멸사가 유도된다는 보고도 있다(Wu 등, 2011; Annovazzi 등, 2009). 이처럼 자식작용을 통한 단백질 분해율(autophagic flux)과 종양의 세포자멸사에 대한 감수성과의 관계에서 단백 분해율의 증가 또는 자식작용의 억제 모두가 종양 세포 사멸을 자극하는 것으로 나타나는데, 이는 종양 치료 전략의 표적으로서 자식작용의 중요성을 시사한다(Bhat 등, 2018; Limpert 등, 2018).

#### 암세포의 분열 주기 억제 및 증식 저해

세포 분열 주기를 조절하는 상위 경로에는 PI3K/Akt, NF-κB, ERK 1/2 경로 등이 있지만, 이 중에서 주로 작용하는 경로는 PI3K/Akt 경로이다. 외부자극에 의해 PI3K/Akt가 활성화(인산화)되면 하위 조절 인자이자 전사인자인 FOXO3a (Forkhead box O3)의 발현이 억제된다. 이때 FOXO3a의

목표 유전자로서 세포 주기에 억제적으로 작용하는 단백질로 p21과 p53 등이 있다. 즉 외부자극(식이성 항종양 물질)에 의하여 Akt 인산화 저하 → FOXO3a 발현 증가 → p21, p53 발현 증가 → 세포 주기 억제를 예상할 수 있다. 세포 분열 주기의 하위 경로에는 CDK(cyclin-dependent kinase)라는 효소 단백질군도 있다. 예를 들어 cyclin E-CDK는 세포 주기의 G<sub>1</sub>과 S기에 작용하여 DNA 복제 개시 후의 진행에 관여한다. 그 외 G<sub>0</sub>, G<sub>2</sub>와 M기에도 각기 작용하는 cyclin-CDK 복합체가 존재하여 세포 분열 시 동반되는 DNA 복제, 염색체 분열, 세포질 분열을 자극 또는 억제하는 작용을 한다(Engeland, 2018; Uzdensky 등, 2013). 또한 JAK/STAT 경로의 활성화가 여러 종양에서 발견되어 이 경로가 항 세포 자멸성 단백질, 세포 주기, 혈관 생성 등을 조절하는 유전자의 발현에 관여하여 종양 형성과 전이를 촉진하는 것으로 밝혀졌다(Khanna 등, 2015; Farooqi 등, 2019). STAT 단백질은 사이토카인과 성장 인자 혹은 외부로부터 오는 신호들을 중재하여 전사를 촉진하는 인자이므로 세포의 성장과 분화에 관여하며 JAK에 의하여 활성화된다(Khanna 등, 2015; Farooqi 등, 2019).

### 암세포의 전이와 침투 억제

세포의 전이 및 침투에 관여하는 하위 단백질로서 MMP-2(matrix metalloproteinase-2), MMP-9, VEGF(vascular endothelial growth factor)와 Twist1(twist family bHLH transcription factor 1) 등이 알려져 있으며, 상위 경로로 NF- $\kappa$ B, MAPK/ERK, PI3K/Akt, JAK/STAT3 등이 보고되었다. 이전의 연구 결과들은 상위 경로(전사인자)로 NF- $\kappa$ B와의 연관성을 다수 보고하였지만, 2010년 이후의 보고들은 PI3K/Akt, JAK/STAT3 경로를 보다 조명하고 있다. 전사인자인 STAT의 인산화가 억제되면 STAT3의 세포 핵 내 이동이 불가능해져서 타겟 유전자인 MMP-2, MMP-9, VEGF와 Twist1 등의 발현이 억제되는 것으로 여러 연구에서 보고되고 있다(Yao 등, 2019; Cao 등, 2016; Macha 등, 2013). 또한 PI3K/Akt 경로는 MMP-2, MMP-9의 발현을 조절하는데, Akt의 인산화로 MMP-2, MMP-9의 발현이 저해된다(Shi 등, 2015; Li 등, 2012). Wnt/ $\beta$ -catenin 경로에 의한  $\beta$ -catenin은 정상 또는 종양성 상피 세포의 막에 존재하는 단백질로서 암세포에서 암의 전이 및 분화에 관여하며, 세포질 또는 세포막에  $\beta$ -catenin이 축적되면 암을 포함한 여러 질환을 유발한다(Zhang 등, 2019; Ramakrishnan과 Cadigan, 2017).

### 면역중재성 항암 작용 유도

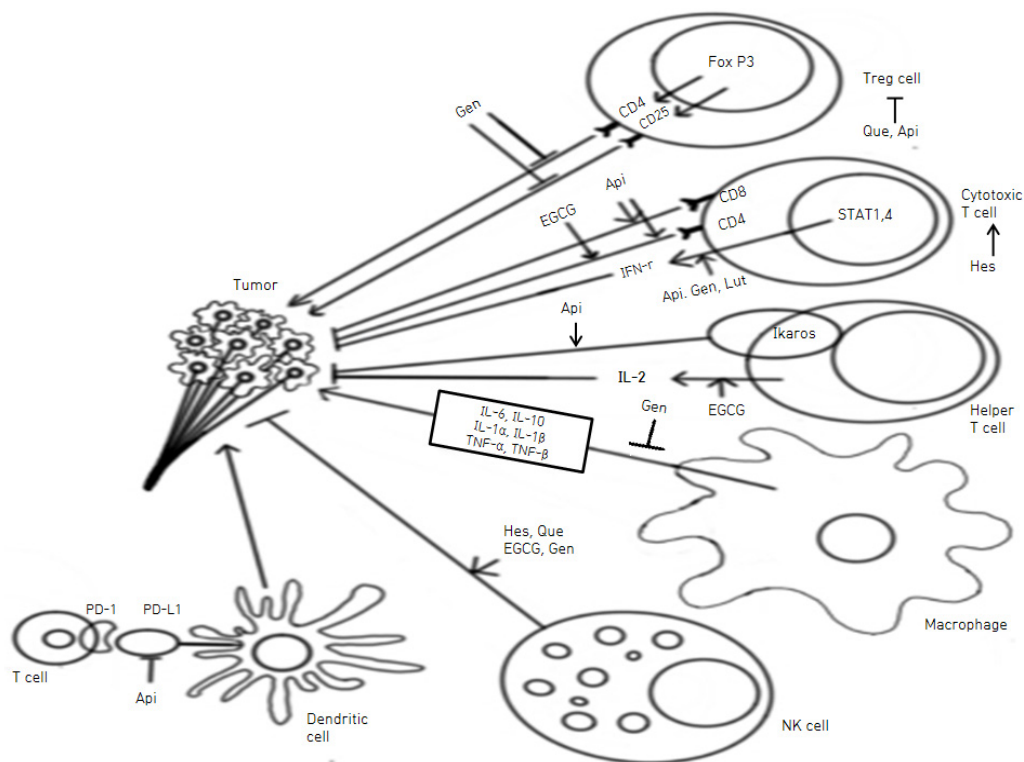
선천 면역이라 불리는 내재 면역(innate immunity) 체계를 담당하는 세포들은 골수성 전구체로부터 유도되는데, 여기에는 다형 핵 백혈구 세포(호산구, 호염구, 호중구), 단핵구, 대식세포 등이 있다. 이들은 포획한 항원(세균 조각 등)을 T 세포에 제시하므로 항원 제시 세포의 기능을 갖는다.

고효능 항원 제시 세포로서 수지상 세포(dendritic cell)가 있는데, 여기에는 림프절, 지라, 여포 수지상 세포, 흉선 수지상 세포 등이 있다. 대식세포와 호중구는 세균성 물질에 의해 활성화되지만 종양세포를 파괴하거나 종양의 성장을 억제하는 기능을 가지고 있다. 내재 면역세포에는 자연 살해 세포라고 하는 NK(neutral killer) 세포가 있는데, 이는 종양의 초기 단계에서 세포독성 림프구(CTL, cytotoxic T lymphocyte)가 다량으로 생성되기 이전에 작용하여 종양 세포를 제거하는 역할을 한다. NK 세포를 활성화시켜서 면역중재성 항암 작용을 나타내는 플라보노이드에는 퀘르세틴(Yu 등, 2010), 제니스타인(Guo 등, 2007), 헤스페리딘(Sassi 등, 2017)이 있으며, 카테킨은 NK 세포 표면의 ZAP70K 단백질을 억제하여 종양 생성을 억제한다고 보고되었다(Shim 등, 2008)(Fig. 2).

적응 면역에서는 침투한 하나의 병원균에 특이적인 면역 과정이 일어나는데, 이를 위해 복잡한 유전자 재조합을 통해 림프구가 생성된다. 림프구에는 T 세포와 B 세포가 있으며 T 세포는 화학적으로나 바이러스에 의해 유도된 종양의 거부 반응에 중요한 역할을 하는데, 여기에는 T<sub>C</sub>(cytotoxic T cell), T<sub>H</sub>(helper T cell)와 T<sub>R</sub>(regulatory T cell)이 있다. B 세포는 표면에 CD19+, CD20+를 가지고 있으며, 평소에 항체를 세포 표면에 붙여 두다가 자신과 맞는 항원을 인식하면 활성화되어 형질 세포로 분화하여 항체를 분비하게 된다(Coico와 Sunshine, 2017a). 이같이 B 세포는 항체를 생성하고 분비하는 기능은 있으나 종양 면역에서의 역할은 거의 알려지지 않았다.

T<sub>R</sub> 세포들은 면역에 대한 저항성을 나타내며 자가 면역을 억제하는 작용을 나타내므로 억제성 T 세포라 불리며, CD4+, CD25+ 수용체를 가지고 있다. 즉 T<sub>R</sub> 세포들은 종양을 지닌 숙주에서 면역 감시로부터 벗어나려 하고, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, 대식세포, NK 세포들을 억제하여 자가 면역과 면역학적 치료를 방해함으로써 면역에 대한 저항성을 확고하게 한다. 그러므로 T<sub>R</sub> 세포들의 이러한 작용은 면역중재를 통하여 종양 생성을 억제하려는 시도에 방해적으로 작용한다(Andersson 등, 2008; Wan과 Flavell, 2007). 플라보노이드는 T<sub>R</sub> 세포들의 작용 또는 활성을 억제하는 것으로 보고되고 있으며, 아피게닌은 T<sub>R</sub> 세포를 감소시키고(Nelson 등, 2017), 제니스타인은 CD4+, CD25+ 수용체성 T<sub>R</sub> 세포의 함량%를 감소시킴으로써(Guo 등, 2007) 각기 종양 생성을 억제하는 것으로 보고되었다(Fig. 2).

T<sub>C</sub> 세포들은 CD8+ 수용체를 가지고 있으며 감염 세포를 인식하여 죽이고, T<sub>H</sub> 세포들은 CD4+ 수용체를 가지고 있으며 B 세포를 도와 면역 반응을 지휘하고 사이토카인을 분비한다. 효과적인 종양 면역에는 CD8+ HLA 클래스 I이 조절하는 종양 특이적 T<sub>C</sub> 세포와 CD4+ HLA 클래스 II가 조절하는 종양 특이적 T<sub>H</sub> 세포를 자극하고 유지시키는 것이 중요하다고 보고되고 있다(Odegaard와 Chawla, 2013). 이같이 항종양성 면역에 관여하는 T<sub>C</sub> 세포들의 작용은 제니스



**Fig. 2.** Effect of flavonoids on immune cells from tumor-bearing mouse. Flavonoids are administered orally into tumor-bearing mouse mostly and normal mouse. Activities of  $T_R$  cells that are inhibitory against anti-tumor immune response are suppressed by Que, Api, and Gen. Activities of  $T_C$  cells and IFN- $\gamma$  expression leading to anti-tumor immune response are enhanced by Gen, Api, and Lut. Activities of  $T_H$  cells leading to anti-tumor immune response are enhanced by Api and EGCG. Cytokine release from macrophage leading to tumor growth is blocked by Gen. Activities of NK cells leading to anti-tumor immune response are enhanced by Que, EGCG, Gen and Hes. Interaction between PD-L1 of dendritic cell and PD-1 of T cell that leads to tumor promotion is inhibited by Api. Que, quercetin; Hes, hesperidin; EGCG, epigallocatechin-3-gallate; Gen, genistein; Kem, kaempferol; Lut, lutein; Api, apigenin.

타인(Guo 등, 2007), 루테인(Zhang 등, 2016), 아피게닌(Nelson 등, 2017)에 의해 강화되어 종양 생성을 억제한다.  $T_H$  세포들의 활성화는 아피게닌(Nelson 등, 2017), 카테킨(Shim 등, 2008)에 의해 촉진되어 종양 생성을 억제하며, 퀘르세틴은  $T_H$  세포에서 IL-6의 생성을 억제함으로써 종양 생성을 억제하였다(Granato 등, 2017).

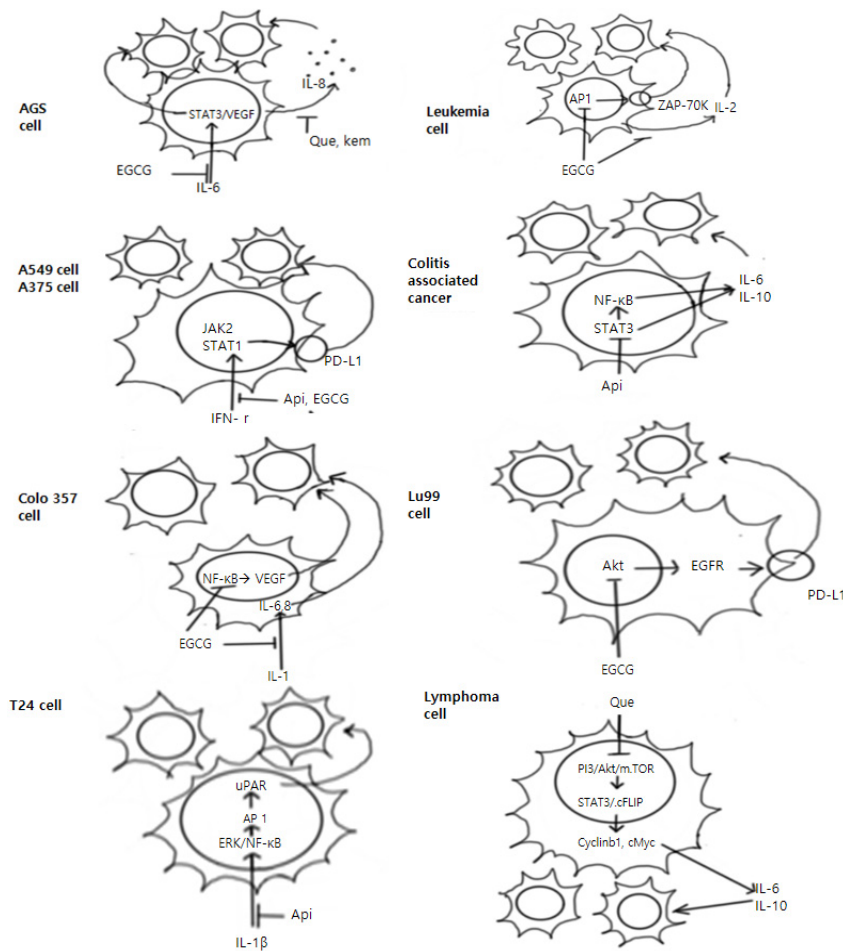
T 세포가 분비하는 사이토카인에는 IL(interleukin), TNF(tumor necrosis factor)- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TGF(tumor growth factor)- $\beta$ , IFN(interferon)- $\gamma$  등이 있는데, 이는 악성 세포의 성장을 자극하거나 억제한다. 종양 면역 반응에서 생산된 자신의 사이토카인에 반응하는 종양 세포들도 있는데, 종양 증식을 유도하는 사이토카인에 대한 예로서 TGF- $\beta$ 는 종양 세포의 면역 반응으로 생성되어 혈관 생성 및 면역 억제 특성을 갖게 되어 암세포 증식을 유도한다. TNF- $\alpha$ 에 관해서는 상반된 의견들이 있으나, IFN- $\gamma$ 는 대부분의 종양 세포들에서 MHC 클래스 I 과 II의 발현을 증가시켜  $T_C$  세포 매개성 항종양 효능에 필수적인 것으로 알려졌다(Coico와 Sunshine, 2017b). 제니스타인은 종양 마우스의  $T_C$  세포에서 IFN- $\gamma$ 의 생성을 촉진시켜 종양 증식을 억제하며(Guo 등, 2007), 루테올린은 간종양 마우스에서 IFN- $\gamma$  생성 촉진

로 항종양 효능을 나타내었다(Zhang, 2016). 종양 성장 초기 마우스에 아피게닌을 섭취시킨 결과 면역세포에서 IFN- $\gamma$ 의 생성이 대조군에 비해 증가하였고 종양의 생성도 저하하였다(Nelson 등, 2017). 여러 암세포는 자신의 사이토카인에 반응하거나 투여된 사이토카인에 반응하여 종양 증식이 촉진되기도 하는데, 플라보노이드는 증식하는 암세포에 대하여 억제적으로 작용한다는 여러 보고가 있으며, 이에 대한 작용 메커니즘을 Fig. 3에 도식화하였다.

종양 면역의 성장과정은 초기에서 면역 감시 단계, 종양의 진전과 평형, 나아가서 모든 면역학적 저항에서 벗어난 마지막 성장 단계, 즉 회피 단계에 이르기까지의 과정으로 이루어지는데, 이같이 종양의 성장, 후퇴, 면역 반응과의 관계를 종양-면역편집이라고 일컫는다(Swann과 Smyth, 2007). 선천성(또는 후천성) 면역 시스템 외에 종양-면역편집에 관여하는 인자로 PD-1(programmed death-1) 단백질과 TLR(toll like receptors) 경로가 알려져 있다.

PD-1 단백질은 CD4+ 와 CD8+ T 세포에서 발현되어 활성화된 T 세포에 신호를 전달하며, 주로 ZAP-70 키나제의 기능을 억제하고 T 세포의 소멸과도 관련이 있다. PD-1은 세포예정사 리간드인 PD-L1, PD-L2와 결합한다(Jiao





**Fig. 3.** Immunomodulatory, anti-proliferative, and anticancer mechanisms of flavonoids on cancer cells, which are AGS cell (gastric cancer), A549 cell (lung cancer), A375 cell (melanoma), Lu99 cell (lung cancer), Colo357 cell (pancreatic cancer), colitis associated-cancer, T24 cell (bladder cancer), leukemia and lymphoma cell. Cytokines are either released from each cancer cell or administered. Only colitis associated-cancer cell is from tumor mouse, while the other is *in vitro* cells. Apigenin of colitis associated-cancer is orally administered. Que, quercetin; EGCG, epigallocatechin-3-gallate; Kem, kaempferol; Api, apigenin.

등, 2017). 실제로 암 조직을 검사해보면 많은 양의 림프구가 있으며, 림프구에는 PD-1 단백질이 발현되고 암세포에서는 PD-L1, PD-L2라는 리간드의 발현이 다수 보고되고 있다. 암세포 표면에 있는 PD-L1, PD-L2가 림프구 표면에 있는 단백질인 PD-1과 결합하면 암세포를 공격하지 못한다. 즉 암세포의 회피가 일어난다. 따라서 PD-1과 PD-L1 사이의 결합을 억제하거나 PD-L1의 생성을 저해하는 물질은 항종양성 물질로 판단된다(Pardoll, 2012). 이에 대한 플라보노이드의 작용으로 카테킨은 폐암세포(A549, Lu99)와 멜라노마 세포(F10 OVA)에서 PD-L1의 발현을 억제하였다(Rawangkan, 2018). 종양유발 마우스에 아피게닌의 경구투여는 수지상 세포에서 PD-L1의 발현을 저하시키고 T 세포성 면역중재 효능을 증가시켜 항종양 효능을 나타내었다(Xu 등, 2018).

효과적인 방어기작을 가지고 항암성 면역에 관여하는 수용체 단백질로서 TLR이 알려지고 있는데, TLR은 면역 세포뿐 아니라 수지상 세포, NK 세포와 대식세포를 포함한 백혈구 세포막에서 발견된다. 활성화된 TLR은 항원에 의해 유도된 신호 전달 경로를 전파하기 위하여 면역 세포 내에서 어댑터 단백질(adaptor protein)을 모집하여 신호를 증폭시킨 후, 염증 반응 및 다른 전사 조절 유전자 또는 하위 단백질

을 활성화시킨다. 병원성 물질과 결합한 후에는 염증성 유전자의 발현을 유도하여 염증성 질환을 일으키거나 종양 세포의 종류에 따라서 항종양성 또는 종양 촉진자의 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Dajon 등, 2017). TLR 중에서 TLR4 신호경로가 큰 역할을 하는 것으로 보고되고 있으며, TLR4는 LPS(lipopolysaccharide)의 자극에 의해 세포막에서 활성화되면 하부의 NF-κB를 활성화하는 MyD88 경로와 하부의 IFN-β를 활성화하는 TRIF 경로를 거쳐서 염증, ROS 생성, 세포의 사멸 또는 성장에 관여한다(Chen 등, 2018). 퀘르세틴, 제니스타인, 루테올린은 면역 세포에서 TLR4 또는 TLR2의 활성을 억제하는 것으로 보고되었으므로 플라보노이드가 TLR 억제를 통하여 종양의 진전을 억제하리라 추측되지만, 이에 대한 실험적 자료는 현재까지 제시되지 않았다(Chen 등, 2018).

### 플라보노이드의 항암 효능과 면역중재성 항암 작용

플라보노이드 중에서 성능이 우수하다고 알려진 물질(Fig. 1)에 대하여 각기 항암 효능에 관해 기술한 후에 면역중재성 항암 작용에 관해 기술하였다. 특히 본 연구에서 새

로이 기술하고자 하는 면역중재성 항암 작용에 대해서는 종양 동물의 면역세포에 대한 플라보노이드의 작용기작(Fig. 2)과 일반 암세포(cancer cell)에 대한 플라보노이드의 면역중재성 항암 작용에 대한 기작(Fig. 3)으로 나누어 도식화하였다.

### 퀘르세틴

퀘르세틴은 양파, 사과, 엘더베리 및 배 등에 포함되어 있으며, 퀘르세틴의 항산화 작용과 항염증 작용은 오래전부터 알려져 왔다. 항종양 효능에 관하여는 2000년대 초반에 세포자멸사와 관련한 여러 보고가 있었으나 최근의 보고들은 다음과 같다. 퀘르세틴은 HepG2 세포에서 미토콘드리아의 내부 경로에 의해 p38 단백질과 Bax/Bcl-xL 단백질의 발현을 증가시켜 세포자멸사를 유도한다고 보고되었다(Lee 등, 2015). 퀘르세틴은 직장암(CT-26), 전립선 암(LNCaP), 백혈병(MOLT-4) 세포에서 세포자멸사가 관찰되었고, MCF-7과 CT-26을 이식한 종양 마우스에서도 퀘르세틴 섭취에 의해서 종양의 크기가 현저히 저하됨이 관찰되었다(Hashemzaei 등, 2017). 또한 퀘르세틴은 직장암세포인 SW620 세포에서 p53과 p21 단백질의 발현을 증가시키고 G<sub>2</sub>/M 주기를 억제하여 세포증식 억제와 세포자멸사를 나타내었다. 이때 퀘르세틴은 Bax, 사이토크롬 c, caspase-3와 9, Apaf-1의 발현을 증가시키고 미토콘드리아의 막 전위를 저하하여 ROS 발생을 동반한다(Zhang 등, 2017b). ROS 생성의 측정이 원활해짐에 따라 ROS 생성을 동반한 연구가 실시되었으며, 이 연구에서 이소 퀘르세틴은 방광암세포인 T24 세포에서 ROS를 생성시키고 AMPK(5-AMP activated protein kinase) 경로의 활성을 통하여 세포자멸사를 나타내었다(Wu 등, 2017). 한편 퀘르세틴을 위암세포인 AGS에 처리시 ROS 생성 증가와 내부 경로를 통한 세포자멸사가 보고되었고, 동시에 TP53INP1(tumor protein p53 inducible nuclear protein 1)과 JUNB(jun B proto-oncogene)의 발현이 증가하고 VEGFB(vascular endothelial growth factor B), CDK10의 발현은 감소하였다(Shang 등, 2018). 퀘르세틴은 멜라노마 세포인 A375와 A2058 세포에서 STAT3 경로를 억제하고 MMP-2와 9의 발현을 억제하여 암세포 전이를 억제함으로써 종양의 치유와 예방에 기여한다고 알려지고 있다(Cao 등, 2014).

면역중재성 항암 작용에 관여하는 *in vivo* 연구 결과로 퀘르세틴을 종양 초기인 백혈병(leukemia) 마우스에 종양 유발과 동시에 일정기간 경구로 섭취시키면 대식세포와 T 세포의 분화가 억제되어 혈액에서 Mac-3와 CD11b 마커의 함량은 저하하고 NK 세포의 활성은 증가하여 암세포의 전이 억제와 세포자멸사가 관찰되었다(Yu 등, 2010). APC 마우스에서 EA(Ehrlich ascites) 종양 세포를 정맥주입하기 이전에 50 mg/kg으로 경구 투여된 퀘르세틴은 종양사멸 효능을 나타내었는데, 이는 퀘르세틴이 다형핵 백혈구의 수를 증가시키고 대식세포를 분산시켜서 대식세포의 기능을 증

가시켰다고 보고되었다(Orsolić과 Basić, 2005). 최근에는 퀘르세틴이 면역 반응을 통하여 세포자멸사와 자식작용을 일으킨다고 보고되었는데(Granato 등, 2017), B 림프구 종양 세포에서 퀘르세틴은 PI3K/Akt/mTOR 경로와 STAT3 경로를 억제하여 c-FLIP, cyclin D1, cMyc와 같은 생존성 단백질의 발현을 억제하였다. 동시에 염증성 사이토카인인 IL-6의 발현을 억제하고 자식작용을 유도하여 암세포 사멸에 이르게 하였다(Granato 등, 2017). 위암세포인 AGS 세포에서 퀘르세틴(30~60 μM)의 처리는 IL-8의 생성을 억제하여서 세포 증식을 40% 이하로 저하한다고 보고되었다(Skiba 등, 2016).

### 헤스페리딘

헤스페리딘은 대표적으로 감귤류에 다량 함유되어 있으며 글리코사이드(glycoside) 형태로 장에 흡수되어 섭취 후 3시간 이후부터는 aglycon의 형태인 헤스페레틴(hesperetin)으로 혈액에 존재하다가 24시간 후에 사라진다(Manach 등, 2003). 헤스페레틴에 대한 다수의 보고에 따르면 헤스페리딘 처리는 세포자멸사, 자식작용, 세포 분열 억제, 전이 억제와 면역 강화 등 종양세포의 성장을 억제한다. 아조시메탄(azoxymethane, AOM)으로 유발된 직장암 마우스에서 헤스페리딘 섭취는 Bax/Bcl-2 단백질 발현을 상승, 사이토크롬 c 방출 증가, caspase-3와 9의 활성화, p53-p21의 발현 증가를 유발하였고, 이때 상위 경로인 PI3K/Akt의 발현 저하, 종양 억제 단백질인 PTEN(phosphatase and tensin homologue)의 발현 촉진 등으로 종양 생성이 억제되었다. 동시에 p-mTOR 단백질의 발현을 억제하여 자식작용의 마커 단백질인 Beclin-1과 LC3-II를 자극한다고 보고되었다(Saiprasad 등, 2014). 헤스페레틴은 유방암세포인 MCF-7과 MDA-MB-231 세포에서 사이토크롬 c 방출 증가, caspase-3와 9의 활성화, Bax/Bcl-2 발현을 상승을 나타내어 세포자멸사를 일으키며, 상위 경로인 ASK1(apoptosis signaling-regulating kinase 1)/JNK의 활성화에 의한다고 보고되었다(Palit 등, 2015). 골격암세포인 MG-63 세포에서 헤스페리딘은 세포의 전이와 G<sub>2</sub>/M 주기를 억제하여 세포자멸사를 나타내며, Bax/Bcl-2 발현을 증가, 사이토크롬 c 방출 증가, caspase-3의 활성 증가를 나타내었다. 또한 MG-63 세포를 이식한 종양 동물에서 헤스페리딘 섭취는 종양 성장을 현저히 억제시킨다고 보고되었다(Du 등, 2018). 식도암세포(Eca 109)(Wu 등, 2016), 위암세포(SGC-7901, MGC-803, HGC-27)(Zhang 등, 2015a), 간암세포(HepG-2, SMMC-7721, Huh-7)(Zhang 등, 2015b) 등에서는 헤스페레틴 처리로 세포 내 사이토크롬 c 방출, caspase-3와 9의 활성화, Bax/Bcl-2 발현을 상승이 나타나 세포자멸사가 보고되었다. 암세포를 이식한 종양 마우스에서 헤스페레틴을 주 3회, 5주간 주사 시 종양 성장이 억제되었고 세포자멸사가 관찰되었다(Zhang 등, 2015a; Zhang 등, 2015b). 폐암세포인 NCI-H358과 A549에서 헤스페리딘은 미토

콘드리아 막전위 저하, caspase-3 단백질의 활성화로 세포자멸사를 나타내었고, 헤스페리딘을 처리한 세포를 GO(genome analysis) 분석 시 FGF(fibroblast growth factor)와 NF- $\kappa$ B 경로가 활성화됨으로써 면역 중재 효능도 나타내었다(Birsu Cincin 등, 2015). 즉 NF- $\kappa$ B 경로 유전자인 IL-1, IL-1/TLR, PKC $\beta$ (protein kinase C beta) RANKL(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) 등의 발현이 증가하였고 BMP 2/4, RAS, PI3K 유전자의 발현이 저하되는 것으로 보고되었다. 한편 헤스페리딘을 비장 세포에 처리하면 T-림프구와 B-림프구의 증식을 촉진함으로써 체액성 면역과 세포성 면역이 증대되고, NK 세포 활성화와 Tc 세포의 활성이 현저히 증가하는 것으로 보고되었다(Sassi 등, 2017).

### 카테킨

카테킨은 나무껍질 등 식물체에 널리 퍼져있으며, 대표적인 식품에는 녹차가 있다. 카테킨은 플라보노이드의 대표적인 물질로서 2000년 이전부터 항산화 기능을 포함한 항종양 효능에 대해 여러 보고가 이루어졌다. 본 연구에서는 여러 유도체 중에서 항종양 효능이 가장 뛰어난 것으로 알려진 EGCG에 대하여 연구하였다. EGCG는 자궁경부암세포인 SiHa 세포에서는 G<sub>2</sub>/M 주기를 억제하고 세포자멸사를 나타내며(Singh 등, 2010), 구강 상피암인 PE/CA-PJ15 세포에서는 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 주기를 억제하여 세포자멸사를 나타내었다(Pons-Fuster 등, 2017). 직장암세포인 HT-29와 유방암세포인 MDA-MB-231 세포에서 EGCG는 PI3K/Akt 활성화 저하, AP-1과 NF- $\kappa$ B의 활성화 저하로 세포자멸사와 혈관 생성 억제를 나타내었다(Shimizu 등, 2005; Singh 등, 2011). 폐암세포인 H2122에서 EGCG는 c-Met 수용체와 EGFR(epidermal growth factor receptor) kinase 활성을 억제하여 세포 증식을 억제하였다(Milligan 등, 2009). 직장암인 SW-837 세포를 이식한 종양 마우스에서 EGCG의 섭취는 ERK와 Akt의 활성화를 억제하고, 하위 경로인 VEGF/VEGFR(vascular endothelial growth factor receptor)의 발현을 억제하여 종양의 혈관 생성을 억제하였다(Shimizu 등, 2010). EGCG는 머리와 목 부위의 종양세포인 KB와 FaDu 세포에서  $\beta$ -catenin의 발현을 억제하고 상위 경로인 Akt를 억제하고 GSK-3 $\beta$ 와 cyclin D1, D2 단백질의 발현도 억제하여 세포자멸사와 전이 억제를 나타낸다고 보고되었다(Shin 등, 2016).

여러 결과에서 EGCG는 면역중재성 항암 작용도 나타내는데, 인체 위암세포인 AGS 세포에서 EGCG는 IL-6에 의해 유도된 STAT3 단백질의 활성을 억제하여 STAT3의 핵내 이동과 STAT3-DNA 결합을 억제하였고, IL-6에 의해 유도된 VEGF 발현과 유리를 저하했다(Zhu 등, 2011). IL-6로 전처리하지 않은 AGS 세포에서도 EGCG 처리는 VEGF의 발현 및 생성을 대조군에 비하여 저하했다. 앞에서도 언급했듯이 전사인자인 STAT의 인산화가 억제되면 STAT3

가 세포핵 내로 이동하는 것이 불가능해져서 타깃 유전자인 MMP-2, MMP-9, VEGF의 발현이 억제되는 것으로 여러 연구에서 보고되고 있다(Yao 등, 2019; Cao 등, 2016; Macha 등, 2013). 그러므로 EGCG는 면역중재성-혈관신생 억제 기능을 나타내는 것으로 판단된다. 면역중재성 항암 작용에 관한 또 다른 보고로 Hoffmann 등(2011)은 인체 췌장암세포인 Colo357 세포에서 EGCG 투여는 IL-1을 처리한 군이나 처리하지 않은 군에서 용량 의존적으로 세포 증식을 현저히 저하했으며, 종양성 인자인 VEGF와 MMP-2의 생성을 저하했다고 보고하였다. 이처럼 EGCG는 종양성 인자의 생성을 저하할 뿐만 아니라 IL-1 의존성 NF- $\kappa$ B 활성화도 현저히 저하함으로써 대장암세포에서 면역 조절성 항종양 효능을 뚜렷이 나타내었다(Hoffmann 등, 2011).

면역중재성 항암 작용에 관한 보고로 EGCG는 백혈병 세포에서 T 세포 활성화에 링커로 작용하는 ZAP-70 키나아제(zeta chain-associated protein kinase 70)의 활성을 저하하고, CD3+ 중재성 T 세포의 활성을 억제하여 암세포의 증식을 억제했는데(Shim 등, 2008), 이때 EGCG는 전사인자인 AP-1의 활성화(mRNA 생성)를 억제하였고 CD3 유발 IL-2 생성도 억제하였다. 최근에는 EGCG가 폐암세포인 A549 세포에서 PD-L1의 발현 억제로 T 세포의 활성을 저하하는 면역 반응을 나타내었다(Rawangkan 등, 2018). 즉 IFN- $\gamma$ 를 A549 세포에 처리 시 JAK2/STAT1 경로의 활성화와 PD-L1의 발현 증가로 인해 종양 세포의 증식이 증가했으나, EGCG를 처리하면 이러한 과정이 억제되었으므로 EGCG는 면역중재성 세포증식 억제효능을 나타낸다고 보고되었다(Rawangkan 등, 2018). 또한 EGCG는 Lu 99 세포에서 EGF receptor/Akt 경로를 억제하여 PD-L1 발현을 저하했으며, CD3+ T 세포를 이식한 F10 OVA 멜라노마 세포에서 PD-L1 발현을 저하함으로써 종양 특이적 CD3+ T 세포에서 저하되었던 IL-2의 발현을 회복시켰다(Rawangkan 등, 2018). EGCG 혹은 EGCG의 주된 대사물질인 EGC-M5를 각기 BALB/c 마우스에 경구로 섭취시키면 CD4+ T 세포의 활성화와 NK 세포의 세포독성 작용이 강화되어 면역시스템이 자극되는 효과가 발생하였다(Kim 등, 2016). 폐암 유발 마우스의 초기에 녹차 추출물을 섭취시키면 종양 세포의 수와 PD-L1 발현 세포수가 대조군에 비해 저하하였다(Rawangkan 등, 2018). 이같이 EGCG는 플라보노이드의 대표적인 식품으로서 최근의 분자 타깃 발견에 따라서 면역중재성 항암 작용에 관하여도 우수한 평가를 받고 있다고 판단된다.

### 제니스타인

제니스타인을 함유한 식품으로는 콩과 식품이 대표적이며 항종양 효능에 관하여는 2000년대 초반부터 Ahr(aryl hydrocarbon receptor) 또는 ER(estrogen receptor)을 중심으로 유방암과 직장암 억제 효능이 종양 세포와 종양 마우스(Paul 등, 2017)에서 다수 보고되었다. 이에 대한 주된

경로는 PI3K/Akt/mTOR 경로를 통한 세포 주기억 억제 및 세포자멸사로 알려졌다, MDA-MB-231과 MCF-7을 이용한 최근의 연구 결과에서도 재확인되었다(Zhu 등, 2018b).

MCF-7, T47D, HEK 293T 등의 유방암세포에서 제니스타인은 세포 주기 억제와 세포자멸사를 일으키며, 이때 새로운 종양 유전자인 CIP2A(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A)를 억제하며 caspase-3의 발현을 증가시켰다(Zhao 등, 2016). 또 다른 유방암세포(MDA-MB-231, SKBR3)에서는 제니스타인에 의하여 S 주기와 G<sub>2</sub>/M 주기 억제가 관찰되었는데, 이때 제니스타인은 종양 촉진 인자로 알려진 Skp2(S-phase kinase-associated protein 2)의 발현을 억제하고, 종양 억제 인자로 알려진 p21과 p27의 발현을 증가시켰다(Ye 등, 2018). 제니스타인은 췌장암세포인 Mia-PaCa2와 PANC-1 세포에서 전사 촉진자인 STAT-3의 인산화를 억제하여 하위 경로인 survivin, cyclin D1, ALDH1A1(aldehyde dehydrogenase 1A1)의 발현을 저해하였다. 이때 ROS 유발이 매개되며 사이토크롬 c 방출, Bax/Bcl-2 발현을 증가, caspase-3와 9의 발현 증가, MMP-2와 MMP-9의 발현 저하 등으로 세포자멸사와 세포 주기 억제가 유발되었다(Bi 등, 2018). 간암세포인 Hepa1-6 세포에서도 제니스타인의 투여로 세포자멸사 및 세포 주기 억제가 관찰되었다(Sanaei 등, 2018).

제니스타인은 2007년에 면역중재성 항암 작용이 보고되었다(Guo 등, 2007). 제니스타인을 B6C3F1 마우스에 1~4 주간 경구 투여 시 비장 세포에서 T<sub>C</sub> 세포의 활성화와 NK의 활성을 현저히 증가시켰고 T<sub>R</sub> 세포 내의 CD4<sup>+</sup>와 CD25<sup>+</sup> 수용체의 함량%를 감소시켰다. 동시에 제니스타인은 STAT 1,4 경로의 활성화를 통하여 T<sub>C</sub> 세포의 활성을 증가시킴으로써 결과적으로 종양 생성을 억제한다고 보고되었다. 또한 DBA(7,12-dimethylbenzanthracene)로 유발된 종양 마우스에서도 제니스타인을 경구 투여하자 T<sub>C</sub> 세포의 활성이 증가하였고 종양 성장은 대조군에 비하여 감소하였다. 면역세포의 TLR 경로에 대한 연구가 2014년에 보고되었는데, 제니스타인 투여는 마크로파지에서 LPS로 유도된 TLR의 활성을 저해했다(Cui와 Bilitewski, 2014). 동시에 제니스타인은 마크로파지에서 IFN- $\beta$ , IL-10, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  등의 발현을 억제하였으므로 면역중재성 항암 작용을 나타내는 것으로 판단된다.

### 루테올린

루테올린은 배, 쉘리리, 파슬리 등에 함유되어 있으며, 최근 연구가 보고한 대표적인 작용 기작을 살펴보면 아래와 같다. 폐암세포인 A549 세포에서 루테올린은 세포 사멸사와 전이 억제를 유발하고 caspase-3와 9의 발현 증가, Bax/Bcl-2 발현을 증가를 나타내었다(Meng 등, 2016; Chen 등, 2012). Chen 등(2012)은 Akt의 활성화와 함께 MEK/ERK 인산화 증가를 보고하였고, Meng 등(2016)은 미토콘드리아 활성을 통한 경로를 보고하였다. 또한 간암세포인 SK-

Hep-1 세포에서 루테올린은 caspase-3, caspase-8과 caspase-9의 활성화와 PARP(poly ADP ribose polymerase) 분해를 동반한 세포자멸사를 나타내었으며, 이때 Atk/OPN 경로가 억제되는 것으로 보고되었다(Im 등, 2018). OPN(osteopontin)은 세포간질에 포함된 비 콜라겐성 물질로 sialic acid가 풍부한 당단백질이다. OPN은 세포 수용체인 integrin과 CD44 등에 부착함으로써 종양 성장, 종양 혈관 생성, 전이 등에 관여하는 항종양성 물질을 조절하므로, 세포 증식을 유발하고 세포자멸사는 억제하는 것으로 알려져 있다(Ahmed 등, 2011; Saleh 등, 2016). 간암세포인 SMMC-7721과 BEL-7402 세포에서 G<sub>1</sub>/S 주기 억제가 관찰되었으며 caspase-3의 활성화와 Bax/Bcl-2 발현을 증가도 관찰되었다(Ding 등, 2014). 한편 루테올린은 아족시메탄 유발 직장암 마우스에서 MMP-2와 9의 발현을 억제하여 종양의 전이를 억제하였다(Pandurangan 등, 2014). 루테올린은 MDA-MB-231 세포에서 세포자멸사와 세포 주기 억제 효과를 나타내었으며, Akt, cyclin B, CDC2, CDK2의 발현을 저해하고 G<sub>2</sub>/M과 S 주기를 억제하였다. 동시에 루테올린의 작용 기작으로 ERK, p38, Akt의 인산화 억제와 EGF-유발 MAPK 경로의 억제가 보고되었다(Lee 등, 2012).

루테올린은 마크로파지 ANA-1 세포에서 Bcl-2 활성 억제, caspase-3와 8의 발현 촉진을 바탕으로 세포자멸사와 자식작용을 나타낸다고 보고되었으며, 이때 p38, JNK, Akt 경로가 작용하는 것으로 보고되었다(Liao 등, 2018). 종양을 유발하는 DN(diethylnitrosoamine)과 루테올린을 6주간 경구로 동시에 섭취시키면 유발된 간 종양 마우스에서 루테올린 투여군은 종양 성장이 억제되었고, 혈청 혹은 간세포에서 IL-2 감소와 IFN- $\gamma$ 의 증가가 보고되었다(Zhang 등, 2016). IFN- $\gamma$ 는 T<sub>C</sub> 세포 매개성 항종양 반응의 유도에 필수적인 요소로 알려져 있으므로, 루테올린은 IFN- $\gamma$ 가 중재하는 면역중재성 항암 작용이 있는 것으로 판단된다.

### 캠페롤

캠페롤은 포도, 사과, 브로콜리, 차 등에 포함되어 있으며 세포자멸사, 세포 주기 억제, 침투 및 전이 억제 등에 관한 여러 보고가 있다. 캠페롤은 유방암세포인 MDA-MB-231 세포에서 p53의 발현을 증가시켜 세포자멸사를 야기하며 ERK, JNK, c-Jun, p38, MAPK의 발현을 억제한다고 보고되었다(Srinivas, 2015). 또한 MMP-2와 9의 발현 억제, 세포 주기 억제 등을 나타내었다(Li 등, 2015). 최근의 보고에서 캠페롤은 간암세포인 HepG2 세포에서 세포자멸사를 야기하며, PTEN의 발현을 증가시키고 PI3K/Akt/mTOR 경로를 억제하였다(Zhu 등, 2018a). 인체 망막색소 상피암세포인 ARPE-19 세포에서 캠페롤은 ERK 1/2의 활성을 억제하고 MMP-9의 발현을 억제하여 세포 증식을 억제하였다(Chien 등, 2019). 캠페롤(80  $\mu$ M)은 방광암세포인 EJ 세포에서 p-Akt, cyclin D1과 CDK4의 발현과 S 주기를 억제하고 p-BRCA1, p-ATM, p53, p21, p38와 Bax/Bcl-2 발현을

을 증가시켜 세포자멸사와 세포 증식 억제를 야기하였다(Wu 등, 2018). 캠페롤은 직장암세포인 HCT116와 HCT115 세포에서 G<sub>2</sub>/M 주기 억제와 PARP의 분해를 증가시키며 caspase-3, 8, 9, phospho-p38 MAPK, p53과 p21을 활성화시켜 세포자멸사와 세포 증식 억제 효과를 나타내었다(Choi 등, 2018). 동시에 세포 내의 ROS 생성량을 증가시키므로, 이러한 ROS와 p53의 증가에 기반하여 phospho-p38 MAPK와 caspase 단백질의 활성을 증가시킨다고 보고되었다. 최근에는 캠페롤의 자식작용이 위암세포(AGS, SNU-216, NCI-N87, SNU-638)(Kim 등, 2018), 뇌종양 세포(MC3T3-E1)(Kim 등, 2016) 및 폐암세포(A549)(Han 등, 2018)에서 보고되었으며, 캠페롤은 PI3K/Akt 경로를 억제하여 PTEN과 miR-340 단백질의 활성을 증가시키는 것으로 보고되었다(Han 등, 2018).

면역중재성 항암 작용에 관한 보고로 *Helicobacter pylori*에 감염된 위암세포(AGS)를 배양 시 캠페롤 처리는 위암세포에서 염증성 인자인 IL-8의 분비를 억제함으로써 종양의 성장을 억제시켰다(Skiba 등, 2016). 한편 종양 치료를 위하여 면역치료 요법 시 나타날 수 있는 부작용에 대하여 캠페롤은 면역 중재 효능을 나타낸다고 보고되고 있다. IFN- $\gamma$ 는 종양세포의 종양 증식 억제를 위하여 면역세포에서 분비되지만, 고농도의 IFN- $\gamma$ 는 위험을 초래하기도 한다. 즉 HIS(human immune system) 마우스에서 캠페롤 섭취는 IL-2 투여에 의해 저하된 Treg 함량(%)을 회복시키고 상승한 IFN- $\gamma$ 를 억제함으로써 면역 중재를 통해 저하된 생존율을 회복시킨다고 보고되었다(Li 등, 2017).

## 아피게닌

아피게닌은 양파, 파슬리, 로즈마리, 브로콜리 및 카모마일에 함유되어 있으며 항종양 효능의 분자 기작에 대하여 여러 연구들이 이루어졌지만, 최근에는 JAK-STAT, WNT/ $\beta$ -catenin과 TRAIL(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)에 대한 보고가 집중되고 있다. 유방암세포인 MDA-MB-231 세포에서 아피게닌은 caspase-3와 8의 발현을 증가시키고 PARP 분절로 세포자멸사를 야기하였으며, JAK2/STAT3 경로의 활성을 억제하였다(Seo 등, 2014). 아피게닌은 직장암세포인 HT-29 세포에서 G<sub>2</sub>/M 주기 억제, 사이토크롬 c 분비 증가, caspase-3 활성 증가, Bax/Bcl-2 발현을 증가 등을 나타내었고 그 과정에서 Wnt/ $\beta$ -catenin 경로를 억제하는 것으로 보고되었다(Yang 등, 2018). 아피게닌은 폐암세포인 A549 세포에서 Akt의 인산화와 활성을 억제함으로써 MMP-9와 GSK-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ )의 발현을 억제하여 세포 전이를 억제하는데, 이 과정에서 PI3K/Akt 경로를 억제하였다(Zhou 등, 2017).

아피게닌의 면역중재성 항암 작용에 관하여 최근에 여러 보고가 이루어졌으며, 사이토카인에 의하여 유발된 종양 촉진인 아피게닌 처리로 억제된다고 보고되었다(Xia 등, 2018).

이전의 연구에서 암세포의 전이 반응에 uPAR(urokinase-type plasminogen activator receptor)이 관여하고 있으며, 전사인자인 NF- $\kappa$ B와 AP-1가 활성화되어 IL-1 $\beta$  유도에 의한 uPAR 발현이 증가한다는 보고가 있었다(Cheng 등, 2009). 즉 아피게닌은 방광암세포인 T24 세포에서 IL-1 $\beta$  유도에 의한 uPAR 발현을 억제하고 그 결과 암세포 전이를 억제하였으며, 이때 아피게닌 처리는 IL-1 $\beta$ 에 의하여 활성화되었던 ERK1/AP-1(또는 JNK/AP-1), ERK1/NF- $\kappa$ B(또는 JNK/NF- $\kappa$ B) 경로를 억제하여 결국 암세포의 성장을 저지하였다(Xia 등, 2018).

전사인자인 Ikaros는 T 세포의 발달에 주요한 인자로 알려졌다며, 췌장암세포(PancO2)로 유발된 종양 마우스에서 종양 초기부터 아피게닌을 경구로 섭취시키면 T 세포에서 Ikaros 단백질의 발현을 증가시키고 종양 성장을 억제한다고 보고되었다. 동시에 아피게닌 섭취 시 저하되었던 CD4+/CD8+ T 세포의 함량(%) 증가, IFN- $\gamma$ 의 증가, Treg의 감소 등이 유발되었다는 보고에 따라 아피게닌은 췌장암 치료제로서의 가능성도 제시되었다(Nelson 등, 2017). 아피게닌은 멜라노마 세포인 A375 세포에서 IFN- $\gamma$ 로 유발된 PD-L1의 활성화와 방출을 억제하고, STAT1의 인산화도 억제하는 것으로 보고되었다(Xu 등, 2018). 또한 B16-F10 세포를 이식한 종양 마우스에게 아피게닌을 2주간 섭취시켰을 때 비장세포에서 CD4+/CD8+ T 세포의 함량(%)이 증가하였고 수치상 세포에서 PD-L1의 발현이 억제되었다. 동시에 종양 억제도 관찰되었으므로 아피게닌의 PD-L1 억제는 T 세포 매개성, 즉 면역중재성 항암 작용을 더욱 강화하는 것으로 판단된다(Xu 등, 2018).

## 염증성 면역 시스템과 항암 효능

염증은 외부에서 침입한 병원(pathogen)에 대한 면역 반응이다. 염증에 관여하는 여러 유전자의 발현은 상위 조절 경로로서 전사 촉진자인 NF- $\kappa$ B와 MAPK에 의하며, 하위 조절 경로로서 염증성 사이토카인(IL-1, IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ ), 케모카인(IL-1 $\alpha/\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, MCP-1, MCP-1 $\alpha$ ), 면역 수용체와 성장 인자들에 의해서 조절된다(Nam, 2006; Debnath 등, 2013). 이들 하위 조절 단백질의 방출 및 작용을 통해 염증 반응은 사라지게 된다. 그러나 완전히 정상 상태로 회복되지 않거나 만성 염증이 되면 염증성 케양이 유발되어 종양 생성 촉진 인자의 발생을 증가시킨다. 염증이 면역중재성 항암 작용에 관여하는 작용 경로를 살펴보면 아래와 같다.

NF- $\kappa$ B는 세포질에서 I $\kappa$ B 단백질과 부착하여 비활성 형태로 존재하다가 활성 물질의 자극에 의해 NF- $\kappa$ B 신호 전달계가 작동되면 I $\kappa$ B 단백질이 저하되면서 핵으로 전이된다. 그 결과 COX-2(cyclooxygenase-2), iNOS(inducible nitrogen oxide synthase) 등의 유전자 전사를 유도한다(Debnath 등, 2013; Hoesel과 Schmid, 2013). 즉 인산화

과정과 번역 후 수정 과정(post-transcriptional modification)을 거쳐 유리된 NF- $\kappa$ B는 핵 안으로 이동하여 특정 유전자 발현을 촉진하는 작용을 한다. TLRs(toll-like receptors), TNFR(tumor necrosis factor receptors), T 세포와 B 세포 수용체와 같은 면역 수용체에 의해 NF- $\kappa$ B가 활성화되는 과정에도 I $\kappa$ B 단백질이 유리된다(Meads 등, 2010; Collins 등, 2015). 그러므로 NF- $\kappa$ B 경로는 외부 자극에 대해 면역 시스템을 자극하는 염증성 신호 전달 체계로 알려지게 되었다(Hoesel과 Schmid, 2013; Taniguchi와 Karin, 2018). 하위 인자인 사이토카인들을 염증성 인자와 항염증성 인자로 나누어 볼 때 염증성 인자들(IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$ )은 매크로파지와 같은 내재 면역 세포에서 종양이 형성되는 환경을 배제한다. 그러나 염증이 진전됨에 따라서 IL-6와 같은 염증성 사이토카인은 전사 촉진자인 STAT3 경로를 활성화해 세포를 증식시키고, 항 세포 사멸성 펩티드인 Bcl-2를 상승시켜 종양으로 발전시킨다(Agarwal 등, 2009; Chaturvedi 등, 2011). 그러므로 염증성 사이토카인이 축적되면서 STAT-3와 NF- $\kappa$ B 활성이 높은 경우에는 직접적으로 종양의 전 단계로의 환경이 되어서 종양의 개시와 진전에 이르게 된다(Hoesel과 Schmid, 2013; Taniguchi와 Karin, 2018). 최근에는 항체-사이토카인 퓨전 단백질들이 NK 세포와 cytotoxic CD8<sup>+</sup> T 림프구를 활성화해 항암성 면역 반응을 나타낸다는 보고가 있으며, 여러 사이토카인 중에서 IL-2의 역할이 다수 보고되었다(Arenas-Ramirez 등, 2016; Mortara 등, 2018; Klein 등, 2017). 이같이 항염증성 물질이 종양의 유발 및 진전을 억제한다는 보고와 함께 플라보노이드의 항염증성 종양 억제 효능에 관한 결과들도 알려졌다. 퀘르세틴과 캄페롤은 각기 60  $\mu$ M 농도로 위암세포(AGS)에 처리 시 염증성 사이토카인인 IL-8의 생성을 억제하고 위암세포의 증식을 현저히 저하했으므로 항염증성 종양 면역 반응을 나타낸다(Skiba 등, 2016). 아족시메탄 유발 직장암 마우스에서 헤스페리딘 섭취는 염증성 마커인 NF- $\kappa$ B, iNOS와 COX-2의 발현을 저하해 종양 성장을 억제하였다(Saiprasad 등, 2013). 염증성 사이토카인인 IL-1은 염증성 궤장암의 형성에 주된 역할을 하는 것으로 알려졌는데, 궤장암세포인 Colo357 세포에서 IL-1을 처리 시에 IL-6와 IL-8의 분비가 증가하였고 NF- $\kappa$ B의 활성화로 VEGF의 생성도 증가하여 종양 증식이 촉진되었다. 그러나 EGCG를 동시에 처리하면 IL-6, IL-8과 VEGF의 분비가 감소하여 종양 증식을 억제하였다(Hoffmann 등, 2011). 루테올린은 MAPK와 NF- $\kappa$ B 경로 억제를 통하여 산화 반응을 억제하고 염증의 유발을 억제하는 것으로 보고되었다(Kuo 등, 2011). 캄페롤(총 플라보놀의 70%)과 퀘르세틴(총 플라보놀의 16%)이 다량 함유된 식품을 직장암을 치유한 환자 872명을 대상으로 4년간 복용시킨 후 직장암의 발생빈도를 조사한 결과, 29 mg/d 이상 함량의 플라보놀을 장기 복용한 그룹은 혈중에서 염증성 인자인 IL-6의 농도가 감소하여 직장암의 재발 빈도가 낮아졌다(Bobe 등, 2010).

아피게닌은 대장암 유발 마우스와 대장암세포에서 STAT3/NF- $\kappa$ B 경로를 억제하여 염증성 사이토카인인 IL-6와 IL-10의 생성을 억제하고 COX-2의 활성을 억제함으로써 항염증성 종양 억제 반응을 나타낸다고 보고되었다(Ai 등, 2017). 앞에서 언급된 여러 연구 결과들을 종합해보면 아래와 같은 결론에 도달하게 된다. 즉 종양의 종류에 따라서 종양세포에 IL-1 혹은 6를 처리 시에 STAT/NF- $\kappa$ B/VEGF의 활성화를 통하여 염증성 사이토카인인 IL-2, 6, 8, 10 등이 분비되어 자체 종양세포의 증식을 자극하며, 처리하지 않은 종양세포에서도 이러한 염증성 사이토카인이 분비되어 종양 증식이 증가한다. 앞서서와 같이 플라보노이드는 여러 종양세포 증식에 억제적으로 작용하므로 암의 성장을 방해하는 우수한 물질로 판단된다.

### 플라보노이드의 임상적 효능과 역학적 연구 보고

앞에서 언급된 여러 연구 결과들에서 플라보노이드는 항암 효능, 항암성 면역 효능, 항염증성 종양 억제 효능을 나타내는 우수한 물질임에도 불구하고 임상적 적용을 위한 시도가 다양하게 이루어지지 못하고 있다. 플라보노이드의 항암 효능에 대한 임상 효능과 역학적 연구 결과에 관해서는 1990년대 초반부터 카테킨을 함유한 차류를 중심으로 여러 보고가 있었으나, 여러 플라보노이드를 함께 섭취하거나 섭취한 플라보노이드의 함량이 일정하지 않은 연구 형태로 보고되기도 하였다. 그러므로 본 연구에서는 연구되고 있는 플라보노이드 성분들의 섭취 함량이 정확히 언급된 연구 결과들에 대하여만 참고하였다.

임상적 연구 결과로서 여러 형태의 암을 가지고 있는 11명의 환자에게 일정량의 퀘르세틴을 정맥 투여하자, 그중 9명의 환자가 임파구에서 종양 형성에 관여하는 효소인 타이로신 키나아제의 활성도가 저하되는 결과를 보였다. 이에 따라 퀘르세틴의 항종양 효능이 보고되었다(Ferry 등, 1996). 한편 폐경기 이전이며 유방암 초기 I 과 II 단계의 여성 환자에게 EGCG의 일정 함유량을 녹차의 형태로 매일 1년 이상 꾸준히 섭취시킨 결과 액와 임파절 전이가 현저히 저하해서 유방암의 재발을 현저히 저하한다고 보고되었다(Fujiki 등, 1999). 제니스타인의 항암 효능도 임상적으로 보고되었는데, 폐경기 이전의 여성을 대상으로 제니스타인이 풍부한 콩 식이를 고용량 혹은 저용량으로 6개월간 섭취하도록 한 후 이 그룹의 유방암 상피세포를 검사한 결과 고용량 섭취군에서는 유방암 발생도가 저하한 것으로 보고되었다(Maskarinec 등, 2013).

종양의 발병 위험도와 항암성 면역에 대한 역학적 연구 결과들은 다음과 같다. 1995년부터 6년간 스웨덴에서 40~79세 연령층 1,200명을 대상으로 연구 조사한 결과(Ekström 등, 2011)에 따르면, 퀘르세틴을 3.89~6.02 mg씩 매일 6개월 이상 섭취한 그룹에서 위암의 발병 위험도가 43%로 저하한 것으로 보고되었다. 2000년도 초반에 스코



틀랜드에서 16~79세(평균 60세)의 백인 남녀를 대상으로 한 역학 조사 결과, 케르세틴(평균 17.3 mg/d) 혹은 에피카테킨(23.7 mg/d)을 6개월 이상 복용한 각각의 그룹에서는 직장암 발병 위험도가 현저히 감소하였다(Theodoratou 등, 2007). 한편 2002년부터 3년간 이탈리아의 롬바르디 지방에서 245명을 대상으로 한 역학 조사 결과, 케르세틴 함유 식품을 다량으로 꾸준히 섭취한 그룹에서는 폐암 발생의 위험도가 현저히 저하되었으며, 폐암조직에서 P450 유전자와 GSTM 1과 2(glutathione-S-transferase mu 1과 2)의 유전자 발현이 저하되었다고 보고되었다(Lam 등, 2010).

플라보노이드의 면역중재성 항암 작용에 관하여 미국의 역학 조사 결과로서 Bobe 등(2010)은 다음과 같이 보고하였다. 대장암을 앓다가 치유된 환자 872명을 대상으로 29.6 mg 이상의 플라보놀(70% 이상의 캄페롤과 16% 이상의 케르세틴)을 매일 1년 이상 혹은 연구 종료시한 4년 미만까지 섭취시킨 결과, 염증성 사이토카인으로 알려진 IL-6의 혈중 농도가 대조군에 비해 저하되었으며, 대장암의 재발률이 대조군(OR=0.78)에 비해 저하되었음(OR=0.51)이 보고되었다. 이같이 역학 조사에서 플라보노이드는 직장암, 유방암, 폐암 등의 발병 위험도를 감소시킬 뿐 아니라 직장암의 재발을 방지하는 데 뚜렷한 효능을 나타내었다.

## 요 약

암 치료 시 화학요법제로 인한 부작용의 대부분은 면역 억제 또는 면역력 저하와 관련되어 있다. 이러한 부작용을 방지하기 위하여 면역중재성 식이 천연물에 많은 관심이 집중되고 있다. 플라보노이드는 2000년도 이전부터 항산화 작용과 항염증 작용이 뛰어난 물질로 알려져 오면서 이 물질의 항암 효능에 관하여 여러 연구들이 이루어졌다. 항암 작용의 연구를 위한 여러 분자 타겟이 새로이 발견되고 면역중재성 항암 작용에 대한 포괄적인 분석이 요구됨에 따라서 본 연구는 최근에 보고된 결과를 중심으로 플라보노이드(케르세틴, 헤스페리딘, 에피갈로카테킨, 제니스타인, 루테올린, 캄페롤, 아피게닌)의 항암 효능, 면역중재성 항암 작용, 항염증성 종양 억제 작용과 그의 작용 기전을 확인하였다. 특히 면역중재성 플라보노이드는 종양에 대항하기 위하여 마크로파지, NK 세포, 호중구와 같은 효과 세포(effector cell)를 활성화시켜 이를 종양에 침투시키고 대항할 뿐 아니라, T<sub>R</sub> 세포 억제, T<sub>C</sub>와 T<sub>H</sub> 세포 활성화, IFN- $\gamma$  증가, PD-L1 감소, IL-1 감소 및 TLR 감소를 통하여 종양 생성 및 증식을 억제하는 것으로 보고되고 있다. 이러한 플라보노이드의 탁월한 효능과 함께 최근에는 암의 재발을 억제한다는 임상적 사례도 보고되고 있지만, 임상적 효능과 적용에 관한 사례는 부족하다. 이는 플라보노이드의 생체이용률이 약하기 때문으로 알려졌다. 이러한 문제점들을 극복하기 위하여 플라보노이드 구조의 활성기 보존 및 임상적 적용에 대한 여러 연구도 진행되고 있다. 플라보노이드는 생체이용률은 낮지만, 효능

과 안전성이 뛰어나며 각각의 플라보노이드는 세포 내의 작용점이 다르다는 장점을 고려할 때 여러 플라보노이드와의 병용 또는 다른 치료 약물과의 병용으로 나타나는 반응 또는 상승 효능에 대해 많은 연구 결과가 요구된다.

## REFERENCES

- Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Gupta SR, Tharakan ST, Koca C, et al. Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship?. *Ann N Y Acad Sci*. 2009. 1171:59-76.
- Ahmed M, Behera R, Chakraborty G, Jain S, Kumar V, Sharma P, et al. Osteopontin: a potentially important therapeutic target in cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2011. 15:1113-1126.
- Ai XY, Qin Y, Liu HJ, Cui ZH, Li M, Yang JH, et al. Apigenin inhibits colonic inflammation and tumorigenesis by suppressing STAT3-NF- $\kappa$ B signaling. *Oncotarget*. 2017. 8:100216-100226.
- Andersson J, Tran DQ, Pesu M, Davidson TS, Ramsey H, O'Shea JJ, et al. CD4<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells confer infectious tolerance in a TGF- $\beta$ -dependent manner. *J Exp Med*. 2008. 205:1975-1981.
- Annovazzi L, Mellai M, Caldera V, Valente G, Tessitore L, Schiffer D. mTOR, S6 and AKT expression in relation to proliferation and apoptosis/apoptosis in glioma. *Anticancer Res*. 2009. 29:3087-3094.
- Arenas-Ramirez N, Zou C, Popp S, Zingg D, Brannetti B, Wirth E, et al. Improved cancer immunotherapy by a CD25-mimobody conferring selectivity to human interleukin-2. *Sci Transl Med*. 2016. 8:367ra166.
- Bhat P, Kriel J, Shubha Priya B, Basappa, Shivananju NS, Loos B. Modulating autophagy in cancer therapy: advancements and challenges for cancer cell death sensitization. *Biochem Pharmacol*. 2018. 147:170-182.
- Bi YL, Min M, Shen W, Liu Y. Genistein induced anticancer effects on pancreatic cancer cell lines involves mitochondrial apoptosis, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> cell cycle arrest and regulation of STAT3 signalling pathway. *Phytomedicine*. 2018. 39:10-16.
- Birsu Cincin Z, Unlu M, Kiran B, Sinem Bireller E, Baran Y, Cakmakoglu B. 2015. Anti-proliferative, apoptotic and signal transduction effects of hesperidin in non-small cell lung cancer cells. *Cell Oncol (Dordr)*. 2015. 38:195-204.
- Bobe G, Albert PS, Sansbury LB, Lanza E, Schatzkin A, Colburn NH, et al. Interleukin-6 as a potential indicator for prevention of high-risk adenoma recurrence by dietary flavonols in the polyp prevention trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010. 3:764-775.
- Brown JS, Banerji U. Maximising the potential of AKT inhibitors as anti-cancer treatments. *Pharmacol Ther*. 2017. 172:101-115.
- Burotto M, Chiou VL, Lee JM, Kohn EC. The MAPK pathway across different malignancies: a new perspective. *Cancer*. 2014. 120:3446-3456.
- Cao HH, Chu JH, Kwan HY, Su T, Yu H, Cheng CY, et al. Inhibition of the STAT3 signaling pathway contributes to apigenin-mediated anti-metastatic effect in melanoma. *Sci Rep*. 2016. 6:21731.
- Cao HH, Tse AK, Kwan HY, Yu H, Cheng CY, Su T, et al. Quercetin exerts anti-melanoma activities and inhibits STAT3 signaling. *Biochem Pharmacol*. 2014. 87:424-434.
- Chaturvedi MM, Sung B, Yadav VR, Kannappan R, Aggarwal BB. NF- $\kappa$ B addiction and its role in cancer: 'one size does

- not fit all'. *Oncogene*. 2011. 30:1615-1630.
- Chen CY, Kao CL, Liu CM. The cancer prevention, anti-inflammatory and anti-oxidation of bioactive phytochemicals targeting the TLR4 signaling pathway. *Int J Mol Sci*. 2018. 19:2729.
- Chen Q, Liu S, Chen J, Zhang Q, Lin S, Chen Z, et al. Luteolin induces mitochondria-dependent apoptosis in human lung adenocarcinoma cell. *Nat Prod Commun*. 2012. 7:29-32.
- Cheng CY, Hsieh HL, Sun CC, Lin CC, Luo SF, Yang CM. IL-1 $\beta$  induces urokinase-plasminogen activator expression and cell migration through PKC $\alpha$ , JNK1/2, and NF- $\kappa$ B in A549 cells. *J Cell Physiol*. 2009. 219:183-198.
- Chien HW, Wang K, Chang YY, Hsieh YH, Yu NY, Yang SF, et al. Kaempferol suppresses cell migration through the activation of the ERK signaling pathways in ARPE-19 cells. *Environ Toxicol*. 2019. 34:312-318.
- Choi JB, Kim JH, Lee H, Pak JN, Shim BS, Kim SH. Reactive oxygen species and p53 mediated activation of p38 and caspases is critically involved in kaempferol induced apoptosis in colorectal cancer cells. *J Agric Food Chem*. 2018. 66:9960-9967.
- Coico R, Sunshine G. *Immunology: A short course*. 7th ed. Wiley and Blackwell Publisher, Hoboken, NJ, USA. 2017a. p 170-180.
- Coico R, Sunshine G. *Immunology: A short course*. 7th ed. Wiley and Blackwell Publisher, Hoboken, NJ, USA. 2017b. p 345-346.
- Collins PE, Collieran A, Carmody RJ. Control of NF- $\kappa$ B subunits by ubiquitination. *Methods Mol Biol*. 2015. 1280:355-370.
- Cui S, Bilitewski U. Effect of genistein on the TLR and MAPK transduction cascades in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2014. 30:233-236.
- Dajon M, Iribarren K, Cremer I. Toll-like receptor stimulation in cancer: A pro- and anti-tumor double-edged sword. *Immunobiology*. 2017. 222:89-100.
- Debnath T, Kim DH, Lim BO. Natural products as a source of anti-inflammatory agents associated with inflammatory bowel disease. *Molecules*. 2013. 18:7253-7270.
- Ding S, Hu A, Hu Y, Ma J, Weng P, Dai J. Anti-hepatoma cells function of luteolin through inducing apoptosis and cell cycle arrest. *Tumour Biol*. 2014. 35:3053-3060.
- Du GY, He SW, Zhang L, Sun CX, Mi LD, Sun ZG. Hesperidin exhibits *in vitro* and *in vivo* antitumor effects in human osteosarcoma MG-63 cells and xenograft mice models via inhibition of cell migration and invasion, cell cycle arrest and induction of mitochondrial-mediated apoptosis. *Oncol Lett*. 2018. 16:6299-6306.
- Ekström AM, Serafini M, Nyrén O, Wolk A, Bosetti C, Bellocchio R. Dietary quercetin intake and risk of gastric cancer: results from a population-based study in Sweden. *Ann Oncol*. 2011. 22:438-443.
- El-Khattouti A, Selimovic D, Haikel Y, Hassan M. Crosstalk between apoptosis and autophagy: molecular mechanisms and therapeutic strategies in cancer. *J Cell Death*. 2013. 6:37-55.
- Engeland K. Cell cycle arrest through indirect transcriptional repression by p53: I have a DREAM. *Cell Death Differ*. 2018. 25:114-132.
- Farooqi AA, de la Roche M, Djamgoz MBA, Siddik ZH. Overview of the oncogenic signaling pathways in colorectal cancer: Mechanistic insights. *Semin Cancer Biol*. 2019. (In Press).
- Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, deTakats PG, Anderson D, et al. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for *in vivo* tyrosine kinase inhibition. *Clin Cancer Res*. 1996. 2:659-668.
- Fujiki H, Suganuma M, Okabe S, Sueoka E, Suga K, Imai K, et al. Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999. 220:225-228.
- Ghiringhelli F, Rebe C, Hichami A, Delmas D. Immunomodulation and anti-inflammatory roles of polyphenols as anticancer agents. *Anticancer Agents Med Chem*. 2012. 12:852-873.
- Granato M, Rizzello C, Gilardini Montani MS, Cuomo L, Vitillo M, Santarelli R, et al. Quercetin induces apoptosis and autophagy in primary effusion lymphoma cells by inhibiting PI3K/AKT/mTOR and STAT3 signaling pathways. *J Nutr Biochem*. 2017. 41:124-136.
- Guo TL, Chi RP, Hernandez DM, Auttachoat W, Zheng JF. Decreased 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene-induced carcinogenesis coincides with the induction of antitumor immunities in adult female B6C3F1 mice pretreated with genistein. *Carcinogenesis*. 2007. 28:2560-2566.
- Ham S, Kim KH, Kwon TH, Bak Y, Lee DH, Song YS, et al. Luteolin induces intrinsic apoptosis via inhibition of E6/E7 oncogenes and activation of extrinsic and intrinsic signaling pathways in HPV-18-associated cells. *Oncol Rep*. 2014. 31:2683-2691.
- Han X, Liu CF, Gao N, Zhao J, Xu J. Kaempferol suppresses proliferation but increases apoptosis and autophagy by up-regulating microRNA-340 in human lung cancer cells. *Biomed Pharmacother*. 2018. 108:809-816.
- Hashemzaei M, Delarami Far A, Yari A, Heravi RE, Tabrizian K, Taghdisi SM, et al. Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin *in vitro* and *in vivo*. *Oncol Rep*. 2017. 38:819-828.
- Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer*. 2013. 12:86.
- Hoffmann J, Junker H, Schmieder A, Venz S, Brandt R, Multhoff G, et al. EGCG downregulates IL-1RI expression and suppresses IL-1-induced tumorigenic factors in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Biochem Pharmacol*. 2011. 82:1153-1162.
- Im E, Yeo C, Lee EO. Luteolin induces caspase-dependent apoptosis via inhibiting the AKT/osteopontin pathway in human hepatocellular carcinoma SK-Hep-1 cells. *Life Sci*. 2018. 209:259-266.
- Jiao Q, Liu C, Li W, Li W, Fang F, Qian Q, et al. Programmed death-1 ligands 1 and 2 expression in cutaneous squamous cell carcinoma and their relationship with tumour-infiltrating dendritic cells. *Clin Exp Immunol*. 2017. 188:420-429.
- Khanna P, Chua PJ, Bay BH, Baeg GH. The JAK/STAT signaling cascade in gastric carcinoma. *Int J Oncol*. 2015. 47:1617-1626.
- Kim IR, Kim SE, Baek HS, Kim BJ, Kim CH, Chung IK, et al. The role of kaempferol-induced autophagy on differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *BMC Complement Altern Med*. 2016. 16:333.
- Kim TW, Lee SY, Kim M, Cheon C, Ko SG. Kaempferol induces autophagic cell death via IRE1-JNK-CHOP pathway and inhibition of G9a in gastric cancer cells. *Cell Death Dis*. 2018. 9:875.
- Kim YH, Won YS, Yang X, Kumazoe M, Yamashita S, Hara A, et al. Green tea catechin metabolites exert immunoregulatory effects on CD4<sup>+</sup> T cell and natural killer cell activities. *J Agric Food Chem*. 2016. 64:3591-3597.
- Klein C, Waldhauer I, Nicolini VG, Freimoser-Grundschober A, Nayak T, Vugts DJ, et al. Cergutuzumab amunaleukin (CEA-IL2v), a CEA-targeted IL-2 variant-based immunocytokine



- for combination cancer immunotherapy: Overcoming limitations of aldesleukin and conventional IL-2-based immunocytokines. *Oncoimmunology*. 2017. 6:e1277306.
- Kolch W. Coordinating ERK/MAPK signalling through scaffolds and inhibitors. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005. 6:827-837.
- Kuo MY, Liao MF, Chen FL, Li YC, Yang ML, Lin RH, et al. Luteolin attenuates the pulmonary inflammatory response involves abilities of antioxidation and inhibition of MAPK and NF $\kappa$ B pathways in mice with endotoxin-induced acute lung injury. *Food Chem Toxicol*. 2011. 49:2660-2666.
- Lam TK, Rotunno M, Lubin JH, Wacholder S, Consonni D, Pesatori AC, et al. Dietary quercetin, quercetin-gene interaction, metabolic gene expression in lung tissue and lung cancer risk. *Carcinogenesis*. 2010. 31:634-642.
- Lee EJ, Oh SY, Sung MK. Luteolin exerts anti-tumor activity through the suppression of epidermal growth factor receptor-mediated pathway in MDA-MB-231 ER-negative breast cancer cells. *Food Chem Toxicol*. 2012. 50:4136-4143.
- Lee SH, Yumnam S, Hong GE, Raha S, Saralamma VVG, Lee HJ, et al. Flavonoids of Korean *Citrus aurantium* L. induce apoptosis via intrinsic pathway in human hepatoblastoma HepG2 cells. *Phytother Res*. 2015. 29:1940-1949.
- Li C, Zhao Y, Yang D, Yu Y, Guo H, Zhao Z, et al. Inhibitory effects of kaempferol on the invasion of human breast carcinoma cells by downregulating the expression and activity of matrix metalloproteinase-9. *Biochem Cell Biol*. 2015. 93:16-27.
- Li Q, Li M, Wang YL, Fauzee NJ, Yang Y, Pan J, et al. 2012. RNA interference of PARG could inhibit the metastatic potency of colon carcinoma cells via PI3-kinase/Akt pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2012. 29:361-372.
- Li Y, Strick-Marchand H, Lim AI, Ren J, Masse-Ranson G, Li D, et al. Regulatory T cells control toxicity in a humanized model of IL-2 therapy. *Nat Commun*. 2017. 8:1762-1773.
- Liao Y, Xu Y, Cao M, Huan Y, Zhu L, Jiang Y, et al. Luteolin induces apoptosis and autophagy in mouse macrophage ANA-1 cells via the Bcl-2 pathway. *J Immunol Res*. 2018. Article ID: 4623919.
- Limpert AS, Lambert LJ, Bakas NA, Bata N, Brun SN, Shaw RJ, et al. Autophagy in cancer: regulation by small molecules. *Trends Pharmacol Sci*. 2018. 39:1021-1032.
- Macha MA, Rachagani S, Gupta S, Pai P, Ponnusamy MP, Batra SK, et al. Guggulsterone decreases proliferation and metastatic behavior of pancreatic cancer cells by modulating JAK/STAT and Src/FAK signaling. *Cancer Lett*. 2013. 341:166-177.
- Manach C, Morand C, Gil-Izquierdo A, Bouteloup-Demange C, Rémésy C. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *Eur J Clin Nutr*. 2003. 57:235-242.
- Maskarinec G, Suzuki S, Pagano IS, Morimoto Y, Franke AA, Ehya H. Cytology in nipple aspirate fluid during a randomized soy food intervention among premenopausal women. *Nutr Cancer*. 2013. 65:1116-1121.
- Mayor F Jr, Jurado-Pueyo M, Campos PM, Murga C. Interfering with MAP kinase docking interactions: implications and perspective for the p38 route. *Cell Cycle*. 2007. 6:528-533.
- Meads MB, Li ZW, Dalton WS. A novel TNF receptor-associated factor 6 binding domain mediates NF-kappa B signaling by the common cytokine receptor beta subunit. *J Immunol*. 2010. 185:1606-1615.
- Meng G, Chai K, Li X, Zhu Y, Huang W. Luteolin exerts proapoptotic effect and anti-migration effects on A549 lung adenocarcinoma cells through the activation of MEK/ERK signaling pathway. *Chem Biol Interact*. 2016. 257:26-34.
- Milligan SA, Burke P, Coleman DT, Bigelow RL, Steffan JJ, Carroll JL, et al. The green tea polyphenol EGCG potentiates the antiproliferative activity of c-Met and epidermal growth factor receptor inhibitors in non-small cell lung cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2009. 15:4885-4894.
- Mortara L, Balza E, Bruno A, Poggi A, Orecchia P, Carnemolla B. Anti-cancer therapies employing IL-2 cytokine tumor targeting: contribution of innate, adaptive and immunosuppressive cells in the anti-tumor efficacy. *Front Immunol*. 2018. 9:2905.
- Nam NH. Naturally occurring NF- $\kappa$ B inhibitors. *Mini Rev Med Chem*. 2006. 6:945-951.
- Nelson N, Szekeres K, Iclozan C, Rivera IO, McGill A, Johnson G, et al. Apigenin: Selective CK2 inhibitor increases Ikaros expression and improves T cell homeostasis and function in murine pancreatic cancer. *PLoS One*. 2017. 12:e0170197.
- Niedzwiecki A, Roomi MW, Kalinovsky T, Rath M. Anticancer efficacy of polyphenols and their combinations. *Nutrients*. 2016. 8:552.
- Odegaard JI, Chawla A. The immune system as a sensor of the metabolic state. *Immunity*. 2013. 38:644-654.
- Orsolić N, Basić I. Water-soluble derivative of propolis and its polyphenolic compounds enhance tumoricidal activity of macrophages. *J Ethnopharmacol*. 2005. 102:37-45.
- Palit S, Kar S, Sharma G, Das PK. Hesperetin induces apoptosis in breast carcinoma by triggering accumulation of ROS and activation of ASK1/JNK pathway. *J Cell Physiol*. 2015. 230:1729-1739.
- Pandurangan AK, Dharmalingam P, Sadagopan SK, Ganapasam S. Luteolin inhibits matrix metalloproteinase 9 and 2 in azoxymethane-induced colon carcinogenesis. *Hum Exp Toxicol*. 2014. 33:1176-1185.
- Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012. 12:252-264.
- Park W, Amin AR, Chen ZG, Shin DM. New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013. 6:387-400.
- Paul B, Royston KJ, Li Y, Stoll ML, Skibola CF, Wilson LS, et al. Impact of genistein on the gut microbiome of humanized mice and its role in breast tumor inhibition. *PLoS One*. 2017. 12:e0189756.
- Pons-Fuster López E, Wang QT, Wei W, López Jornet P. Potential chemotherapeutic effects of diosgenin, zoledronic acid and epigallocatechin-3-gallate on PE/CA-PJ15 oral squamous cancer cell line. *Arch Oral Biol*. 2017. 82:141-146.
- Ramakrishnan AB, Cadigan KM. Wnt target genes and where to find them. *F1000Res*. 2017. 76:746.
- Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HM. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013. 45:2821-2831.
- Rawangkan A, Wongsirisin P, Namiki K, Iida K, Kobayashi Y, Shimizu Y, et al. Green tea catechin is an alternative immune checkpoint inhibitor that inhibits PD-L1 expression and lung tumor growth. *Molecules*. 2018. 23:E2071.
- Saiprasad G, Chitra P, Manikandan R, Sudhandiran G. Hesperidin alleviates oxidative stress and downregulates the expressions of proliferative and inflammatory markers in azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis in mice. *Inflamm Res*. 2013. 62:425-440.
- Saiprasad G, Chitra P, Manikandan R, Sudhandiran G. Hesperidin induces apoptosis and triggers autophagic markers through inhibition of Aurora-A mediated phosphoinositide-3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin and glycogen synthase kinase-3 beta signalling cascades in experimental colon carcinoma cells.

- nogenesis. *Eur J Cancer*. 2014. 50:2489-2507.
- Saleh S, Thompson DE, McConkey J, Murray P, Moorehead RA. Osteopontin regulates proliferation, apoptosis, and migration of murine claudin-low mammary tumor cells. *BMC Cancer*. 2016. 16:359.
- Sanaei M, Kavooosi F, Valiani A, Ghobadifar MA. Effect of genistein on apoptosis and proliferation of hepatocellular carcinoma Hepa1-6 cell line. *Int J Prev Med*. 2018. 9:12.
- Sassi A, Mokdad Bzéouich I, Mustapha N, Maatouk M, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Immunomodulatory potential of hesperetin and chrysin through the cellular and humoral response. *Eur J Pharmacol*. 2017. 812:91-96.
- Seo HS, Ku JM, Choi HS, Woo JK, Jang BH, Shin YC, et al. Induction of caspase-dependent apoptosis by apigenin by inhibiting STAT3 signaling in HER2-overexpressing MDA-MB-453 breast cancer cells. *Anticancer Res*. 2014. 34:2869-2882.
- Shang HS, Lu HF, Lee CH, Chiang HS, Chu YL, Chen A, et al. Quercetin induced cell apoptosis and altered gene expression in AGS human gastric cancer cells. *Environ Toxicol*. 2018. 33:1168-1181.
- Shi H, Wu Y, Wang Y, Zhou M, Yan S, Chen Z, et al. 2015. Liquiritigenin potentiates the inhibitory effects of cisplatin on invasion and metastasis via downregulation MMP-2/9 and PI3K/AKT signaling pathway in B16F10 melanoma cells and mice model. *Nutr Cancer*. 2015. 67:761-770.
- Shim JH, Choi HS, Pugliese A, Lee SY, Chae JI, Choi BY, et al. (-)-Epigallocatechin gallate regulates CD3-mediated T cell receptor signaling in leukemia through the inhibition of ZAP-70 kinase. *J Biol Chem*. 2008. 283:28370-28379.
- Shimizu M, Deguchi A, Lim JT, Moriwaki H, Kopelovich L, Weinstein IB. (-)-Epigallocatechin gallate and polyphenon E inhibit growth and activation of the epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor-2 signaling pathways in human colon cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2005. 11:2735-2746.
- Shimizu M, Shirakami Y, Sakai H, Yasuda Y, Kubota M, Adachi S, et al. (-)-Epigallocatechin gallate inhibits growth and activation of the VEGF/VEGFR axis in human colorectal cancer cells. *Chem Biol Interact*. 2010. 185:247-252.
- Shin YS, Kang SU, Park JK, Kim YE, Kim YS, Baek SJ, et al. Anti-cancer effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in head and neck cancer through repression of transactivation and enhanced degradation of  $\beta$ -catenin. *Phytomedicine*. 2016. 23:1344-1355.
- Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol*. 2011. 82:1807-1821.
- Singh M, Tyagi S, Bhui K, Prasad S, Shukla Y. Regulation of cell growth through cell cycle arrest and apoptosis in HPV 16 positive human cervical cancer cells by tea polyphenols. *Invest New Drugs*. 2010. 28:216-224.
- Skiba MA, Szendzielorz K, Mazur B, Król W. The inhibitory effect of flavonoids on interleukin-8 release by human gastric adenocarcinoma (AGS) cells infected with cag PAI (+) *Helicobacter pylori*. *Cent Eur J Immunol*. 2016. 41:229-235.
- Sprengers D, Janssen HL. Immunomodulatory therapy for chronic hepatitis B virus infection. *Fundam Clin Pharmacol*. 2005. 19:17-26.
- Srinivas NR. Recent trends in preclinical drug-drug interaction studies of flavonoids—Review of case studies, issues and perspectives. *Phytother Res*. 2015. 29:1679-1691.
- Swann JB, Smyth MJ. Immune surveillance of tumors. *J Clin Invest*. 2007. 117:1137-1146.
- Taniguchi K, Karin M. NF- $\kappa$ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol*. 2018. 18:309-324.
- Theodoratou E, Kyle J, Cetnarskyj R, Farrington SM, Tenesa A, Barnettson R, et al. Dietary flavonoids and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007. 16:684-693.
- Uzdensky AB, Demyanenko SV, Bibov MY. Signal transduction in human cutaneous melanoma and target drugs. *Curr Cancer Drug Targets*. 2013. 13:843-866.
- Vela L, Marzo I. Bcl-2 family of proteins as drug targets for cancer chemotherapy: the long way of BH3 mimetics from bench to bedside. *Curr Opin Pharmacol*. 2015. 23:74-81.
- Wan YY, Flavell RA. 'Yin-Yang' functions of transforming growth factor-beta and T regulatory cells in immune regulation. *Immunol Rev*. 2007. 220:199-213.
- Wu D, Zhang J, Wang J, Li J, Liao F, Dong W. Hesperetin induces apoptosis of esophageal cancer cells via mitochondrial pathway mediated by the increased intracellular reactive oxygen species. *Tumour Biol*. 2016. 37:3451-3459.
- Wu JC, Lai CS, Badmaev V, Nagabhushanam K, Ho CT, Pan MH. Tetrahydrocurcumin, a major metabolite of curcumin, induced autophagic cell death through coordinative modulation of PI3K/Akt-mTOR and MAPK signaling pathways in human leukemia HL-60 cells. *Mol Nutr Food Res*. 2011. 55:1646-1654.
- Wu P, Liu S, Su J, Chen J, Li L, Zhang R, et al. Apoptosis triggered by isoquercitrin in bladder cancer cells by activating the AMPK-activated protein kinase pathway. *Food Funct*. 2017. 18:3707-3722.
- Wu P, Meng X, Zheng H, Zeng Q, Chen T, Wang W, et al. Kaempferol attenuates ROS-induced hemolysis and the molecular mechanism of its induction of apoptosis on bladder cancer. *Molecules*. 2018. 23:E2592.
- Xia Y, Yuan M, Li S, Thuan UT, Nguyen TT, Kang TW, et al. Apigenin suppresses the IL-1 $\beta$ -induced expression of the urokinase-type plasminogen activator receptor by inhibiting MAPK-mediated AP-1 and NF- $\kappa$ B signaling in human bladder cancer T24 cells. *J Agric Food Chem*. 2018. 66:7663-7673.
- Xu L, Zhang Y, Tian K, Chen X, Zhang R, Mu X, et al. Apigenin suppresses PD-L1 expression in melanoma and host dendritic cells to elicit synergistic therapeutic effects. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018. 37:261.
- Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*. 2018. 10:1618.
- Yang D, Zhang X, Zhang W, Rengarajan T. Vicenin-2 inhibits Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cell line. *Drug Des Devel Ther*. 2018. 12:1303-1310.
- Yao X, Jiang W, Yu D, Yan Z. Luteolin inhibits proliferation and induces apoptosis of human melanoma cells *in vivo* and *in vitro* by suppressing MMP-2 and MMP-9 through the PI3K/AKT pathway. *Food Funct*. 2019. 10:703-712.
- Ye D, Li Z, Wei C. Genistein inhibits the S-phase kinase-associated protein 2 expression in breast cancer cells. *Exp Ther Med*. 2018. 15:1069-1075.
- Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008. 9:47-59.
- Yousef M, Vlachogiannis IA, Tsiani E. Effects of resveratrol against lung cancer: in vitro and in vivo studies. *Nutrients*. 2017. 9:1231.
- Yu CS, Lai KC, Yang JS, Chiang JH, Lu CC, Wu CL, et al.

- Quercetin inhibited murine leukemia WEHI-3 cells *in vivo* and promoted immune response. *Phytother Res.* 2010. 24:163-168.
- Zhang J, Song J, Wu D, Wang J, Dong W. Hesperetin induces the apoptosis of hepatocellular carcinoma cells via mitochondrial pathway mediated by the increased intracellular reactive oxygen species, ATP and calcium. *Med Oncol.* 2015a. 32:101.
- Zhang J, Wu D, Vikash, Song J, Wang J, Yi J, et al. Hesperetin induces the apoptosis of gastric cancer cells via activating mitochondrial pathway by increasing reactive oxygen species. *Dis Dig Sci.* 2015b. 60:2985-2995.
- Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF- $\kappa$ B: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell.* 2017a. 168:37-57.
- Zhang Q, Yang J, Wang J. Modulatory effect of luteolin on redox homeostasis and inflammatory cytokines in a mouse model of liver cancer. *Oncol Lett.* 2016. 12:4767-4772.
- Zhang X, Liu R, Zhao N, Ji S, Hao C, Cui W, et al. Sohlh2 inhibits breast cancer cell proliferation by suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Mol Carcinog.* 2019. 58:1008-1018.
- Zhang Y, Guo Y, Wang M, Dong H, Zhang J, Zhang L. Quercetin from *Toona sinensis* leaves induces cell cycle arrest and apoptosis via enhancement of oxidative stress in human colorectal cancer SW620 cells. *Oncol Rep.* 2017b. 38:3319-3326.
- Zhao Q, Zhao M, Parris AB, Xing Y, Yang X. Genistein targets the cancerous inhibitor of PP2A to induce growth inhibition and apoptosis in breast cancer cells. *Int J Oncol.* 2016. 49:1203-1210.
- Zheng JH, Viacava Follis A, Kriwacki RW, Moldoveanu T. Discoveries and controversies in BCL-2 protein-mediated apoptosis. *FEBS J.* 2016. 283:2690-2700.
- Zhou Z, Tang M, Liu Y, Zhang Z, Lu R, Lu J. Apigenin inhibits cell proliferation, migration, and invasion by targeting Akt in the A549 human lung cancer cell line. *Anticancer Drugs.* 2017. 28:446-456.
- Zhu BH, Chen HY, Zhan WH, Wang CY, Cai SR, Wang Z, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits VEGF expression induced by IL-6 via Stat3 in gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2011. 17:2315-2325.
- Zhu G, Liu X, Li H, Yan Y, Hong X, Lin Z. Kaempferol inhibits proliferation, migration, and invasion of liver cancer HepG2 cells by down-regulation of microRNA-21. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2018a. PMC ID: PMC6259061.
- Zhu Y, Yao Y, Shi Z, Everaert N, Ren G. Synergistic effect of bioactive anticarcinogens from soybean on anti-proliferative activity in MDA-MB-231 and MCF-7 human breast cancer cells *in vitro*. *Molecules.* 2018b. 23:1557.