

# [6]-Gingerol이 인체 유방암세포인 MDA-MB-231의 세포증식 억제에 미치는 영향

서은영\* · 이현숙\*\* · 김우경\*§

단국대학교 식품영양학과,\* 서울스포츠대학원대학교, 스포츠과학과\*\*

## Effect of [6]-Gingerol on Inhibition of Cell Proliferation in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells

Seo, Eun-Young\* · Lee, Hyun-Sook\*\* · Kim, Woo-Kyung\*§

Department of Food Science and Nutrition,\* Dankook University, Seoul 140-714, Korea

Department of Sports Science,\*\* Seoul Sports Graduate University, Seoul 120-750, Korea

### ABSTRACT

Ginger (*Zingiber officinale Roscoe, Zingiberaceae*) is one of the most frequently and heavily consumed dietary condiments throughout the world. Besides its extensive use as a spice, the rhizome of ginger has also been used in traditional oriental herbal medicine for the management of symptoms such as common cold, digestive disorders, rheumatism, neurologia, colic, and motion-sickness. The oleoresin from rhizomes of ginger contains [6]-gingerol (1-[4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl]-5-hydroxy-3-decanone) and its homologs as pungent ingredients that have been found to possess many interesting pharmacological and physiological activities, such as anti-inflammatory, analgesic, antipyretic, antihepatotoxic, and cardiotoxic effects. However, the effect of [6]-gingerol on cell proliferation in breast cancer cell are not currently well known. Therefore, in this study, we examined effect of [6]-gingerol on protein and mRNA expression associated with cell proliferation in MDA-MB-231 human breast cancer cell lines. We cultured MDA-MB-231 cells in presence of 0, 2.5, 5 and 10  $\mu$ M of [6]-gingerol. [6]-Gingerol inhibited breast cancer cell growth in a dose-depenent manner as determined by MTT assay. ErbB2 and ErbB3 protein and mRNA expression were decreased dose-dependently in cells treated with [6]-gingerol ( $p < 0.05$ ). In addition, phosphorylated Akt levels and total Akt levels were markedly decreased in cells treated with 2.5  $\mu$ M [6]-gingerol ( $p < 0.05$ ). In conclusion, we have shown that [6]-gingerol inhibits cell proliferation through ErbB2 and ErbB3, reduction in MDA-MB-231 human breast cancer cell lines. (*Korean J Nutrition* 38(8): 656~662, 2005)

KEY WORDS : [6]-gingerol, breast cancer cell, proliferation, EGFR, Akt.

### 서 론

2002년 보건복지부 통계에 따르면 암은 우리나라 사망 원인 중 1위를 차지하고 있다.<sup>1)</sup> 암의 종류별로는 대장암, 전립선암, 유방암, 자궁암의 발병이 증가하고 있는 추세이며, 여성에 있어서는 유방암이 발병 1위를 차지하고 있다. 암의 발병 원인은 아직도 확실하게 밝혀져 있지 않으나 대체로 유전적인 요인과 환경적인 요인에 의해 발생되는

것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 환경적인 요인 중에서는 잘못된 식생활에 의한 발병이 35% 정도를 차지한다고 보고되고 있다.<sup>3)</sup> 그러므로 암의 예방과 치료에서 식생활의 역할은 그 중요성을 더해가고 있다.

생강 (*Zingiber Offinale Roscoe*)은 생강과에 속하는 다년생 식물의 근경으로 아열대와 열대지역에서 자라며, 특유의 향기와 매운맛으로 전 세계적으로 향신료로 많이 이용되고 있다.<sup>4)</sup> 우리나라에서도 생강은 예부터 김치, 젓갈, 각종 음식의 향신료나, 양념료로 사용되었고, 한과류, 생강차 등의 재료로 사용되어 오고 있다. 또한 한방 의학에서는 건위제, 구토, 복통, 요통, 설사 등의 치료제 및 살균제로서 이용되어져 왔다.<sup>5,6)</sup> 생강의 성분은 유기 용매 추출물인 oleoresin 과 수증기 증기에 의해 얻어지는 정유 (essential oil)로 크

접수일 : 2005년 5월 3일

채택일 : 2005년 8월 26일

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail : wkkim@dankook.ac.kr

게 나누어지고 비휘발성 매운맛 성분인 oleoresin은 gingerol 류, shogaol류, dehydrogingerone 등을 함유하고 있다. 생강의 주요 매운맛 성분인 gingerol은 여러 유도체가 존재하는데,<sup>4,7,8)</sup> 그 중에서 항산화력이 가장 뛰어난 [6]-gingerol은 체내 지질 저하 효과, 항균 효과, 종양 억제, DNA 손상 억제 효과 등의 약리 효능이 보고 되어있다.<sup>9-13)</sup> 그러나 [6]-gingerol이 유방암세포주에 있어서 암세포 증식에 미치는 영향에 대한 연구는 매우 제한적으로 보고되고 있다.

Epidermal growth factor receptor (EGFR)는 유방암, 폐암, 위암, 뇌종양, 간암세포에서 관찰되며 특히 유방암에서는 carcinogenesis 및 tumor progression에서 중요한 역할을 한다.<sup>14)</sup> EGFR의 발현은 암의 진행 단계 및 전이 과정중의 침윤 단계와 밀접한 연관이 있으며,<sup>15,16)</sup> EGFR의 과발현은 종양 세포를 지나치게 성장시켜 암의 확산과 전이를 유도한다고 보고되고 있다.<sup>17)</sup> 또한 EGFR이 양성인 경우에는 음성인 경우에 비해 재발률 및 사망률이 높다고 알려져 있다.<sup>18,19)</sup>

따라서 본 연구에서는 유방암세포주를 이용하여 생강의 성분 중에서 항산화력이 뛰어난 [6]-gingerol이 암세포 증식 억제와 EGFR의 발현에 미치는 영향을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 세포 배양

실험에 사용된 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231 cell은 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. 세포는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 Dulbecco's modified Eagle's medium/Nutrient Mixture Ham's F12 (DMEM/F12, Gibco/BRL., Gaithersburg, MD, USA)에 10% FBS, 100 units/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Gibco/BRL)를 포함한 배지 용액을 만들어 배양하였다. 배지는 2~3일마다 교환하였다. [6]-Gingerol (Biomol, PA, USA)은 absolutely ethanol로 100 mM stock을 만들어 냉동 보관하여 사용하였고 대조군을 포함하여 모든 well의 ethanol 농도를 동일하게 하였다.

### 2. 세포 증식

[6]-Gingerol의 농도 증가에 따른 세포의 증식에 미치는 효과를 알아보기 위해 MTT assay를 실시하였다. 24 well plate에 유방암 세포를 2.5 × 10<sup>4</sup> cells/ml의 농도로 plating 하고, 48시간 후에 FBS를 첨가하지 않은 serum free medium (SFM) (0.1% BSA, 5 µg/ml transferrin, 5

ng/ml selenium, 1000 units/ml penicillin, 1,000 µg/ml streptomycin (Gibco))으로 배지를 교환하여 24시간 serum starvation 시키고, [6]-gingerol을 0, 2.5, 5, 10 µM로 SFM에 희석하여 medium을 교환하였다. Treatment 후 0, 12, 24, 48 시간이 경과한 후 MTT assay 방법으로 세포 증식 정도를 측정하였다. MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma)를 1 mg/ml의 농도로 well 당 1 ml 씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 3시간 incubation시킨 후 iso-propanol 0.5 ml에 용해시킨 다음 490 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

### 3. 단백질 발현

세포증식과 관련된 여러 단백질의 발현을 western blot을 실시하여 알아보았다. MDA-MB-231 cell을 1 × 10<sup>6</sup> cells/ml의 농도로 100 mm dish에 분주하고 48시간 후에 SFM으로 배지를 교환하고 24시간 후 SFM에 [6]-gingerol을 0, 2.5, 5, 10 µM 농도로 첨가한 treatment 용액을 만들어 medium을 교환하였다. 48시간 후에 새로운 treatment 용액으로 교환하고, 24시간 후에 차가운 rinse buffer (PBS, 1 mM PMSF, 1 mM sodium orthovanadate)를 이용하여 세척하고 cell을 모아 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 차가운 lysis buffer (137 mM NaCl, 20 mM Tris-Cl, 1% triton X-100, 10% glycerol, 1 mM sodium orthovanadate, 1 mM PMSF, 20 µg/ml aprotinin, 10 µg/ml antipain, 10 µg/ml leupeptin, 80 µg/ml benzamidine HCl)를 넣어 세포를 파괴한 후, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여, 상층액을 모아 시료로 사용하였다. 단백질을 정량하고, 4~20% gradient sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)에서 단백질을 분리한 후, immobilon™-P membrane (Millipore, Bedford, MA, USA)에 4°C, overnight으로 transfer하였다. Membrane은 5% milk/TBST (20 mM Tris - HCl, 137 mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH 7.4)로 실온에서 1시간 incubation 한 후 알아보하고자하는 단백질의 antibody (ErbB2, ErbB3, Bcl-2, Akt, pAkt, Py-20; Santacruz, USA)를 사용하여 incubation 시켰다. TBST로 씻어낸 후 다시 anti-mouse 1 g horseradish peroxidase/TBST 또는 anti-rabbit Ig horseradish peroxidase/TBST (Amersham Buckinghamshire, England)으로 incubation 시켰고, Supersignal<sup>R</sup> West Dura extended Duration Substrate (Pierce, IL, USA) 사용하여 발색시킨 후 X - Omat film (Kodak)으로 현상하여 high

molecular weight marker (Amersham, England)로 분자량을 비교하여 분석하였다. 각 밴드는 densitometer로 강도를 측정하였다.

4. mRNA 발현

[6]-Gingerol이 암세포증식에 영향을 주는 단백질의 단백질 발현뿐만 아니라, mRNA 수준에서도 변화하는지를 알아보기 위해 western blot 실험 조건과 같은 조건으로 MDA-MB-231 cell을 배양하여 Tri reagent를 이용하여 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA는 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> ratio로 RNA의 purity(1.7~2.0)를 알아보고 OD<sub>260</sub> 값으로 RNA농도를 계산하였다. 3 µg의 RNA를 tube에 넣고 oligo DT (0.5 µg/µl, Invitrogen) 1 µl을 포함하여 총량이 12 µl 되도록 Depc water를 첨가하였다. 이것을 70°C에서 10분간 incubation하고 여기에 reaction buffer (5 x first standard buffer 4 µl, 0.1 M DTT 2 µl, 10 mM NTP 1 µl) 7 µl를 첨가하여 42°C에서 5분간 incubation하고, superscript II reverse transcriptase (Invitrogen) 0.5 µl를 첨가하여 42°C에서 1시간 45분, 70°C에서 15분간 incubation 하였다. 여기에 RNase (Invitrogen) 0.5 µl를 넣고 37°C에서 1시간 incubation 하여 80 µl의 Depc water를 넣어 -20°C에서 보관하여 사용하였다. 준비된 sample에 2.5 λ mix buffer (10 x PCR buffer, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM NTP mix, autoclave water)와 sense, antisense primer taq polymerase를 혼합하여 Table 1과 같이 cycle을 실행하였으며 ethidium bromide로 염색한 1% argarose gel로 전기영동을 실시하여 결과를 확인하였다.

5. 통계 처리

본 연구의 실험은 독립적으로 3번 이상 실시하였으며, 얻

Table 1. Sequence and RT-PCR programs of protein

Protein	Primer	Sequence	Cycle
β-actin	Sense	5'-GTTGAGACC TTCAACACCCC-3'	94°C 1min 60°C 1min 72°C 1min
	Antisense	5'-GTGGCCATCT CCTGCTCGAAGTC-3'	
ErbB2	Sense	5'-GTTCCAGATGA GGAGGGCGCATGCC-3'	94°C 1min 62°C 1min 72°C 1min
	Antisense	5'-TTCTCCCATCAG GGATCCAGATGCC-3'	
ErbB3	Sense	5'-GGTCTGGGCTT GCTTTT-3'	94°C 1min 57°C 1min 72°C 1min
	Antisense	5'-CGTGGCTGGAG TTGGTGTA-3'	
Akt	Sense	5'-CAACTTCTCTGIG GCGCAGTG-3'	94°C 1min 58°C 1min 72°C 1min
	Antisense	5'-GACAGGTGGAAG AACAGCTCG-3'	

T: Thymine, A: Adenin, C: Cytosine, G: Guanine

어진 결과는 평균과 표준편차로 나타내었고, SAS 프로그램을 이용하여 통계처리하였다. ANOVA 분석 후 α = 0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 세포 증식 억제 효과 (MTT assay)

인체 유방암 세포인 MDA-MB-231에 [6]-gingerol을 0, 2.5, 5, 10 µM 로 처리하고 0, 12, 24, 48시간 후에 살아있는 세포를 염색하여 흡광도를 측정하였다. 그 결과 12, 24시간에는 세포 증식에 [6]-gingerol이 영향을 주지 않았으나, 48시간 후에는 처리 농도가 증가할수록 세포 증식이 억제되어 10 µM에서 유의적으로 감소하였다(p < 0.05) (Fig. 1).

Lee 등<sup>20)</sup>의 연구에서는 human leukemia cell 인 HL-60 cell에 [6]-gingerol과 [6]-paradol을 0~50 µM 까지의 농도로 처리하여 MTT assay를 실시한 결과 [6]-paradol은 20 µM로 처리하였을 때 세포 성장력이 35% 감소되었으며, 처리 농도가 증가할수록 더 많은 감소를 하였다. 그러나 [6]-gingerol은 모든 처리 농도에서 유의적인 감소를 보여, [6]-gingerol이 암세포 증식 억제 효과가 높음을 알 수 있었다.

2. EGFR 발현

세포 증식 신호를 전달하는 EGFR중에서 heterodimer

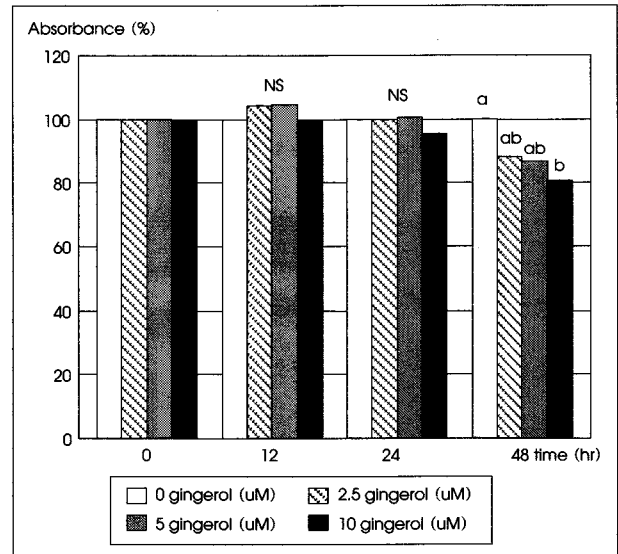
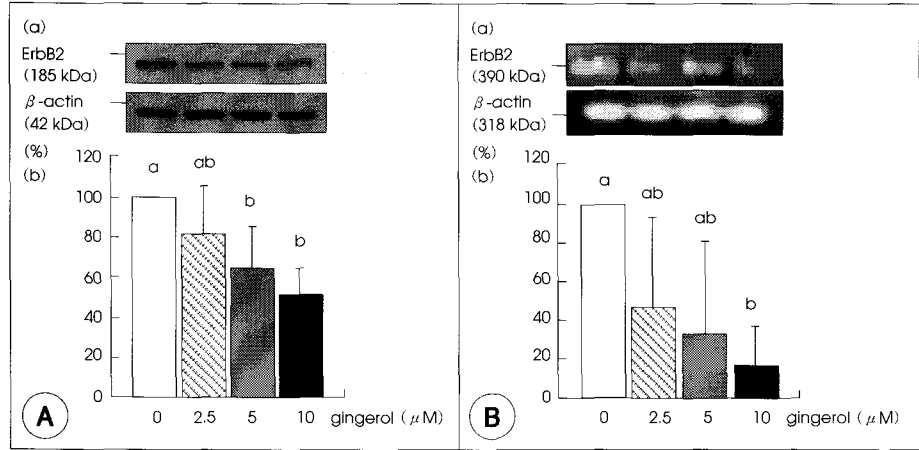
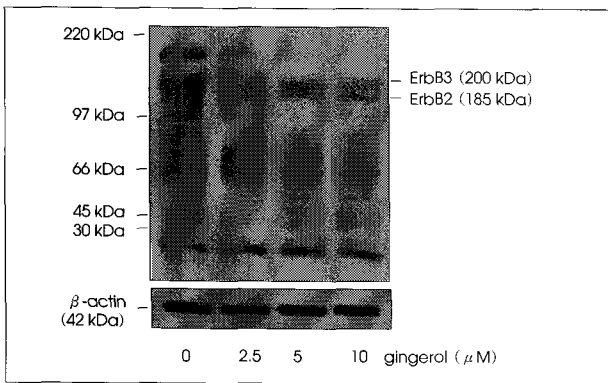
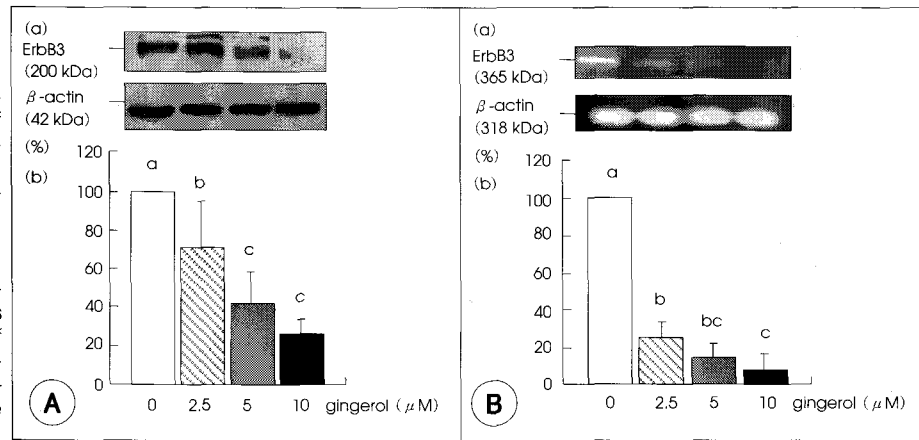


Fig. 1. Effect of [6]-gingerol on cell proliferation in MDA-MB-231 cells. Each bar represents the mean ± S.D. Comparisons among different concentrations of [6]-gingerol that yielded significant differences (p < 0.05) are indicated by different letters above each bar.

**Fig. 2.** Effect of [6]-gingerol on ErbB2 protein and mRNA expression in MDA-MB-231 cells. A : ErbB2 protein levels : (a) photograph of the ErbB2 protein bands (b) quantitative analysis of the bands. B : ErbB2 mRNA levels (a) photograph of the Erb2 mRNA bands (b) quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean  $\pm$  S.D. calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of [6]-gingerol that yielded significant difference ( $p < 0.05$ ) are indicated by different letters above each bar.



**Fig. 3.** Effect of [6]-gingerol on ErbB3 protein and mRNA expression in MDA-MB-231 cells. A : ErbB3 protein levels : (a) photograph of the ErbB3 protein bands (b) quantitative analysis of the bands. B : ErbB3 mRNA levels (a) photograph of the Erb3 mRNA bands (b) quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean  $\pm$  S.D. calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of [6]-gingerol that yielded significant difference ( $p < 0.05$ ) are indicated by different letters above each bar.

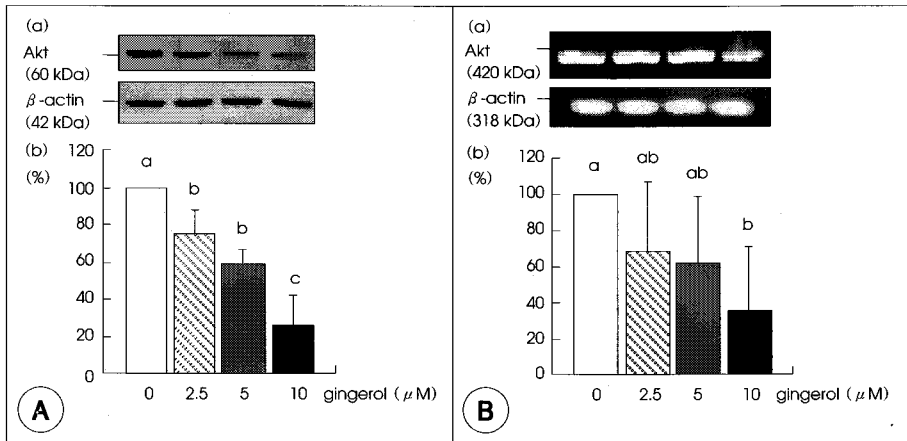


**Fig. 4.** Effect of [6]-gingerol on ErbB2 and ErbB3 phosphorylation in MDA-MB-231 cells.

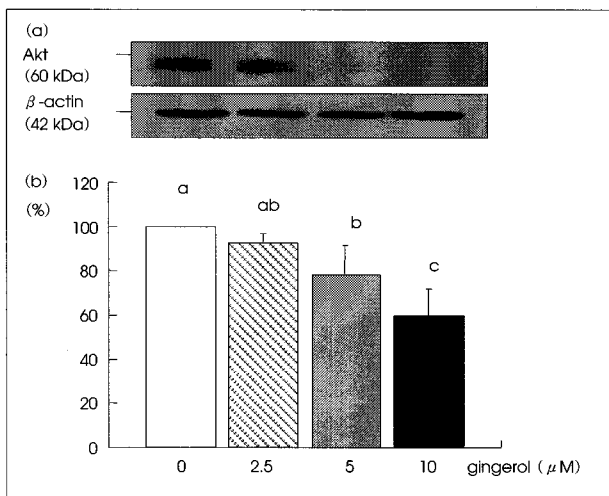
를 이루어 신호를 세포내로 전달하는 ErbB2와 ErbB3의 발현이 [6]-gingerol에 의해 영향을 받는지 알아보았다. ErbB2 단백질의 발현은 [6]-gingerol의 처리 농도 5  $\mu$ M 에서부터 유의적인 감소를 보였으며, 이 단백질은 mRNA 수준에서도 [6]-gingerol의 농도가 10  $\mu$ M에서부터 유의적인 감소를 보였다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 2). ErbB3의 발현은 2.5  $\mu$ M 에서부터 유의적인 감소를 보였으며, mRNA 수

준도 2.5  $\mu$ M 에서부터 유의적 감소를 나타내었다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3). 또한 이들 단백질은 증식 신호를 전달하는 과정에서 인산화 과정을 거치게 되는데, ErbB2, ErbB3 단백질의 인산화가 [6]-gingerol의 처리 농도가 증가할수록 억제되는 것도 관찰할 수 있었다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 4).

세포성장인자들은 세포 표면에 존재하는 수용체를 통하여 세포증식을 유발하는데, 대부분의 성장인자 수용체는 tyrosine kinase를 가지거나 인산화 효소 단백질이 붙어있다. 종양세포에서는 성장인자의 증가 외에도 이들 수용체의 증가나 변이를 볼 수 있다.<sup>21)</sup> 특히 악성종양에서는 이들 성장인자 및 그 수용체의 발현이 비정상적으로 조절되어 주위 섬유아세포나 내피세포의 성장 유도도 암의 증식과 침윤 및 전이를 촉진시키거나 종양 혈관 형성을 증가시킨다.<sup>22,23)</sup> 종양과 관련된 성장인자로 가장 널리 알려진 EGF는 상피세포의 세포막에 존재하는 수용체인 EGFR과 반응하여 tyrosine kinase를 활성화시켜 상피세포의 증식과 분화 및 DNA 합성을 촉진시킨다.<sup>24,25)</sup> EGFR은 ErbB(HER-1), ErbB2(HER2, neu), ErbB3(HER3), ErbB4(HER4)로 구성되어있고, 각각의 수용체는 두개의 extracellular



**Fig. 5** Effect of [6]-gingerol on Akt protein and mRNA expression in MDA-MB-231 cells. A : Akt protein levels : (a) photograph of the Akt protein bands (b) quantitative analysis of the bands. B : Akt mRNA levels (a) photograph of the Akt mRNA bands (b) quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean  $\pm$  S.D. calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of [6]-gingerol that yielded significant difference ( $p < 0.05$ ) are indicated by different letters above each bar.



**Fig. 6.** Effect of [6]-gingerol on p-Akt protein expression in MDA-MB-231 cells. (a) photograph of the p-Akt protein bands (b) quantitative analysis of the bands. Each bar represents the mean  $\pm$  S.D. calculated from three independent experiments. Comparisons among different concentration of [6]-gingerol that yielded significant difference ( $p < 0.05$ ) are indicated by different letters above each bar.

cys-rich domain이 있어 tyrosine-protein kinase 영역과 carboxyl 말단에 tyrosine 잔기를 가지는 영역을 변화시켜 활성화 된다. Tyrosine은 수용체가 활성화되면 인산화 되어 신호 전달을 유도하고 전달하는 단백질과 연결된다.<sup>26-28</sup> EGFR 중 ErbB2와 ErbB3는 heterodimer를 이루어 tyrosine kinase가 활성화 되고 receptor의 세포질내 domain의 tyrosine 잔기를 인산화 한다.<sup>29</sup> 활성화된 tyrosine 잔기는 세포내 다른 신호 전달 단백질들과 결합하여 신호를 전달하게 된다.<sup>30,31</sup> 그러므로 ErbB2와 ErbB3의 발현은 세포 증식과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다. 그러나 [6]-gingerol이 EGFR의 발현에 미치는 영향에 대해서는 보고된 바 없어 본 연구에서 세포의 증식 신호 전달과정에 따라 관련 단백질의 발현을 알아본 결과, [6]-gingerol이 ErbB2,

ErbB3의 발현을 억제하는 것으로 나타났다. Squires 등<sup>32</sup>에 의하면 인체 유방암 세포인 MDA-MB-468에 생강의 색소 성분인 curcu-min을 처리한 결과 EGFR의 인산화를 억제하여 세포내 증식 신호전달이 억제되었으며, 또 다른 유방암 세포 AU565와 MDA-MB-453에서도 ErbB2의 발현을 유의적으로 감소시켰다고 하였다.<sup>33</sup> 이와 같이 생강의 성분들이 EGFR의 발현을 감소시켜 암세포의 증식을 억제하는 것을 알 수 있었다.

### 3. Akt의 발현

세포 증식 신호 전달 경로에서 EGFR보다 하위 단계에서 신호를 전달하며, 핵 안으로 증식 신호를 전달하여 세포 증식을 촉진하는 Akt 단백질에도 [6]-gingerol이 영향을 미치는지 알아본 결과 [6]-gingerol의 농도가 2.5  $\mu$ M에서부터 Akt의 단백질 발현이 유의적으로 감소되는 것을 관찰할 수 있었으며, mRNA 수준도 처리 농도 10  $\mu$ M에서부터 발현이 유의적으로 감소되었다( $p < 0.05$ ) (Fig. 5). 또한, Akt의 활성형인 p-Akt는 [6]-gingerol의 처리 농도가 5  $\mu$ M에서부터 유의적으로 발현이 감소되었다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 6).

Akt는 tumorigenesis에서 Mdm2/p53 경로를 조절하여 세포 증식과 사멸에 관여하게 되는데,<sup>34</sup> 세포 증식은 EGF와 EGFR이 결합하여 세포막 안쪽으로 계속해서 증식 신호를 전달하고 PI3 kinase가 그 다음 신호를 받아 전달하는 전령자 역할을 하게 된다. 활성화된 PI3 kinase는 세포막의 lipid인 phosphatidylinositol -4,5-bisphosphate 영역에서 인산화되어 serine-tyrosine kinase인 Akt와 같은 수많은 단백질과 연결하게 된다.<sup>35</sup> 연결된 Akt는 신속하게 인산화되어 핵 안으로 증식을 촉진하는 신호를 전달한다.<sup>36</sup> 유방암 세포인 MCF-7 cell에서 PI3 kinase, Akt의 발현 정도에 따라 전사 인자 NF-kB 활성이 자극된다

고 하였으며,<sup>37)</sup> Craven 등도<sup>38)</sup> 유방암에서 Akt 활성화는 강력한 성장 신호를 나타내며, 과발현은 성장과 관련된 반응을 시작하게 한다고 하였다. 본 연구에서 [6]-gingerol은 Akt와 관련된 세포 증식 경로를 억제하는 효과가 관찰되었다.

### 요약 및 결론

본 연구는 생강 성분 중에서 대표적인 비 휘발성 매운맛 성분인 [6]-gingerol이 인체 유방암 세포 MDA-MB-231에서 세포의 증식에 어떠한 영향을 미치는지 확인하고자 실시하였다. 암세포 증식에 미치는 효과를 알아본 결과, [6]-gingerol은 처리 농도 10  $\mu$ M에서 48시간 후에 세포 성장을 유의적으로 감소시켰다. 세포 증식에 관련된 단백질인 ErbB2, ErbB3, Akt 단백질은 [6]-gingerol의 첨가량이 증가함에 따라 발현이 감소되었고, 이들 단백질의 mRNA 수준도 발현이 감소되었다. Py20, pAkt로 인산화를 측정 한 결과 [6]-gingerol의 첨가 농도가 증가할수록 인산화도 감소되었다. 이상의 결과, 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231에서 [6]-gingerol은 암세포에서 과발현되어 나타나는 ErbB2, ErbB3, Akt의 발현을 억제하는 것이 관찰되어, EGFR, Akt를 경유하여 암세포 증식을 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다. 앞으로 [6]-gingerol의 암 예방효과에 대한 in vitro, in vivo의 다양한 연구가 요구되어진다.

### Literature cited

- 1) Korea National Statistic Office. The Korean cause of death, 2002
- 2) Huh KB. The present status of nutrition-related diseases and its countermeasures. *Korean J Nutr* 23(3) : 197-207, 1990
- 3) Ryu YS. A study on dietary factor related to the incidence of breast cancer and of cervix cancer in Korean women. Master Thesis. Ewha Woman University, 1992
- 4) Connell DW. The pungent principles of ginger and their importance in certain ginger products. *Food Technol* 11: 570-575, 1969
- 5) Lewis YS, Mathew AG, Nambudiri ES, Krishnamurthy N. Oleoresin ginger. *Flavour Ind* 3: 78-81, 1972
- 6) Mathew AG, Krishnamurthy N, Nambudiri ES, Lewis YS. Oil of ginger. *Flavour Ind* 4: 226-232, 1973
- 7) Connell DW, Sutherland MD. A re-examination of gingerol, shogaol, and zingerone the pungent principle of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Aust J Chem* 22: 1033-1043, 1969
- 8) Connell DW. The chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Flavour Ind* 1: 677-693, 1970

- 9) Kang JH, Ahn BW, Lee DH, Byun HS, Kim SB, Park YH. Inhibitory effect of ginger and galic extracts on the DNA damage. *Korean J Food Sci Technol* 20(3) : 287-292, 1988
- 10) Katiyar SK. Inhibition of tumor promotion in sencar mouse skin by *Zingiber officinale* Rhizoma. *Planta Med* 56: 1023-1030, 1996
- 11) Shin JH, Lee SJ, Sung NJ. Effect of *Zingiber mioga*, *Zingiber mioga* root, *Zingiber officinale* on lipid concentration in hyperlipidemic rats. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 31(4) : 679-684, 2002
- 12) Kim EJ, Ahn MS. Antioxidative effect of ginger extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 9(1) : 37-42, 1993
- 13) Ji WD, Jeong HC, Lee SJ, Chun YG. Antimicrobial activity and distilled components of galic and ginger. *J Agric Chem Biotechnol* 40: 514-518, 1997
- 14) Osborne CK, Hamilton B, Titus G, Livingston RB. Epidermal growth factor stimulation of human breast cancer cell in culture. *Cancer Res* 40: 2361-2366, 1980
- 15) Toi M, Nakamura T, Mukaida H, Wada T, Osaki A, Yamada H, Toge T, Niimoto M, Hattori T. Relation between epidermal growth factor receptor status and various prognostic factor in human breast cancer. *Cancer* 65(9) : 1980-1984, 1990
- 16) Lundy J, Schuss A, Stanick L, McCormack ES, Kramer S, Sorvillo JM. Expression of neu protein, epidermal growth factor receptor and transforming growth factor alpha in breast cancer, Correlation with clinicopathologic parameters. *Am J Pathol* 138(6) : 1527-1534, 1991
- 17) Sporn MB, Todaro GJ. Autocrine secretion and malignant transformation of cells. *N Eagle J Med* 303: 878-880, 1980
- 18) Sainsbury JRC, Farndon JR, Needham GK, Malcolm AJ, Harris AL. Epidermal growth factor receptor status as predictor of early recurrence of and death from breast cancer. *Lancet* 1: 1398-1402, 1987
- 19) Spyrtatos F, Delarue JC, Andrieu C, Lidereau R, Champeme MH, Hacene K, Brunet M. Epidermal growth factor receptors and prognosis in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 17(2) : 83-89, 1990
- 20) Lee EY, Surh YJ. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids, [6]-gingerol and [6]-paradol. *Cancer Lett* 134: 163-168, 1998
- 21) Cross M, Dexter TM. Growth factors in development, transformation and tumorigenesis. *Cell* 64: 271-280, 1991
- 22) Liotta LA, Steeg P, Stetler-Stevenson W. Cancer metastasis and angiogenesis: An imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 64: 327-336, 1991
- 23) Nicolson GL. Cancer progression and growth: Relationship of paracrine and autocrine growth mechanisms to organ preference metastasis. *Exp Cell Res* 204: 171-180, 1993
- 24) Hwang DL, Tay YC, Lin SS, Lev-Ran A. Expression of epidermal growth factor receptor in human lung tumors. *Cancer* 58: 2260-2272, 1986
- 25) Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *Ann Rev Biochem* 48: 193-197, 1979
- 26) Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signaling network. *Natr Rev Mol Cell Biol* 2: 127-137, 2001
- 27) Riese II DJ, Stern DF. Specificity within the EGF/ErbB receptor

- family signaling network. *BioEssays* 20: 41-48, 1998
- 28) Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, Hynes NE. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 19: 3159-3167, 2000
- 29) Haeder M, Rotsch M, Bepler G, Henning C, Vermann KH, Heilmann B, Moelling K. Epidermal growth factor receptor expression in human lung cancer cell line. *Cancer Res* 48: 1132-1140, 1988
- 30) Torker A, Cantley LC. Signaling through the lipid products of phosphoinositide-3-OH kinase. *Nature* 387: 673-676, 1997
- 31) Datta SR, Brunet A, Greenberg M. Cellular survival: a play in three Akts. *Gene Dev* 13: 2905-2927, 1999
- 32) Squires MS, Hudson EA, Howells L, Sale S, Houghton CE, Jones JL, Fox LH, Dickens M, Prigent SA, Manson MM. Relevance of mitogene activated protein kinase (MARK) and phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B (PI3K/PKB) pathways to induction of apoptosis by curcumin in breast cancer cells. *Biochem Pharmacol* 65 (3): 361-376, 2003
- 33) Hong RL, William HS, Hung MC. Curcumin inhibits tyrosine kinase activity of p185 and also deplets p185. *Cancer Res* 5: 1884-1891, 1999
- 34) Mayo LD, Donner DB. Proc Natl Acad Sci USA 98: 11598-11603, 2001
- 35) Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase family. *Science* 296: 1655-1657, 2002
- 36) Lin J, Adam RM, Santiestevan E, Freeman MR. The phosphoinositol 3-kinase pathway is a dominant growth factor activated cell survival pathway in LNCaP human prostate carcinoma cells. *Cancer Res* 59: 2891-2897, 1999
- 37) Burow ME, Weldon CB, Melnik LI, Duong BN, Collins-Burow BM, Beckman BS, McLachlan JA. PI3-K/AKT regulation of NF- $\kappa$ B signaling events in suppression of TNF-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 271: 342-345, 2000
- 38) Craen RJ, Lightfoot H, Cance WG. A decade of tyrosine kinases: from gene discovery to therapeutics. *Surg Oncol* 12: 39-50, 2003