

표고와 새송이버섯이 대장암 세포 증식 및 세포사멸에 미치는 영향

황용주 · 남혜경 · 장문정 · 노건웅* · 김선희†

국민대학교 식품영양학과
*서울 알레르기 클리닉

Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* Extracts on Proliferation and Apoptosis in Human Colon Cancer Cell Lines

Yong-Ju Hwang, Hae-Kyung Nam, Moon-Jeong Chang, Geun-Woong Noh* and Sun-Hee Kim†

Dept. of Foods and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

*Seoul Allergy Clinic, Seoul 135-889, Korea

Abstract

We studied effects of hot water extract of *Lentinus edodes* (*Berk.*)*sing.* and *Pleurotus eryngii* (*De Candolle ex Fries*) *Quel* mushroom on proliferation and apoptosis of the human colon adenocarcinoma, HT-29 and Caco-2. Cells were maintained with Dulbecco's modified Eagle medium/Ham's F-12 nutrient mixture supplemented with 10% fetal bovine serum at 37°C in a humidified CO₂. For cell proliferation experiments, cells were seeded in 35 mm dishes, treated with the various concentrations of the extract for the different time course. Apoptosis was measured by caspase-3 activity. The more contents of the extract added in HT-29 and Caco-2 were, the more cell proliferation was suppressed. When we incubated HT-29 cells for 24, 48, 72, and 96 hours after treatments, cell proliferation was markedly suppressed after 96 hours. Also, caspase-3 activity in HT-29 was increased by the treatment of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts. However, the treatment of the extract to SNU484, Korean stomach adenocarcinoma, did not show any influence on cell proliferation and caspase-3 activity. Therefore, *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* are strongly recommended for the prevention and treatment of colon cancer.

Key words: apoptosis, caspase-3 activity, *Lentinus edodes*, *Pleurotus eryngii*, cancer cell

서 론

식용하는 채소와 같은 천연식물에서 생리활성물질을 추출하여 생체 내 면역반응이나 항암 효능에 관한 연구가 국내외에서 활발하게 이루어지고 있다(1-4). 생리활성물질은 종양세포에 작용하여 성장을 억제 또는 사멸시키거나, 생체의 면역반응을 강화시켜 종양에 대한 방어력을 높이며(5-10), 생체의 생물적 반응을 변화시켜 종양세포의 감수성을 높이고(11,12), 항암 약물과 방사선 조사에 따르는 독성에 대한 피해를 경감시킴으로서(13) 치료 효과를 증가시킨다.

여러 종류의 식물체 중에서 특히 버섯은 약리 작용을 갖는 것으로 알려져 있다. 우리나라에서 고등 담자균류인 약용버섯과 식용버섯 등 여러 종류의 균사체로부터 분리한 다당류와 단백질로 구성된 고분자물질이 Sarcoma-180 복수암 세포에 항암 작용 및 항돌연변이성 효과를 나타낸다는 보고가 있으나(14), 실제 이러한 버섯추출물의 생리활성에 대한 연구는 아직 부족한 실정이다.

표고버섯 [*Lentinus edodes* (*Berk.*)*sing.*]은 참나무, 졸참

나무, 너도밤나무 등 활엽수에 기생하는 송이과에 속하는 식용버섯으로서 항암작용 등 약리 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(15), 새송이버섯 [*Pleurotus eryngii* (*De Candolle ex Fries*) *Quel*]은 떡갈나무와 벚나무에 자생하는 주름버섯목 느타리과에 속하는 담자균 버섯으로 생체조절기능인 병예방, 노화억제, 항암작용 등의 약리 효과가 있는 것으로 알려져 있다(16).

신체를 구성하고 있는 기본단위인 세포는 조직의 항상성을 유지하기 위하여 세포분열과 죽음을 조절하는데 이 중에서 능동적인 죽음을 세포사멸(apoptosis) 또는 programmed cell death라고 한다(17,18). 이 과정에서 원하지 않거나 손상을 입은 세포는 제거된다. 이러한 세포사멸은 세포 내에 본래부터 존재하고 있던 자살 기작이 세포 내부와 외부의 자극에 의하여 활성화되어 계획한 대로 스스로 죽는 현상으로 세포의 괴사(necrosis)와는 달리 죽어 가는 세포의 내용물이 세포외로 유리되지 않아 다른 세포에 손상을 주지는 않는다. 형태학적으로는 세포의 비중 감소와 세포막의 파괴 및 염색체의 응축과 더불어 사멸체(apoptotic body) 형성과 함께 식세포

†Corresponding author. E-mail: shkim@kookmin.ac.kr
Phone: 82-2-910-4773. Fax: 82-2-911-4771

작용을 거치는 작용을 의미하며, 생화학적으로는 염색체 DNA가 큰 조각에서 작은 조각으로 갈라지는 DNA fragmentation을 의미한다(19,20). 세포사멸 과정에서 실행경로의 활성화 과정에 관여하는 caspase는 세포 사멸시 활성화되는 중요한 단백질 분해효소이므로(21) 이 효소의 활성도를 측정하여 세포사멸 정도를 파악할 수도 있다.

그러므로 본 연구에서는 한국인이 다량 식용하는 표고버섯과 새송이버섯을 열수 추출하여 이 추출물이 대장암세포 HT-29 및 Caco-2와 한국인 위암세포인 SNU-484의 세포증식에 미치는 영향을 살펴보고 또한 세포사멸을 이끄는 caspase-3 효소 활성을 측정하여 표고버섯과 새송이버섯의 소화기계 항암효능을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

시료추출

본 실험에 사용한 표고버섯 [*Lentinus edodes*(Berk.)sing.] 및 새송이버섯 [*Pleurotus eryngii*(De Candolle ex Fries) Quel]은 시중에서 유통되는 것으로 구입하였다. 표고버섯과 새송이버섯은 증류수로 수세한 후 각각 50 g을 증류수 200 mL에 넣고 60분간 가열하였다. 이 추출액을 Whatman filter paper(#2)로 여과하여 -40°C에서 6~8시간 진공냉동건조(freeze-dryer with concentrator : Lisin, Korea) 하였다. 건조된 버섯 시료에 serum free medium을 넣어 용해시킨 후 sterile disposable syringe(acetate, 0.22 µm, 25 mm) filter로 여과하여 사용하였다.

세포배양

본 실험에서 사용한 대장암 세포는 HT-29(human, adenocarcinoma, colon)와 Caco-2(human, adenocarcinoma, colon)로 한림대학교에서 ATCC(American Type Culture Collection, USA)으로부터 구입한 것을 제공받아 사용하였고, 위암세포는 SNU484(human, adenocarcinoma, primary)로 한국세포주은행에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에서 HT-29는 passage 161~168에서, Caco-2는 passage 29~35에서, SNU484는 passage 18~21에서 사용하였다.

세포 배양액은 90% Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM/F12)과 10% FBS, 1% penicillin-streptomycin, 0.2% fungizone을 혼합하여 사용하였다. 세포 배양은 water-jacketed CO₂ incubator(NAPCO, Japan)를 이용하여 37°C에서, 5% CO₂와 95% air의 환경에서 이루어졌다.

세포 배양액인 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM/F12), fetal bovine serum(FBS), trypsin-EDTA, penicillin-streptomycin은 Bio/Whittaker(Maryland, USA)의 제품이었으며, fungizone은 Gibco/BRL(Grand Island, USA)에서 구입하였다. 세포 배양에 사용한 1회용 멸균 용기는 대부분 Corning과 Falcon(USA)의 제품이었다.

시료처리

본 실험은 세포를 계대배양하여 충분한 세포 수를 확보하게 되면 35 mm dish에 세포를 넣고 세포가 배양용기 바닥에 75~85% 한 커로 깔리면 시행하였다. FBS를 첨가하지 않은 serum free medium(SFM)을 2 mL씩 첨가하여 24시간 배양하고 PBS 1 mL로 씻어내고 배양접시 당 SFM 2 mL을 넣은 뒤 버섯 추출물을 실험 내용에 따라 필요량 첨가하고 실험내용에 따라 24~96시간 배양하였다.

MTT 분석

세포 수의 측정은 살아있는 세포수를 측정할 수 있는 좋은 방법으로 알려진 MTT법(22)을 이용하였는데, 이는 mitochondria dehydrogenase가 3-(4,5)-dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT, Sigma Chemicals, USA)를 환원시켜 푸른색 물질인 formazon을 만든다는 원리에 기초한 것이다. 시료 첨가한 dish의 세포수를 측정하기 위해 배양액을 제거한 후 MTT 용액을 첨가한 다음 37°C에서 3시간 배양하고 MTT 용액을 제거하고 iso-propanol을 첨가하여 세포를 녹였다. 96-well plate에 일정량을 넣고 microplate reader(Bio-Rad Laboratories, USA)로 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Caspase-3 활성측정

이 분석법은 예정된 세포사멸인 apoptosis를 이끄는 cysteine protease의 일부인 caspase-3의 활성을 조사하는 방법(18)으로 세포 내에서 자가사멸이 유도되면 단백질 분해효소가 활성화되고, 이와 같이 활성화되면 caspase-3 효소는 세포내의 p-nitroanilide와의 기질결합체인 DEVD-pNA를 분해하여 푸른빛의 pNA와 DEVD를 만든다. 이 효소의 분석은 Apo-Alert caspase-3 colorimetric assay kit(Clontech Co., USA)를 이용하였는데, 배양접시에서 시료처리한 세포를 떼어내어 1,500 rpm에서 5분간 원심분리(Microspin, Hanil Co., Korea)하여 침전물을 택하고, chilled cell lysis buffer를 첨가한 후 얼음에 10분간 두었다가 4°C, 15,000 rpm에서 3분간 원심분리하여, 부유액을 96 well에 넣고 reaction buffer를 첨가하여 37°C에서 30분간 둔 후 caspase-3 substrate를 첨가하고 37°C에서 1시간 후 microplate reader로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단백질측정

단백질의 분석은 Bradford법에 근거한 Bio-Rad Protein assay kit(Bio-Rad Laboratories, USA)를 이용하였다. 이는 용해성 단백질의 농도를 측정하는 단순하면서도 정확한 방법이다. 위의 caspase-3 활성 측정을 위한 처리과정에서 부유액을 일부 취하여 96 well에 넣고 염색시약을 첨가하여 37°C에서 5분간 배양 후 microplate reader로 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

자료의 처리

자료는 SPSS를 이용하여 통계 처리하였다. 평균과 표준

편차를 구하고 대조군에 대한 백분율을 구하였으며, 분산분석 후 실험군 간의 차이는 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검증하였다. 각 평균에서 세포의 배양접시는 2~6개였으며, 실험은 3~5회 반복하여 그 경향을 확인하고 그 중 결과가 분명한 실험을 제시하였다.

결과 및 고찰

버섯이 암세포 증식에 미치는 영향

대장암세포 HT-29 및 Caco-2에 미치는 영향: 대장암 세포인 HT-29에 버섯 추출물을 첨가하고 첨가 수준에 따른 세포 증식을 알아보려고 하였는데, 표고와 새송이버섯 추출물을 serum free medium(SFM)에 각각 6 mg/mL과 12 mg/mL 첨가하고 48시간 배양한 다음 세포수를 측정된 결과는 Table 1에서와 같다. 표고버섯과 새송이버섯 모두 버섯 추출물 6 mg/mL 첨가 시에 HT-29 세포 수는 유의적으로 감소하였으며, 12 mg/mL 첨가에서는 6 mg/mL 첨가에 비해 다시 유의적으로 감소하였다. Table 2에서 다른 종류의 대장암세포인 Caco-2에 표고버섯과 새송이버섯의 추출물이 미치는 영향을 보면 HT-29에서와 마찬가지로 6 mg/mL과 12 mg/mL의 첨가에서 Caco-2 세포수가 유의적으로 감소하였다. 이와 같이 버섯첨가량 증가에 따라 항암효능이 증가한 결과는, Park 등(15)이 간암세포인 H22와 백혈병세포인 L1210에 대한 표고버섯과 느타리버섯의 항암효능을 확인하고 버섯 첨가량이 증가할수록 암세포의 저지율이 증가하였다고

보고한 결과와 유사하다. 따라서 표고버섯과 새송이버섯은 대장암세포의 증식을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었으며, 버섯 첨가량이 많아짐에 따라 증식 억제 효과가 더 뚜렷함을 알 수가 있었다.

버섯 추출물 첨가가 HT-29 세포에 대해 항암 효과가 있음을 확인한 후 버섯 추출물을 첨가하고 처리시간이 경과함에 따라 HT-29 세포에 대한 증식이 어떠한지를 알아보려고 하였다. 표고버섯과 새송이버섯 추출물을 각각 6 mg/mL, 24 mg/mL, 48 mg/mL을 넣고 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 배양한 후 세포 수를 측정하였으며 그 결과는 Fig. 1에서와 같다. 표고버섯과 새송이버섯 추출물을 HT-29 세포에 첨가하였을 때 24시간과 48시간에서 세포 수는 대조군에 비해 큰 차이가 나타나지 않았다. 그러나 72시간에서 표고버섯 추출물은 48 mg/mL의 첨가에서 대조군에 비해 세포 수가 감소하는 경향을 나타내었으나 새송이버섯은 6 mg/mL, 24 mg/mL, 48 mg/mL 모두 대조군과 비슷하였다. 96시간의 배양에서는 표고버섯 추출물의 경우 24 mg/mL과 48 mg/mL의 첨가에서 대조군의 40% 수준으로 감소하였고 새송이버섯 추출물의 경우에는 48 mg/mL에서만 대조군의 50% 수준으로 감소하였다. 표고버섯 다당체를 흰쥐의 백혈병성 임파모세포인 P388에 처리한 연구결과(23)에서 보면 대조군은 24시간, 48시간, 72시간 후에 세포 수가 4×10^4 /mL, 12×10^4 /mL, 60×10^4 /mL로 급속히 증가하였으나 표고버섯 열수추출물을 첨가하였을 때 24시간 경과에는 대조군과 차이가 없었으나 72시간 경과에서는 0.4×10^4 /mL로 증식이 매우 억제되었다는 결과와 유사하다. 또한 이는 파래와 근피의 당단백질을 Sarcoma-180 암세포에 첨가한 연구(24)에서도 시간 경과에

Table 1. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* on cell proliferation in HT-29

| Extract (mg/mL) | | Cell number ($\times 10^3$ /dish) |
|--------------------------|---------|------------------------------------|
| <i>Lentinus edodes</i> | Control | 19.4 \pm 2.9 ^a |
| | 6 | 15.3 \pm 2.2 ^b |
| | 12 | 11.1 \pm 1.1 ^c |
| <i>Pleurotus eryngii</i> | Control | 19.4 \pm 2.9 ^a |
| | 6 | 13.5 \pm 2.7 ^b |
| | 12 | 7.1 \pm 1.1 ^c |

¹⁾Values represent means \pm SD.

²⁾Means sharing a same superscript letter in a column are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* on cell proliferation in Caco-2

| Extract (mg/mL) | | Cell number ($\times 10^3$ /dish) |
|--------------------------|---------|------------------------------------|
| <i>Lentinus edodes</i> | Control | 4.07 \pm 0.61 ^a |
| | 6 | 2.71 \pm 0.35 ^b |
| | 12 | 1.62 \pm 0.19 ^c |
| <i>Pleurotus eryngii</i> | Control | 4.07 \pm 0.61 ^a |
| | 6 | 2.16 \pm 0.21 ^b |
| | 12 | 1.44 \pm 0.29 ^c |

¹⁾Values represent means \pm SD.

²⁾Means sharing a same superscript letter in a column are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

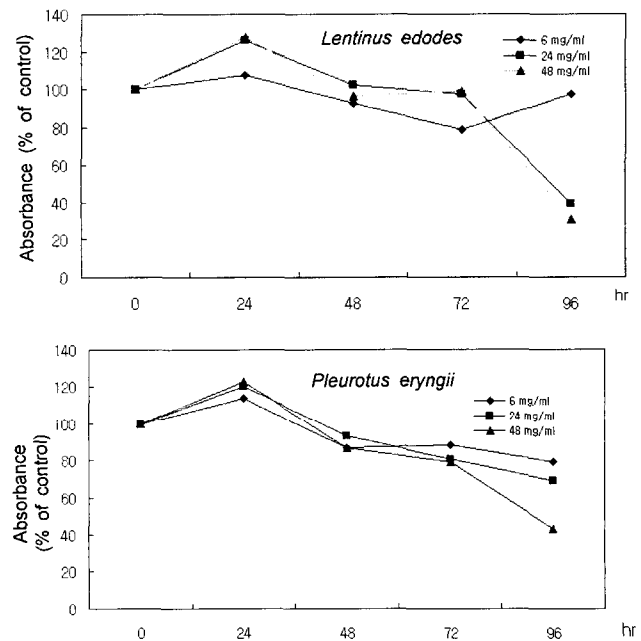


Fig. 1. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* on cell proliferation in HT-29 each treatment period.

따라 암세포증식이 억제되었다는 결과와 비슷하다. 반면 썩의 열수추출물과 향기성분이 세균의 증식에 미치는 영향을 살펴본 연구(25)에서 보면 함유 성분에 따라 12시간에 항균 효과가 큰 경우도 있고 36시간에 항균효과가 큰 경우도 있고 36시간에 항균 효과가 나타나는 경우도 있었다. 따라서 시간에 따른 항균 및 항암효과는 처리물질에 따라 차이가 있음을 알 수 있으며 일반적으로 시간이 경과함에 따라 항암효과는 증가함을 알 수 있다.

위암세포 SNU484에 미치는 영향 : 표고버섯과 새송이버섯 추출물을 6 mg/mL, 12 mg/mL, 24 mg/mL, 48 mg/mL, 72 mg/mL, 96 mg/mL의 농도로 SNU484 세포에 첨가하여 48시간 배양하고 세포 수를 측정할 결과는 Fig. 2에서와 같다. 표고버섯과 새송이버섯은 대장암세포인 HT-29와 Caco-2에서와 달리 위암세포인 SNU484의 증식에는 농도별 통계적 유의성이 나타나지 않아 별다른 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 표고버섯 48 mg/mL과 72 mg/mL의 첨가에서 세포 증식은 다소 억제되는 경향을 보였으나 96 mg/mL의 첨가에서 세포 수는 다시 대조군 수준으로 증가하였다. 새송이버섯의 경우에서도 96 mg/mL까지 첨가하여도 대조군과 거의 비슷한 세포 수를 나타내었다. 즉, 표고버섯과 새송이버섯은 위암세포에 항암효능은 없음을 알 수 있었다.

버섯이 암세포의 세포사멸에 미치는 영향

대장암세포 HT-29에 미치는 영향 : 표고버섯과 새송이버섯이 HT-29 세포의 세포사멸에 미치는 영향은 Fig. 3에서와 같다. 표고버섯 추출물을 6~96 mg/mL까지 HT-29에 첨가하고 세포사멸을 판단할 수 있는 caspase-3 활성을 측정하였는데 버섯의 첨가량이 증가할수록 증가추세를 보였다. 표고버섯의 경우 농도가 증가하면 $Y=25.8X+69.7(R^2=0.97)$ 의 추세로 caspase-3 활성이 증가하였으며 새송이버섯의 경우에도 표고버섯과 비슷하게 $Y=30.0X+66.6(R^2=0.95)$ 의 추세로 caspase-3 활성이 증가함을 나타내었다. 인간의 상피암 세포인 A-431에 curcumin을 처리한 연구(26)에서 보면 curcumin 주입 48시간 뒤 세포 생존율은 10 μM에서 80% 이상이었으나 20 μM 이상에서는 20% 이하로 감소하였으며, 이때 caspase-3 활성은 증가하였으므로 curcumin에 의해 유도된

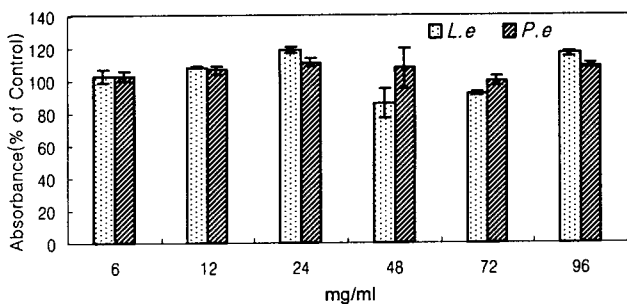


Fig. 2. Effect of *Lentinus edodes* (L.e) and *Pleurotus eryngii* (P.e) extracts on cell proliferation in SNU484. Values represent means ± SD.

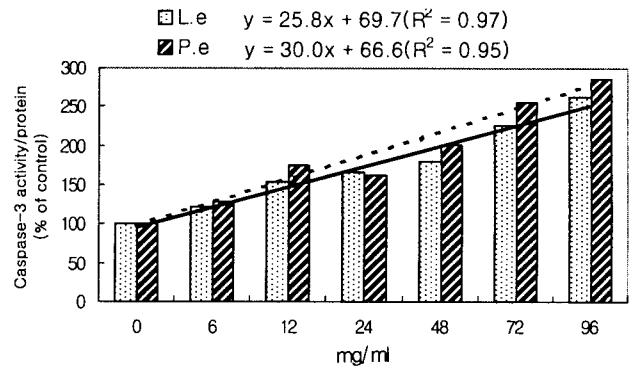


Fig. 3. Effect of *Lentinus edodes* (L.e) and *Pleurotus eryngii* (P.e) extracts on caspase-3 activity in HT-29.

세포사멸을 확인하였다. 또한 비스테로이드 항염제제, 예를 들어 sodium salicylate는 대장암, 폐암, 유방암, 백혈병(27)에서 caspase 활성을 증가시켜서 세포사멸을 유도하였다. Inanami 등(28)은 인간의 백혈병 세포에 X-ray를 조사한 후 지방과산화물 방지하는 항산화제인 Trolox를 투여하고 X-선에 의해 유도된 세포사멸과의 관계를 살펴보았는데, 세포의 세포사멸에서 사다리와 같은 절단에 caspase-3이 관련된다고 하였다. 현재까지 영양소가 세포사멸에 영향을 미치는지는 별로 알려진 바 없으나 PC12 세포에서 choline 결핍에 의해 유도된 세포사멸은 choline을 보충하였을 때 완전히 방지되었고 choline 결핍시 48시간 내에 배양액에 caspase inhibitor를 첨가하였을 때 세포사멸이 방지되었다고 하는 연구결과(29)로 볼 때 영양소도 세포사멸에 영향을 미칠 수 있는 것으로 보인다. 본 연구에서 보면 대장암세포인 HT-29에 표고버섯과 새송이버섯 추출물을 첨가하였을 때 caspase-3 활성이 증가하였는데, 이는 표고와 새송이버섯 추출물의 48 mg/mL 이상 첨가에서 2배 이상 caspase-3 활성이 증가하였으므로 앞에서 본 HT-29 세포의 증식억제는 이 효소의 활성 증가 때문이라고 짐작된다.

위암세포 SNU484에 미치는 영향 : 버섯 추출물이 SNU484 세포에 미치는 영향을 Fig. 4에서보면, HT-29 세포에서와 달리 표고버섯과 새송이버섯 추출물의 첨가에서 caspase-3 활성은 별다른 증가를 나타내지 않음을 알 수 있다. 따라서 이

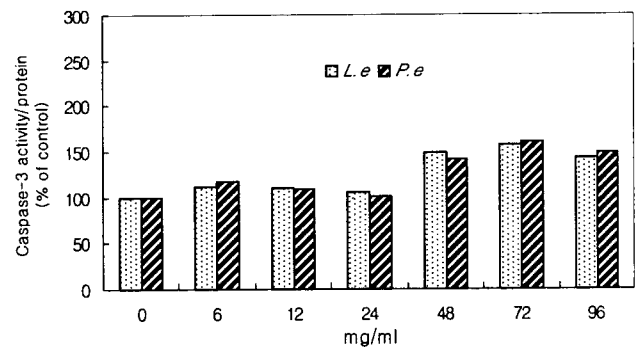


Fig. 4. Effect of *Lentinus edodes* (L.e) and *Pleurotus eryngii* (P.e) extracts on caspase-3 activity in SNU484.

두 종류의 버섯은 대장암과 달리 위암세포에서는 caspase 3 활성으로 미루어볼 때 세포사멸에 별다른 영향을 미치지 못함을 알 수 있다. 또한 SNU484 세포 증식에 유의적 영향이 없으므로 표고버섯과 새송이버섯은 위암세포의 항암효능이 없다고 생각된다.

요 약

본 연구에서는 일반적으로 여러 종류의 질병에 약리 효과가 있다고 알려진 버섯류 중 표고버섯과 새송이버섯을 택하여 열수추출하고 이 추출물을 인간의 대장암 세포인 HT-29 및 Caco-2와 한국인 위암세포인 SNU484에 첨가한 후 세포 증식과 세포사멸을 이끄는 caspase-3 활성을 알아보고자 하였다. 대장암 세포인 HT-29와 Caco-2에 표고버섯과 새송이버섯 추출물을 첨가한 결과 대조군에 비하여 유의적으로 세포 수가 감소하였으며 첨가량이 많아질수록 유의적으로 세포 증식이 더 억제되었다. 표고버섯과 새송이버섯을 HT-29에 첨가 후 배양시간에 따른 세포증식 억제효과를 살펴보았더니 배양시간이 경과함에 따라 세포증식이 억제되는 경향을 나타내었으며 특히 96시간의 처리에 HT-29 증식이 매우 억제됨을 볼 수가 있었다. 세포의 caspase-3 활성을 측정할 결과 표고버섯과 새송이버섯을 48 mg/mL 이상의 농도로 첨가하였을 때 2배 이상 caspase-3 활성이 증가하였으므로 앞에서 본 HT-29 세포의 증식억제는 세포사멸의 증가에 기인한다고 짐작된다. 위암세포인 SNU484에 표고버섯과 새송이버섯을 첨가한 경우에는 세포증식의 억제효과가 없었을 뿐만 아니라 caspase-3 활성도 유의하게 증가하지는 않았다. 즉 위암에는 이 두 종류의 버섯은 효능이 없음을 알 수 있었다. 그러므로 표고버섯과 새송이버섯은 caspase-3 활성을 증가시켜 대장암세포의 증식을 억제하므로 대장암에 대한 항암물질로 개발할 필요가 있을 것으로 사료된다.

문 헌

- Lee JY, Hwang WI, Lim ST. 1998. Effect of *Platycodon grandiflorum* DC extract on the growth of cancer cell lines. *Korean J Food Sci Technol* 30: 13-21.
- Byrd JC, Park JHY, Schaffer BS, Garmroudi F, MacDonald PG. 2000. Dimerization of the insulin-like growth factor II /mannose 6-phosphate receptor. *J Biol Chem* 275: 18647-18656.
- Hwang YK, Kim DC, Hwang WI, Han YB. 1998. Inhibitory effect of *artemisia princeps Pampan.* extract on growth of cancer cell lines. *Korean J Nutr* 31: 799-808.
- Kim YS, Kim MN, Kim JO, Lee JH. 1994. The effect of hot water-extract and flavor compounds of mugwort on microbial growth. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 994-1000.
- Kuo ML, Huang TS, Lin JK. 1996. Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells. *Biochim Biophys* 1317: 95-100.
- Beaulieu JF, Quaroni A. 1991. Clonal analysis of sucrase-isomaltase expression in the human colon adenocarcinoma Caco-2 cells. *Biochem J* 280: 599-608.
- Lal CN, Butler A, Matney TS. 1980. Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. *Mutation Res* 77: 245-250.
- Bertram S, Churley M, Kappock L, Wilkins L, Cooney V. 1991. Diverse carotenoids protect against chemically induced neoplastic trans-formation. *Carcinogenesis* 12: 671-678.
- Cross S, Quaroni A. 1991. Inhibition of sucrase-isomaltase expression by ECF in the human colon adenocarcinoma cells Caco-2. *Am J Physiol* 261: C1173-1183.
- Fitzgerald P, Teng M, Chandraratna RAS, Heyman RA, Allegretto EA. 1997. Retinoic acid receptor α expression correlates with retinoid-induced growth inhibition of human breast cancer cells, regardless of estrogen receptor status. *Cancer Res* 57: 2642-2650.
- Joo EJ, Kim IS, Seo EA. 2000. Effects of fructus schisandrae water extract on cultured mouse myocardial cells induced by xanthine oxidase/hypoxanthine. *Korean J Nutr* 33: 739-744.
- Lee JH, Kim KH, Kim DY. 1999. Effect of various of dietary fat on cell proliferation of rat colon. *Korean J Nutr* 32: 394-400.
- Rho SN, Hong JJ. 1998. Anti-tumor effect and the change of chitisan in human lung cancer line. *Korean J Nutr* 31: 739-746.
- Ahn DK. 1992. Medicinal fungi in Korea. *Korean Mycol* 20: 154-166.
- Park MH, Oh KY, Lee BW. 1998. Anti-cancer of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 30: 702-708.
- Guillen F, Munoz C, Gomez-Toribio V, Martinez AT, Martinez MJ. 2000. Oxygen activation during oxidation of methoxyhydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*. *Applied Environ Microbiology* 66: 170-175.
- Chung KS, Kim BK. 1985. Studies on antitumor constituents of *Pluteus cervinus*. *Seoul Univ J Pharm Sci* 10: 1-18.
- Steller H. 1995. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 267: 1445-1449.
- Lee CH, Chung MC, Lee HJ, Kho YH. 2000. An apoptosis regulator isolated from *Petasites japonicum*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 448-453.
- Jaruga E, Sokal A, Chrul S, Bartosz Z. 1998. Apoptosis-independent alteration in membrane dynamics induced by curcumin. *Exp Cell Res* 245: 303-312.
- Jiang S, Cai J, Wallace C, Jones P. 1999. Cytochrome c-mediated apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *J Biol Chem* 274: 29905-29911.
- Denizot F, Lang R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* 89: 271-277.
- Choi MY, Jung TY, Hahm KJ. 1995. Cytotoxic effects of hot water soluble polysaccharides from mushroom, *lentinus edodes* and vitamin A and E supplementation against P388 cells. *Korean J Nutr* 28: 1091-1099.
- Lee YS, Kim DS, Ryu BH, Lee SH. 1992. Anti-tumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 544-550.
- Rhee YK, Han MJ, Park SY, Kim DH. 2000. In vitro and vivo antitumor activity of the fruit body of *Phellinus linteus*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 477-480.
- Shim JS, Lee HJ, Park SS, Cha BG, Chang HR. 2001. Curcumin-induced apoptosis of A-431 cells involves caspase-3 activation. *Biochem Mol Biol* 34: 189-193.
- Klampfer L, Cammenga J, Wisniewski H-G, Nimer SD. 1994.

- Sodium salicylate activates caspases and induces apoptosis of myeloid leukemia cell line. *Blood* 93: 2386-2394.
28. Inanami O, Takahashi K, Kuwabara M. 1999. Attenuation of caspase-3 dependent apoptosis by trolox post-treatment of x-irradiated MOLT-4 cells. *Int J Radiation Biol* 75: 155-164.
29. Yen CLE, Mar MH, Zeisel SH. 1999. Choline deficiency-induced apoptosis in PC12 cells is associated with diminished membrane phosphatidylcholine and sphingomyelin, accumulation of ceramide and diacylglycerol, and activation of a caspase. *FASEB J* 13: 135-142.

(2002년 12월 5일 접수; 2003년 3월 6일 채택)