

식품유래 곰팡이 대사산물의 항암효과

임효권 · 유미희 · 정덕화¹ · 이인선^{2,*}

계명대학교 식품가공학 전공, ¹경상대학교 응용생명과학부,
²계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구(TMR) 센터

Inhibitory Effects of Fungal Metabolites Isolated from Foodstuffs on the Growth of Human Cancer Cell Lines

Hyo Gwon Im, Mi Hee Yu, Duck-Wha Chung¹, and In-Seon Lee^{2,*}

Department of Food Science and Technology, Keimyung University

¹Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

²The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

Abstract Inhibitory effects of fungal metabolites isolated from foodstuffs on growth of human cancer cell lines were evaluated. Isolated strains were divided into four classes based on color (aerial, reverse), shape, and growth speed. Fungal metabolites extracted with ethyl acetate were investigated for their growth inhibition on six kinds of human cancer cells by MTT assay. Ethyl acetate extract showed high growth inhibition against all cancer cells tested, with D4 exhibiting the strongest growth inhibition effects against Kato III, AGS, Hepalcl7, and MDA-MB-231 cancer cells. These results suggest ethyl acetate extract from fungal metabolites as effective natural cancer therapeutic material.

Key words: fungi, fungal metabolites, cytotoxicity, anticancer

서 론

현대 의학의 발달에도 불구하고 암은 여전히 치료하기 힘든 질병 중 하나이며 우리나라에서도 암 발생은 매년 증가하고 있는 추세이다. 암은 세포학적으로 비정상적인 세포의 과다한 증식으로 인하여 장기, 골격 및 피부조직에 비정상조직을 형성하는 질환으로 주위조직을 침윤하고 전이를 일으키는 특징이 있으며, 치료방법이 분명치 않아 인류의 건강을 위협하는 질병으로 남아 있다. 암의 원인으로는 흡연, 식이, 대기오염, 자외선이나 방사선, 바이러스 등의 환경적 요인이 80-90%를 차지하며 그밖에 유전과 성별에 의한 것이 있다(1,2). 환경적 요인 중에는 식이가 30-60%로 가장 큰 비중을 차지하며(3,4), 이런 식이 성분 중에는 암을 발생시키는 발암물질도 존재하지만 암의 발생을 억제하거나 지연시키는 성분들도 포함되어 있다(5,6). 현재 암치료에 사용되고 있는 방법으로는 화학요법, 방사선 요법, 외과적 수술 등을 들 수 있다. 이러한 치료방법은 한계가 있으며 부작용으로 인해 많은 문제점을 가지고 있어서 최근 부작용이 적은 화학적 암예방제(cancer chemopreventive agent)에 대한 연구가 진행되고 있다. 화학적 암예방제는 천연화합물이나 합성 화합물을 이용하여 암을 조절, 예방 및 치료하는 의미를 가진다(7). 그러나 합성화합물이

천연화합물보다 문제점이 많은 것으로 나타났고 식품과 천연물 중에 암의 발생을 억제하거나 지연시키는 성분들이 다수 포함되어 있는 것으로 알려짐에 따라 현재는 전 세계적으로 천연물에 대한 암 예방 연구가 많이 행해지고 있다(8-10). 일반적으로 천연 자원을 이용한 약제 개발이라 함은 식물자원이 주류를 이루어 왔으나, 제한된 자원으로 활성성분의 획득에 어려움이 있어 곰팡이를 비롯한 미생물을 활용한 유익한 신물질 소재 개발에 새로운 기대를 가지고 있다. 자연계에는 수많은 미생물이 함께 공존하고 있고, 이들 미생물중 곰팡이는 큰 부분을 차지하고 있으면서 인류의 생활에 직접·간접으로 영향을 미치는데 aflatoxin과 같은 발암물질을 생성하여 건강에 문제를 야기하기도 하며, penicillin과 같은 유익한 물질을 생산하기도 한다. 특히 식품에서 발견되는 여러 곰팡이 대사산물이 여러 가지 효능성이 있다는 것이 알려져 있다(11-14). 즉, 곰팡이가 생성하는 대사산물 중 보다 효과적인 유용물질을 찾고자하는 연구의 필요성이 대두되고 있다.

따라서 본 논문은 새로운 항암소재를 검색하기 위하여 식품으로부터 곰팡이를 분리하고 그 대사산물을 이용하여 수종의 암세포의 생육에 대한 억제 물질을 탐색하고자 하며, 이를 바탕으로 새로운 항생물질 연구의 기초자료를 확보하고 결과물의 응용도를 모색하고자 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

균원 시료수집

자연계로부터 식품 유래 곰팡이를 분리하기 위하여 전국 각지에서 콩을 비롯한 된장, 메주, 사과, 맥아 등의 식품재료를 균원 시료로 광범위하게 채취하였고, 이때 발효 과정 중에 생성되는

*Corresponding author: In-Seon Lee, The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, 1000 Sindang-Dong, Dalseo-Gu, Daegu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-5906

Fax: 82-53-580-5538

E-mail: inseon@kmu.ac.kr

Received October 7, 2005; accepted March 17, 2006

Table 1. List of food samples for the isolation of fungi

English name	No.
Soybean paste	20
Fermented soybeans	15
Yeast	8
Apple	7
Chinese cabbage	6
Pepper	4
Soybean	3
Malt	2
Mold	7
72	

균 뿐만 아니라, 다양한 균원을 수집하기 위해 식품에서 발생한 모든 곰팡이를 수집하였다. 그리고 실험실에 보관중인 식품발효에 관여하는 곰팡이를 실험에 사용하였으며 그 종류는 Table 1과 같다.

곰팡이의 순수분리

균 분리를 위하여 세균과 효모의 성장을 억제하는 rose-bengal 이 약 50 mg/L 첨가된 rose-bengal agar(Difco, USA) 배지를 사용하였으며, 곰팡이의 순수 분리 및 보존을 위해서는 potatoes dextrose agar(Difco, USA) 배지를 사용하였다. 그 방법으로는 시료 1 g에 멸균수 10 mL를 넣은 후 tube mixer로 교반하여 200 µL를 취해 rose bengal agar plate에 도말 한 후 30°C incubator에서 3~5일간 배양하였고 단포자 분리를 행한 후 보존 하였다. 특히 보존을 위해 살균된 사질 토양에 배양한 분리 균주를 접종하여 22-26°C에서 7일간 배양 후 -20°C에 보관하면서 필요에 따라 사용하였다.

분리균의 배양

분리된 곰팡이를 배양하기 위해서는 SLS(synthetic low salts) 배지를 사용하였다. SLS배지를 1L의 증류수에 녹이고 pH를 4.5로 조절한 다음 250 mL 삼각 플라스크에 50 mL씩 분주한 후 살균하여 분리균 1백금이씩을 접종하고 1주일간 shaking incubator (30°C, 150 rpm)에서 배양하였다.

곰팡이 대사산물의 추출

천연 곰팡이가 생성하는 대사산물의 항균 활성을 검토하기 위해서 배양액 10 mL을 여과지(Waterman No. 1, England)로 여과하였고, 동량의 ethyl acetate를 첨가한 다음 24시간 동안 shaking incubator(30°C, 250 rpm)에서 추출하고, ethyl acetate 층을 추출하여 진공농축기로 건조시켜 -20°C에 보관하면서 필요에 따라 소량의 methanol에 녹여 수 중의 암세포주에 대한 생육억제 실험을 수행하기 위한 실험재료로 사용하였다. 이때 여과된 균체 또한 배양액과 같은 방법으로 추출하여 실험에 사용하였다.

암세포 배양

본 실험에 사용된 인간 유래의 암세포주는 Table 2와 같다. 이들 세포들은 각각의 배지에 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)을 첨가하여 5% CO₂가 존재하는 37°C 배양기에서 2-3일에 한번 씩 계대 배양하여 실험에 사용하였다.

Table 2. Characteristics of cell lines

Cell	Tumor site	Medium
Kato III	Human gastric carcinoma	RPMI 1640
AGS	Human gastric carcinoma	RPMI 1640
SNU-668	Human gastric carcinoma	RPMI 1640
HepG2	Human hepatocellular carcinoma	MEM
Hepa1c1c7	Murine hepatoma	α-MEM
MDA-MB-231	Human breast cancer	RPMI 1640

Table 3. Culture characteristics of *Aspergillus* sp. used

Group	Aerial color	Reverse color	Shape	Growth speed
A	Green	Ivory	downy creeping	Slow
B	Greenish Yellow	Yellow	downy creeping	Slow
C	White	White	downy creeping	Fast
D	Black	Black	downy creeping	Slow

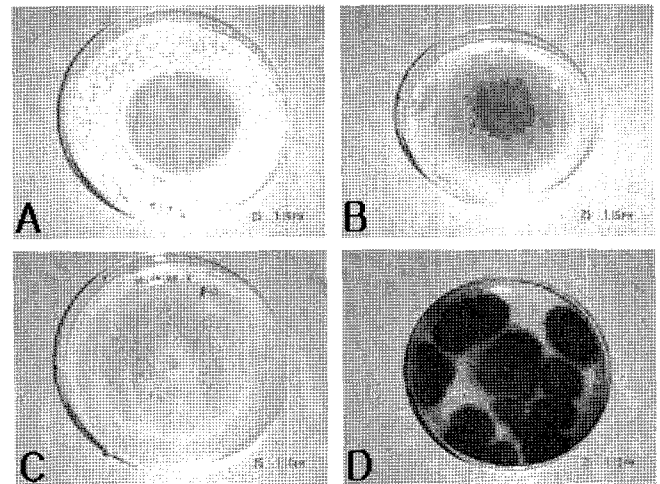


Fig. 1. Photographs of *Aspergillus* sp. isolated from various foods and environmental samples.

암세포 증식 억제 효과

곰팡이 대사산물의 암 세포주에 대한 세포증식 억제효과는 MTT assay(15)로 조사하였다. 먼저 각 세포수를 1 × 10⁵ cell/mL 이 되게 한 후 96 well plate에 100 µL/well씩 넣고 시료를 10 µg/well씩 분주하여 48시간 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 그 후 MTT 시약(50 mg/mL)을 10 µL/well씩 넣어 4시간 더 배양한 후 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 제거한 다음, DMSO를 100 µL/well씩 첨가하여 섞어준 후 micro plate reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군 세포수를 100%로 정하고 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

결과 및 고찰

곰팡이의 분리 및 배양

식품으로부터 분리한 곰팡이를 순수 분리한 결과 총 72종의 곰팡이가 분리되었다. 이들 곰팡이는 Fungi and Food Spoilage(14)

를 참고하여 전, 후면의 색, 성장, 성장 속도 등의 기준으로 4종으로 다시 분류하였다(Table 3, Fig. 1). 분리된 곰팡이의 색(전면/후면)은 green(ivory), greenish yellow(yellow), white(white), black(black) 등의 4가지 색으로 나타났으며, 그 중 greenish yellow(yellow)를 가지는 B group이 가장 많은 수를 나타내었다. 전체적으로 중심에서 가장자리로 퍼지면서 자라는 것을 확인할 수 있었다. C group 만이 생육속도가 2일 정도로 빠른 반면 다른 group에서 7일 정도의 생육 속도를 확인할 수 있었다. 분리된 곰팡이의 균원은 Table 4와 같으며, 된장과 메주에서 35종으로 가장 많은 균원으로 나타났다.

곰팡이 배양액 추출물의 수율

곰팡이 배양액에 ethyl acetate를 동량으로 첨가하여 추출 한 결과 Table 5에서 보는 바와 같이 추출물의 수율은 최소 3 µg/mL에서 56 µg/mL까지 나타났다. 각 group별 유의성은 나타나지 않았으며 각각의 group별로 추출물의 양이 다른 것으로 나타났다. 곰팡이 균체 ethyl acetate 추출물의 경우 또한 10 µg/mL에서 72 µg/mL로 확인 되었다. 균체 추출물 또한 각각의 group의 유의성은 확인 되지 않았다.

암세포 증식 억제 효과

위암 세포주인 AGS, KATO III, SNU 668, 간암 세포주인 HepG2, Hepa1c1c7, 유방암 세포주인 MDA-MB-231을 이용하여 곰팡이 대사산물의 성장 저해 효과를 MTT assay로 살펴본 결과 17종의 효과 있는 곰팡이 대사산물이 선별되었고 Fig. 2-7와 같다. MTT assay는 살아있는 세포가 미토콘드리아의 탈수소효소를 이용하여 황색의 MTT를 환원시키는 분광광도법이다. 이때 측정이 가능한 자색의 formazan 결정이 형성되는데 이는 항암제 선

별이나 암 기초 연구에 널리 사용되는 방법이다. 먼저 식품재료에 혼재 되어있는 곰팡이를 순수 분리한 다음 이들 곰팡이를 SLS 배지에 7일(30°C, 250 rpm)간 배양하여 배양액과 균체를 얻었고 이를 다시 ethyl acetate 추출(24 hr, 30°C, 250 rpm)하여 얻은 추출물로 암세포 증식 억제 실험에 사용하였다.

위암세포주인 KATO III, AGS, SNU 668에 대한 곰팡이 배양액 및 곰팡이 균체 ethyl acetate 추출물(1 mg/mL)들의 암세포에 대한 증식 억제 효과는 Fig. 2-4와 같다. 3종의 위암세포주에 대하여 모두 증식 억제 효과가 있는 것으로 확인 되었으며, 그 중 AGS에 대한 증식억제 효과가 가장 뛰어난 것으로 확인되었다. 각 group 별 효과를 확인한 결과 D group이 높은 증식억제를 나타내었으며 그 중 D4는 배양물 추출물(1 mg/mL)이 84, 73, 36%의 증식억제를 균체추출물(1 mg/mL)이 91, 98, 30%의 증식억제 효과를 확인할 수 있었다.

간암세포주인 HepG2와, mouse 유래 간암세포인 Hepa1c1c7에 대한 암세포 증식 억제효과는 Fig 5-6과 같다. 두 세포주에서 증식 억제는 확인 할 수 있었으며, 그 중 Hepa1c1c7의 경우는 그 효과가 매우 우수 한 것으로 확인되었다. D group의 효과가 높은 것으로 나타났으며 D9를 제외한 대부분의 D group은 95% 이상의 증식 억제를 보였다. HepG2에 대한 증식억제 효과는 각 group 별 효과는 크게 나타나지 않았고 25-60% 정도의 억제를 확인할 수 있었다.

유방암세포주인 MDA-MB-231에 대한 암세포 증식 억제 효과는 Fig. 7과 같다. 1 mg/mL 농도에서 증식억제 효과가 20-99%로 나타나 몇종을 제외한 대부분에서 증식 억제가 확인 되었으며, 그 중 D group의 증식억제 효과가 높은 것으로 확인되었다.

이는 곰팡이 대사산물이 암세포주의 생육억제를 하였다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다. Sakaguchi(16) 등은 *Ascochyta*

Table 4. List of food samples for the isolation of fungi

Isolated fungi	Source	Isolated fungi	Source	Isolated fungi	Source
a-1	Apple	b-10	Soybean paste	b-34	Apple
a-2	Yeast	b-11	Fermented soybeans	b-35	Chinese cabbage
a-3	<i>A. flavus</i>	b-12	Fermented soybeans	b-36	Fermented soybeans
a-4	Chinese cabbage	b-13	Pepper	b-37	Soybean
a-5	Yeast	b-14	Apple	b-38	Fermented soybeans
a-6	Yeast	b-15	Pepper	b-44	Malt
a-7	Fermented soybeans	b-16	Malt	c-16	Apple
a-8	Fermented soybeans	b-17	Fermented soybeans	c-17	Yeast
a-9	Fermented soybeans	b-18	Apple	c-18	Chinese cabbage
a-10	Soybean paste	b-19	Pepper	c-21	Soybean paste
a-11	<i>A. flavus</i>	b-20	Chinese cabbage	c-22	Yeast
a-12	<i>A. oryzae</i>	b-21	Soybean paste	c-23	Soybean paste
a-13	<i>A. oryzae</i>	b-22	Soybean	c-24	Soybean paste
a-14	<i>A. sojae</i>	b-23	Soybean	c-25	<i>A. terreus</i>
a-24	Fermented soybeans	b-24	Apple	c-26	<i>A. flavus</i>
b-1	Yeast	b-25	Chinese cabbage	d-1	Soybean paste
b-2	Fermented soybeans	b-26	Pepper	d-2	Soybean paste
b-3	Fermented soybeans	b-27	Yeast	d-3	Soybean paste
b-4	Soybean paste	b-28	Soybean paste	d-4	Soybean paste
b-5	Fermented soybeans	b-29	Apple	d-5	Soybean paste
b-6	Fermented soybeans	b-30	Yeast	d-6	Soybean paste
b-7	Fermented soybeans	b-31	Soybean paste	d-7	Soybean paste
b-8	Chinese cabbage	b-32	Soybean paste	d-8	Soybean paste
b-9	Soybean paste	b-33	Fermented soybeans	d-9	Soybean paste

Table 5. Recovery yields of ethyl acetate extract from cultured medium

Isolated fungi	µg/mL		Isolated fungi	µg/mL		Isolated fungi	µg/mL	
	medium	mycellium		medium	mycellium		medium	mycellium
a-1	27	34	b-10	8	31	b-34	17	35
a-2	18	12	b-11	33	45	b-35	27	29
a-3	21	81	b-12	18	37	b-36	17	14
a-4	2	23	b-13	9	33	b-37	39	39
a-5	21	45	b-14	22	9	b-38	12	19
a-6	20	61	b-15	13	32	b-44	11	44
a-7	10	16	b-16	22	84	c-16	39	14
a-8	5	19	b-17	2	16	c-17	28	53
a-9	14	10	b-18	15	35	c-18	36	29
a-10	17	27	b-19	11	26	c-21	9	18
a-11	17	47	b-20	42	16	c-22	22	29
a-12	15	38	b-21	25	37	c-23	11	35
a-13	5	23	b-22	19	21	c-24	56	34
a-14	3	46	b-23	29	22	c-25	41	72
a-24	12	62	b-24	6	9	c-26	7	39
b-1	32	72	b-26	10	20	d-1	22	30
b-2	14	26	b-25	15	36	d-2	19	46
b-3	20	75	b-27	4	39	d-3	4	24
b-4	11	21	b-28	12	21	d-4	16	26
b-5	16	38	b-29	15	34	d-5	29	29
b-6	7	32	b-30	10	17	d-6	20	45
b-7	5	11	b-31	8	19	d-7	12	52
b-8	8	19	b-32	11	13	d-8	17	14
b-9	18	31	b-33	10	32	d-9	22	46

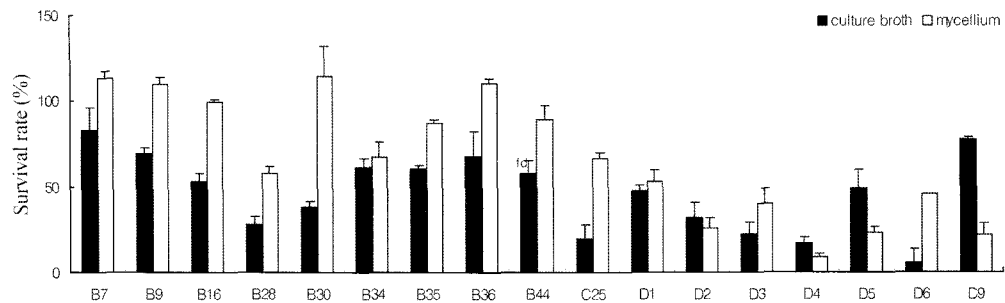


Fig. 2. Cytotoxic effect of fungal culture media and their ethyl acetate extracts (1 mg/mL) against KATO III cell.

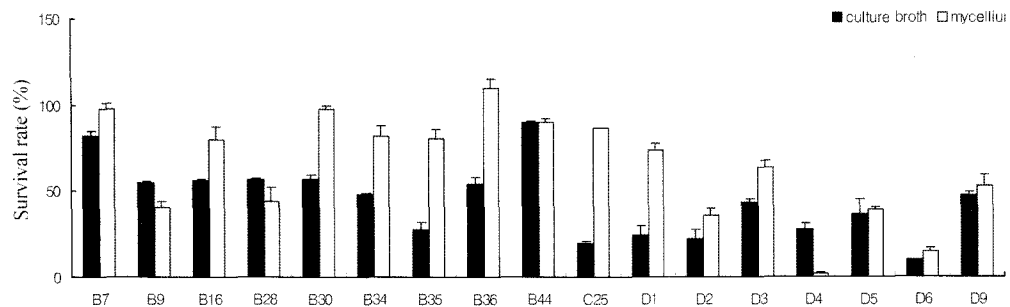


Fig. 3. Cytotoxic effect of fungal culture media and their ethyl acetate extracts (1 mg/mL) against AGS cell.

*visiae*에서 분리한 ascochlorin을 이용하여 인간유래 유방암 세포 (MX-1,MDA-MB-231, ZR-75-1,KPL-1,KPL-4)에 대한 세포독성을 확인한 결과 80% 이상의 증식억제를 확인하였다. 또한 Giannini (17) 등은 *Ascochyta chrysanthemi*에서 분리한 chrysanthones를 이

용하여 전립선암세포인 PC3와 대장암세포인 LoVo를 이용하여 세포독성을 확인한 결과 IC₅₀가 25, 15.8 µM로 그 효과가 우수하다고 발표하였다. 이렇듯 곰팡이 대사산물을 이용한 논문 뿐만 아니라, 식품소재 및 식물소재와 비교 시에도 세포독성효과가 높은

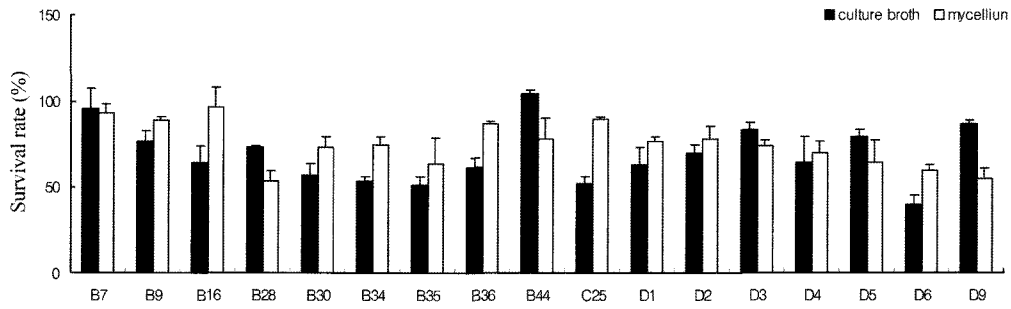


Fig. 4. Cytotoxic effect of fungal culture media and their ethyl acetate extracts (1 mg/mL) against SNU 668 cell.

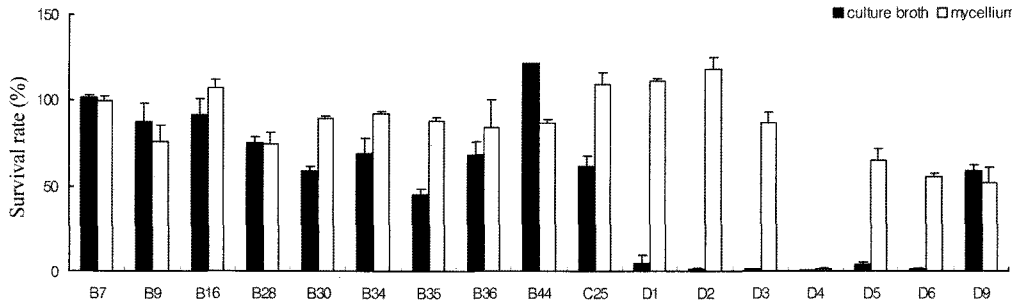


Fig. 5. Cytotoxic effect of fungal culture media and their ethyl acetate extracts (1 mg/mL) against Hepa1c1c7 cell.

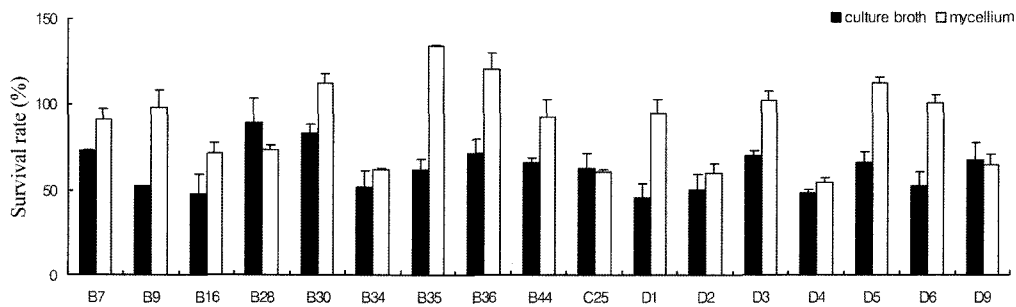


Fig. 6. Cytotoxic effect of fungal culture media and their ethyl acetate extracts (1 mg/mL) against HepG 2 cell.

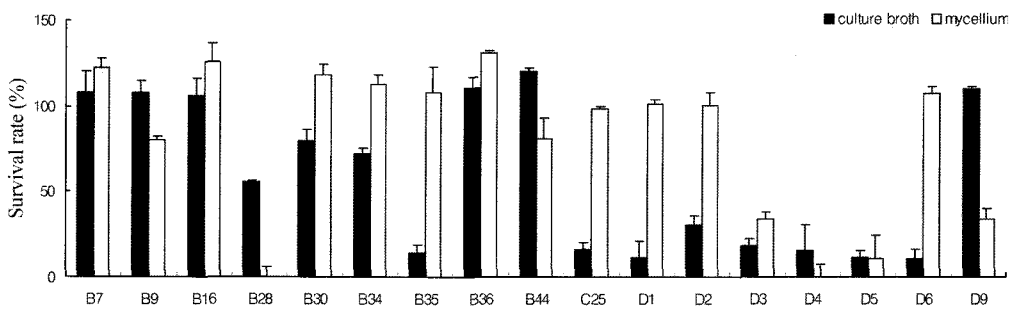


Fig. 7. Cytotoxic effect of fungal culture media and their ethyl acetate extracts (1 mg/mL) against MDA-MB-231 cell.

것을 확인 할 수 있었다. 까치버섯 water 분획물이 500, 1000 µg/mL에서 78.3, 83.6%, methanol 분획물에서도 72.1, 59.7%의 SNU-668에 대해 억제 하였다는 Lee(18)의 보고, 저령 methanol 분획물이 1000 µg/mL에서 71%, water 분획물이 43.9%, ethyl acetate 분획물이 35.8% 억제를 보였다는 Ha(19)의 보고와 비교하여 볼 때 위암세포주들에 대한 곰팡이 대사산물의 위암세포주 증식 억제 효과는 매우 뛰어난 것으로 확인되었다. 또한 Bea 등(20)의 항버섯(1 mg/mL)이 간암세포주에 대한 증식억제가 69%로 나타난다는 보고와 더위지기 에탄올 추출물 25 µg/mL 첨가시 MCF-

7에 대한 생육 억제효과가 70%, 생즙 62%, 50 µg/mL 첨가시 에탄올추출물 91%, 생즙 76%, 물추출물 30%의 Ham 등(21)의 보고, 대두와 현미 메탄올, 아세톤 추출물이 유방암세포(MDA-MB-231, MCF-7)에 효과를 가진다는 Sung과 Park(22)의 보고와 비교해 볼 때 그 효과가 매우 높은 것으로 생각된다.

식품 유래 곰팡이의 배양물 및 그 균체를 ethyl acetate로 추출하여 수종의 암세포주에 대한 증식 억제 실험을 한 결과 대부분의 암세포주에서 증식억제 효과가 있음을 확인 할 수 있었으며, 곰팡이 배양과정에서 생성되는 항생물질이 배양물 뿐만 아니라

균체 내에서도 있음이 실험에 의해서 확인 할 수 있었다. 이는 일반적인 대사산물의 연구가 배양물에만 국한되어진 것을 균체 내에서 추출할 수 있음을 시사한다. 그리고 다른 천연물인 즉 한 약재와 과일, 야채류와 그 효과를 비교해 보았을 때 비슷하거나 더 높은 효과가 있음을 확인 할 수 있어 새로운 신물질로의 연구가 가능할 것으로 생각된다.

요 약

본 논문은 새로운 항암소재를 검색하기 위하여 식품으로부터 곰팡이를 분리하고 그 대사산물을 이용하여 수종의 암세포주의 생육을 대한 억제 물질을 탐색하고자 하며, 이를 바탕으로 새로운 항생물질 연구의 기초자료를 확보하고 결과물의 응용도를 모색하고자 실험을 수행하였다. 식품으로부터 총 72종의 곰팡이를 분리 하였고, 전면 및 후면의 색, 모양, 성장속도에 따라 4가지 group로 나누어 실험에 사용하였다. 그리고 그 대사산물(배양물, 균체)을 ethyl acetate로 추출하여, 총 6종의 암세포주에 대하여 MTT assay을 실험하였다. 그 결과 A, B, C, D group 중 D group에서 가장 높은 증식 억제를 확인 하였으며, D4의 증식억제 효과가 가장 높음을 확인하였다. 위암 세포주인 KATO III, AGS, SUN-668에 대한 증식억제 효과는 30-98%로 나타났으며, 간암 세포주인 Hepa1c1c7, HepG2에는 10-98%, 유방암 세포주인 MDA-MB-231에 대해서는 25-90%의 증식억제 효과를 확인하였다. 배양물과 균체의 항암성은 개체에 따라 약간의 차이는 있으나, 배양물이 대부분 우수한 것으로 확인되었다.

감사의 글

이 논문은 2002년도 학술진흥재단의 지원에 의하여 연구 되었음(KRF-2002-041-F00063).

문 헌

1. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and matastasis. *Semin Oncol.* 29: 15-18 (2002)
2. Ashendel CL. Diet, signal transduction and carcinogenesis. *J Nutr.* 125: 686-691 (1995)
3. Doll R, Peto R. The causes of cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 66: 1191-1308 (1981)
4. Wynder EL, Gori G. Contribution of the environment to cancer incidence: an epidemiologic exercise. *J. Natl. Cancer Inst.* 58: 825-832 (1977)

5. Wakabayashi K, Nagao M, Esumi H, Sugimura T. Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res.* 52: 2092-2098 (1992)
6. Wattenberg LW. Inhibition of carinogenesis by minor dietary constituents. *Cancer Res.* 5: 2985-2091 (1992)
7. Kellof GJ, Boone CW, Crowell JA. Chemopreventive drug development: perspectives and progress. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 3: 85-88 (1994)
8. Kada T, Inoue T, Morita K, Namiki M. Dietary desmutagens. pp. 245-253. In: *Genetic Toxicology of the Diet.* Knudsen. I. (ed). Alan R. Liss Inc., New York, NY, USA (1986)
9. Ronald RW, Siraj IM. A synopsis causes and prevention strategies. pp. 1-12. In: *Nutrition and Cancer Prevention.* Ira W (ed). CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA (2000)
10. Clifford C, Kramer B. Diet as risk and therapy for cancer. *Med. Clin. North Am.* 77: 725-744 (1993)
11. Fleming A. On the antibacterial action of a *Penicillium* with special reference to their use in the isolation of *B. influenza.* *Brit. J. Exp. Pathol.* 10: 226-236 (1929)
12. dubos RJ. Bacteriocidal effect of an extract of a soil *Bacillus* on Gram positive cocci. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* 40: 311-317 (1939)
13. Berdy J. The discovery of new bioactive microbial metabolites: Screening and identification. Elsevier, pp. 3-25 (1989)
14. Pitt JI, Hocking AD. *Fungi and Food Spoilage.* second eds. Printed in Great Britain at the University Press, Cambridge, London. UK. 149-180 (1997)
15. Mosmann T. Rapid colometric assay for cellular growth survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65: 55-63 (1983)
16. Sakaguchi K, Nakajima H, Mizuta N, Furukawa C, Ozawa S, Ando K, Chang YC, Yamagishi H, Magae J. Selective cytotoxicity of ascochlorin in ER-negative human breast cancer cell lines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 39: 46-50 (2005)
17. Giannini G, Penco S, Pisano C, Riccioni T, Nasini G, Candiani G. Chrysanthones, a new source of fungal metabolites with potential antitumor and antiangiogenesis properties. *Fitoterapia* 74: 323-327 (2003)
18. Lee IS, Nishikawa A. *Polyzellus multiplex*, a Korean wild mushroom, as a potent chemopreventive agent against stomach cancer. *Life Sci.* 73: 3225-3234, (2003)
19. Ha YD. Antitumoral, antioxidant and antimicrobial activities of solvent fractions from *Grifola umbellatus*. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 8: 481-487 (2001)
20. Bea JT, Chang JS, Lee KR. Effect of sarcodon aspratus extract on expression of cell cycle-associated proteins in HepG2 cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 329-332 (2002)
21. Ham SS, Chung CK, Lee JH, Choi KP, Jung SW, Kim EJ. Antimutagenicity and cytotoxicity of crtemisia iwayomogi kitamura extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 157-162 (1998)
22. Sung MK, Park MY. Cytotoxic and apoptotic Effects of soybean and brown rice extracts on hormone dependent/independent breast cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 521-526.