

[6]-Gingerol이 인체 유방암세포 MDA-MB-231에서 Bcl-2와 Bax 발현에 미치는 영향

서은영 · 김우경[†]

단국대학교 자연과학부 식품영양학전공

Effect of [6]-Gingerol on Bcl-2 and Bax Expression in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cell Line

Eun-Young Seo and Woo-Kyung Kim[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea

Abstract

We investigated the effect of gingerol (*Zingiber officinale* Roscoe, *Zingiberaceae*) on Bcl-2 and Bax expression in MDA-MB-231 human breast cancer cell lines. The oleoresin from rhizomes of ginger contains [6]-gingerol (1-[4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl]-5-hydroxy-3-decanone). We previously reported that [6]-gingerol inhibits cell proliferation in MDA-MB-231 human breast cancer cell lines. In this study, we examined protein and mRNA expression associated with cell apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cell lines. We cultured MDA-MB-231 cells in presence of various concentrations 0, 2.5, 5 and 10 μ M of [6]-gingerol. Bcl-2 protein and its mRNA levels were decreased dose-dependently in cells treated with [6]-gingerol, but Bax protein and its mRNA levels were unchanged by [6]-gingerol treatment. Bcl-2/Bax ratio was decreased in a dose dependent manner treated with [6]-gingerol. Caspase-3 activity was significantly increased dose-dependently in cell treated with [6]-gingerol ($p < 0.05$). In conclusion, we have shown that [6]-gingerol induces apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cell lines.

Key words: [6]-gingerol, breast cancer cell, apoptosis, Bax, Bcl-2, caspase 3

서 론

우리나라에서 현재 사망원인 1위는 암이 차지하고 있으며, 최근에는 대장암, 전립선암, 유방암, 자궁암의 발병이 증가하고 있는 추세이다. 특히 여성에게서 유방암은 가장 많이 발생하는 암이다(1). 암의 발병에는 환경적인 요인이 80~90% 작용하며, 그 중에서도 식생활이 중요한 요인으로 보고되고 있다(2,3).

생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 김치, 젓갈, 과자류, 음료, 다(茶)류 등의 재료로 널리 이용되고 있으며, 한의학에서는 건위제, 구토, 복통, 설사 등의 치료제 및 살균제로 이용되어 오고 있다(4). 생강의 약리효능에 관한 연구로는 생강 추출물인 gingerol의 DNA 손상 억제작용(5), 종양억제 및 소염 작용(6,7), 체내 지질저하 효과(4), 항산화제로서의 작용 및 항균작용(8) 등이 보고되어 있다.

생강의 성분은 용매추출물인 oleoresin과 수증기 증류에 의해 얻어지는 정유(essential oil)로 크게 나누어진다. 비휘발성 매운맛 성분인 oleoresin은 gingerol류, shogaol류, de-

hydrogingerone 등을 함유하고 있으며, oleoresin의 주요 매운맛 성분인 gingerol은 *o*-methoxy phenolic 화합물로서 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol과 같은 aromatic ring에 길이가 다른 alkyl 치환체를 갖는 유도체가 존재한다(9).

세포의 죽음(cell death)은 세포사멸(apoptosis)과 세포괴사(necrosis)로 나눌 수 있는데, 세포사멸은 계획된 세포의 죽음(programmed cell death)과 같은 의미로 사용된다. 이것은 자살을 위한 세포의 본질적인 기전으로 세포의 다양한 신호전달 경로에 의해 조절된다(10). 세포사멸은 수용체의 매개성에 의한 외부적 경로와 미토콘드리아를 경유하는 내부적 경로, 두 가지에 의해 이루어지며 두 경로 모두 cystein protease의 일종인 caspase효소의 연속적인 활성이 수반된다(11). 미토콘드리아를 경유하는 세포사멸은 크게 세단계로 나눌 수 있는데 우선 개입(commitment) 단계이다. 세포가 삶과 죽음의 길을 결정하는데 가장 중요한 역할을 하는 Bcl-2 family는 follicular B cell lymphoma의 원인이 되는 암유전자로서 발견되었다(12). Bcl-2 family는 크게 세포사멸을 억제하는 유전자(대표적으로 Bcl-2)와 세포사멸을 유

[†]Corresponding author. E-mail: wkkim@dankook.ac.kr
Phone: 82-2-709-2407. Fax: 82-2-792-7960

도하는 유전자(대표적으로 Bax)로 나누어진다(13). 두 번째 단계는 미토콘드리아 내에서의 단계이다. 미토콘드리아 막이나 세포내 소체막에 존재하는 Bcl-2 계열의 유전자 발현은 apoptosis를 조절하는 스위치로서 apoptosome을 구성하는 주체가 되어 세포의 손상에 관한 신호를 집결하는 세포내 센터 역할을 담당한다(14). 신호전달의 마지막 단계는 caspase(cystein-aspartyl-specific-protease)의 활성화 단계이다. 핵단백질이나 세포질 내 단백질을 분해하는 caspase는 실제로 세포사멸을 수행하는 주체가 되는 단백질분해효소로서 효소의 active site에 cystein이 있으며, 기질이 되는 target 단백질 내 특정한 aspartic acid를 인지하여 바로 다음의 아미노산 결합을 절단하는 효소이다(15,16). Apoptosis를 위하여 적어도 2~3개의 caspase들이 관련되어 작용하며, upstream caspase는 caspase-2, 8, 10이 관여하며, downstream caspase는 caspase-1, 3, 6, 7, 9 등이 있다(17).

생강의 매운맛 성분중에서 항산화력이 뛰어난 [6]-gingerol은 생쥐 피부 발암현상에서 암의 promotion 단계를 억제하며(18), 생쥐에 B16 melanoma cell을 이식하였을 때 폐로 전이되는 것을 억제시킨다고 보고되었다(19). 또한, gingerol은 배양된 HL-60 cell에서 세포사멸을 유발하며, 생쥐 상피세포인 JB6 cell에서 신생혈관 생성과 AP-1의 활성을 억제한다고 보고하였다(20). 그러나 [6]-gingerol이 유방암 세포에서 세포사멸에 미치는 영향에 대한 연구는 매우 제한적으로 보고되고 있다.

그러므로, 본 연구에서는 [6]-gingerol이 세포사멸에 영향을 미치는지 알아보기 위해 세포사멸을 억제하는 단백질인 Bcl-2와 세포사멸을 유도하는 Bax가 [6]-gingerol의 처리 농도에 따라 단백질의 발현에 영향을 미치는지 알아보고, 이들 단백질의 mRNA 수준에도 [6]-gingerol이 영향을 미치는지 실험하였으며, 세포사멸의 마지막 단계인 caspase-3의 활성도를 측정하였다.

재료 및 방법

세포 배양

인체 유방암 세포주 MDA-MB-231은 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. 세포는 습윤한 5% CO₂, 37°C incubator에서 Dulbecco's modified Eagle's medium/Ham's F12(DMEM/F12, Gibco/BRL, Gaithersburg, MD, USA), 10% FBS, 100 units/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin(Gibco/BRL)이 포함되도록 배지용액을 만들어 배양하였다. 세포가 80~90% 정도 증식하면, phosphate buffered saline solution(PBS)으로 2번 씻어내고 trypsin-EDTA(Gibco/BRL)를 처리하여 세포를 모은 후 계대배양하고 배지는 2~3일마다 교환하였다. [6]-Gingerol(Biomol, Plymouth Meeting, PA, USA)은 ethanol(Fisher scientific)에 100 mM로 stock을 만들어 냉동 보

관하여 사용하였고 대조군을 포함하여 모든 well의 ethanol 농도를 동일하게 하였다.

단백질 발현

세포사멸과 관련된 Bcl-2, Bax 단백질의 발현을 Western blot을 실시하여 알아보았다. MDA-MB-231 cell을 1×10^6 cells/mL의 농도로 100 mm dish에 분주하고 48시간 후에 SFM(serum free medium)으로 배지를 교환하고 24시간 후 SFM에 [6]-gingerol을 0, 2.5, 5, 10 µM 농도로 첨가하여 treatment 용액을 만들어 medium을 교환하였다. 48시간 후에 SFM에 [6]-gingerol을 0, 2.5, 5, 10 µM 농도로 첨가한 새로운 treatment 용액으로 교환하고, 24시간 후에 차가운 rinse buffer(PBS, 1 mM PMSF, 1 mM sodium orthovanadate)를 이용하여 세척하고 cell을 모아 1000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 차가운 lysis buffer(137 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, 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 benzamide HCl)를 1 mL씩 넣어 40분간 4°C에서 incubation시키고, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 모아 시료로 사용하였다. 단백질 정량 후, 4~20% gradient sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel에서 단백질을 분리한 후, immobilonTM-P membrane(Millipore, Bedford, MA, USA)에 transfer하였다. Membrane의 blocking은 5% skim milk가 함유된 TBST(20 mM Tris-HCl, 137 mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH 7.4)로 실온에서 1시간 incubation한 후 알아보려고 하는 단백질의 antibody(Bcl-2, Bax, Santacruz, USA)와 incubation시켰다. TBST로 씻어낸 후 다시 anti-mouse 1 g horseradish peroxidase/TBST 또는 anti-rabbit 1 g horseradish peroxidase/TBST(Amersham Buckinghamshire, England)로 incubation시켰고, Supersignal^R 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.

mRNA 발현

[6]-Gingerol이 암세포의 증식억제 및 사멸유도 효과가 단백질 발현뿐만 아니라, mRNA 발현에도 영향을 주는지 알아보기 위해 Western blot 실험의 조건과 같은 조건으로 MDA-MB-231 cell을 배양한 후 medium을 제거하고 Tri reagent(Sigma)를 이용하여 RNA를 분리하였다. 3 µg의 RNA에 oligo DT(0.5 µg/µL-Invitrogen) 1 µL를 포함하여 총량이 12 µL가 되도록 DEPC(diethyl pyrocarbonate) water를 첨가한 후 70°C에서 10분간 incubation하고 여기에 reaction buffer(5×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 μ L를 첨가하여 42°C에서 1시간 45분, 70°C에서 15분간 incubation하였다. 여기서 RNase(Invitrogen) 0.5 μ L를 넣고 37°C에서 1시간 incubation하여 80 μ L의 DPEC water를 넣어 -20°C에서 보관하며 sample로 사용하였다.

준비된 sample에 2.5 λ mix buffer(10 \times PCR buffer, 50 mM MgCl₂, 10 mM NTP mix, autoclave water)와 sense, antisense primer Taq polymerase를 혼합하여 Table 1과 같이 cycle을 실행하였으며 ethidium bromide로 염색한 1% agarose gel로 전기영동을 실시하여 결과를 확인하였다.

Caspase-3 활성

세포사멸을 유도하는 caspase-3는 cystein proteinase family로써 활성화되어 기질결합체인 DEVD-pNA를 분해하므로 이러한 성질을 이용하여 pNA의 푸른빛으로 활성 정도를 측정할 수 있다. [6]-Gingerol을 처리하여 배양한 MDA-MB-231 세포를 2 \times 10⁶ cell/mL로 맞추어 1,500 rpm으로 원심분리하여 얻은 세포에 차가운 lysis buffer 50 μ L씩 첨가하여 10분간 얼음위에서 방치시킨 후 4°C, 1,500 rpm으로 원심분리하여 상층액을 취한 후 50 μ L씩 96 well plate에 담아 2 \times reaction buffer/DTT 용액을 첨가하여 37°C CO₂ incubator에서 30분간 배양하였다. 30분 후에 caspase-3 substrate(DEVD-pNA)를 첨가하여 1시간동안 다시 incubator에서 배양한 후, microplate reader기에서 파장 405 nm로 흡광도를 측정하여 실험군의 활성을 대조군에 대한 상대적인 활성 정도로 표시하였다.

통계처리

본 연구의 실험은 독립적으로 3번이상 실시하였으며, 얻어진 결과는 SAS 프로그램을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하였다. SAS 프로그램을 이용하여 실험군간의 유의성 차이는 ANOVA 분석 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 검증하였다.

Table 1. Sequence and RT-PCR programs of protein

Protein	Primer	Sequence	Cycle
Bcl-2	Sense	5'-CGACTTCGCCGA GATGTCCAGCCAG-3'	95°C 1 min 65°C 1 min 35 72°C 1 min
	Antisense	5'-ACTTGTGGCCAG ATAGGCACCCAG-3'	
Bax	Sense	5'-CTGACATGTTTT CTGACGGC-3'	94°C 1 min 55°C 1 min 32 72°C 1 min
	Antisense	5'-TCAGCCCATC TTCTTCCAGA-3'	
β -actin	Sense	5'-GTTTGAGACC TTCAACACCC-3'	94°C 1 min 60°C 1 min 35 72°C 1 min
	Antisense	5'-GTGGCCATCT CCTGCTCGAAGTC-3'	

T: thymine, A: adenine, C: cytosine, G: guanine.

결과 및 고찰

본 연구는 이전의 실험에서 인체 유방암세포인 MDA-MB-231 cell에 [6]-gingerol을 0, 2.5, 5, 10 μ M로 처리하였을 때 48시간 후에는 처리농도가 증가할수록 세포증식이 유의적으로 감소하는 결과를 얻어(21), [6]-gingerol이 인체 유방암세포인 MDA-MB-231에 대하여 암세포의 사멸에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실시하였다. 세포사멸을 억제하는 Bcl-2, 사멸을 유도하는 Bax의 발현과 이들 단백질의 mRNA 수준에서의 효과를 알아보았고 세포사멸의 마지막 단계인 caspase-3는 활성도를 측정해보았다.

Bcl-2와 Bax의 단백질 발현 및 mRNA 수준

세포사멸을 억제하는 단백질인 Bcl-2의 발현은 [6]-gingerol의 처리농도가 2.5 μ M에서부터 유의적인(p<0.05) 감소를 보였으나(Fig. 1), 세포사멸을 유도하는 단백질인 Bax는 [6]-gingerol의 농도가 증가함에도 유의적인 차이를 나타내지는 않았다(p<0.05)(Fig. 2). 세포사멸의 지표로 사용되고 있는 Bcl-2/Bax의 비율은 2.5 μ M에서부터 유의적으로 감소하였다(p<0.05)(Fig. 3).

mRNA 수준에서 Bcl-2의 발현은 [6]-gingerol의 처리농도 10 μ M에서 감소하였다(p<0.05)(Fig. 4). 그러나 Bax는 mRNA 수준에서도 단백질 발현과 같은 결과를 보여 유의적인 차이가 없었다(Fig. 5). 이런 결과로 볼 때 [6]-gingerol은 세포사멸을 증가시키는 단백질의 발현을 증가시키기보다는

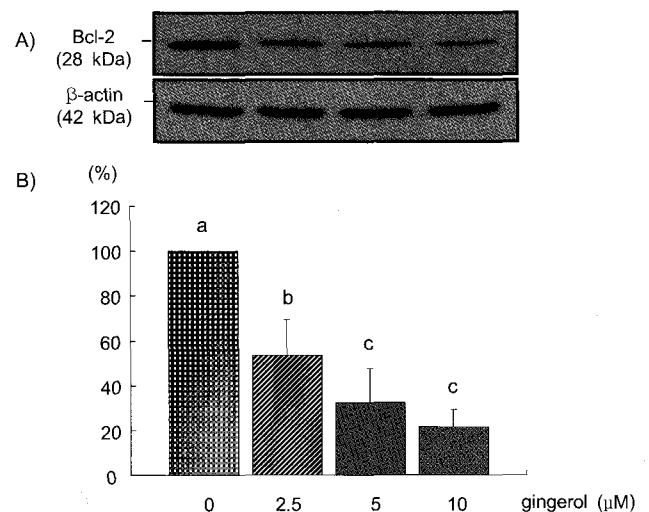


Fig. 1. Effect of [6]-gingerol on Bcl-2 protein expression in MDA-MB-231 cells.

Equal amounts of cell lysates (30 μ g) were resolved by SDS-PAGE, transferred to membrane and probed with Bcl-2.

A) Photographs of chemiluminescent detection of the blots, which were representative of three independent experiments, are shown. B) Quantitative analysis of western blots. Each bar represents the mean \pm SD from three independent experiments. Comparisons among different concentrations of [6]-gingerol that yielded statistically significant difference (p<0.05) are indicated by different letters above each bar.

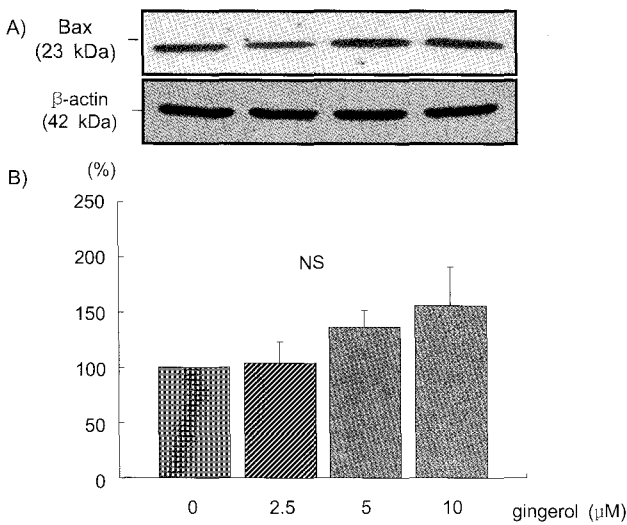


Fig. 2. Effect of [6]-gingerol on Bax protein expression in MDA-MB-231 cells.

A) Photographs of chemiluminiscent detection of the blots, which were representative of three independent experiments, are shown. B) Quantitative analysis of western blots. Each bar represents the mean \pm SD from three independent experiments. Comparisons among different concentrations of [6]-gingerol that yielded statistically significant difference ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

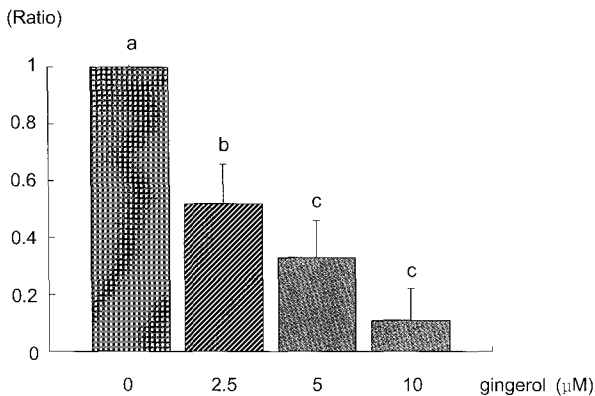


Fig. 3. Effect of [6]-gingerol on Bcl-2/Bax ratio in MDA-MB-231 cells.

Each bar represents the mean \pm SD from three independent experiments. Comparisons among different concentrations of [6]-gingerol that yielded statistically significant difference ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

세포사멸을 억제하는 단백질의 발현을 억제함으로써 세포사멸을 촉진하는 것으로 사료된다.

Yang 등(22)은 정상세포 상태에서 Bcl-2와 Bax는 이형중합체로 존재하는데, 방사선 등의 스트레스에 의해 DNA가 손상 받아 p53 단백질이 증가되면 세포내 Bax의 발현이 증가되고, Bcl-2와 이형중합체를 형성하고 남은 Bax간에 동형중합체가 형성되어 세포는 사멸하게 된다고 하였다. 반대로 Bcl-2가 많이 존재하여 남은 Bcl-2간에 동형중합체를 형성하게 되면 세포사멸이 억제되므로, Bcl-2/Bax 이형중합체

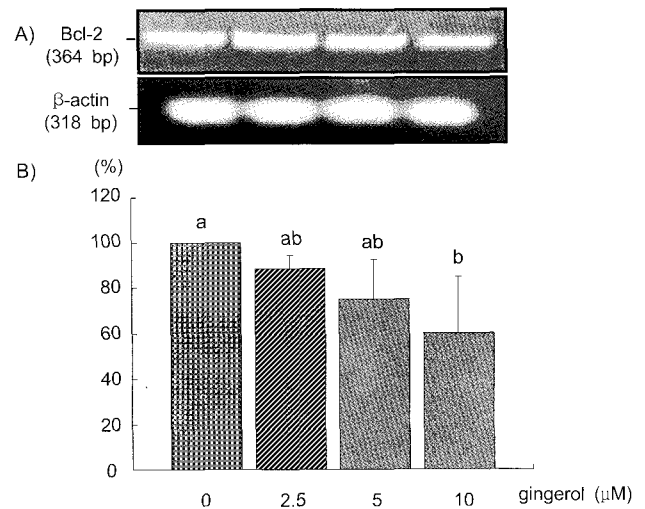


Fig. 4. Effect of [6]-gingerol on Bcl-2 mRNA expression in MDA-MB-231 cells.

For RT-PCR, MDA-MB-231 cells were treated with [6]-gingerol and sample were separated on 1% agarose gel. A) Photographs of chemiluminiscent detection of the RT-PCR, which were representative of three independent experiments, are shown. B) Quantitative analysis of RT-PCR. Relative abundance of each band was estimated by densitometric analysis. Each bar represents the mean \pm SD from three independent experiments. Comparisons among different concentrations of [6]-gingerol that yielded statistically significant difference ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

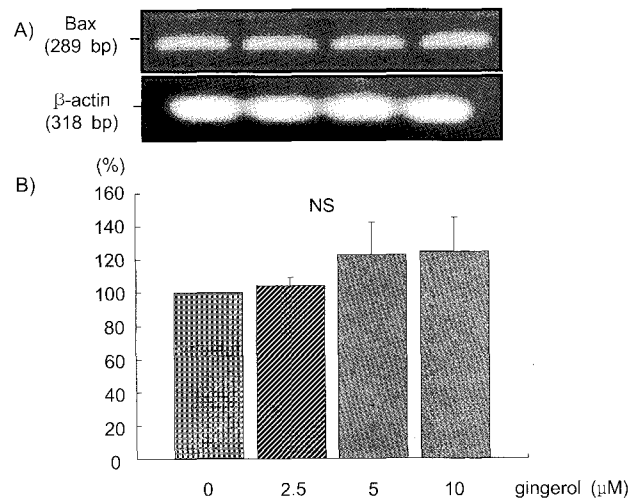


Fig. 5. Effect of [6]-gingerol on Bax mRNA expression in MDA-MB-231 cells.

For RT-PCR, MDA-MB-231 cells were treated with [6]-gingerol and sample were separated on 1% agarose gel. A) Photographs of chemiluminiscent detection of the RT-PCR, which were representative of three independent experiments, are shown. B) Quantitative analysis of RT-PCR. Relative abundance of each band was estimated by densitometric analysis. Each bar represents the mean \pm SD from three independent experiments. Comparisons among different concentrations of [6]-gingerol that yielded statistically significant difference ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

비율이 50% 이하로 떨어지게 되면 세포사멸이 진행될 수 있다고 보고하였다.

Oltvai 등(23)은 세포사멸 과정에서 Bcl-2 family 단백질의 세포내 균형(intra-cytosolic balance)은 미토콘드리아 막의 유지여부에 중요한 지표가 된다고 보고하였으며, Antonsson 등(24)은 세포사멸 시에는 Bcl-2 단백질은 4배정도 감소하였고, Bax는 7배정도 증가되었다고 보고하였다.

Surh 등(25)은 [6]-gingerol이 ICR mice에서 7,12-dimethylbenz(a)anthracene로 유도된 피부유두종의 초기발생 단계를 억제하였다고 보고하였으며, Wang 등(26)은 HL-60에서 [6]-gingerol은 cell death를 유도하며, Bcl-2의 발현을 억제하고, DNA의 분절을 야기한다고 보고하였다. 또한 Dorai와 Aggarwal(27)은 [6]-gingerol이 종양세포에서 NF-kappaB, AP-1, JAK-STAT을 활성화시켜 apoptosis를 유도하고, anti-apoptotic 단백질의 발현을 억제하며 cyclooxygenase-2를 억제한다고 하였다.

Caspase-3의 활성화도

세포사멸의 마지막 단계인 caspase-3(cystein-aspartate-protease)은 cystein kinase의 일종으로 세포사멸에 관여하는 caspase family 14종 중의 하나이며 apoptosis의 중요한 역할을 한다. 이에 caspase-3의 활성을 측정할 결과 10 μ M [6]-gingerol을 처리해주었을 때 유의적인 증가를 보여, 이 농도에서 세포사멸을 유도하는 것으로 나타났다($p < 0.05$) (Fig. 6).

Kivinen 등(28)은 세포구조의 세포사멸적인 손상은 caspase에 의해 주로 조절되며, caspase의 감소가 핵의 단백질 구조에 손상을 일으켜 세포사멸을 일으키게 된다고 하였다. Yang 등(29)은 caspase-3은 세포사멸을 일으키는데 중요한 역할을 하며, 유방암이나 다른 종류의 암에서 caspase-3이 결핍되거나 감소되었음을 보고하였다.

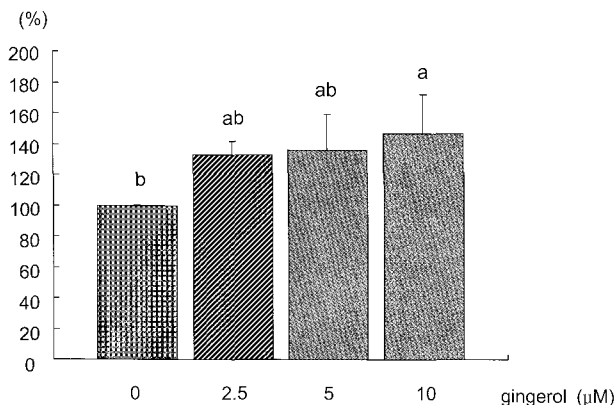


Fig. 6. Effect of [6]-gingerol on caspase-3 activities in MDA-MB-231 cells.

Each bar represents the mean \pm SD from three independent experiments. Comparisons among different concentrations of [6]-gingerol that yielded statistically significant difference ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar.

[6]-Gingerol이 유방암세포 MDA-MB-231에서 caspase-3 activity에 미치는 영향에 대해서는 보고되어있지 않으며 다만, Bush 등(30)이 유방암세포에 생강의 색소성분인 curcumin을 처리한 결과 caspase-3 활성화, DNA 분절과 미토콘드리아에서 cytochrome C의 방출에 의해 세포사멸을 유도한다고 제한적으로 보고하였다. 이러한 결과들을 종합하여 보면 향신료나, 양념류, 다(茶)류로 이용되어온 생강성분이 MDA-MB-231 인체 유방암세포의 사멸을 유도하는 것으로 사료되며 이는 생강을 이용한 기능성식품 개발가능성을 제시하고 있다. 앞으로 더 많은 동물과 인체를 대상으로 한 연구가 요구되어진다.

요 약

본 연구는 생강의 대표적인 비휘발성 매운맛 성분인 [6]-gingerol이 인체 유방암세포 MDA-MB-231에서 세포사멸에 미치는 영향을 살펴보고자 그 결과는 다음과 같다. 세포사멸을 억제하는 단백질인 Bcl-2의 발현은 [6]-gingerol의 농도가 증가할수록 발현이 감소되었으며, mRNA 수준에서도 같은 양상을 보였다. 세포사멸을 유도하는 Bax의 단백질 발현은 [6]-gingerol의 농도가 증가되어도 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 mRNA 수준에도 별 영향을 미치지 않았다. 그러나 세포사멸의 지표로 사용되는 Bcl-2/Bax의 비율은 [6]-gingerol의 농도가 증가할수록 감소를 보였다. 그리고 [6]-gingerol의 농도가 증가할수록 caspase-3의 활성이 증가하였다. 이상의 결과들로 볼 때, 인체 유방암 세포인 MDA-MB-231에서 [6]-gingerol은 암세포의 증식을 억제하고, 세포사멸을 유도하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

이 연구는 2004학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

문 헌

1. Korea National Statistic Office. 2005. The Korean cause of death.
2. Doll R, Peto R. 1981. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 66: 1191-1308.
3. Surh YJ. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Rev Cancer* 3: 768-780.
4. Cooksley VG. 1996. *Aromatherapy*. Silver Press, Englewood Cliffs, NJ. p 349-350.
5. Kang JH, Ahn BW, Lee DH, Byun HS, Kim SB, Park YH. 1988. Inhibitory effect of ginger and galic extracts on the DNA damage. *Korean J Food Sci Technol* 20: 287-292.
6. Katiyar SK. 1996. Inhibition of tumor promotion in SENCAR mouse skin by *Zingiber officinale* Rhizoma. *Planta Med* 56:

- 1023-1030.
7. Ji WD, Jeong HC, Lee SJ, Chun YG. 1997. Antimicrobial activity and distilled components of galic and ginger. *J Agric Chem Biotechnol* 40: 514-518.
 8. Kim EJ, Ahn MS. 1993. Antioxidative effect of ginger extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 9: 37-42.
 9. Connell DW. 1970. The chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Flavour Ind* 1: 677-693.
 10. Danial NN, Korsmeyer SJ. 2004. Cell death: critical control points. *Cell* 116: 205-219.
 11. Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. 1999. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 15: 269-290.
 12. Hajra KM, Liu JR. 2004. Apoptosome dysfunction in human cancer. *Apoptosis* 9: 691-704.
 13. Reed J. 1994. Bcl-2 and regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 124: 1-6.
 14. Schuler M, Green DR. 2001. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Trans* 29: 684-688.
 15. Hanada M, Delia D, Aiello A, Stadmauer E, Reed JC. 1993. Bcl-2 gene hypermethylation and high-level expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 82: 1820-1828.
 16. Leek RD, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter KC, Harris AL. 1994. Bcl-2 in normal human breast and carcinoma, association with estrogen receptor-negative, epidermal growth factor receptor-negative tumor and in situ cancer. *Br J Cancer* 69: 135-139.
 17. Reed JC. 1997. Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature* 387: 773-776.
 18. Park KK, Chun JM, Lee SS, Surh YJ. 1998. Inhibitory effect of [6]-gingerol, a major pungent principle of ginger, on phorbol ester-induced inflammation, epidermal ornithine decarboxylase activity and skin tumor promotion in ICR mice. *Cancer Lett* 129: 139-144.
 19. Suzuki F, Kobayashi M, Komatsu Y, Kato A, Pollard RB. 1997. Keishi-ka-kei-to, a traditional Chinese herbal medicine, inhibits pulmonary metastasis of B16 melanoma. *Anticancer Res* 17: 873-878.
 20. Bode AM, Ma WY, Surh YJ, Dong Z. 2001. Inhibition of epidermal growth factor-induced cell transformation and activator protein 1 activation by [6]-gingerol. *Cancer Res* 61: 850-853.
 21. Seo EY, Lee HS, Kim WK. 2005. Effect of [6]-gingerol on inhibition of cell proliferation in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Korean J Nutr* 38: 656-662.
 22. Yang E, Zha J, Jockel J, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ. 1995. Bad, a heterodimeric partner for bcl-XL and bcl-2, displaces bax and promotes cell death. *Cell* 80: 285-291.
 23. Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ. 1993. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74: 609-619.
 24. Antonsson B, Montessuit S, Sanchez B, Martinou JC. 2001. Bax is present as a high molecular weight oligomer/complex in the mitochondrial membrane of apoptotic cells. *J Biol Chem* 276: 11615-11623.
 25. Surh YJ, Park KK, Chun KS, Lee LJ, Lee E, Lee SS. 1999. Anti-tumor-promoting activities of selected pungent phenolic substances present in ginger. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 18: 131-139.
 26. Wang CC, Chen LG, Lee LT, Yang LL. 2003. Effects of 6-gingerol, an antioxidant from ginger, on inducing apoptosis in human leukemic HL-60 cells. *In Vivo* 17: 641-645.
 27. Dorai T, Aggarwal BB. 2004. Role of chemopreventive agents in cancer therapy. *Cancer Lett* 215: 129-140.
 28. Kivinen K, Kallajoki M, Taimen P. 2005. Caspase-3 is required in the apoptotic disintegration of the nuclear matrix. *Cancer Res* 65: 62-73.
 29. Yang XH, Edgerton S, Thor AD. 2005. Reconstitution of caspase-3 sensitizes MCF-7 breast cancer cells to radiation therapy. *J Oncol* 26: 1675-1680.
 30. Bush JA, Cheung KJ Jr, Li G. 2001. Curcumin induces apoptosis in human melanoma cells through a Fas receptor/caspase-8 pathway independent of p53. *Exp Cell Res* 270: 305-314.

(2006년 1월 9일 접수; 2006년 7월 5일 채택)