

## 산초 (*Zanthoxylum schnifolium*) 열매 분획물의 대장암세포(HT-29)에 대한 항암 효과

한 응 · 호위성 · 이영미<sup>1\*</sup>

강원대학교(춘천캠퍼스) 의생명과학대학 의생명공학과,  
<sup>1</sup>강원대학교(삼척캠퍼스) 한방보건복지대학 간호학과

### Anti-cancer Activity of Human Colon Cancer (HT-29) Cell Line from Different Fraction of *Zanthoxylum schnifolium* Fruits

Woong Han, Weicheng Hu and Young-Mee Lee<sup>1\*</sup>

Department of Medical Biotechnology, College of Biomedical Science, Kangwon National University,  
Chuncheon, Gangwon-do, 200-701, Korea

<sup>1</sup>Department of Nursing, Kangwon National University, Samcheok 2nd Campus, Samcheok, Gangwon 245-907, Korea

**Abstract** – This study was presented to the anti-cancer activity from different fraction of *Zanthoxylum schnifolium* fruits. The values for human colon cancer cell(HT-29) survival rate of 0.3 mg/mL of 70% EtOH and 70% MeOH ethyl acetate fraction extracts were 7.62±0.173%, 7.66±0.037%, respectively. It was shown that human colon cancer cell(HT-29) survival rate was in a dose-dependent manner. The percentages of cells were increased in the sub-G0 and G0/G1 phase region, meaning that cell proliferation was decreased. The RT-PCR demonstrated that 70% EtOH and 70% MeOH ethyl acetate fraction extracts were down-regulated the expression of Bcl-2 and survivin genes in HT-29 cells. We examined that 70% EtOH and 70% MeOH ethyl acetate fraction extracts anti-cancer activities initiated through ROS generation suggesting that HT-29 cells treated with ethyl acetate fraction extracts induced ROS generation. Our results revealed that the *Zanthoxylum schnifolium* fruit may expect for anti-cancer activities in HT-29 cells.

**Key words** – Anti-cancer, ROS, HT-29 cells, Human colon cancer cells, *Zanthoxylum schnifolium*

산초(*Zanthoxylum schnifolium*)는 우리나라에 주로 서식하는 자생 식물로서 아시아 서부에 분포하고 있으며, 낙엽관목으로 성숙한 개체의 키는 3 m 내외로 열매는 이른 가을에 수확하여 건조한 민간요법으로 눈의 피로회복에 주로 사용하였다.<sup>1)</sup> 산초에는 30여 가지의 휘발성 향미 성분을 포함하는 유지, 산미, 정유성분이 함유되어 있어 예전부터 전통적인 약용, 제유용, 향신료로 널리 사용되어 왔으며 특히 비린내를 제거하는 효과가 우수한 것으로 나타났다.<sup>2)</sup> 산초에서 통증 경감 및 소화기관 장애, 급성 설사에 효과를 보이며, 위염이나 요통에서 효능을 보인다고 보고 되었다.<sup>3-5)</sup> 산초나무에 대한 연구를 살펴보면<sup>6-12)</sup> 열매, 잎, 줄기, 뿌리를 대상으로 연구가 진행 되어 왔으며, 이 중 산초나무 잎

의 methylene chloride 추출물이 Jurkat T 세포주, estrogen receptor-positive 유방암 세포주(MDA 361)와 estrogen receptor-negative 세포주(MDA 438)에서 apoptosis를 유도하는 항암 기작이 밝혀져 있으며,<sup>6)</sup> 산초나무 열매에서 추출한 정유에는 geranyl acetate, citronellal, limonene등이 함유되어 있어, gram 양성균과 음성균에 대한 항균활성 작용이 있다고 보고 되었다.<sup>7)</sup> 산초나무 잎 분획물에서는 고지방식을 섭취한 흰쥐에서 항혈전, 항염증, 혈행 장애 개선 효과 등이 알려져 있으며,<sup>8)</sup> 산초나무 껍질에서 coumarin이 분리되어 혈소판응집 억제 작용에 대한 발표가 있었으며, 혈액 내 콜레스테롤 농도 감소와 항균활성에 대한 연구가 산초 열매 추출물에서 진행되었다.<sup>9-12)</sup> 현재까지 진행된 연구의 대부분이<sup>7-12)</sup> 열매나 종피를 분리하여 진행 되어 왔으며, 열매와 종피를 같이 추출한 연구에서 최근에 항산화 효능과 항염증 효과에 대한 연구가 진행 되었다.<sup>13,14)</sup>

\*교신저자(E-mail): ymlee@kangwon.ac.kr  
(Tel): +82-33-540-3361

활성산소종으로 알려진 ROS는 세포 내 신호전달에 영향을 주는 매개체이며, 과도한 ROS의 생성은 세포 기능 및 세포주기를 억제하며, apoptosis를 유도한다고 알려져 있다.<sup>15,16</sup> Apoptosis는 세포내부와 외부에서 오는 신호에 의해 일련의 과정을 거치는데 주로 p53, Bcl-2 family, Bax, Caspase, Survivin등이 연관 되어 있는 것으로 알려져 있다.<sup>17-19</sup>

본 연구에서는 산초나무 열매의 종자와 종피를 같이 사용한 분획물을 대상으로 항암 활성을 평가 하고 이를 토대로 항암제 개발 가능성을 확인 하고자 조사하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용된 산초(*Zanthoxylum schrifolium*) 열매(종자와 종피)는 충북 단양군에서 2009년 가을에 채취하여 10시간동안 열풍건조 한 뒤 분쇄하여 시료 중량 대비 20배의 70% 에탄올, 70% 메탄올의 추출용매를 이용하여 24시간 2회 추출 후 여과 한 뒤 감압 농축하여 추출물을 제조 후 추출물 (50 g)을 물 2 L로 현탁 후 각각 동량의 ethyl acetate(EtOAc), n-Butanol(BuOH)을 첨가하여 2회 분획한 뒤 얻은 분획물을 감압 농축하여 시료로 사용하였다.

**대장암세포(HT-29) 배양 및 MTT assay** - 실험에 사용한 인간 대장암세포주인 HT-29 세포는 한국세포주은행(KCLB)에서 분양 받았으며, 세포배양을 위해 10% FBS (Gibco)와 100 U/mL의 penicillin, 100 µg/mL의 streptomycin을 포함하는 RPMI-1640 (Gibco, MD, USA)배지를 사용하였으며, 세포는 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>, MCO-15AC, SANYO, Osaka, Japan)에서 배양하였다. 각각 분획물의 세포 독성은 Desai 등<sup>20</sup>)의 방법에 의거하여 측정하였다. mitochondrial dehydrogenases에 의하여 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)가 formazan으로 변환되는 양을 측정하는 것으로 96 well plate에 1.0×10<sup>6</sup> cells/well로 HT-29 세포를 분주하고 16시간 동안 배양한 후 시료를 처리 하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 20 µL의 MTT solution을 첨가한 후 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>, MCO-15AC, SANYO, Osaka, Japan)에서 4시간 반응시킨 후, 550 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다.

**Flow cytometric 분석** - 실험에 사용된 세포는 HT-29 세포이며, 분획물을 100 µg/mL의 농도로 24시간 처리 후 세포를 수확한 뒤 PBS로 두 번 씻어내고 70% 에탄올로 20°C에서 한 시간 동안 고정 한 뒤 propidium iodide (PI) solution (20 µg/mL PI, 0.1 mM EDTA, 10 µg/mL RNase, 1% Triton X-100)으로 30 분간 암실에서 염색하였다. DNA 양의 측정은 세포 농도를 1.0×10<sup>4</sup> cell/well로 준비하여 FACS flow cytometer analysis system(FACScan, BD Biosciences, San Jose, CA, USA)을 이용하여 측정하였다. PI의 형광은 585 nm

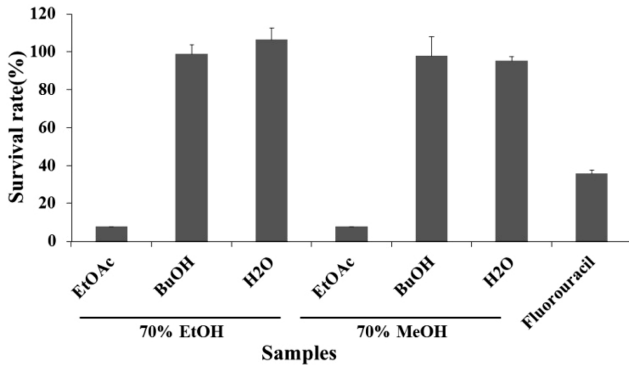
에서 FL-2 channel로 확인하였다. 수집된 데이터는 WinMDI version 2.9 cell cycle analysis software (Scripps Research Institute) 프로그램을 이용하여 분석하였다.

**세포 내 ROS 생성량 분석** - 세포 내 ROS(reactive oxygen species)양을 2',7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA) (Molecular Probes, Invitrogen) 형광 probe를 이용하여 flow cytometer (FACScan, BD Biosciences, San Jose, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 세포 내에 존재하는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>나 -OH가 DCFH를 형광을 띄는 DCF 형태로 변환 시켜 주어 세포 내에 존재 하는 ROS의 양을 측정할 수 있게 하여 준다. 각각의 분획물을 100 µg/mL의 농도로 대장암세포에 처리한 뒤 세포를 회수하고, 여기에 20 µM DCFDA가 첨가된 PBS, 1 mL을 넣어 준 뒤 37°C에서 30 분간 반응 시킨다. DCF로부터 나오는 형광의 측정은 FACScan flow cytometry (Becton-Dickinson, San Jose, CA)를 이용하여 측정하였다.

**RT-PCR 분석** - Total RNA는 분획물을 처리한 암세포와 처리하지 않은 암세포에서 Trizol reagent (Invitrogen, CA, USA)을 이용하여 kit의 protocol에 따라 total RNA를 추출하였다. 각각의 시료에서 murine leukemia virus reverse transcriptase reverse transcriptase 1 unit, 1 mM dNTP 그리고 oligo (dT12-18) 0.5 µg/µl를 이용하여 1 µg의 RNA를 역전사 하여 cDNA를 얻었다. cDNA에 Taq DNA polymerase 1 unit, 0.2 mM dNTP, ×10 reaction buffer 그리고 5'와 3' primers 10 pmol을 포함한 전체 부피 20 µL의 시료를 thermal cycler (Bio-RAD, CA, USA)를 이용하여 PCR 분석을 하였다. PCR 반응은 95°C에서 2분간 initial denaturation 시킨 후 95°C 1분 denaturation, 55°C 1분 annealing 그리고 72°C 1분 extension을 25회 반복 한 뒤 final extension을 72°C 10분하여 증폭 하였다. PCR에 사용된 primer는 Yin 등<sup>21</sup>)의 논문을 참고하여 C-myc, Bcl-2, Bax, p53, Caspase-3, Surviving, b-actin의 nucleotides를 합성하여 사용하였다. 증폭 후에 PCR 반응 시킨 시료를 1.5% agarose gel 에서 전기영동하고 ethidium bromide 염색과 UV 조사를 통해 확인하였다.

## 결과 및 고찰

**MTT assay를 통한 항암 효과** - 산초나무 열매의 추출물을 대상으로 대장암 세포에 대한 항암 효과를 측정한 결과 70% 메탄올과 70% 에탄올에서 다른 추출물에 비해 비교적 높은 항암 활성을 보였다 (data not shown). 비교적 높은 항암 활성을 보인 두 개의 70% 메탄올과 70% 에탄올 추출물을 대상으로 EtOAc, BuOH, 물로 순차적으로 분획하여 분획물을 얻은 후 대장암세포에 분획물을 첨가하여 암세포에 대한 항암 활성을 MTT assay를 통해 평가하였다.



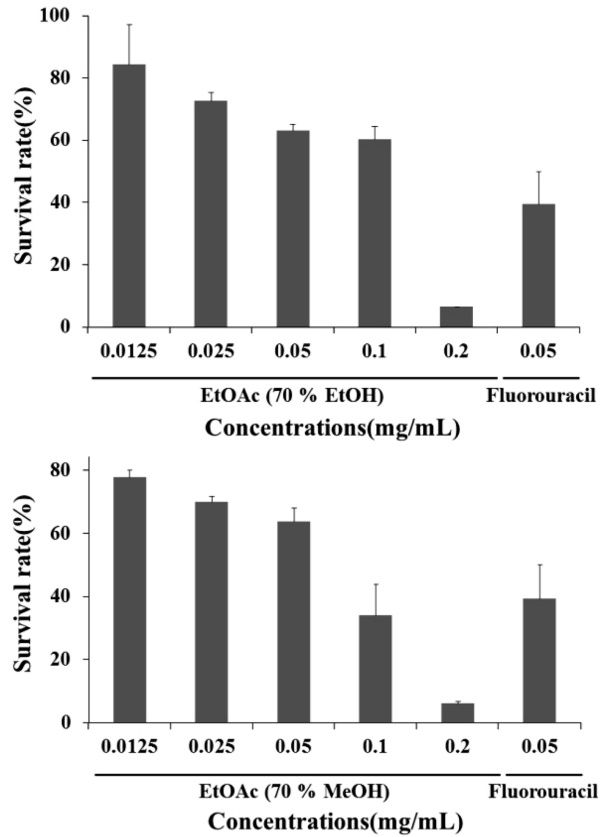
**Fig. 1.** In vitro inhibition rate of HT-29 cells by various solvent fraction from 70% ethanol and 70% methanol extracts of *Zanthoxylum schinifolium* fruits. All the samples used 0.3 mg/mL and fluorouracil (0.05 mg/mL) used as control. Data are the mean ± S.D. of three independent experiments.

대장암세포를 배양 후 EtOAc, BuOH, 물 분획물을 0.3 mg/mL의 농도로 처리한 결과 70% 에탄올, 70% 메탄올의 EtOAc 분획물에서 대장암세포의 생존율은 각각 7.62±0.173%, 7.66±0.037%로 나타나 급속히 감소하는 것으로 나타났다 (Fig. 1). 반면, 다른 분획물인 BuOH과 물 분획물에서는 항암 효과가 거의 없는 것으로 나타났다.

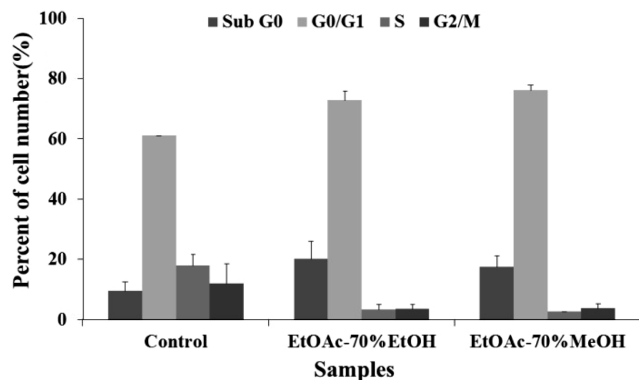
한 과 왕의<sup>15)</sup> 보고에 의하면, 산초나무 열매 추출물을 Raw 264.7 세포를 대상으로 독성 평가를 수행한 결과 70% 에탄올, 70% 메탄올 추출물은 세포 독성이 없는 것으로 나타나 이 추출물을 대상으로 한 EtOAc 분획물이 대장암세포에 대한 선별적인 활성을 보이는 것으로 판단된다.

대장암세포에 항암 효능을 보인 두 개의 EtOAc 분획물을 대상으로 농도에 따른 항암활성을 평가하기 위해 분획물을 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 mg/mL의 농도로 제조 후 대장암세포에 대한 항암활성을 측정하였다. 두 개의 분획물 모두 농도 의존적으로 항암 활성이 증가 되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 0.0125 mg/mL의 농도로 처리하였을 때 대장암 암세포의 생존율은 80% 내외로 나왔으나, 흥미롭게도 0.05 mg/mL의 농도로 사용 하였을 때 두 개의 분획물에서 약 60% 정도의 생존율을 보였으며, 대조군으로 사용된 fluorouracil은 같은 농도에서 40%의 생존율을 보였다. 특히 70% 메탄올 EtOAc 분획물의 경우 0.1 mg/mL의 농도에서 0.05 mg/mL로 사용된 fluorouracil과 비슷한 생존율을 보였다. 단일물질이 아닌 분획물 단위에서 높은 활성을 보이는 것으로 보아 항암제로서의 개발 가능성이 높은 것으로 판단된다.

**Flow cytometric 분석을 통한 세포주기 변화 - MTT assay를 통해 항암활성이 있는 것으로 나타난 EtOAc 분획물을 첨가했을 때 세포주기 변화를 조사하였다.** 일반적으로 항암 활성을 나타내는 물질은 세포주기를 억제 하는 것으

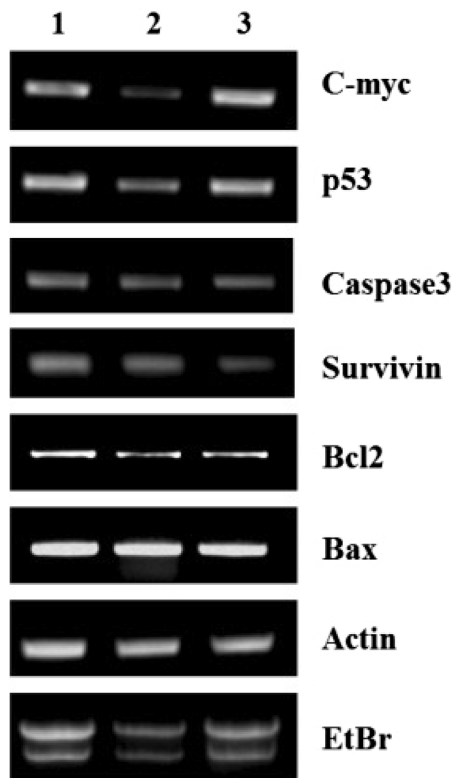


**Fig. 2.** Cytotoxicities of various solvent fraction from EtOAc fraction of 70% ethanol(A) and EtOAc fraction of 70% methanol(B) extracts of *Zanthoxylum schinifolium* fruits. Data are the mean ± S.D. of three independent experiments.



**Fig. 3.** Flow cytometric analysis of cell cycle progression after fraction extracts treatment for 24h. All samples concentration used 0.1 mg/mL. Data are the mean ± S.D. of three independent experiments.

로 알려져 있다.<sup>16)</sup> 따라서 flow cytometric 분석을 통해 대장암 세포에 EtOAc 분획물을 처리하였을 때의 세포주기 변화 양상을 분석하였다. 분석 결과 두 개의 EtOAc 분획물에서 모두 세포주기가 변화되는 것을 관찰 하였다(Fig. 3). 특

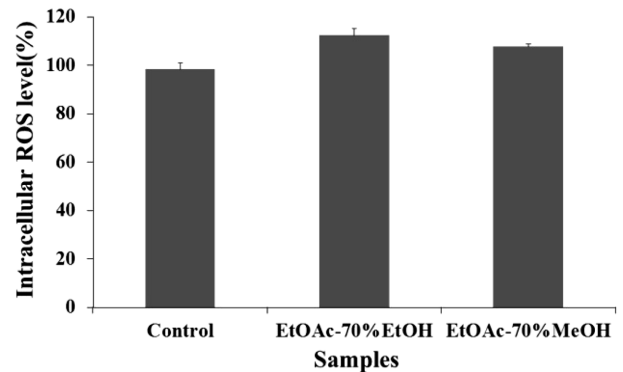


**Fig. 4.** Effects of the fraction extract on apoptosis-related gene expression. PCR products using primers specific for C-myc, p53, Caspase-3, Surviving, Bcl-2, Bax, b-actin, Etbr respectively. HT-29 cells was treated with control(1) and various solvent fraction from EtOAc fraction of 70% ethanol(2) and EtOAc fraction of 70% methanol(3) extracts of *Zanthoxylum schinifolium* fruits for 24 h. All samples concentration used 0.1 mg/mL.

히 대조군과 대조하여 볼 때 sub G0, G0/G1기는 증가 되었으며, S, G2/M기는 감소하는 것으로 나타났다. 이는 EtOAc 분획물이 대장암세포의 세포분열을 억제함으로써 대장암 세포의 증식이 감소 한다는 것을 의미한다.

Wang 등에<sup>22)</sup> 의하면 항암 활성을 나타내는 물질은 세포 주기 중 sub G0나 G0/G1기를 증가하여 암세포가 분열 되는 것을 막고 apoptosis를 유도한다고 보고 되어 있다. 산초 열매 분획물 역시 세포주기 중 sub G0, G0/G1기가 증가 되는 것으로 보아 apoptosis를 유도 한다고 사료된다.

**항암 관련 유전자의 RT-PCR 분석** - 암은 세포가 비정상적으로 증식되거나 apoptosis가 원활하게 이루어 지지 않는 경우에 발생되고, 따라서 암세포의 증식을 억제하고 apoptosis를 활성화 시키는 것은 암 발생 및 발달을 효과적으로 차단하는 방법이라 할 수 있다.<sup>19)</sup> 또한 apoptosis를 유도하는 과정은 복잡하고 많은 매개체들의 조절을 거쳐 이루어 지는데, 현재 널리 알려져 있는 것은 ROS를 통한 pro-apoptosis를 유도하는 Bax유전자의 활성화와 anti-apoptosis와 관련된 Bcl유전자 억제 그리고 Caspase3 유전자의 활성이



**Fig. 5.** Intracellular accumulation of ROS analyzed by FACS after treatment with various solvent fraction from EtOAc fraction of 70% ethanol and EtOAc fraction of 70% methanol. The level was detected with DCFDA fluorochrome for 30 min. All samples concentration used 0.1 mg/mL. Data are the mean ±S.D. of three independent experiments.

널리 알려져 있다.<sup>17-19)</sup>

EtOAc 분획물을 처리한 대장암세포에서 RNA를 분리하여 C-myc, p53, Caspase-3, Survivin, Bcl-2, Bax유전자의 발현양을 조사하였다. C-myc의 경우 70% 에탄올 EtOAc 분획물을 처리하였을 때 발현량이 감소되는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 4). 또한 anti-apoptosis와 관련된 Bcl-2 유전자의 경우 두 개의 분획물에 발현이 감소되는 것을 확인 하였으나, Bax 유전자의 경우 발현량은 크게 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 apoptosis를 억제하는 것으로 알려진 Survivin 유전자의 경우 두 개의 분획물에서 발현이 감소되는 것으로 나타났다. 따라서 산초나무 열매 분획물은 apoptosis를 억제하는 유전자들의 발현을 감소 시킴으로써 apoptosis를 활성화 시키는 것으로 나타났다.

**세포 내 ROS 생성량 분석** - ROS는 정상세포에 치명적인 효과를 보이며, ROS로 인하여 세포사가 진행된다. 하지만 암세포 내에서 ROS는 apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)/mitogen-activated protein kinase (MAPK) 신호 전달 기작에서 pro-apoptotic을 조절한다는 것이 알려져 있다.<sup>23-25)</sup> 따라서 apoptosis 유도를 활성화 하는 물질을 선별 하는 것은 항암제 개발의 기초 연구단계이며, 항암제로 개발 할 수 있는 가능성을 타진 할 수 있다고 할 수 있다.

두 개의 EtOAc 분획물을 첨가한 대장암세포에서 형광 probe를 이용하여 flow cytometer를 통해 측정된 결과 70% 에탄올의 EtOAc 분획물에서는 112.19±2.78%로 나타났으며, 70% 메탄올의 EtOAc 분획물에서는 107.63±0.81%로 ROS의 양이 증가 되는 것으로 나타났다(Fig. 5).

위의 결과를 종합 하여 보면 산초나무 열매의 EtOAc 분획물은 대장암세포에 대한 항암 활성을 가지고 있는 것으로 판단되며, 앞으로 항암 활성을 나타내는 단일 물질을 분리한다면 항암제로서 개발 가능성은 높은 것으로 사료된다.

## 결 론

산초나무 열매 분획물을 대상으로 대장암 항암 활성을 측정하였다. 대장암세포를 배양 한 뒤 70% 에탄올, 70% 메탄올의 EtOAc, BuOH, 물 분획물에 대한 항암 활성을 측정 한 결과 분획물을 0.3 mg/mL의 농도로 처리한 EtOAc 분획물에서 대장암세포의 생존율은 각각  $7.62 \pm 0.173\%$ ,  $7.66 \pm 0.037\%$ 로 나타났다. 또한 각 분획물의 농도에 따른 항암 활성을 측정한 결과 농도의존적으로 증가 하는 것으로 확인 되었다. Flow cytometric 분석을 통한 세포주기 변화를 측정한 결과 산초나무 열매 분획물의 세포주기 중 sub G0와 G0/G1기를 증가시켜 세포 분열을 억제 하는 것으로 나타났다. Apoptosis와 관련된 유전자의 발현량을 확인한 결과 apoptosis를 억제하는 것으로 알려진 Bcl-2, Survivin 유전자의 발현량을 감소시켜 apoptosis를 활성화 하는 것으로 확인 되었다. 또한 ROS 역시 분획물을 첨가한 군에서 증가되는 것으로 나타나 대장암세포에 대한 항암 활성을 나타내었다.

## 인용문헌

1. 박춘근 (2002) 현대인을 위한 민간약초, 작물시험장.
2. Lee, M. S. and Chung, M. S. (2000) Analysis of volatile flavor components from *Zanthoxylum schinifolium* and sensory evaluation as natural spice. *Korean J. Soc. Food Sci.* **16**: 216-220.
3. Jang, M. J., Woo, M. H., Kim, Y. H., Jun, D. Y. and Rhee, S. J. (2005) Effects of antioxidative, DPPH radical scavenging activity and antithrombogenic by the extract of Sancho(*Zanthoxylum schinifolium*). *Korea J. Nutrition.* **38**: 386-394.
4. Kim, J. H. (2003) Variation of the leaf monoterpenes concentration of *Zanthoxylum schinifolium* at Mt. Muhak. *J. Basic Sci.* **18**: 137-149.
5. Lim, S. J., Han, H. K. and Ko, J. H. (2003) Effects of edible and medicinal plants intake on blood glucose, glycogen and protein levels in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J. Nutrition.* **36**: 981-989.
6. Kim, J. S., Jun, D. Y., Woo, M. H., Rhee, I. K. and Kim, Y. H. (2006) Chemical composition and antitumor apoptogenic activity of methylene chloride extracts from the leaves of *Zanthoxylum schinifolium*. *J. life sci.* **16**: 546-554.
7. Jang, M., Lee, J. H., Seo, J. and Kim, G. H. (2010) Antibacterial Activities of Essential Oil from *Zanthoxylum schinifolium* Against Food-Borne Pathogens. *Korean J. Food Cookery Sci.* **26**: 206-213.
8. Jang, H. S., Rhee, S. J., Woo, M. H. and Cho, S. H. (2007) Anti-thrombogenic and anti-inflammation effect of solvent fraction from leaves of *Zanthoxylum schinifolium* (Sancho Namu) in rat fed high fat diet. *Korean J. Nutrition* **40**: 606-615.
9. Chen, I. S., Lin, Y. Tsai, I. L., Teng, C. M., Ko, F. N., Ishikawa, T. and Ishii, H. (1995) Coumarins and anti-platelet aggregation constituents from *Zanthoxylum schinifolium*. *Phytochemistry* **39**: 1091-1097.
10. Kim, S. I. and Han, Y. S. (1997) Isolation and identification of antimicrobial compound from sancho (*Zanthoxylum schinifolium*). *Korean J. Food Sci. Technol.* **13**: 56-63.
11. Kim, J. S., Koo, K. M. and Jung, Y. H. (2004) Antimicrobial activities of *Zanthoxylum schinifolium* extract against *Vibrio parahaemolyticus*. *Korean J. Food Sci. Nutr.* **33**: 500-504.
12. Yoon, D. H. and Choi, Y. S. (2008) Influence of red pepper (*Capsicum annum* L.) seed oil and sancho (*Zanthoxylum schinifolium*) seed oil on serum and liver lipids profiles in rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**: 96-100.
13. Oh S. M., Han, W. and Wang, M. H. (2010) Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase Inhibition Activity from Different Extracts of *Zanthoxylum schinifolium* Fruits. *Kor. J. Pharmacogn.* **41** : 130-135.
14. Han W. and Wang, M. H. (2010) Radical Scavenging and Anti-inflammation Activities from Different Extracts of *Zanthoxylum schinifolium* Fruits. *Kor. J. Pharmacogn.* **41**: 250-254.
15. Sauer, H., Wartenberg, M. and Hescheler, J. (2001) Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. *Cell. Physiol. Biochem.* **11**: 173-186.
16. Kuo, P. L., Chen, C. Y. and Hsu, Y. L. (2007) Isoobtusilactone a induces cell cycle arrest and apoptosis through reactive oxygen species/apoptosis signal-regulating kinase 1 signaling pathway in human breast cancer cells. *Cancer Res.* **67**: 7406-7420.
17. Korsmeyer, S. J. (1995) Regulators of cell death. *Trends Genet.* **11**: 101-105.
18. Debatin, K. M. (2004) Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol. Immunother.* **53**: 153-159.
19. Paoluzzi, L. and O'Connor, O. A. (2010) Targeting survival pathways in lymphoma. *Adv. Exp. Med. Biol.* **687**: 79-96.
20. Desai, A., Vyas, T. and Amiji, M. (2008) Cytotoxicity and apoptosis enhancement in brain tumor cells upon coadministration of paclitaxel and ceramide in nanoemulsion formulations. *J. Pharm. Sci.* **97**: 2745-275.
21. Yin, Y., Heo, S. I., Roh, K. S. and Wang, M. H. (2009) Biological activities of fractions from methanolic extract of *Picrasma quassioides*. *J. Plant Biol.* **52**: 325-331.
22. Wang, L., Xu, M. L., Hu, J. H., Rasmussen, S. K. and Wang, M. H. (2011) *Codonopsis lanceolata* extract induces G0/G1 arrest and apoptosis in human colon tumor HT-29 cells - Involvement of ROS generation and polyamine depletion. *Food and Chemical Toxicology* **49**: 149-154.
23. Ling, Y. H., Liebes, L., Zou, Y. Y. and Perez-Soler, R. (2003) Reactive oxygen species generation and mitochondrial dysfunction in the apoptotic response to Bortezomib, a novel

- proteasome inhibitor, in human H460 non-small cell lung cancer cells. *J. Biol. Chem.* **278**: 33714-33723.
24. Zhang, Y. D. and Chen, F. (2004) Reactive oxygen species (ROS), troublemakers between nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) and c-Jun NH2-terminal kinase (JNK). *Cancer Res.* **64**: 1902-1905.
25. Mounjaroen, J., Nimmannit, U., Callery, P. S., Wang, L. Y., Azad, N., Lipipun, V., Chanvorachote, P. and Rojanasakul, Y. (2006) Reactive oxygen species mediate caspase activation and apoptosis induced by lipoic acid in human lung epithelial cancer cells through Bcl-2 down-regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **319**: 1062-1069.
- (2011. 8. 9 접수; 2011. 9. 22 심사; 2011. 9. 23 게재확정)