

벤조피렌 유발 마우스에서 싸리버섯 메탄올 추출물의 간 독성 억제효과 및 사이토크롬 P-450 1A1 Isozyme의 발현에 미치는 영향

김현정¹ · 이인선¹ · 배준태 · 김옥미² · 박선희 · 장종선 · 박준홍 · 이갑량*

영남대학교 식품영양학과, ¹계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터
²대경대학 호텔조리계열

Effect of *Ramaria botrytis* Methanol Extract on Hepatotoxicity in Benzo(α)Pyrene-treated Mice and Expression of Cytochrome P-450 1A1 Isozyme

Hyun-Jeong Kim¹, In-Seon Lee¹, Jun-Tae Bae, Ok-Mi Kim², Sun-Hee Park, Jong-Sun Chang, Jun-Hong Park and Kap-Rang Lee*

Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea
¹Traditional Microorganism Resources Center, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
²Department of Hotel Culinary Arts, Taekyeung College, Kyongsan 712-850, Korea
(Received January 21, 2003)

ABSTRACT: This study was conducted to investigate effects of *Ramaria botrytis* methanol extract on liver damage in benzo(α)pyrene(B(α)P)-treated mice. The activities of serum aminotransferase, cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase, aniline hydroxylase and hepatic content of lipid peroxide after B(α)P-treatment were increased than control, but those levels were significantly decreased by the treatment of *Ramaria botrytis* methanol extract. Whereas, the hepatic glutathione content and activities of glutathione S-transferase and *r*-glutamylcysteine synthetase were increased by the treatment of *Ramaria botrytis* methanol extract. In addition, cytochrome P-450 1A1 isozyme protein level, remarkably increased by B(α)P-treatment was decreased by the treatment with methanol extract of *Ramaria botrytis*. These results suggest that the protective effect of methanol extract of *Ramaria botrytis* on liver injury in B(α)P-treated mice may be due to reduction of oxygen free radical.

KEYWORDS: Benzo(α)pyrene, Cytochrome P-450 1A1, *Ramaria botrytis*

현대인은 불규칙한 식사, 스트레스, 과다한 음주 및 흡연으로 인하여 간 기능이 손상되거나, 심하면 간 질환으로 발전하는 경우가 빈번하게 일어나고 있다. 이런 간 기능 손상 및 간 질환은 인체에 치명적인 영향을 미쳐 회복되기 어렵고, 또한 우리나라 사람들은 다른 나라에 비해 높은 간염 발병율을 나타내고 있어 이들 간 손상 및 간 질환을 위한 부작용 없는 효과적인 치료약의 개발이 필요하다. 이에 민간요법으로 간 질환에 사용되고 있는 식물들로부터 간 보호 효과를 가진 물질 검색 연구가 많이 행해지고 있다. 그 대표적인 간장 치료제인 silymarin은 국화과 *Silybum marianum*의 열매에서 개발되었고(Muriel *et al.*, 1992), 또한 diphenyl dimethyl dicarboxylate(DDB)는 오미자의 성분인 schizandrin과 유사한 인공 합성물질로서 약물중독에 의한 만성 간염에 대해 치료 및 예방 효과가 확인되었다(Reynolds, 1989). 현재 silymarin, DDB, ursodesoxycholic acid 및 vitamin B complex가 간 질환의 치료제로 사용되고 있으나 아직 그 종류가 많지 않음

을 볼 때 천연물에서 간 독성 해독제의 개발은 그 의의가 크다고 하겠다.

한편 버섯은 오래전부터 독특한 맛과 향기를 지니고 있어 식용 및 약용으로 널리 이용되어 왔으며, 최근에는 버섯의 항암작용, 생체기능조절 및 뇌졸중, 심장병 등 성인병에 대한 예방과 개선효과가 보고됨(Mori *et al.*, 1986; Chihara *et al.*, 1970)에 따라 버섯에 대한 관심은 더욱 높아졌다. 버섯은 자연계에 수천 종 이상 존재하며 다양한 기능성과 그에 관련된 여러 가지 성분을 함유하고 있으며 부가가치 건강식품으로 취급되고 있으며 또한 새로운 의약품 소재로의 개발 가능성도 높다고 하겠다. 그 중에서 싸리버섯(*Ramaria botrytis* (Fr.) Ricken)은 싸리버섯과에 속하며 이 과에 속하는 대다수의 버섯들이 식용이 불가능한 버섯인데 비해 식용싸리버섯은 장마가 끝난 직후부터 초가을까지 야산에 대량으로 자라는 식용버섯이다. 이 버섯은 주로 동아시아, 유럽, 북미 그리고 우리 나라의 산야에 널리 자생하며, 맛과 향기가 좋아 기호성 높은 식품으로 우리 나라에서는 예로부터 널리 이용되어 왔다. 싸리버섯에 관한 연구는 항변이원성 및 항암 효과, 독성 및

*Corresponding author <E-mail: krlee@yu.ac.kr>

변이원성 검색, 면역세포 활성화와 항종양에 관한 연구 등이 주로 이루어졌으며 간 보호 효과에 대한 연구는 아직 보고되지 않았다(Kim and Jung, 1995; Kim *et al.*, 1999).

이에 본 연구에서는 찌리버섯이 간 독성 물질로 알려진 benzo(α)pyrene 처리에 의한 간손상에 대해 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 먼저 마우스에 찌리버섯 메탄올 추출물을 전 처리한 다음 benzo(α)pyrene을 투여하여 급성 간 독성을 유발시킨 후 마우스의 간 조직에서의 효소화적인 변화와 함께 cytochrome P-450 1A1 isozyme 단백질의 발현에 미치는 영향을 살펴보았다.

재료 및 방법

시료 조제

본 실험에 사용한 시료는 찌리버섯(*Ramaria botrytis* (Fr.) Ricken)으로 충청북도 속리산에서 채취하여 음건한 후 사용하였다. 건조된 버섯은 먼저 waring blender로 3,000 rpm에서 5분 동안 분쇄하여 분말화 하였다. 찌리버섯 분말시료 1.3 kg에 먼저 10배의 80% methanol을 첨가한 후 환류냉각기를 설치한 수욕상에서 50°C, 8시간 동안 3회 반복 추출한 후 여과하였다. 이 여액을 감압농축시켜 메탄올 추출물(230 g)로 사용하였다.

실험 동물 및 B(a)P 간독성 유발

실험 동물은 평균 체중이 25~30 g인 ICR계 마우스(male)를 사용하여 온도(18±2°C), 습도(65±2%)와 명암주기(12시간)가 자동적으로 조절되는 사육실에서 7일간 환경에 적응시킨 후, 난괴법에 따라 군당 10마리씩 4군으로 구분하여 사육하였다. 각 실험군은 대조군(C), 찌리버섯 메탄올 추출물 처리군(M), 벤조피렌 단독 처리군(B) 및 찌리버섯 메탄올 추출물을 전 처리한 다음 벤조피렌을 처리한 군(MB)으로 하였다. 찌리버섯 메탄올 추출물의 투여는 마우스 kg당 50 mg으로 하여 5일간 1일 1회 일정 시간에 복강 주사하였고, 이때 대조군의 경우 시료 대신 생리식염수를 동일하게 주사하였으며, 벤조피렌 투여는 시료 투여한 다음 5일째에 benzo(α)pyrene(B(α)P)을 체중 kg당 0.3 mg으로 1회 복강주사한 다음 24시간 후 처리하였다.

효소원 조제

마우스를 해부하기 12시간 전에 식이 공급을 중단하고 마취한 후 개복하여 복부대동맥으로 채혈하였고, 채혈 후 약 30분 동안 방치한 뒤 400×g으로 15분간 원심분리하여 그 상등액을 취하여 aminotransferase 활성 측정에 사용하였다. 그리고 간은 생리식염수로 관류하여 간 조직에 남은 혈액을 제거하여 적출하였다. 적출한 간 조직 1g당 4배량의 0.1 M 인산완충액(pH 7.4)를 가하여 균질기로 마

쇄시킨 후, 4°C 이하에서 600×g로 10분간 원심분리하였다. 그 상등액을 10,000×g로 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻고, 분리된 상등액은 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosolic fraction과 microsomal fraction을 각각 얻었다.

효소 활성 및 Immunoblot 분석

혈청중 aminotransferase의 활성도는 Reitman과 Frankel (1957)의 방법으로 측정하였으며, 간 조직의 lipid peroxide 함량은 Ohakawa 등(1979)의 방법에 의한 TBA법을 이용하여 생성된 malondialdehyde 양을 측정하여 간 조직 1g당 생성된 malondialdehyde nmole로 표시하였고, glutathione(GSH) 함량은 Ellman의 방법(1959)에 의하여 비단백성 sulfhydryl group를 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid로 발색시켜 412 nm에서 비색정량 하였다. 그 단위는 간 조직 1g당 μ mole로 나타내었다. Cytosolic fraction 중 glutathione S-transferase(GST) 활성은 Habig 등(1974)의 방법에 준하여 기질인 2,4-dinitrochlorobenzene과 환원형 glutathione을 기질로 하여 생성된 GSH-DNCB 공액의 분자흡광계수 $9.6 \text{ nM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ 를 이용하여 산정하였고, aldehyde oxidase의 활성은 Rajagopalan 등의 방법(1962), xanthine oxidase의 활성은 Stürpe과 Della의 방법(1969)으로, *r*-glutamylcysteine synthetase의 활성은 Meister와 Richman의 방법(1975) 그리고 glutathione reductase의 활성은 Mize와 Langdon의 방법(1962)에 준하여 측정하였다. Microsomal fraction중 cytochrome P-450의 활성은 Omura와 Sato(1964)의 방법, aminopyrine N-demethylase의 활성은 Nash의 방법(1953), aniline hydroxylase의 활성은 Bidlack과 Lowry의 방법(1982)으로 측정하였다.

그리고 cytochrome P-450 1A1 isozyme의 immunoblot 분석은 microsomal fraction을 10~20 μ g의 단백질 농도로 준비하여 Laemmli법(1970)에 의해 전기영동한 후 western blotting(1984)하였다. 이때 1차 항체는 Anti-rat CYP1A1 (goat, DAIICHI Pure Chemicals.), 2차 항체로는 peroxidase rabbit Anti-goat IgG(H+L)를 사용한 후 HRP-발색 시약(Bio-Rad Co.)으로 발색시킨 다음 관찰하였다. 그리고 단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법에 준하여 소혈청 알부민을 표준품으로 하여 결정하였다.

통계 처리

실험결과는 통계처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검정은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석 하였다.

결과 및 고찰

혈청 중 Aminotransferase 활성의 변화

혈청 중 ALT 및 AST 등의 효소 활성의 상승은 간독성

Table 1. Effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on the activities of serum aspartate and alanine aminotransferase in B(α)P-treated mice

Group ^a	AST	ALT
	Karmen unit/ml of serum	
C	41.3±1.18a ^b	39.9±1.75a
M	42.4±1.35a	40.7±2.18a
B	68.3±1.43c	70.8±2.17c
MB	57.4±1.32b	56.3±1.25b

^aC : Control group. M : *Ramaria botrytis* methanol extract group. B : B(α)P group. MB : *Ramaria botrytis* methanol extract + B(α)P group.

^bThe values are mean±S.D. (n=10). Values with a common letter within the same column are not significantly different (p < 0.05).

으로 인한 간세포의 괴사와 간 조직의 파괴가 진행됨에 따라 aminotransferase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타낸다(Hayes, 1982). 혈청내 ALT 및 AST의 활성은 B(α)P 투여시 증가하다가, 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여시 이들 활성이 유의적으로 감소하였다(Table 1). 이는 B(α)P 투여시 혈청내 ALT와 AST의 활성 증가는 급성 간 손상시 그 활성도가 혈청 중에서 증가한다는 보고와 일치하였다(Yoon *et al.*, 1993). 반면에 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여함으로써 ALT와 AST의 활성이 감소하므로, 싸리버섯 메탄올 추출물은 aminotransferase의 활성을 감소시켜 B(α)P에 의한 간 손상에 대한 보호 효과가 있음을 암시해 주고 있다.

간 조직중의 Lipid Peroxide와 Glutathione(GSH) 함량의 변화

싸리버섯 메탄올 추출물의 투여에 따른 간 조직 중의 lipid peroxide의 함량 변동은 Table 2와 같다. B(α)P만 투여한 군은 lipid peroxide의 함량이 대조군에 비하여 유의적인 증가를 보였으나, 싸리버섯 메탄올 추출물과 B(α)P를 투여한 군은 B(α)P만 투여한 군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다. 이는 B(α)P과 같은 생체 이물질의 대사시 약물대사 효소계로부터 생성된 여러 자유라디칼들이

Table 2. Effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on the contents of lipid peroxide (LPO) and glutathione (GSH) and activity of glutathione S-transferase (GST) in B(α)P-treated mice liver

Group ^a	LPO content	GSH content	GST
	(nmoles/g of tissue)	(μ moles/g of tissue)	(nmoles/mg protein/min)
C	17.2±6.91a ^b	5.61±0.78a	180.1±18.82a
M	17.4±5.17a	5.46±0.74a	175.3±17.73ac
B	45.3±4.54b	3.21±1.25b	131.8±12.36b
MB	36.4±5.23bc	5.14±1.56a	156.1±11.19c

^aThe meanings of groups refer to Table 1.

^bThe values are mean±S.D. (n=10). Values with a common letter within the same column are not significantly different (p < 0.05).

지질과산화물을 증가시켰다는 보고(Gelboin, 1980)와 일치하였고, B(α)P과 싸리버섯 메탄올 추출물의 투여시 간 조직의 지질과산화물이 감소되는 것은 생체내에서 지질과산화물 생성 반응이 자유라디칼 제거능을 가진 싸리버섯 메탄올 추출물의 항산화적 방어계의 작용에 의해 억제된 것으로 생각된다.

한편 GSH는 활성산소, 과산화지질 그리고 친전자성 물질들이 세포내에서 최종적으로 무독화되는 과정에 관여하며(Denizot and Long, 1986), lipid peroxide의 환원 및 간 해독에도 중요한 역할을 담당한다(Burk *et al.*, 1980). GSH 함량은 B(α)P만 투여한 군이 대조군에 비해 현저히 감소되었으며, 싸리버섯 메탄올 추출물 처리후 B(α)P를 투여한 군은 B(α)P만 투여한 군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다(Table 2). 이것은 B(α)P과 같은 독성물질이 투여되었을 경우에는 GSH이 독성물질을 대사시켜 체외로 배출되는데 이용되므로(Burk *et al.*, 1980) GSH 함량이 감소되었으며, 싸리버섯 메탄올 추출물과 B(α)P 투여시 GSH 함량이 증가되므로 이는 싸리버섯 메탄올 추출물이 B(α)P의 해독에 관여한 것으로 생각된다.

간 조직중의 효소 활성도 변화

B(α)P이 체내에서 산화되어 생성된 diepoxide가 세포내의 GSH과 포합체를 형성하는데 이때 GST가 이 반응에 촉매로 작용하면 이 포합체는 신속하게 배설되어 해독된다고 알려져 있다(Bompart *et al.*, 1990). 간 조직 중 GST 활성의 변화는 Table 2와 같이, 대조군에 비하여 B(α)P 투여군에서는 유의적으로 감소하였고, 싸리버섯 메탄올 추출물과 B(α)P 투여군은 B(α)P 단독 투여군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 이것은 발암원인 B(α)P 투여시 생성된 free radical을 GSH이 대사시켜 체외로 배출하는데 이용되므로 GSH 함량이 저하되고 해독기구에 관여하는 효소인 GST의 활성도 감소되지만, B(α)P과 싸리버섯 메탄올추출물 투여시에는 B(α)P 투여로 감소되던 GST의 활성을 대조군 수준으로 회복시킨 것으로 보여진다.

그리고 GSH의 세포내 합성 유지에는 합성계 효소인 *r*-glutamylcysteine synthetase와 해독 반응 후 생성되는 산화형 glutathione의 재환원 효소인 glutathione reductase가 관여한다(Meister, 1985). *r*-Glutamylcysteine synthetase의 활성은 대조군에 비해 B(α)P 투여시 감소되었다가 싸리버섯 메탄올 추출물 처리 후 B(α)P 투여군에서는 그 활성이 증가되었다(Table 3). 그러나 glutathione reductase의 경우는 각 군별에서 유의적 차이가 나타나지 않았다. 이는 B(α)P 투여시 과소모된 GSH 함량이 싸리버섯 메탄올 추출물 투여시 *r*-glutamylcysteine synthetase의 활성을 증가시켜 GSH 함량이 증가되는 것으로 보여진다.

그리고 싸리버섯 메탄올 추출물이 B(α)P 처리에 의한 cytochrome P-450의 활성은 Table 4와 같이, 대조군에 비

Table 3. Effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on the activities of *r*-glutamylcysteine synthetase (*r*-GCS) and glutathione reductase (GR) in B(α)P-treated mice liver

Group ^a	<i>r</i> -GCS (nmoles/mg protein/min)	GR (nmoles/mg protein/min)
C	16.30±1.14a ^b	30.47±5.34 ^{ns}
M	16.35±2.67a	29.24±5.64
B	11.11±1.91b	34.09±6.99
MB	15.05±2.29a	30.62±3.37

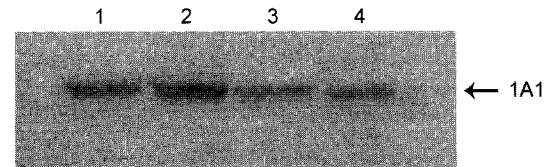
^aThe meanings of groups refer to Table 1.

^bThe values are mean±S.D. (n = 10). Values with a common letter within the same column are not significantly different (p < 0.05). ns; not significant.

하여 B(α)P 투여군은 P-450의 활성이 유의적으로 증가하였으며, 싸리버섯 메탄올 추출물과 B(α)P 투여시 활성이 유의적으로 감소되었다. 이것은 B(α)P 투여로 mouse microsome 내 존재하는 cytochrome P-450의 활성 증가로 생성된 H₂O₂나 유리기를 GSH이 대사시켜 체외로 배출되는 데(Astrom *et al.*, 1983) 이용되어 GSH 함량 및 GST의 활성의 감소되었다가, 싸리버섯 메탄올 추출물의 투여로 GST 활성 및 GSH 함량이 증가되어 체내 독성물질을 해독시키는 것으로 보여진다.

한편 Micosomal oxidizing enzyme system(Tubaro *et al.*, 1976; Levin and Kuntzman, 1969)에 속하는 효소인 aminopyrine-N-demethylase(AD)와 aniline hydroxylase(AH) 활성은 Table 3과 같이 모두 대조군에 비해 B(α)P 투여시 증가되었다가 싸리버섯 메탄올 추출물과 B(α)P을 투여시에 유의적으로 감소되었다. 그러나 non-microsomal oxidizing system에 속하는 aldehyde oxidase와 xanthine oxidase의 활성의 경우 각 군별 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 B(α)P이 체내에 들어오면 cytochrome P-450에 의해 산화되어 7-8-diol체로 된 다음 diepoxide로 재산화되어 간에 독성을 발현한다는 보고(Gelbin, 1980)와 일치하였다.

따라서 B(α)P 투여로 microsome을 통한 유리기 생성 효소계들 즉 cytochrome P-450, AD 및 AH 등의 활성 증가로 생성되는 활성 산소에 의한 간 손상이 싸리버섯 추

**Fig. 1.** Immunoblot analysis of hepatic cytochrome P-450 1A1 isozyme in mice treated with *Ramaria botrytis* methanol extract and/or benzo(α)pyrene. Each lane was loaded with 20 μ g mice liver microsomes. Polyclonal Anti-Rat CYP1A1(goat) antibody (diluted 1:1000) was used. Lane 1: Control. Lane 2: B(α)P (0.3 mg/kg) treated. Lane 3: *Ramaria botrytis* MeOH extract treated (50 mg/kg). Lane 4: *Ramaria botrytis* MeOH extract and B(α)P treated.

출물의 투여시 이들 효소계가 억제되어 간 손상이 회복되는 것으로 보여진다.

Cytochrome P-450 1A1 Isozyme의 Immunoblot 분석

약물과 환경성 carcinogen 등의 다양한 xenobiotics의 biotransformation에 관여하는 것으로 알려진 cytochrome P-450은 다양한 isozyme이 존재하며, 특히 쥐의 간 microsome으로부터 10여종의 cytochrome P-450 isozyme이 분리되었으며, 이들 cytochrome P-450 isozyme들은 서로 다른 기본구조와 기질특이성을 나타내며 서로 다르게 조절되는 것으로 보고되고 있다(Park and Choi, 1997). Cytochrome P-450 1A1은 polycyclic aromatic hydrocarbone(PAH)과 반응하여 유도되는 효소로, B(α)P 투여시 cytochrome P-450 1A1의 단백질 함량이 대조군에 비해 현저히 증가하였으며 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여함으로써 감소되는 경향을 보였다(Fig. 1). 이는 싸리버섯 메탄올 추출물이 B(α)P에 의해 유도된 간 독성을 해독시키기 위해 cytochrome P-450 1A1의 protein level을 감소시키는데 관여한 것으로 사료된다. 이는 능이 메탄올 추출물의 경우도 B(α)P 투여로 증가된 cytochrome P-450 1A1의 단백질 함량을 감소시켰다는 보고(Bae *et al.*, 2001)와 일치하였다. 이러한 결과로 싸리버섯 메탄올 추출물은 B(α)P에 의한 간 손상에 대한 보호 효과가 있는 것으로

Table 4. Effect of *Ramaria botrytis* methanol extract on the hepatic lipid peroxide generating enzyme system in B(α)P-treated mice

Group ^a	Cytochrome P-450	AD ^c	AH	AO	XO
	nmoles/mg protein/min				
C	0.42±0.084a ^b	3.44±0.48a	0.64±0.14a	1.45±0.20 ^{ns}	2.99±0.57 ^{ns}
M	0.48±0.076a	3.62±0.51a	0.64±0.13a	1.61±0.42	3.30±0.85
B	0.77±0.012b	6.24±1.01c	1.23±0.43c	1.50±0.29	2.88±0.64
MB	0.56±0.098a	4.97±0.82b	0.87±0.14b	1.75±0.44	3.35±0.62

^aThe meanings of groups refer to Table 1.

^bThe values are mean±S.D. (n = 10). Values with a common letter within the same column are not significantly different (p < 0.05).

^cAD: aminopyrine-N-demethylase, AH: aniline hydroxylase, XO: xanthine oxidase, AO: aldehyde oxidase.

ns; not significant.

사료된다.

적 요

싸리버섯 메탄올 추출물이 간독성 물질인 B(α)P을 투여한 마우스에서 간 손상 억제 효과 및 cytochrome P-450 1A1 발현에 미치는 영향을 살펴보았다. B(α)P 투여로 인한 혈청 ALT와 AST의 활성, 간 조직중의 lipid peroxide 함량, cytochrome P-450 함량, AD 및 AH 활성이 유의적으로 증가하였으며 싸리버섯 메탄올 추출물의 투여시 이들 활성 및 함량이 유의적으로 감소하였다. 반면, 간 조직중의 GSH 함량, GST, *r*-glutamylcysteine synthetase의 활성은 B(α)P만 투여한 군에 비해 싸리버섯 메탄올 추출물을 투여시 증가하였다. 또한 immuno blotting 결과로부터 B(α)P 투여에 의해 현저히 증가되었던 cytochrome P-450 1A1 isozyme 단백질 함량이 싸리버섯 메탄올 추출물의 투여로 감소됨을 확인하였다. 이와 같은 결과로부터 싸리버섯 메탄올 추출물은 B(α)P에 의한 간 손상에 대한 보호 효과가 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

“본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R03-2002-000-00019-0(2002)) 지원 및 과학기술부 · 한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원으로 수행되었음”에 감사드립니다.

참고문헌

- Astrom, A. Meijer, J. and Depierre, J. W. 1983. Characterization of the microsomal cytochrome P-450 species induced in rat liver by 2-acetylaminofluorence. *Cancer Res.* **43**: 342-348.
- Bae, J. T., Chang, J. S., Park, S. H., Kim, J. Y., Oh, E. J., Kim, H. J., Kim, O. M., Lee, B. R. and Lee, K. R. 2001. Preventive effect of *Sarcodon aspratus* extract on the liver damage in B(α)P-treated mice. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **30**(2): 320-324.
- Bidlack, W. R. and Lowry, G. L. 1982. Multiple drug metabolism: p-nitroaniline reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem. Pharmacol.* **31**: 311-318.
- Bompart, G. J., Prevot, D. S. and Basacands, J. L. 1990. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: Application to cisplatin induced toxicity. *Clin. Biochem.* **23**: 501-504.
- Burk, R. F., Trumble, M. J. and Lawrence, R. A. 1980. Rat hepatic cytosolic glutathione dependant enzyme protection against lipid peroxidation in the NADPH-microsomal lipid peroxidation system. *Biochem. Biophys. Acta.* **618**: 35-42.
- Chihara, G., Hamuro, T., Maeda, Y. and Fukuoka, F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes*. *Cancer Res.* **30**: 2776-2781.
- Denizot, F. and Long, R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. *J. of Immunol. Methods* **89**: 271-276.
- Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.* **82**: 70-72.
- Gelboin, H. V. 1980. Benzo(α)pyrene metabolism, activation and carcinogenesis: Role and regulation of mixed-function oxidase and related enzymes. *Physiological Reviews* **60**(4): 1107-1166.
- Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid reaction. *Anal. Biochem.* **249**(22): 7130-7139.
- Hayes, 1982. Principles and methods for toxicology. Raben Press. p 407-415.
- Kim, J. M. and Jung, Y. M. 1995. Immune regulatory and antitumor effect of *Ramaria botrytis* extract. *Kor. J. Vet. Publ.* **19**(1): 181-190.
- Kim, H. J., Lee, I. S. and Lee, K. R. 1999. Antimutagenic and anticancer effects of *Ramaria botrytis* (Fr.) Rick extracts. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* **28**(6): 1321-1325.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of the structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685.
- Levin, W. and Kuntzman, R. 1969. Biophysical decreases of radioactive hemoprotein from liver microsomal CO-binding particles. Effects of 3-methylcholanthrene. *J. Biol. Chem.* **244**: 3671-3680.
- Lowry, O. H. Rosebrough, N. H. Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Meister, A. 1985. Selective modification of glutathione metabolism. *Science* **220**: 472-478.
- Meister, A. and Richman, P. G. 1975. Regeneration of *r*-glutamylcystein synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathione. *J. Biol. Chem.* **250**: 1422-1427.
- Mize, C. E. and Langdon, R. G. 1962. Hepatic glutathione reductase: I. Purification and general kinetic properties. *J. Biol. Chem.* **237**: 1589-1592.
- Mori, K., Toyomasu, T. Nanba, H. and Kuroda, H. 1986. Antitumor activities of edible mushrooms by oral administration. Proc. Int'l Sym. *Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi.* 1-6.
- Muriel, P., Garciapina, T., Perezalvarez, V. and Mourelle, M. 1992. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid-oxidation and liver-damage. *J. Applied Toxicology* **12**(6): 439-442.
- Nash, T. 1953. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the hantzsch reaction. *J. Biol. Chem.* **55**: 416-422.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**: 351-358.
- Omura, T. and Sato, R. 1964. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. 1. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* **239**: 370-378.
- Park, K. A. and Choi, H. M. 1997. Modification of hepatic microsomal cytochrome P-450 2E1 enzyme by garlic powder in rat hepatocarcinogenesis. *J. Biochem. Mol. Biol.* **30**: 73-79.
- Rahagopalan, K. V., Fridovich, I. and Handler, P. 1962. Hepatic aldehyde oxidase, Purification and properties. *J. Biol. Chem.* **237**: 922-925.
- Reitman, S. and Frankel, S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**(8): 56-63.
- Reynolds, J. 1989. *The Extra Pharmacopoeia.* 29th. The pharmaceutical press. p1613-1620.

- Stripe, F. and Della, C. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J. Biol. Chem.* **244**: 3855-3962.
- Talbot, P. V., Knobler, R. L. and Buchemeier, M. 1984. Western and dot immuno blotting analysis of viral antigens and antibodies: Application to murine hepatitis virus. *J. Immunol. Meth.* **73**: 177-188.
- Tubaro, E., Banci, F., Lotti, B. and Croce, C. 1976. Xanthine oxidase activation in animal liver during infectious processes. *Arzneim. Forsch (Drug Res.)* **26**(2): 2185-2193.
- Yoon, S. H., Park, E. J., Oh, K. H., Chung, Y. G. and Kwon, O. J. 1993. The effect of lithospermi radix benzo(α)pyrene-induced hepatotoxicity. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **22**(2): 144-148.