

상항버섯(*Phellinus linteus*)과 아가리쿠스버섯(*Agaricus blazei* Murill) 추출물의 유전독성 억제효과

지정환 · 김미남 · 정차권* · 함승시[†]

강원대학교 식품생명공학부

*한림대학교 생명과학부

Antigenotoxic Effects of *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei* Murill Extracts

Jeong-Hwan Ji, Mi-Nam Kim, Cha-Kwon Chung* and Seung-Shi Ham[†]

Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

*School of Life Science, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

Abstract

This study was designed to demonstrate the antigenotoxic potential of methanol extracts from *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei* Murill against the frequency of micronucleated polychromatic erythrocyte (MNPCE) produced by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) *in vivo*. We used the mouse bone marrow test system to measure the effect of single treatment of each samples. Each extract was administered to animals at doses of 10, 20, 40 and 80 mg/kg immediately after injection of MNNG and the exposure time was 36 hours. *P. linteus* methanol extracts revealed 10.6%, 24.4%, 40.7% and 75.6% of inhibition at doses of 10, 20, 40 and 80 mg/kg, respectively. And *P. linteus* methanol fractions revealed 81.3%, 78.1%, 75.6%, 72.4% and 63.4% in the presence of ethylacetate, diethylether, butanol, chloroform and aqueous of inhibition at dose of 80 mg/kg. Whereas *A. blazei* Murill methanol extracts showed 37.4%, 53.7%, 73.2% and 86.2% inhibitory effects, respectively. And *A. blazei* Murill methanol fractions revealed 86.2%, 81.3%, 78.1%, 69.9% and 61.8% in the presence of diethylether, ethylacetate, chloroform, butanol and aqueous of inhibition at dose of 80 mg/kg. These results showed both mushrooms enhanced antigenotoxic effects.

Key words: *Phellinus linteus*, *Agaricus blazei* Murill, antigenotoxic

서 론

예로부터 약용으로 많이 사용되던 담자균류의 항암성분에 관한 연구는 1950년대부터 본격적으로 시작되었는데, Roland 등(1)은 *Calvatia gigantea*로부터 담자균 최초의 항암성분을 분리하여 calvaine이라 명명하였고, 버섯류의 항암효과는 Ikegawa 등(2)에 의하여 말굽버섯과(*Polyporaceae*)를 위시하여 식용균류의 자실체를 열수 추출하여 얻은 추출물이 sarcoma 180 등의 동물 이식암에 대하여 숙주 증개성이 현저한 항종양 활성이 있는 것이 발견되었다. 이후 표고버섯(*Lentinus edodes*), 운지버섯(*Coriolus versicolor*), 자작나무버섯(*Piptoporus betulinus*), 영지버섯 등에서도 항종양 효과가 있는 물질이 발견되었으며(3) 특히, 풀버섯(*Volvarellia volvacea*), 팽나무버섯(*Flammulina velutipes*)가 생산하는 cardiotoxic

protein인 volvatoxin(4)과 Ehrlich ascites tumor cell의 호흡을 저지함이 입증되었다(5). 활성성분들은 대부분 버섯 자실체나 액체배양 균사체로부터 추출된 다당류들로서 대표적으로 표고버섯 자실체에서 분리한 순수 다당체 lentinan이 sarcoma 180에 대하여 강한 항암작용을 나타낸다고 보고되었고(6), 운지버섯에서 추출한 단백질인 Krestin 또한 sarcoma 180, P-388과 Yoshida sarcoma 등 다양한 암세포에 항암효과를 나타내었으며, 암환자에게 경구 투여시 다른 부작용없이 임상적 효과를 보이고 있다(7). 버섯 다당류들의 항종양작용은 암세포를 직접적으로 공격하지는 않고 숙주의 면역계에 작용하여 생체방어력 증가에 의한 것으로 알려져 있다(8). 그리고 영지버섯의 약효 성분은 주로 다당류와 단백질이 결합된 polysaccharide protein complex로서 그 화학적 조성도 밝혀진 바 있고, 동물실험에서도 암세포 억제효과가 입증되었다

[†]To whom all correspondence should be addressed

(9). 최근 국내 연구 활동이 여러 분야에서 활발하게 이루어지고 있으며, 특히 천연물과 전통 식품 및 한약제제를 대상으로 유용한 기능을 검색하려는 노력은 상당히 괄목할 만한 성과를 보이고 있다(10).

본 실험에 사용된 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 분류학적으로 소나무 비늘버섯과(*Hymenochaetaceae*). 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하는 백색부후균으로 이와 유사한 종류로는 마른진흙버섯(*Phellinus gilvus*), 말뚝진흙버섯(*Phellinus igniarius*), 잘진흙버섯(*Phellinus robustus*), 검은진흙버섯(*Phellinus nigricans*), 낙엽송진흙버섯(*Phellinus pini*)과 *Phellinus conchatus*, *Phellinus densus*, *Phellinus hartigii*, *Phellinus torulosus* 등이 있으나, 이 중에서 목질진흙버섯은 항암력이 매우 우수한 버섯으로 관심의 대상이 되고 있다(11). 상황버섯의 약리작용으로는 소화기 계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암을 비롯한 간암수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 항진시키며, 자가출혈 및 대하, 월경불순, 장출혈, 오장기능을 활성화 시키고 해독작용을 한다. 이와같이 상황버섯은 약초로서 항암효과는 물론 술, 담배, 스트레스로 지친 현대인의 위장, 소화기계통도 튼튼하게 지켜주는 탁월한 식품이라 할 수 있다(12). 상황버섯은 주로 항암활성에 관한 연구가 알려져 있는데, Chang 등(13)에 의해 정리된 자료에 의하면 17종의 담자균 가운데 월등히 높은 항암력을 지닌 버섯은 상황버섯을 위시하여 송이버섯(*Tricholoma matsutake*), 맛버섯(*Pholiota nameko*), 팽이버섯(*Flammulina velutipes*), 표고버섯(*Lentinus edodes*) 등 5종이었으며, 이 중 상황버섯은 중앙저지율이 96.7%로서 가장 강력한 항암력을 지닌 것이라 정리하였다.

아가리쿠스버섯(*Agaricus blazei* Murill)은 들버섯속 송이과에 속하는 버섯으로 식용은 물론, 면역증강 활성물질이 함유되어 있다. 본포 지역은 미국의 플로리다와 중남미의 중원 지대에 자생되는 버섯으로 알려져 있으며, 국내에는 자생되지 않는다. 이 버섯은 다른 들버섯속보다 형태상으로 대가 굵고 길며, 포자의 흑변이 넓다. 또 향이 강하고 대의 육질이 맛이 좋은 것이 특징이다. 갓의 지름은 6~12 cm이며, 초기 형태는 종형(鐘形)에서 반원형이 되며, 후에 편평하게 된다. 갓의 표면에는 갈색의 작은 인편이 있다. 갓 표면의 색깔은 발생 조건에 따라 달라지는데, 흰색, 연갈색 또는 갈색을 띤다. 대의 길이는 5~10 cm, 굵기는 8~15 mm로 기부는 굵고 상부는 가늘다. 대의 색깔은 흰색이나, 손으로 만지거나 상처가 나면 황갈색으로 변한다. 포자는 타원형으로 5~6 μm \times 3 μm 이며, 암갈색을 띤다(14). 아가리쿠스버섯의 대표적인 약리작용으로는 항종양효과, 제암효과, 암의 예방효과, 혈당강하 작용, 혈압강하, 콜레스테롤 저하 등이 나타나고 있다(15).

그러나 상황 및 아가리쿠스버섯의 생리활성에 대한 체계적이고 학술적인 연구가 거의 이루어져 있지 않기 때문

에 그 연구의 진행이 시급하다고 볼 수 있다. 따라서 본 연구에서는 상황 및 아가리쿠스버섯 추출물과 분획물들의 생리적 기능의 하나로 유전독성 억제효과를 확인하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 상황버섯과 아가리쿠스버섯은 1998년 10월 강원도 춘천에 위치한 발산농장에서 구입하여 분말화한 후 -20°C 냉동실에 보관하면서 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

추출에 적합하도록 분말화하여 환류냉각기를 부착시킨 플라스크에 시료중량에 대하여 10배량의 70% 메탄올을 첨가하여 80°C에서 8시간씩 3회 추출한 후, 감압여과 장치에서 뜨거운 상태로 여과한 후 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조하였다. 분획물의 제조는 동결건조물로부터 용매의 극성에 따라 분별분리를 행하여 디에틸에테르, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물층으로 극성의 차이에 의해 다섯가지 분획물을 분리한 후 감압농축하여 실험에 사용하였다.

실험동물

명진실험동물센터(주)에서 구입한 4주령의 ICR male mouse(25 \pm 2.5 g)를 구입하여 감원대학교 동물 사육실에서 일주일간 적응시켜 각각의 실험군당 6마리를 사용하였다. 동물 사육실 실험조건은 온도 21~26°C, 습도 45~55%로 유지시켰으며, 조명은 오전 9시에 자동점등하고 오후 9시에 자동 소등하여 12시간 간격으로 조절하였다. 사료는 삼양유지사료(주)의 마우스용 배합사료(조단백질 22.1%, 조지방 3.5%, 조섬유 5.0%, 회분 8.0%, 칼슘 0.6%, 인 0.4%)를 사용하였고, 물은 증류수를 공급하였으며 사료와 물을 자유롭게 먹도록 하였다.

골수세포를 이용한 소핵실험

변이원물질의 농도에 따른 유전독성 억제효과를 살펴보기 위해 소핵유발물질로 MNNG를 사용하였으며 마우스당 투여량은 0.2 mL(체중 25 g 기준)가 되도록 50, 100, 150 그리고 200 mg/kg 용량으로 DMSO에 용해하여 투여직전에 측정된 체중에 따라 산출하여 복강투여하였다. 복강투여 36시간 후에 회생시킨 후 검정하여 MNNG 자체의 용량반응관계를 실험하였다. MNNG 유전독성에 대한 상황 및 아가리쿠스 추출물의 억제효과를 파악하기 위하여 상황 및 아가리쿠스 추출물과 분획물(10, 20, 40 및 80 mg/kg)은 용량반응 결과 결정된 농도의 MNNG(150

mg/kg)을 복강 투여하는 시각에 경구투여하였다. 그 후 36시간을 노출시킨 후 희생, 검경하여 각 투여군의 가장 높은 억제농도를 관찰하였다. 동시에 용매의 영향을 음성대조군(negative control)으로 하였다.

MNNG 및 시료를 투여한 마우스는 Schmid 방법(16, 17)에 따라 경추탈골하여 희생시킨 후 대퇴골을 적출하였다. 적출한 대퇴골은 거즈를 이용하여 근육 등을 깨끗이 제거한 다음 가위로 양쪽 골단을 자른 후, 1 mL 주사기에 넣은 0.2 mL의 fetal calf serum(GIBCO)을 주사기를 이용하여 대퇴골강에 반복 주입하여, 씻겨나온 골수세포 현탁액을 microcentrifuge tube에 넣어 1000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 골수세포를 분리하였다. 분리된 골수세포는 다시 소량의 serum을 가해 현탁시켰다. 골수세포 현탁액 소량을 Pasteur pipette으로 취하여 미리 세척하여 건조시킨 slide glass에 cover glass를 이용하여 도말한 후 풍건하였다. 건조된 slide glass는 메탄올로 10분간 고정하고, pH 6.8의 Sorensen buffer(1/15 M KH_2PO_4 + 1/15 M Na_2HPO_4)에 희석하여 조제한 5% Giemsa(Gurr 66)염색 시약으로 30분간 염색하였다. 증류수로 수회 세척하여 건조한 후 형광 현미경으로 검경($\times 1000$)하였다. 검경은 1000개의 다염성 적혈구(polychromatic erythrocyte : PCE)중 소핵을 가진 소핵다염성 적혈구(micronucleated polychromatic erythrocyte : MNPCE)를 계수하여 생성빈도(%)를 구하였다.

통계처리

*In vivo*계 유전독성 억제효과 측정 실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SAS(Statistical Analysis System) program을 이용하여 실험군당 평균(mean) \pm 표준편차(S.D)로 표시하였고, 각 군의 평균치의 통계적 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

MNNG 투여농도에 따른 유전독성

MNNG 투여농도에 따른 소핵생성빈도(MNPCEs/1000 cells)를 검토하기 위하여 MNNG용액을 마우스의 체중 1 kg당 50, 100, 150, 200 mg의 농도를 복강내 투여한 후 36시간 후의 소핵생성율을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 각각의 소핵생성빈도는 3.4 ± 0.6 , 3.9 ± 0.7 , 12.3 ± 0.9 그리고 15.4 ± 1.5 (MNPCEs/1000 cells)를 나타내었다. 그러나 200 mg/kg을 투여한 경우에는 마우스의 체중변화가 대조군에 비해 낮았고, 대체적으로 견장치 못하였다. 따라서 억제효과를 규명하기 위한 MNNG의 농도는 150 mg/kg으로 설정하였다.

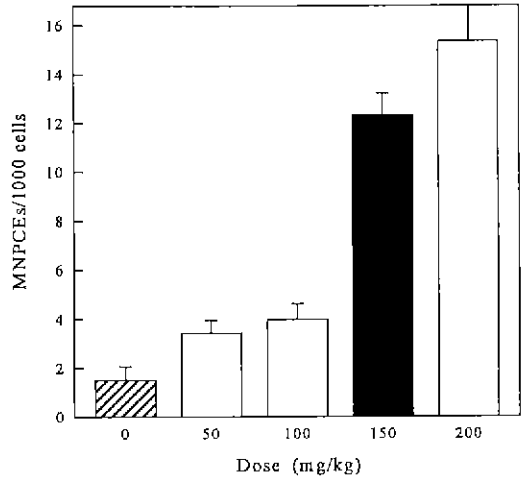


Fig. 1. Micronucleus induction by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) in ICR male mice 36 hours after administration. ▨ Negative control. ■ Positive control

상황버섯 메탄올추출물과 분획물의 유전독성 억제효과

양성대조군(positive control)에 대한 소핵유발 억제효과를 검토하기 위하여 MNNG와 상황버섯 메탄올 추출물과 분획물을 동시에 투여하였다. MNNG 150 mg/kg은 복강내로, 시료는 10, 20, 40, 80 mg/kg의 농도로 경구 투여하고 36시간 시육후에 소핵생성빈도를 관찰하였다. 동시에 용매(DMSO)의 영향을 음성대조군으로 하였다. 상황버섯 메탄올 추출물의 소핵생성 억제효과는 Fig. 2에 나타내었으며, 양성대조군의 12.3 ± 0.9 에 비하여 10, 20,

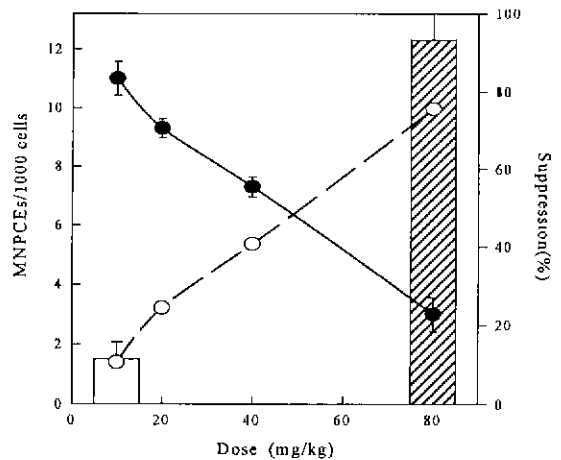


Fig. 2. Suppression of *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG, 150 mg/kg) induced micronucleated polychromatic erythrocyte (MNPCE) by single treatment of *Phellinus linteus* methanol extract in bone-marrow cells of ICR male mice. □ Negative control, ▨ Positive control ● MNPCEs/1000 cells, ○ Suppression

40, 80 mg/kg의 농도에서 110 ± 0.6 , 9.3 ± 0.3 , 7.3 ± 0.3 , 3.0 ± 0.6 개로 각각 10.6, 24.4, 40.7 그리고 75.6%의 억제효과를 나타내었다. 또한 Table 1은 각각의 분획물에 대한 소핵생성 억제효과를 나타내었다. 유전손상물질(MNNG : 150 mg/kg, I.P.)만 투여한 양성대조군에 비해서 시료 농도 80 mg/kg으로 투여시의 소핵생성빈도는 디에틸에테르, 클로로포름, 부탄올 그리고 물층이 각각 2.7 ± 0.6 , 3.4 ± 0.7 , 3.0 ± 0.2 , 4.5 ± 0.3 으로 78.1, 72.4, 75.6 그리고 63.4%의 유전독성 억제효과를 나타내었으며, 에틸 아세테이트층 투여의 경우 2.3 ± 0.3 으로 81.3%의 가장 높은 유전독성 억제효과를 나타내었다.

아가리쿠스버섯 메탄올추출물과 분획물의 유전독성 억제효과

아가리쿠스버섯 메탄올추출물의 소핵생성 억제효과는 양성대조군의 소핵생성빈도가 12.3 ± 0.9 에 비하여 80 mg/kg 투여시 1.7 ± 0.8 로 86.2%의 억제효과를 나타내었다(Fig. 3). 그리고 상황버섯과 마찬가지로 각각의 분획물에 대한 소핵생성 억제효과를 살펴보았다. Table 2에서

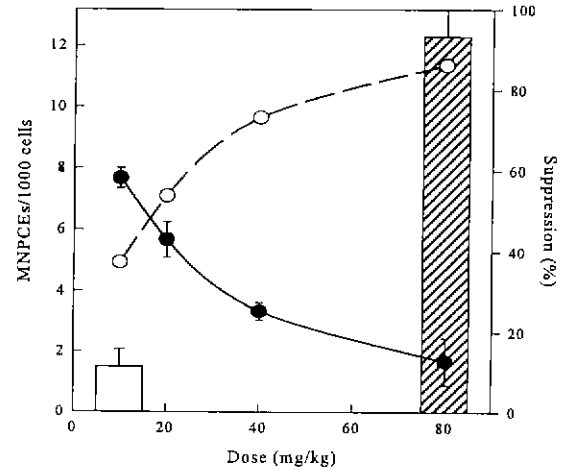


Fig. 3. Suppression of *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG, 150 mg/kg) induced micronucleated polychromatic erythrocyte (MNPCE) by single treatment of *Agaricus blazei* Murill methanol extract in bone-marrow cells of ICR male mice.

□ Negative control, ▨ Positive control
● MNPCEs/1000 cells, ○ Suppression

Table 1. Suppression of MNNG induced micronucleated polychromatic erythrocyte by single treatment of each fraction of *Phellinus linteus* in bone marrow cells of ICR male mice

Fractions	Dose (mg/kg)	MNPCEs/1000 cells	Suppression ¹⁾ (%)
Negative control ²⁾		1.5 ± 0.6 ⁴⁾	
Positive control ³⁾		12.3 ± 0.9 ⁵⁾	
Ethyl acetate	10	8.7 ± 0.3 ^b	29.3
	20	5.3 ± 0.3 ^c	56.9
	40	4.0 ± 0.6 ^{cd}	67.5
	80	2.3 ± 0.3 ^d	81.3
Diethyl ether	10	8.7 ± 0.3 ^b	29.3
	20	6.7 ± 0.3 ^c	45.5
	40	5.7 ± 0.7 ^c	53.7
	80	2.7 ± 0.6 ^d	78.1
Chloroform	10	9.7 ± 0.7 ^b	21.1
	20	7.0 ± 0.6 ^c	43.1
	40	4.7 ± 0.3 ^d	61.8
	80	3.4 ± 0.7 ^d	72.4
Butanol	10	10.0 ± 0.6 ^b	18.7
	20	8.3 ± 0.3 ^c	32.5
	40	5.7 ± 0.3 ^d	53.7
	80	3.0 ± 0.2 ^e	75.6
Aqueous	10	9.3 ± 0.3 ^b	24.4
	20	8.3 ± 0.4 ^{bc}	32.5
	40	7.0 ± 0.6 ^c	43.1
	80	4.5 ± 0.3 ^d	63.4

¹⁾ $100 - (\text{MNPCEs of sample} / \text{MNPCEs of positive control}) \times 100$

²⁾ 0.2 M dimethyl sulfoxide (0.2 mL/25 g).

³⁾ *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (150 mg/kg, I.P.).

⁴⁾ Each point represents the mean \pm S.D. of 6 mice

⁵⁾ Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

Table 2. Suppression of MNNG induced micronucleated polychromatic erythrocyte by single treatment of each fraction of *Agaricus blazei* Murill in bone marrow cells of ICR male mice

Fractions	Dose (mg/kg)	MNPCEs/1000 cells	Suppression ¹⁾ (%)
Negative control ²⁾		1.5 ± 0.6 ⁴⁾	
Positive control ³⁾		12.3 ± 0.9 ⁵⁾	
Ethyl acetate	10	9.3 ± 0.6 ^b	24.4
	20	7.0 ± 0.3 ^c	43.1
	40	3.3 ± 0.6 ^d	73.2
	80	2.3 ± 0.4 ^d	81.3
Diethyl ether	10	7.7 ± 0.3 ^b	37.4
	20	4.7 ± 0.6 ^c	61.8
	40	2.7 ± 0.5 ^d	78.1
	80	1.7 ± 0.9 ^d	86.2
Chloroform	10	8.3 ± 0.3 ^b	32.5
	20	7.3 ± 0.9 ^b	40.7
	40	5.0 ± 1.0 ^c	59.4
	80	2.7 ± 0.6 ^d	78.1
Butanol	10	7.7 ± 0.8 ^b	37.4
	20	7.0 ± 1.0 ^b	43.1
	40	4.7 ± 0.9 ^c	61.8
	80	3.7 ± 0.3 ^c	69.9
Aqueous	10	10.3 ± 0.3 ^b	16.3
	20	8.0 ± 0.6 ^c	35.0
	40	6.7 ± 0.7 ^c	45.5
	80	4.7 ± 0.3 ^d	61.8

¹⁾ $100 - (\text{MNPCEs of sample} / \text{MNPCEs of positive control}) \times 100$

²⁾ 0.2 M dimethyl sulfoxide (0.2 mL/25 g).

³⁾ *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (150 mg/kg, I.P.).

⁴⁾ Each point represents the mean \pm S.D. of 6 mice

⁵⁾ Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

와 같이 에틸 아세테이트, 디에틸에테르, 클로로포름, 부탄올 그리고 물층 분획물의 소핵생성빈도는 80 mg/kg을 투여시 2.3±0.4, 1.7±0.9, 2.7±0.6, 3.7±0.3, 4.7±0.3으로 81.3, 86.2, 78.1, 69.9 및 61.8%의 억제효과를 나타내었다. 그 중 디에틸에테르 분획물에서 소핵생성 억제효과가 86.2%로 가장 높게 나타났다. 이와같은 결과는 Ham 등(18)의 연구보고에서와 같이 B(α)P에 유도된 목이 및 석이버섯 메탄올 추출물의 유전독성 억제실험에서 두 시료 모두 100 mg/kg을 투여한 결과 높은 억제효과를 나타낸 점과 비슷하였다.

요 약

상황(*Phellinus linteus*) 및 아가리쿠스(*Agaricus blazei* Murrill) 버섯으로부터 얻어진 메탄올 추출물과 이들 용매분획물에 대하여 마우스의 골수세포를 이용한 소핵 실험을 행하여 MNNG에 대한 유전독성 억제효과를 실험하였다. 상황버섯 메탄올 추출물은 MNNG에 의한 소핵 생성에 대하여 10.6~75.6%의 억제효과를 나타내었다. 또한 각각의 분획물의 경우 80 mg/kg에서 에틸 아세테이트, 디에틸에테르, 부탄올, 클로로포름 그리고 물층이 각각 81.3, 78.1, 75.6, 72.4 그리고 63.4%의 유전독성 억제효과를 나타내었다. 아가리쿠스버섯 메탄올 추출물의 유전독성 억제효과에서 양성대조군에 비하여 80 mg/kg 투여시 86.2%의 억제효과를 나타내었으며, 디에틸에테르, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 부탄올 그리고 물층 분획물의 경우 80 mg/kg 투여시 86.2, 81.3, 78.1, 69.9 및 61.8%의 억제효과를 나타내었다. 이상의 연구 결과에서와 같이 상황버섯과 아가리쿠스버섯의 추출물과 분획물들은 높은 유전독성 억제효과를 나타냄으로서 건강식품으로서의 개발과 고부가가치의 의약품으로서 개발가능성을 가진 대단히 유용한 버섯임을 알 수 있었고, 다음 단계의 실험으로 이러한 생리활성을 나타내는 부분만을 분리, 정제하여 추가적인 검색 및 활용방안에 대하여 충분한 연구가 이루어져야 한다고 사료된다

감사의 글

본 연구는 1999년도 국제건강가족동호회와 발산농장의 학술연구지원에 의해 수행된 것이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1 Roland, J.F., Chmielwicz, Z.F., Weiner, B.A., Gross, A.,

Boening, O.P., Luck, J.V., Bardos, T.J., Reall, H.C., Sugiura, K., Stock, C.C., Lucas, E.H. and Scevena, J.A. : Calvacine a new antitumor agent *Science*, **132**, 1987-1990 (1960)

2. Ikegawa, J., Nakamishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F. : Antitumor action of some basidiomycetes especially *Phellinus linteus* *Gann.*, **59**, 155-157 (1968)

3. Song, C.H., Moon, H.Y. and Ryu, C.H. : Artificial cultivation of *Phellinus linteus* *Kor. J. Mycol.*, **25**, 130-132 (1997)

4. Maeda, Y.Y. and Chihara, G. : Lentinan, a new immun-accelerator of cell mediated responses. *Nature*, **229**, 634-636 (1971)

5. Lin, J.Y., Lin, Y.J., Chen, C.C., Wu, H.L., Shi, G.Y. and Jeng, T.W. : Cardiotoxic protein from edible mushroom. *Nature*, **252**, 235-237 (1974)

6. Goro, C., Junji, H., Yukiko, Y., Yoshiko, A. and Fumoko, F. : Fractionation and purification of the polysaccharides with masked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes*. *Cancer Res.*, **30**, 2776-2781 (1970)

7. Hiroshi, F., Katsui, O., Masanori, I., Milkio, M., Shinji, N., Michie, S., Masanori, T., Yoshikumi, C. and Yoshio, K. : Effect of PSK, a protein bound polysaccharide from *Coriolus versicolor* on drug-metabolizing enzyme in sarcoma 180 bearing and normal mice *Int. J. Immunol.* **10**, 445-451 (1988)

8. Kweon, M.H., Lim, E.J. and Sung, H.J. : Studies on biological polysaccharides isolated from *Agaricus bisporus* (in Korean) *J. Kor. Agric. Chem. Biotechnol.* **41**, 60-66 (1998)

9. Kim, S.W. : Studies on antimicrobial and anticancer functions of polysaccharide extracted *Ganoderma lucidum*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1183-1188 (1998)

10. Suh, Y.J. : Cancer chemoprevention by food. *Food Science and Industry*, **30**, 59-63 (1997)

11. Choi, J.H., Ha, T.M., Kim, Y.H. and Rho, Y.D. : Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus* *Kor. J. Mycol.*, **24**, 214-222 (1996)

12. Lee, H.D. : *Korean medicinal mushroom pictorial book*. Kyohaksa, Seoul, p 576-580 (1999)

13. Chang, S.T., Buswell, J.A. and Chu, S.W. : *Mushroom biology and mushroom products*. World Scientific, Washington, D.C., p.1-20 (1993)

14. Sung, J.M., Yoo, Y.B. and Cha, D.Y. : *Mushroom*. Kyohaksa, Seoul, p.3-10 (1998)

15. Fujimiyu, Y., Kobori, H., Oshuman, K., Soda, R. and Ebina, T. : Tumoricidal activity of high molecular weight polysaccharides derived from *Agaricus blazei* via oral administration in the mouse tumor model *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **45**, 246-252 (1998)

16. von Ledebur, M. and Schmid, W. : The micronucleus test. *methodological aspects. Mutation Res.*, **19**, 109-117 (1973)

17. Schmid, W. : The micronucleus test. *Mutation Res.*, **31**, 9-15 (1975)

18. Ham, S.S., Kim, D.H., Choi, K.P. and Lee, D.S. : Antigenotoxic effects of methyl alcohol extracts from *Auricularia mesenterica* and *Gyrophora esculenta*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 57-62 (1998)