

잎새버섯(*Grifola frondosa*) 균사체의 기능성 다당류 최적 추출방법 및 항암효과

박찬호 · 이경민 · 남은정 · 유연희 · 김용현 · 권현정 · 윤옥현* · †한만덕
순천향대학교 생명과학과, *김천대학교 식품영양학과

Optimum Extraction Conditions and Anticancer Effect of Functional Polysaccharide from Mycelia of *Grifola frondosa*

Chan Ho Park, Gyeong Min Lee, Eun Jeong Nam, Yeon Hee Yu, Yong Hyun Kim,
Hyun Jung Kwon, Ok-Hyun Yoon* and †Man-Deuk Han

Dept. of Biology, College of Natural Science, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

*Dept. of Food Nutrition, Gimcheon University, Gimcheon 740-704, Korea

Abstract

Grifola frondosa has been used as an herbal medicine for the treatment of cancer, diabetes mellitus and high blood pressure. In this study, functional polysaccharide was obtained from *Grifola frondosa* using four different extraction methods: hot water(HwFP), homogenize(HgFP), acid(AcFP), and alkali(AlFP) extraction methods. The effects of these extracts on KB and HepG2 cell lines were then examined for any anti-cancer activity. Alkaline extraction produced a yield of 0.175% and the total sugar content of the extract was 54.97%. We were able to confirm that the polysaccharide extracts from the mushroom produce an anti-cancer effect. The cytotoxicity of AlFP and AcFP against HepG2 cells were 22.86% and 28.88%, respectively, and the cytotoxicity of AlFP against the KB cell lines was 47.76% at a concentration of 1,000 µg/ml. Therefore, these results suggest that the optimum method for extracting functional polysaccharides from *G. frondosa* is the alkali extraction method.

Key words: *Grifola frondosa*, polysaccharide, alkali extraction, anti-cancer effect

서 론

식용버섯은 암의 퇴행이나 면역 증진, 그리고 세균성 감염의 억제에 효과가 있다(Wasser & Weis 1999). 1962년 표고버섯(*Lentinula edodes*) 자실체의 열수추출물이 실험동물에 이식된 종양을 억제하는 것이 밝혀진 이래, 잎새버섯(*Grifola frondosa*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 등의 다양한 버섯이 항암활성이 있는 것으로 보고되었다(Ikekawa 등 1969). 이와 같은 항암효과는 일반적으로 버섯의 생리활성 물질이 암세포에 직접 작용하거나, 다당류와 같은 면역 활성 성분이 숙주

의 면역계를 활성화 시켜 암세포의 사멸을 유도하여 일어난다. 특히 버섯의 다당류는 화학요법제와 병용 투여하여 항암제의 부작용을 줄이고, 암 치료율을 증가시키는데 활용되어 왔다(Fukuda 등 1975).

잎새버섯(*G. frondosa*)은 분류학적으로 담자균류 민주름버섯목(Aphyllphorales), 구멍장이버섯과(Polyphoraceae), 잎새버섯속(*Grifola*)에 속하는 버섯으로 여름과 가을에 참나무류, 활엽수류 생입목, 고사목의 지제부나 뿌리 주변에 다발로 발생하며, 한국, 일본, 유럽, 미국 등에 분포하는 백색부후균이다. 잎새버섯은 식용이면서 약리작용이 뛰어난 기능성 버섯으로

* Corresponding author: Man-Deuk Han, Dept. of Biology, College of Natural Science, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea. Tel: +82-41-530-4702, Fax: +82-41-530-1256, E-mail: mdhan@sch.ac.kr

인체의 면역력을 증가시키고, 종양 억제율이 우수하다(Wu 등 2006). Suzuki 등(1989)은 잎새버섯의 균사체에서 추출한 β -glucan을 fibrosarcoma, L1210 leukemia 및 P388 leukemia 등의 암세포를 이식한 생쥐에 투여한 결과, 항암활성뿐만 아니라 면역에 관여하는 자연살해세포(natural killer cell) 및 대식세포(macrophage)의 활성을 상승시켜 암을 저해하는데 효과가 있다고 보고하였다. 이러한 연구를 바탕으로 잎새버섯의 다당류는 암세포에 대해 기존의 화학치료제와 병행 시 부작용을 줄이고 암세포를 억제하여 항암보조제로 1998년 미국 FDA 승인을 획득해 현재 시판되고 있다(Kodama 등 2005). Kodama 등(2005)과 Nanba & Kubo(1997)의 연구에서 잎새버섯으로부터 분리한 D-fraction이 암환자의 예방 및 치료에 유용하였으며, 미국 Memorial Sloan-Kettering 암센터에서 잎새버섯 다당류를 유방암 환자를 대상으로 임상 1, 2상 시험 결과, 면역체계를 증강시켜 암의 경감효과가 있는 것으로 보고하였다 (Deng 등 2009). 이러한 다당류는 *in vitro*(Kodama 등 2005) 또는 *in vivo*(Kodama 등 2004)에서 NK세포와 같은 면역세포 자극에 의한 것으로 밝혀졌다. Fullerton 등(2000)과 Lin & Liu (2006)은 *In vitro* 시험에서 잎새버섯은 암세포주(인간 전립선 암세포, 간암세포 Hep 3B)에 apoptosis를 통하여 암생장을 억제한다고 보고하였다. 또한 잎새버섯의 기능성 성분들은 AIDS의 원인균인 HIV에 대한 억제작용(Nanba 등 2000), 혈압강하(Choi 등 2001), 콜레스테롤 억제(Fukushima 등 2001), cyclooxygenase 효소를 억제하는 항산화 작용(Zhang 등 2002), 혈당강하(Matsuur 등 2002), 혈관내피세포의 성장 억제를 통한 신생혈관을 억제(Lee 등 2008)등 많은 연구결과들이 보고되었다. 그리고 Taouatas 등(2008)의 연구에 의하면 잎새버섯으로부터 분리한 특이한 단백질 분해효소인 Lys-N은 단백질 절단의 특이성으로 인해 프로테오마스 실험에 이용되고 있다. 한방에서도 잎새버섯은 혈압강하, 이뇨작용, 비만치료, 강장작용, 항빈혈작용 등에 효능이 있어 한약재로 이용되어 왔다(Ying 등 1987).

본 연구에서는 잎새버섯 균사체에서 열수, 분쇄, 산, 알칼리의 추출 방법을 이용하여 다당류를 추출하고, 각 추출공정에 따른 다당류의 항암 효과를 비교하였다. 이러한 추출조건에 따른 효능연구는 잎새버섯에서는 아직까지 수행된 적이 없고, 향후 버섯으로부터 기능성 다당류의 대량생산과 그 활용에 이용하고자 실험하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용된 잎새버섯은 한국버섯균주은행(CCDBM, Culture Collection of DNA Bank of Mushroom, Incheon university,

Korea)에서 제공 받아 사용하였다.

2. 배지

1) 종균배양배지

잎새버섯 균사체는 potato dextrose agar(PDA) 배지에 균주를 보관하였으며, potato dextrose broth(PDB) 배지에서 균사체를 14일간 배양하여 활성화 시킨 후 7일간 계대 배양하여 접종용으로 사용하였다.

2) 실험배지

잎새버섯 균사체의 생장곡선 측정과, 다당류 추출방법을 위한 균주 활성화는 버섯 기본 배지 중 하나인 Raper's medium (Raper 등 1972)을 사용하였다.

3. 균사체 생장 및 다당류 생성 측정

500 ml 삼각플라스크에 300 ml 종류수에 Raper's medium 조성에 따라 배지를 만들어 총량의 10%의 균을 접종하였다. 7일간(140 rpm, 25°C)으로 진탕배양하여 매일 20 ml의 균사체 배양액을 여과지(Whatman's filter paper No. 4)를 이용하여 균사체와 배양액을 여과하였다. 균사체는 건조기(60°C)에서 overnight 한 후 균사체량을 측정하고, 배양액은 3배량의 95% ethanol을 첨가하여 4°C에서 overnight한 후 6,000×g에서 15분간 원심분리하여 침전물을 건조한 후 다당류를 측정하였다(Han 등 1995).

4. 잎새버섯 균사체 다당류 추출

잎새버섯 균사체에서 다당류 추출공정은 Kim 등(2005)의 방법을 변형하여 Raper's 배지에서 7일간 배양한 잎새버섯 균사체 배양액을 표준체(No. 90)로 여과하여 배양액은 버리고, 균사체를 이용하여 Fig. 1, 2와 같이 추출하였다(Kim 등 2005).

(1) 열수 추출

잎새버섯 균사체에 3배량의 종류수를 넣고 100°C로 1시간 동안 가열한 후 표준체(No. 90)로 여과하였다. 여과물은 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상청액을 얻고, 이에 3배량의 에탄올을 넣어 4°C에서 하룻밤 동안 냉침시켰다. 냉침된 침전물을 수집하여 15,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 침전물을 얻은 후, 이를 동결건조하여 열수 추출된 다당류(HwFP)를 얻었다.

(2) 분쇄 추출

잎새버섯 균사체에 2배의 종류수를 넣고 균질기(AM-9, Nihonseiki Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)로 10,000 rpm에서 1분 동안 분쇄한 후, 표준체(No. 90)로 여과하였다. 여과물은 15,000

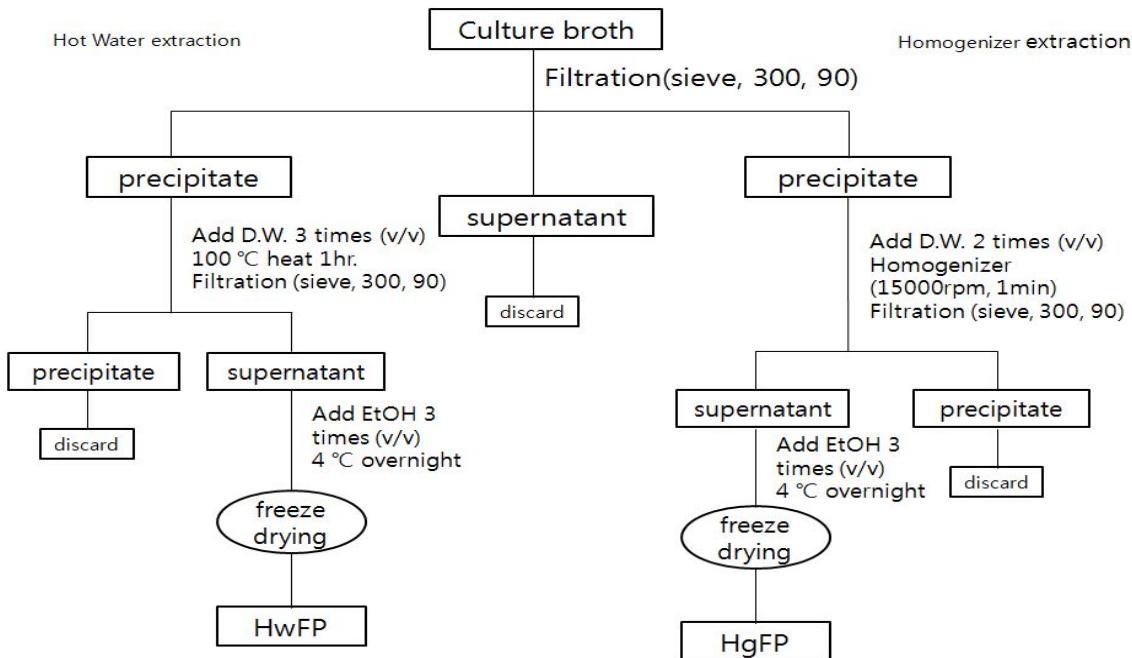


Fig. 1. Hot water and homogenizing extraction flow chart to extract polysaccharide from mycelium of *Grifola frondosa*.

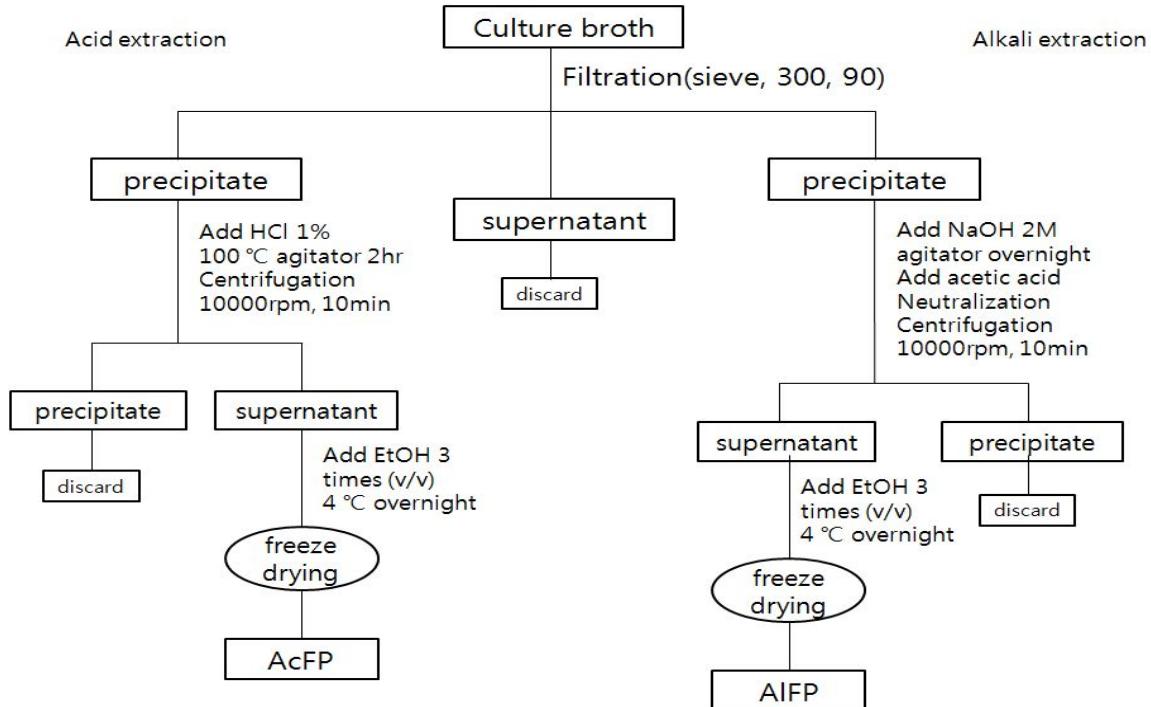


Fig. 2. Acid and alkali extraction flow chart to extract polysaccharide from mycelium of *Grifola frondosa*.

rpm에서 10분간 원심분리하여 상청액을 얻고, 여기에 3배량의 에탄올을 넣어 4°C에서 하룻밤 동안 냉침시켰다. 상청액은 버리고, 침전물을 수집하여 15,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 침전물을 얻은 후 동결건조하여 분쇄 추출된 다당

류(HgFP)를 얻었다.

(3) 산 추출

잎새버섯 균사체에 1% HCl(v/v)을 넣고 2시간 동안 100°C

로 교반하였다. 그 후 NaOH를 이용하여 중화시킨 후(pH 7.0), 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 상청액을 얻었다. 상청액에 3배량의 에탄올을 넣어 4°C에서 하룻밤 동안 냉침시킨 후, 15,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 침전물을 얻은 후, 이를 동결건조하여 산 추출된 다당류(AcFP)를 얻었다.

(4) 알칼리 추출

잎새버섯 균사체에 NaOH를 2 M 농도가 되도록 첨가하여 24시간 동안 교반한 후 acetic acid를 이용하여 중화시킨 후(pH 7.0) 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하였다. 상청액에 3배량의 에탄올을 넣어 4°C에서 하룻밤 동안 냉침시킨 후, 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 침전물을 얻은 후, 이를 동결건조하여 알칼리 추출된 다당류(AlFP)를 얻었다.

5. 다당류 추출물의 총 당 정량

다당류의 총 당 정량은 Phenol-Sulfuric acid법(DuBois 등 1956)으로 측정하였다. 위해 추출공정별 추출한 다당류 1 mg을 saline 10 mL에 녹이고 시료 조제액 1 mL에 phenol 25 μ L를 가한 다음 sulfuric acid 2.5 mL를 가하여 30°C에서 20분간 반응한 후 실온에서 냉각시킨 다음 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 포도당(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 하여 100 μ g/mL stock solution을 만들고, 단계별 표준용액을 만들어 당 함량을 정량하였다.

6. 추출방법에 따른 다당류의 항암효과 비교

항암실험에 사용된 암세포주는 한국세포주은행(KCLB)에서 분양받아 사용하였으며, 사용한 암세포주는 인간유래 간암세포주(HepG2, KCLB No. 88065), 구강암세포주(KB, KCLB No. 10017)를 RPMI 1640(with 25 mM HEPES and 10% FBS) 배지로 3일 계대 배양하여 사용하였다. 암세포의 활성화 상태를 알기 위하여 hemocytometer(cat. no. 6300-30, Marienfeld-superior, Germany)로 세포수를 측정하였다. 배양 3일 후 암세포주(HepG2, KB)를 culture plate에서 떼어 내기 위해 trypsin-EDTA(0.25%)를 사용하여 떼어낸 암세포를 5분간 800 rpm으로 원심분리 하였다. 상청액은 버리고 새로운 배지로 혼탁액을 만들어 trypan blue 용액(0.4%)과 20 μ L씩 1:1 비율로 섞어 염색하여 세포수를 측정하였다. 세포수를 측정한 후 1×10^5 cells/mL 농도로 조정하여 실험에 사용하였다. 항암 효과를 알아보기 위하여 96 well plate에 각 암세포주를 100 μ L씩 분주하여 2시간 배양하였다. 다당류 추출물을 HwFP는 50 μ g/mL, 25 μ g/mL, HgFP, AlFP, AcFP는 1 mg/mL, 100 μ g/mL, 10 μ g/mL 농도로 분주하여 24시간 배양했다. 배양 후 96 well plate를 37°C에서 4시간 동안 MTT(5 mg/mL) 10 μ L를 넣어 반응시키고 배양액을 버린 후 DMSO를 처리하여 microplate reader(Fluostar,

BMG labtech, Australia)에서 5분간 교반 후 540 nm에서 O.D. (optical density)값을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 균사체 및 기능성 다당류 생장 측정

Raper's medium에서 잎새버섯의 균사체 및 기능성 다당류의 생장 측정 결과, 0일부터 4일까지는 균사체와 다당류의 변화는 적었으나, 5일차에 균사체(3.97 g/L)와 다당류(2.46 g/L) 생산이 가장 높은 수치를 보였으며, 6일차부터 균사체와 다당류는 감소하였다(Fig. 3). 이를 통해 잎새버섯 균사체는 배양 5일 째가 최대 생장율을 나타내었다. Lee BC(2004)가 분리 동정한 잎새버섯의 생장 및 다당류의 생육특성을 확인한 결과, 약 3~4일에서 생장 및 다당류의 최대 생육특성을 나타낸다고 하였으며, 이는 본 연구와 차이는 있으나, 이는 균주의 특성에 따라 최대 생육 및 다당류 생산이 차이 나는 것으로 판단된다.

2. 다당류 추출방법별 수율

균사체 및 다당류 생장 측정에서 얻은 결과를 통해 5일 동안 배양한 잎새버섯을 열수, 분쇄, 산, 염기의 4가지 추출방법으로 기능성 다당류를 추출하였다. 잎새버섯 균사체에서 기능성 다당류를 추출한 결과, 알칼리 추출법이 0.175 g으로 가장 높은 0.175%의 수율을 보였고, 1% HCl을 이용한 추출은 0.79%, 분쇄추출은 0.016%, 그리고 열수추출에서 가장 적은 0.004%의 수율을 나타내었다(Table 1). Kim 등(2011)이 잎새버섯 자실체에서 조다당류를 열수, 중성염, 메탄올을 이용해 추출한 결과, 메탄올, 중성염, 열수추출 순서로 높은 수율을 얻었다고 보고하였으며, Kim 등(2005)은 노루궁뎅이버섯 추출 공정별 다당류 추출결과 3% NaOH를 이용한 알칼리 추출법에서 추출 수율이 가장 높다고 보고하였다. 또한, Park &

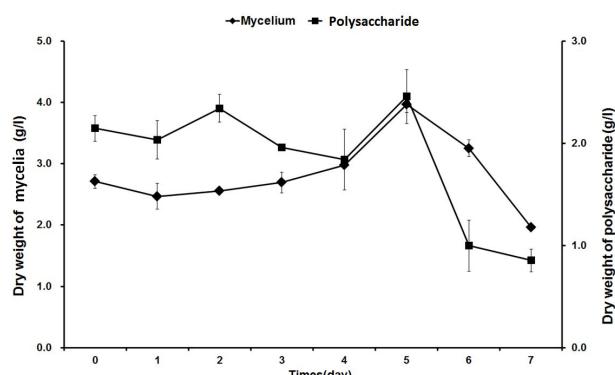


Fig. 3. Growth curve of mycelium and functional polysaccharide from *Grifola frondosa* at 7 days.

Table 1. Yields of polysaccharides extracted from mycelium of *Grifola frondosa*

Fraction ¹⁾	Weight of mycelium(g)	Weight of polysaccharide extract(g)	Yield ²⁾ (%)
HwFP	100	0.004	0.004
HgFP	100	0.016	0.016
AcFP	100	0.079	0.079
AlFP	100	0.175	0.175

¹⁾ Abbreviations : HwFP = hot water extract, HgFP = homogenized extract, AcFP = extracted with 1% HCl, AlFP = extracted with 2 M NaOH.

²⁾ Yield(%)=[Weight of mycelium(g)/Weight of polysaccharide extract] ×100.

Lee(1997)는 표고버섯 배양액으로부터 계면활성제인 Triton X-100을 이용하여 다당류를 추출한 결과, 열수 추출보다 효과적이라고 보고하였다. 이와 같은 결과는 알칼리성 추출 용매는 버섯류의 세포벽에 함유되어 있는 기능성 다당류의 추출이 용이하기 때문인 것으로 여겨진다.

3. 추출방법별 다당류의 총 당 함량

표준 곡선을 기준으로 한 다당류의 당 함량은 열수추출물(HwFP)이 84.97%로 가장 높았으며, 추출 수율이 가장 높았던 알칼리로 추출한 다당류는 54.97%로 나타났다(Table 2). Kim 등(2005)은 노루궁뎅이버섯의 추출 공정별 당 함량을 조사한 결과, 100℃에서 60분간 열수 추출한 다당류 추출물의 당 함량은 83.33%로 가장 높게 측정되었으며, HCl을 이용한 추출물의 당 함량은 58~75%, NaOH를 이용한 추출물은 41~62%로 보고하였다. 이는 본 연구결과, 열수 추출물에서 가장 높은 당 함량을 보인 것과 유사하며, 알칼리 추출물의 당 함량도 Kim 등(2005)과 유사하게 나타났다.

4. 추출방법에 따른 다당류의 항암효과

Table 2. Content of total sugar functional polysaccharide by hot, homogenizing, acid, alkali extraction from *Grifola frondosa*

Fraction ¹⁾	Total sugar(%)
HwFP	84.97
HgFP	1.73
AcFP	17.48
AlFP	54.97

¹⁾ See the legend of Table 1.

추출법에 따른 다당류의 항암효과를 비교하기 위하여 구강암 세포주인 KB cell과 간암세포주인 HepG2 cell에 처리하여 항암효과를 확인하였다. KB cell에 각 다당류를 처리한 결과, 1,000 μg/ml 농도를 처리하였을 때 AlFP에서 47.76%로 가장 높은 세포 독성을 나타냈으며, AcFP는 28.71%, HgFP는 20.92% 순으로 암세포에 대한 세포독성을 나타냈다(Fig. 4). 간암세포주인 HepG2 cell에서는 1,000 μg/ml 농도에서 AcFP를 처리 하였을 때 28.88%로 가장 항암효과가 높았으며, 다음으로 알칼리 추출물인 AlFP가 22.86%로 암세포주 억제 효과가 높았다(Fig. 5). Kim 등(2011)이 세포독성 실험에서 잎새버섯 조다당류 2 mg/ml 농도에서 NIH3T3과 HT-29에서 항암효과를 나타냈다고 보고하였으며, Kwon 등(2003)은 아가리

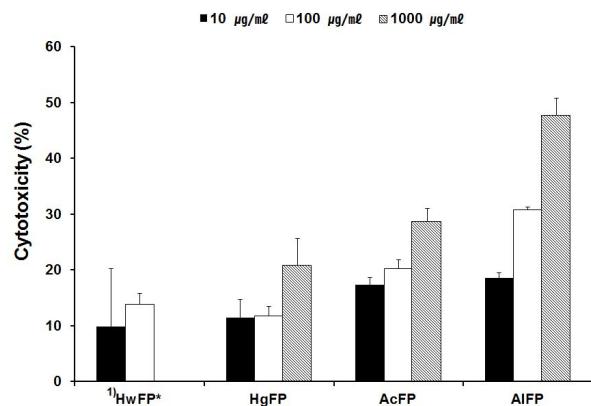


Fig. 4. Anticancer effect of functional polysaccharide extracts from *Grifola frondosa* against KB cell. ¹⁾ See the legend of Table 1. *Concentration of HwFP was at 25 μg/ml and 50 μg/ml.

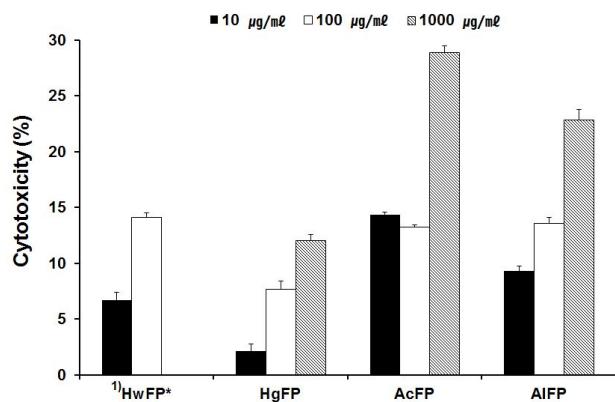


Fig. 5. Anticancer effect of functional polysaccharide extracts from *Grifola frondosa* against HepG2 cell. ¹⁾ See the legend of Table 1. *Concentration of HwFP was at 25 μg/ml and 50 μg/ml.

쿠스, 표고, 영지, 운자, 상황버섯 배양액 열수 추출물의 항암효과를 비교해본 결과, 1 mg/ml 이상의 농도에서 세포독성을 나타내는 것으로 보아, 잎새버섯 균사체에서 추출한 기능성 다당류는 1 mg/ml 이상의 농도에서 항암효과를 나타낼 수 있는 것으로 사료된다. 잎새버섯 다당류가 여러 암세포주에 대해 효과가 다르게 나타나는 것은 버섯의 다당류 추출 방법에 따른 기능성 다당류의 성분, 분자량이 다르고, 암세포주의 특성도 각각 다르기 때문인 것으로 여겨진다. 또한, Lee 등 (1994)은 영지버섯 균사체로부터 알칼리 추출법을 통하여 얻은 조다당의 mouse 경구투여로 인한 급성독성을 확인한 결과, 반수 치사량(Lethal Dose 50, LD₅₀)이 2.2 g/kg 이상으로 독성이 거의 없는 것으로 보고하였으며, 이는 본 연구에서 잎새버섯으로부터 알칼리 추출된 다당류도 중화와 정제단계를 통해 독성이 없을 것으로 판단된다. 따라서 잎새버섯의 알칼리 추출 분획물은 우수한 암세포 억제 효과가 있어 항암보조제로 이용 가능성이 있을 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 다양한 추출공정에 의하여 제조된 잎새버섯(*G. frondosa*) 균사체로부터 기능성 다당류 추출 분획의 항암효과를 구강암세포주인 KB cell과 간암세포주인 HepG2 cell을 사용하여 확인하였다. 실험결과, 잎새버섯 균사체의 최대 생장일은 5일째였으며, 추출공정별 수율을 비교한 결과, 알칼리 추출법으로 추출한 AlFP(0.175%)의 수율이 가장 우수하였고, 1% HCl을 이용한 추출물(AcFP, 0.79%), 분쇄추출물(HgFP, 0.016%), 열수추출물(HwFP, 0.004%) 순이었다. 추출한 기능성 다당류의 항암효과를 KB cell과 HepG2 cell을 통해 실험한 결과, KB cell에서는 AcFP와 AlFP가 1 mg/ml에서 각각 38.68%, 28.69%의 항암효과를 보였고, HepG2 cell에서는 AlFP가 1 mg/ml에서 28.85% 항암효과를 보여 알칼리 추출법으로 추출한 기능성 다당류인 AlFP가 우수한 효과를 나타내었다. 이상과 같이 잎새버섯의 기능성 다당류는 우수한 암세포 억제 효과가 있어 항암보조제로 이용 가능성이 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- Choi HS, Cho HY, Yang HC, Ra KS, Suh HJ. 2001. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Grifola frondosa*. *Food Res Int* 34:177-182
- Deng G, Lin H, Seidman A, Fornier M, D'Andrea G, Wesa K, Yeung S, Cunningham-Rundles S, Vickers AJ, Cassileth B. 2009. A phase I/II trial of a polysaccharide extract from *Grifola frondosa*(Maitake mushroom) in breast cancer patients: immunological effects. *J Cancer Res Clin Oncol* 135:1215-1221
- DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28:350-356
- Fukuda K, Uematsu T, Hamada A, Ariya S, Komatsu N. 1975. The polysaccharide from *Lampteromyces japonicus*. *Chem Pharm Bull* 23:1955-1959
- Fukushima M, Ohashi T, Fujiwara Y, Sonoyama K, Nakano M. 2001. Cholesterol-lowering effects of maitake(*Grifola frondosa*) fiber, shiitake(*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake(*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Exp Biol Med* 226:758-765
- Fullerton SA, Samadi AA, Tortorellis DG, Choudhury MS, Mallouh C, Tazaki H, Konno S. 2000. Induction of apoptosis in human prostatic cancer cells with beta-glucan(Maitake mushroom polysaccharide). *Mol Urol* 4:7-13
- Han MD, Lee JW, Jeong H, Chung SK, Lee SY, Yoon KH. 1995. The effects of carbon sources on antitumor and anti-complementary activities of Ganoderan extracted from the mycelium of *Ganoderma lucidum* IY009. *Kor J Mycol* 23:209-225
- Ikekawa T, Uehara N, Maeda Y, Nankinishi M, Fukoka F. 1969. Antitumor activity of aqueous extracts of edible mushrooms. *Cancer Res* 29:734-735
- Kim JH, Cha YJ, Shim MJ, Lee MW, Lee TS. 2011. Immuno-stimulating and antitumor effects of crude polysaccharides extracted from fruiting body of *Grifola frondosa*. *Kor J Mycol* 39:68-77
- Kim SP, Choi YH, Kang MY, Nam SH. 2005. Effects of the extracts by extraction procedures from *Hericium erinaceus* on activation of macrophage. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48:285-291
- Kodama N, Komuta K, Nanba H. 2002. Can maitake MD-fraction aid cancer patients? *Altern Med Rev* 7:236-239
- Kodama N, Komuta K, Sakai N, Nanba H. 2002. Effects of D-Fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa* on tumor growth involve activation of NK cells. *Biol Pharm Bull* 25:1647-1650
- Kodama N, Komuta K, Nanba H. 2003. Effect of Maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the activation of NK cells in cancer patients. *J Med Food* 6:371-377
- Kodama N, Murata Y, Nanba H. 2004. Administration of a polysaccharide from *Grifola frondosa* stimulates immune function

- of normal mice. *J Med Food* 7:141-145
- Kodama N, Asakawa A, Inui A, Masuda Y, Nanba H. 2005. Enhancement of cytotoxicity of NK cells by D-Fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa*. *Oncol Rep* 13:497-502
- Kodama N, Murata Y, Asakawa A, Inui A, Hayashi M, Sakai N, Nanba H. 2005. Maitake D-fraction enhances antitumor effects and reduces immunosuppression by mitomycin C in tumor-bearing mice. *Nutrition* 21:624-629
- Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST, Park KM, Hwangbo S. 2003. Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia of mushroom. *Korean J Food Nutr* 16:15-21
- Lee BC. 2004. Production of exopolysaccharide from submerged culture of *Grifola frondosa* HB0071 and its cosmetic application. Ph. D. Thesis, Kon-Kuk Uni. Seoul. Korea
- Lee JS, Park BC, Ko YJ, Choi MK, Choi HG, Yong CS, Lee JS, Kim JA. 2008. *Grifola frondosa*(maitake mushroom) water extract inhibits vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis through inhibition of reactive oxygen species and extracellular signal-regulated kinase phosphorylation. *J Med Food* 11:643-651
- Lee KH, Lee CO, Lee JW, Jeong H, Han MD, Jeong JH, Oh DH. 1994. Pharmacological, toxicological studies of antitumor polysaccharides obtained from *Ganoderma lucidum* IY 009. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 22:182-189
- Lin JT, Liu WH. 2006. o-Orsellinaldehyde from the submerged culture of the edible mushroom *Grifola frondosa* exhibits selective cytotoxic effect against Hep 3B cells through apoptosis. *J Agric Food Chem* 54:7564-7569
- Masuda Y, Murata Y, Hayashi M, Nanba H. 2008. Inhibitory effect of MD-Fraction on tumor metastasis: involvement of NK cell activation and suppression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 expression in lung vascular endothelial cells. *Biol Pharm Bull* 31:1104-1108
- Matsuur H, Asakawa C, Kurimoto M, Mizutani J. 2002. Alpha-glucosidase inhibitor from the seeds of balsam pear (*Momordica charantia*) and the fruit bodies of *Grifola frondosa*. *Biosci Biotechnol Biochem* 66:1576-1578
- Nanba H, Kodama N, Sbchar D, Turner D. 2000. Effects of Maitake(*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycoscience* 41:293-295
- Nanba H, Kubo K. 1997. Effect of Maitake D-fraction on cancer prevention. *Ann N Y Acad Sci* 833:204-207
- Park KS, Lee BL. 1997. Extraction and separation of protein-bound polysaccharide by *Lentinus edodes*. *Korean J Food Nutr* 10:503-508
- Raper CA, Raper JR, Miller RE. 1972. Genetic analysis of the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 64:1088-1117
- Suzuki I, Hashimoto K, Oikawa S, Sato K, Osawa M, Yadomae T. 1989. Antitumor and immunomodulating activities of a β -glucan obtained from liquid-cultured *Grifola frondosa*. *Chem Pharm Bull* 37:410-413
- Taouatas N, Drugan MM, Heck AJ, Mohammed S. 2008. Straightforward ladder sequencing of peptides using a Lys-N metalloendopeptidase. *Nat Methods* 5:405-407
- Wasser SP, Weis AL. 1999. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycete mushroom: Current perspectives. *Int J Med Mushrooms* 1:47-50
- Wu MJ, Cheng TL, Cheang SY, Lian TW, Wang L, Chiou SY. 2006. Immunomodulatory properties of *Grifola frondosa* in submerged culture. *J Agric Food Chem* 54:2906-2914
- Ying J, Mao X, Ma Q, Zong Y, Wen H. 1987. Icons of Medicinal Fungi from China. p. 195. Science Press, Beijing, China
- Zhang Y, Mills GL, Nair MG. 2002. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant compounds from the mycelia of the edible mushroom *Grifola frondosa*. *J Agric Food Chem* 50:7581-7585

접 수 : 2012년 2월 27일
 최종수정 : 2012년 3월 9일
 채 택 : 2012년 3월 14일