



Modifying Effect of Indole-3-carbinol on the Rat Colon Carcinogenesis

Hyunmu Jo¹, Beom Seok Han², Jin Seok Kang³, Dong Deuk Jang⁴, Kisok Kim⁵,
Byeongwoo Ahn⁶ and Dae Joong Kim^{6*}

¹Institute of Clinical Medicine Research, Yeouido St Mary's Hospital, Catholic University of Korea

²Hoseo Toxicological Research Center, Hoseo University

³Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University

⁴Daejeon Korea Food and Drug Administration

⁵Department of Public Health, College of Natural Sciences, Keimyung University

⁶College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University

Indole-3-carbinol (I3C) found in various cruciferous vegetables has been shown to exert anti-carcinogenic activity in several target organs. Our study was conducted to assess the modifying effect of I3C on the development of colon tumor induced by azoxymethane (AOM). Eighty-seven male F344 rats were divided into 5 groups and were treated with AOM followed by I3C 100 or 300 ppm, AOM alone, I3C alone, and non-treatment, respectively. The animals were subcutaneously injected with AOM. Then diet containing I3C were fed to the rats for 37 weeks. All rats were sacrificed at 40 weeks. Liver and kidney weights of rats treated with I3C at doses of 100 or 300 ppm were significantly increased compared to those of the control group. Colonic tumor incidence and multiplicity of rats treated with I3C at doses of 100 and 300 ppm were not significant compared to those of AOM alone group. In the pathological examination, most of tumors were classified with adenoma and adenocarcinoma in the small and large intestine. These results demonstrated that I3C may have not chemopreventive effect on the rat colon carcinogenesis.

Key words: Indole-3-carbinol (I3C), colon carcinogenesis, azoxymethane (AOM), rat

Received 9 November 2010; Revised version received 9 November 2010; Accepted 25 November 2010

최근 암에 대한 일차적 예방이 강조됨에 따라 일상적으로 섭취하는 식품성분에서 항암효과가 있는 물질을 찾으려는 노력이 활발히 이루어지고 있다. 특히 식품성분을 항암물질로 활용한다면 안정성 확보와 더불어 임상적 적용 면에서 유리한 점이 있다.

Indole-3-carbinol (I3C)이라는 물질은 배추, 양배추, 콜리플라워, 싹눈양배추, 콜라드, 케일 등과 같이 십자화과 채소에 존재하는 대표적인 성분으로서 분쇄, 절단 같이 분해과정 및 조리과정, 생체 내 효소반응으로 인해 I3C를 포함한 다양한 인돌류 물질(indole compounds)이 생성되는 것으로 알려져 있다(Broadbent and Broadbent, 1998). 이들 중 대표적인 것으로는 3-3'-di-indolymethane (DIM), indole[3,2-b]carbazole (ICZ), 5,6,11,12,17,18-hexa-

hydrocyclone[1,2-b:4,5-b':7,8-b'']trindole(Ctr), 2-(indole-3-yl-methyl)-3-3'-diindolymethane (LT-1)과 3-(methoxymethyl) indole 등이 있다. I3C는 *in vivo* 및 *in vitro* 실험에서 암 예방 효과가 있다는 가능성이 제기되어 왔다(Sharma et al., 1994). 사람유래 결장암 세포에서 증식억제 효과가 보고되었고(Hudson et al., 2003), 동물실험에서는 장기별로 간, 위, 췌장(Wattenberg et al., 1978), 허파(Morse et al., 1990), 혀, 코점막(Tanaka et al., 1992), 후두(Newfield et al., 1993)와 자궁내막(Kojima et al., 1994)에서 암예방 효과가 있는 것으로 보고되었으며, 동물종별로는 마우스, 송어, 랫드에서 항암효과가 있는 것으로 보고되었다(Morse et al., 1990; Tanaka et al., 1992). 그러나 상기의 실험들이 발암물질 노출 전 I3C를 투여하는 것을 감안할 때 이는 주로 예방적인 차원에서 주안점을 두었던 것으로 보인다. 반면 이미 유발된 암에 대한 반응은 상대적으로 충분한 검증이 이루어지지 않았다고 생각한다. 그 예로 발암물질 노출 후의 I3C 섭취가 간(Dashwood et al., 1991; Kim et al., 1997), 대장(Pence et al., 1986)등의

*Corresponding author: Dae Joong Kim, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, 410 Seongsong-ro, Heungduk-gu, Cheongju 361-763, Korea
Tel: +82-43-261-3446
Fax: +82-43-271-3246
E-mail: kimdj@cnu.ac.kr

장기에서는 오히려 종양발생을 촉진하는 것으로 보고된 바 있으며, 발암물질인 dimethyl-benz[*a*]anthracene (DMBA) 투여 후에 발생된 랫드의 젖샘종양에서는 I3C에 대한 억제효과가 나타나지 않았으며(Malejka-Giganti *et al.*, 2000), 또 다른 발암물질 *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU)로 투여한 후 발암을 유도한 경우에도 I3C을 이용한 발암억제 효과는 거의 없었다는 결과가 보고된 바 있다(Kang *et al.*, 2001). 또한 마우스 피부암, 방광암 모델, 햄스터 폐암 모델에서는 I3C로 인한 암예방 효과가 없다고 보고되었다(Steele *et al.*, 1994).

이와 같이 투여시점과 표적장기, 동물 종에 차이로 인한 상이한 결과들이 보여주는 것은 I3C의 좀 더 다각적이고 다양한 방법의 연구가 필요하다는 것을 알려주고 있다. 이에 본 연구에서는 주로 암예방제 역할로서만 실험이 진행되어왔던 I3C의 투여시점을 post-initiation stage로 하여 I3C이 특히 대장종양에 미치는 영향을 확인하고자 하였다. 이에 발암 유발 그룹과 비교토록 하여 대장암 억제제로서의 효능 및 효과를 검증하고자 했다.

재료 및 방법

시험물질

본 실험에 사용한 I3C과 azoxymethane (AOM, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, I3C은 corn oil에, AOM은 생리식염수에 용해하여 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

6주령 F344계 수컷 랫드(Charles River Inc., Kanazawa, Japan) 87수를 사용하였고, 랫드는 사육상자(polycarbonate cage)에 5수씩 넣어 사육되었다. 동물 사육실은 식품의약

품안전청 내에 위치하며, 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±1°C, 상대습도 50±5%, 인공조명(12시간 점등, 12시간 소등), 조도 150-300 lux로 유지되었으며, 기초사료로 CRF-1(Charles River Inc., Kanazawa, Japan)을 급이하였고, 음수는 필터를 이용하여 여과된 정제수를 자유로이 급수하였다.

용량설정 및 투여방법

대장의 발암 유발 물질로서 AOM을 체중 kg 당 15 mg 용량으로 생리식염수(pH 7.4)에 용해하여 목등 부위 피하로 1주일에 1회 씩 3주간(총 3회) 투여하였다. 시험물질 투여 군에서는 I3C 각각 100 ppm과 300 ppm의 용량으로 사료와 혼합하여 급이하였다. 실험군은 무처리군, 발암유발물질(AOM) 처리 후 I3C 저농도 투여군(AOMI3C 100 ppm), 발암유발물질 처리 후 고농도 투여군(AOMI3C 300 ppm), AOM 단독투여군, I3C 단독투여군으로 나누었다. 각각의 실험처리 군을 발암유발물질 투여기간을 제외한 37주간 급이 및 급수를 시킨 후 부검을 실시하였다(Figure 1).

체중과 사료소모량의 측정

실험동물은 6주령부터 매주 실험종료 40주까지 체중을 측정하였고, 사료소비량은 2주마다 1회 씩 측정하였다. 최종 부검 시에는 간과 콩팥을 적출하여 무게를 측정하였다.

종양발생률(tumor incidence)과 종양발생개수(tumor multiplicity)의 측정 및 병리조직학적 검사

실험 시작 후 40주에 모든 동물을 CO₂ 마취로 희생시킨 다음 부검을 실시하여 소장과 대장을 절개하여 육안

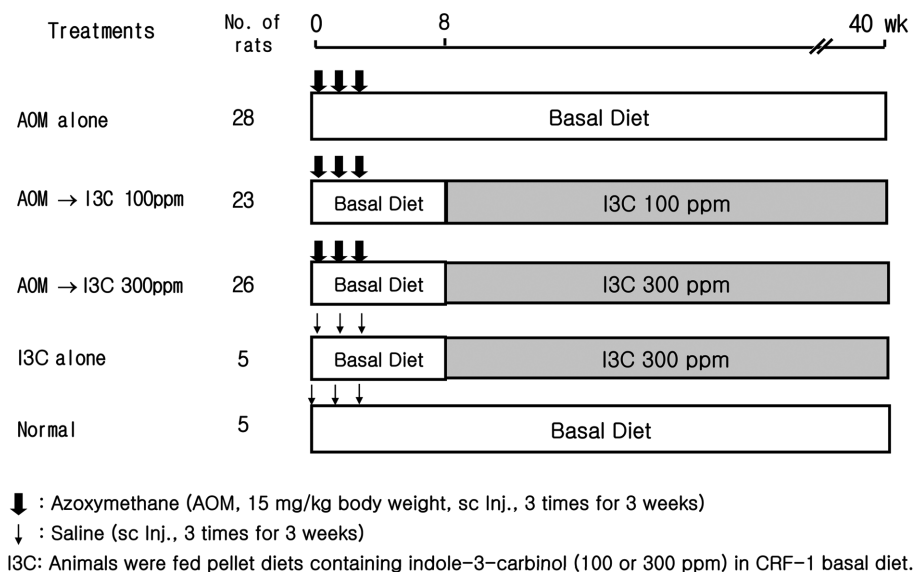


Figure 1. Experimental design.

적으로 확인되는 종양의 크기 및 개수를 기록하였고 소장과 대장에서의 종양발생률과 종양발생 개수를 산출하였다. 종양조직 및 관련 장기인 간장과 신장을 10% 중성완충포르말린에 고정 한 후 조직 처리과정을 거쳐 병리조직학적 검사를 실시하였다.

자료의 통계처리

체중, 사료섭취량, 종양발생빈도와 개수, 장기무게에 대한 실험결과는 JMP-4(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하여 One-way analysis of variance (ANOVA) 및 Dunnett's *t*-test로 유의성을 분석하였다.

결 과

군 별 체중과 장기무게 및 사료소모량

체중 측정결과 실험 기간 및 최종 무게에서는 군 간의 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았고(Table 2), 사료 소모량 측정결과에서도 유의점이 발견되지 않았다(data not shown). 그러나 관련 장기무게 측정에서는 간과 콩팥에서 유의성 있는 결과가 관찰되었다. AOMI3C 100 ppm 투여군과 AOMI3C 300 ppm 투여군에서는 AOM 단독투여군에 비하여 유의적으로 간과 콩팥의 무게가 증가하였다(Table 1).

종양발생률(tumor incidence)과 마리 당 종양발생 개수(tumor multiplicity)의 측정 및 병리조직학적 검사

소장에서 과형성(hyperplasia, Hp)은 관찰되지 않았으나,

샘종(adenoma, AD) 및 샘암종(adenocarcinoma, ADC)은 발생하였다. 샘종의 발생율은 AOM 단독투여군에서 1/28(3.5%)로 나타났으나, AOMI3C 100 ppm 투여군과 AOMI3C 300 ppm 투여군에서 3/23(13%), 1/26(3.8%)로 약간 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. 샘종의 발생 개수에서는 AOMI3C 300ppm 투여군이 0.0 ± 0.2 개로 AOM 단독투여군 0.04 ± 0.2 개에 비해 유의적으로 감소하였다. 샘암종의 발생수와 전체 종양 발생수에서는 약간 감소하였으나, 모두 유의적인 차이가 관찰되지 않았다(Table 2).

대장에서 과형성이 나타났는데, AOM 단독투여군에서 1/28(4%), AOMI3C 100 ppm 투여군은 5/23(22%), AOMI3C 300 ppm 투여군은 3/26(12%)로 발생율은 증가하였으나, 발생개수에서는 AOM 단독투여군 0.03 ± 0.2 , AOMI3C 100 ppm 투여군 0.22 ± 0.4 , AOMI3C 300 ppm 투여군 0.21 ± 0.6 으로 증가하였다. 대장종양발생률에서는 샘종의 경우 AOM 단독투여군이 24/28(86%), AOMI3C 100 ppm 투여군은 20/23(87%), AOMI3C 300 ppm 투여군은 22/26(84%)로 약간의 감소를 나타냈다. 샘암종은 AOM 단독투여군, AOMI3C 100 ppm 투여군, AOMI3C 300 ppm 투여군 각각 6/28(21%), 5/23(22%), 8/26(31%)로 통계적으로 유의적인 결과를 보이지는 않았으며, 샘종과 샘암종을 합친 총 종양발생률에서도 25/28(89%), 22/23(96%), 24/26(92%)로 관찰되어 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다(Table 3). 병리조직학적 검사 결과에 따른 개체 당 종양발생 개수에서는 소장과 대장 모두 군 당 유의적 차이점이 관찰되지 않았다(Table 2, 3).

Table 1. Final body weight and organ weights of rats

Treatments	No. of Rats	Final body weight (g)	Liver (g)	Kidney (g)
AOM alone	28	382.4 \pm 35.3 ^a	9.4 \pm 0.9	2.2 \pm 0.2
AOM→I3C 100	23	401.2 \pm 42.4	10.3 \pm 0.7	2.4 \pm 0.2*
AOM→I3C 300	26	392.0 \pm 37.7	10.4 \pm 0.7	2.4 \pm 0.2
I3C alone	5	426.3 \pm 37.7	12.0 \pm 0.9*	2.5 \pm 0.2
Normal	5	407.2 \pm 7.2	9.9 \pm 0.3	2.4 \pm 0.1

*: Significantly different from the values of AOM alone group or normal group at $P < 0.05$ with Dunnett's *t*-test.

^a: Values represent the mean \pm SD.

Table 2. Effect of I3C on the tumor incidence and multiplicity in the small intestine induced by AOM

Treatments	No. of Rats	Hp	AD		ADC		Total	
		Incidence	Incidence	Multiplicity	Incidence	Multiplicity	Incidence	Multiplicity
AOM alone	28	0(0)	1(3.5)	0.04 \pm 0.2 ^a	6(21)	0.2 \pm 0.4	7(25)	0.3 \pm 0.4
AOM→I3C 100	23	0(0)	3(13)	0.1 \pm 0.3	5(22)	0.3 \pm 0.4	7(30)	0.3 \pm 0.6
AOM→I3C 300	26	0(0)	1(3.8)	0.0 \pm 0.2	5(19)	0.3 \pm 0.7	6(23)	0.3 \pm 0.7
I3C alone	5	0(0)	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-
Non-treatment	5	0(0)	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-

Hp: Hyperplasia, AD: Adenoma, ADC: Adenocarcinoma.

Parenthesis represents the percentage of the tumor incidence.

^a: Values represent mean \pm SD.

Table 3. Effect of I3C on the tumor incidence and multiplicity in the large intestine induced by AOM

Treatment	No. of Rat	Hp		AD		ADC		Total	
		Incidence	Multiplicity	Incidence	Multiplicity	Incidence	Multiplicity	Incidence	Multiplicity
AOM alone	28	1(4)	0.03±0.2 ^a	24(86)	2.01±1.4	6(21)	0.22±0.4	25(89)	2.23±1.5
AOM→I3C 100	23	5(22)	0.22±0.4	20(87)	1.34±0.9	5(22)	0.34±0.5	22(96)	1.83±0.9
AOM→I3C 300	26	3(12)	0.21±0.6	22(84)	1.71±1.4	8(31)	0.33±0.5	24(92)	2.1±1.4
I3C alone	5	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-
Normal	5	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-	0(0)	-

Hp: Hyperplasia, AD: Adenoma, ADC: Adenocarcinoma.

Parenthesis represents the percentage of the tumor incidence.

^a: Values represent mean±SD.

고 찰

대장암 유발에는 보통 F344 랫드를 이용하여 발암물질인 AOM을 피하 투여하여 유도시키므로 본 연구에서는 6주령의 F344 랫드를 3주간 일주일 간격으로 일 회씩 총 3회 AOM을 투여한 후 실험 개시 4주부터 I3C을 사료에 섞어 급여 하고 발암물질 처치 후의 I3C 급여가 대장종양에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. I3C을 기본사료에 섞어 최종농도 100 ppm 또는 300 ppm이 되도록 하였는데, 용량에 관계없이 I3C을 급여한 군의 사료소모량이 기본사료만 급여한 군의 사료소모량보다 약 5 g 정도 높게 나타났다(data not shown). 식이증가와 암 발생 간에 적지 않은 상관관계가 있을 것으로 여겨지나 발암개시 전 급여된 I3C에 의한 체내효소 활성화로 DNA 부가체가 효과적으로 배출된 경우에는 종양 형성에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 하지만 다른 보고에 의하면 결장암 세포주를 대상으로 한 I3C과 *N*-methoxy-indole-3-carbinol이 결장암 세포의 증식을 억제하며, 간암 세포주에서도 유의성 있는 억제효과를 보았다는 결과도 있다(Stephensen *et al.*, 2000). 관련하여 동물실험모델에서도 결장암의 발생률이 떨어지는 것이 보고되었고(Barrett *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2003), 또한 랫드에 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*] pyridine (PhIP)를 처치하기 전에 I3C을 투여하면 DNA 부가체가 감소되고, PhIP 투여 후에 I3C을 적용하면 PhIP-DNA 부가체 제거에 효과가 없는 것으로 보아 I3C의 작용시점에 따라 종양수식양상이 달라지는 것으로 나타났다(Guo *et al.*, 1995; He *et al.*, 1997; Huber *et al.*, 1997). 이에 발암물질 투여 후에는 I3C 투여에 의한 대장종양억제 효과를 기대하기 힘들 것으로 생각되며 발암물질을 초기에 제거하는 것이 중요한 것으로 보인다. 발생한 종양 가운데 군간 종양의 조직학적 형태에 따른 분포양상은 비슷하게 관찰되어 I3C 급여에 따른 종양 형태의 차이는 발견되지 않았다. I3C과 관련 대사체들이 장기별, 화학적 발암물질 투여시기에 따라 대조되는 결과를 보이고 있는데 특히, 일부를 제외

하고 발암물질 투여 전에는 암예방 효과가 뚜렷하였으나 (Dashwood and Xu, 2003), 발암물질 투여 후 I3C 투여는 오히려 종양을 촉진하는 것으로 나타났다(Kang *et al.*, 2007). 본 실험에서는 F344 랫드를 대상으로 I3C 식이 37주간 총 40주간의 실험을 실시하였고, 체중 및 사료소모량 측정과 간과 콩팥의 상대장기 무게, 대장과 소장조직 및 종양조직의 병리조직학적 변화를 비교, 관찰하였다. 실험기간동안 군 간 사료소모량과 체중의 유의적인 변화는 없었으나, 간과 콩팥의 상대장기 무게에서 I3C 투여 군이 유의성 있는 증가를 보였다. 그러나 간과 콩팥의 병리조직학적 검사에서 독성과 관련하여 특이적인 병변이 관찰되지 않아 I3C에 의한 영향인 것으로 보이지는 않았다. 대장과 소장의 종양발생 분류는 과형성, 샘종, 샘암종 및 이들의 혼합형으로서 실험결과 대장에서는 대부분 샘종이 관찰되었고, 소장에서는 대부분 샘암종으로 관찰되었으며 군 간 종양의 병리조직학적 형태에 따른 분포양상은 비슷하게 관찰되어 I3C에 의한 종양형태의 차이는 관찰되지 않았다(data not shown). 대장 종양은 각 군에서 90% 정도의 발생빈도를 보였지만 군간 차이점이 발견되지 않았고, 소장종양도 25~30% 정도의 발생 빈도와 개체 당 종양 발생 수에서 수식적인 의미가 없어서 I3C이 종양 발생에 영향이 없는 것으로 판단하였다. 이는 투여 후 처리 된 I3C의 종양억제작용능이 감소되는 것이 체내에서 형성된 일부 대사체가 aryl hydrocarbon receptor (AhR)에 대한 ligand로 작용하여 AhR 의존성 대사경로의 지속적 활성화를 유도하기 때문인 것으로 생각해 볼 수 있었다(He and Schut, 1997; Kim *et al.*, 2001; Kim and Milner, 2005).

Post-initiation stage에서의 I3C 급여가 AOM 유발 랫드 대장암 모델에서 유의성 있는 결과가 관찰되지 않았으므로 랫드의 대장암에 대한 I3C의 항암제로서의 종양억제 효과가 없는 것으로 판단되었으며, 특히 I3C 시점에 따라 종양억제효과에 차이를 보이는 것을 볼 때 차후에도 다양한 접근방법으로 I3C의 효용성에 대한 규명이 더 보강되어야 한다고 여겨진다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- Barrett, J.E., Klopfenstein, C.F. and Leipold, H.W. (1998) Protective effects of cruciferous seed meals and hulls against colon cancer in mice. *Cancer Lett.* 127(1-2), 83-88.
- Broadbent, T.A. and Broadbent, H.S. (1998) The chemistry and pharmacology of indole-3-carbinol (indole-3-methanol) and 3-(methoxymethyl)indole. *Curr. Med. Chem.* 5(6), 337-352.
- Dashwood, R.H. and Xu, M. (2003) The disposition and metabolism of 2-amino-3-methylimidazo-[4,5-f]quinoline in the F344 rat at high versus low doses of indole-3-carbinol. *Food Chem. Toxicol.* 41(8), 1185-1192.
- Dashwood, R.H., Fong, A.T. and Williams, D.E. (1991) Promotion of aflatoxin B₁ carcinogenesis by the natural tumor modulator indole-3-carbinol: influence of dose, duration, and intermittent exposure on indole-3-carbinol promotional potency. *Cancer Res.* 51(9), 2362-2365.
- Guo, D., Schut, H.A., Davis, C.D., Snyderwine, E.G., Bailey, G.S. and Dashwood, R.H. (1995) Protection by chlorophyllin and indole-3-carbinol against 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced DNA adducts and colonic aberrant crypts in the F344 rat. *Carcinogenesis* 16(12), 2931-2937.
- He, Y.H., Smale, M.H. and Schut, H.A. (1997) Chemopreventive properties of Indole-3-carbinol (I3C): Inhibition of DNA adduct formation of the dietary carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), in female F344 rats. *J. Cell. Biochem. Suppl.* 27, 42-51.
- Huber, W.W., McDaniel, L.P., Kaderlik, K.R., Teitel, C.H., Lang, N.P. and Kadlubar, F.F. (1997) Chemoprotection against the formation of colon DNA adducts from the food-borne carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in the rat. *Mutat. Res.* 376(1-2), 115-122.
- Hudson, E.A., Howells, L.M., Babara, G.H., Fox, L.H., Gescher, A. and Manson, M.M. (2003) Growth-inhibitory effects of the chemopreventive agent indole-3-carbinol are increased in combination with the polyamine putrescine in the SW480 colon tumour cell line. *J. BMC cancer* 14, 1-18.
- Kang, J.S., Kim, D.J., Ahn, B., Nam, K.T., Kim, K.S., Choi, M. and Jang, D.D. (2001) Post-initiation treatment of indole-3-carbinol did not suppress N-methyl-N-nitrosourea induced mammary carcinogenesis in rats. *Cancer Lett.* 169(2), 147-154.
- Kang, J.S., Jang, D.D. and Kim, D.J. (2007) Promoting effect of indole-3-carbinol in N-methyl-N-nitrosourea-induced rat mammary carcinogenesis. *Lab. Anim. Res.* 23(4), 391-396.
- Kim, D.J., Han, B.S., Ahn, B., Hasegawa, R., Shirai, T., Ito, N. and Tsuda, H. (1997) Enhancement by indole-3-carbinol of liver and thyroid gland neoplastic development in a rat medium-term multiorgan carcinogenesis model. *Carcinogenesis* 18(2), 337-381.
- Kim, D.J., Kang, J.S., Ahn, B.W., Kim, K.S., Park, K.H., Choi, K.S., Surh, Y.J. and Kim, N.-D. (2001) Chemopreventive effect of 2-(allylthio)pyrazine (2-AP) on rat colon carcinogenesis induced by azoxymethane (AOM). *Cancer Lett.* 166(2), 125-133.
- Kim, D.J., Shin, D.H., Ahn, B., Kang, J.S., Nam, K.T., Park, C.B., Kim, C.K., Hong, J.T., Kim, Y.B., Yun, Y.W., Jang, D.D. and Yang, K.H. (2003) Chemoprevention of colon cancer by Korean food plant components. *Mutat. Res.* 523-524, 99-107.
- Kim, Y.S. and Milner, J.A. (2005) Targets for indole-3-carbinol in cancer prevention. *J. Nutr. Biochem.* 16(3), 65-73.
- Kojima, T., Tanaka, T. and Mori, H. (1994) Chemoprevention of spontaneous endometrial cancer in female Donryu rats by dietary indole-3-carbinol. *Cancer Res.* 54(6), 1446-1449.
- Malejka-Giganti, D., Niehans, G.A., Reichert, M.A. and Bliss, R.L. (2000) Post-initiation treatment of rats with indole-3-carbinol or beta-naphthoflavone does not suppress 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary gland carcinogenesis. *Cancer Lett.* 160(2), 209-218.
- Morse, M.A., LaGreca, S.D., Amin, S.G. and Chung, F.L. (1990) Effects of indole-3-carbinol on lung tumorigenesis and DNA methylation induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) and on the metabolism and disposition of NNK in A/J mice. *Cancer Res.* 50(9), 2613-2617.
- Newfield, L., Goldsmith, A., Bradlow, H.L. and Auborn, K. (1993) Estrogen metabolism and human papilloma virus-induced tumors of the larynx: chemo-prophylaxis with indole-3-carbinol. *Anticancer Res.* 13(2), 337-341.
- Pence, B.C., Buddingh, F. and Yang, S.P. (1986) Multiple dietary factors in the enhancement of dimethylhydrazine carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.* 77(1), 269-276.
- Sharma, S., Stutzman, J.D., Kelloff, G.J. and Steele, V.E. (1994) Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of carcinogenesis. *Cancer Res.* 54(22), 5848-5855.
- Steele, V.E., Moon, R.C., Lubet, R.A., Grubbs, C.J., Reddy, B.S., Wargovich, M., McCormick, D.L., Pereira, M.A., Crowell, J.A. and Bagheri, D. (1994) Preclinical efficacy evaluation of potential chemopreventive agents in animal carcinogenesis models: methods and results from the NCI chemoprevention drug development program. *J. Cell Biochem. Suppl.* 20, 32-54.
- Stephensen, P.U., Bonnesen, C., Schaldach, C., Andersen, O., Bjeldanes, L.F. and Vang, O. (2000) N-methoxyindole-3-carbinol is a more efficient inducer of cytochrome P-450 1A1 in cultured cells than indol-3-carbinol. *Nutr. Cancer* 36(1), 112-121.
- Tanaka, T., Kojima, T., Morishita, Y. and Mori, H. (1992) Inhibitory effects of the natural products indole-3-carbinol and sinigrin during initiation and promotion phases of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res.* 83(8), 835-842.
- Wattenberg, L.W. and Loub, W.D. (1978) Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon induced neoplasia by naturally occurring indoles. *Cancer Res.* 38(5), 1410-1413.