

상황버섯균사체 쌀의 HT22 신경세포 보호 효과

— 연구노트 —

김지현 · 전순실

순천대학교 식품영양학과

Neuroprotective Effect of Rice with *Phellinus linteus* Mycelium in HT22 Cells

Ji Hyun Kim and Soon Sil Chun

Department of Food & Nutrition, Suncheon National University

ABSTRACT In this study, the protective effect of rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLMR) against hydrogen peroxide-induced oxidative stress was assessed in a mouse hippocampal neuronal HT22 cell line through (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) salt (MTS) assay and western blot. MTS assay using HT22 cells showed that PLMR extract did not affect viability at a concentration range from 1 mg/mL to 5 mg/mL. However, at concentrations over 10 mg/mL, PLMR extract resulted in increased cell death. Cell viability of HT22 was significantly reduced by H₂O₂ treatment, and reduction of cell viability was efficiently restored by treatment with PLMR extract in a dose-dependent manner from 0.1 to 1 mg/mL. Cells treated with H₂O₂ showed increased expression of Bax, a pro-apoptotic protein, which was down-regulated by treatment with PLMR extract. On the other hand, cells treated with H₂O₂ resulted in reduced expression of Bcl-2, an anti-apoptotic protein, which was restored by treatment with PLMR extract. In addition, treatment with PLMR extract reduced expression of cleaved caspase 3 and PARP, which were up-regulated by H₂O₂ treatment. The results may suggest that treatment with PLMR extract would suppress H₂O₂-induced apoptosis of HT22 cells.

Key words: *Phellinus linteus* mycelium rice, HT22, oxidative stress, MTS assay, western blot

서 론

현대 사회의 식품 소비패턴은 밥보다 빵이나 면 등의 대체 식품 섭취의 증가로 쌀 소비는 감소하고 있다(1). 한편 건강식을 지향하는 현대인들이 당뇨, 암, 비만 등의 생활습관병을 예방하기 위해 비싼 가격에도 불구하고 기능성 쌀에 대한 인식이 높아지고 있다(2). 기능성 쌀의 종류는 쌀을 고체배지로 하여 담자균, 홍국균 등을 배양한 쌀, 식이섬유 등 유효물질을 코팅한 쌀, 신제품 육종에 의해 개발되는 특화 쌀, 특수 가공처리 된 쌀 등이 있다(3).

버섯은 진균류에 속하는 담자균 중 자실체를 형성하는 고등균류로 항암작용, 생체기능 조절 및 뇌졸중, 심장병과 같은 성인병에 대한 효능이 보고되면서 소비자들의 관심이 높아지게 되었으며 그중 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 분류학적으로 민주름버섯목(Aphyllorphorales), 소나무 비늘버섯과(Hymenochaetaceae)의 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하고 뽕나무 줄기에 자생하며 삿갓표면을 제외하고는 모두

황색이므로 상황(桑黃)이라 불렀고 식용 및 약용으로 사용되고 있다(4). 최근까지 알려진 약리 작용으로는 항산화, 식후 혈당 상승 억제 효과(5), 항염증 및 항알레르기(6), 면역조절(7), 항혈전(8), 신경세포 보호 효과(9) 등이 있다. 또한, 최근에는 상황버섯의 자실체 이외의 균사체에서도 항염증 작용(10), 항산화(11), 치매 관련 β -secretase 저해 활성(12) 등의 효능이 보고되어, 경제적이고 배양이 쉬운 상황버섯 균사체 이용에 관한 연구가 집중되고 있다.

HT22 세포는 마우스 해마 세포주로 산화적 스트레스에 의한 신경 세포사의 메커니즘을 연구하는 *in vitro* 모델로 사용되어 왔다(13). 인체의 대사 과정 중 부산물로 생성되는 free radical은 뇌 허혈성 질환의 손상을 악화시키는 주요 위험요인 중 하나로 간주되고 있다고 알려져 있다(14). 그중 hydrogen peroxide(H₂O₂)는 superoxide(O₂⁻), hydroxy radical(OH[•]) 등을 가지고 있는 free radicals의 하나로 심혈관계나 노화 등 각종 질환의 발병인자로 알려져 있다(15,16). 뇌신경성 세포에 있어서 free radicals에 의한 산화적 손상은 노인성 치매 및 뇌졸중과 같은 신경질환 등의 원인으로 알려져 있다(17). 버섯의 산화적 스트레스로 인한 신경보호 효과에 대한 연구로는 상황버섯(18), 능이버섯 효소 추출물(19), 운지버섯균사체 배양 추출물(20), 팽이버섯

Received 27 February 2017; Accepted 13 June 2017

Corresponding author: Soon Sil Chun, Department of Food & Nutrition, Suncheon National University, Suncheon, Jeonnam 57922, Korea
E-mail: css@scnu.ac.kr, Phone: +82-61-750-3654

효소 가수분해물(21) 등으로 진행된 연구들이 있으나, 버섯 균사체로 가공된 쌀이나 버섯균사체에 대한 신경보호 효과 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 상황버섯균사체 쌀(rice with *Phellinus linteus* mycelium, PLMR)이 H₂O₂에 의해 유도된 HT22 신경세포 사멸에 미치는 영향과 apoptosis를 통한 세포사멸 억제 효과를 관찰하여, 상황버섯균사체 쌀이 뇌 질환의 예방과 관련된 기능성 식품으로서의 개발 가능성을 찾고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

상황버섯균사체 쌀(청담동 머느리 상황 600)은 (주)해뜰날(전남 장흥)에서 제공받았으며, 상황버섯균사체 쌀 추출물은 쌀 250 g에 물 2 L를 넣고 3시간 가열하여 추출한 후 추출액을 원심분리(4,000 rpm, 10 min, 25°C; Combi-514, Hanil, Gimpo, Korea) 하여 상층액을 동결 건조해서 얻은 분말을 시료로 사용하였다. 실험에 사용된 시약으로 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)은 HyClone(Longan, UT, USA)에서, fetal bovine serum(FBS), phosphate buffered saline(PBS), trypsin, antibiotics는 Gibco/BRL(Eggenstein, Germany)에서, 과산화수소수는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서, (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) salt(MTS)는 Promega(Madison, WI, USA)에서 구입하였다. Primary antibody는 Bax, Bcl-2는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서, caspase-3는 Cell Signaling Technology, Inc.(Danvers, MA, USA)에서, PARP는 Enzo Life Sciences(Farmingdale, NY, USA)에서, Secondary antibody는 Cell Signaling Technology, Inc.에서 구입하였다. ECL은 Millipore(Bedford, MA, USA) 제품을 사용하였고, 기타 시약 및 용매는 특급 또는 1급 시약을 사용하였다.

HT22 세포배양

본 실험에 쓰인 세포는 clonal mouse hippocampal cell line인 HT22를 사용하였다. 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin이 포함된 Dulbecco's Modified Essential Medium(DMEM)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

HT22 세포생존율

상황버섯균사체 쌀이 세포와 H₂O₂에 의한 세포독성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 MTS assay를 실시하였다. 96-well plate에 5×10³ cells/100 µL의 밀도로 24시간 배양한 후 FBS가 없는 배지로 100 µL씩 교체하였다. 1시간 안정 후 배지에 상황버섯균사체 쌀 추출 시료를 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 15, 20 mg/mL 농도로 처리하였다. 시료 처리

30분 뒤 H₂O₂를 500 µM 농도로 처리 후 24시간 뒤에 MTS 시약을 배지 100 µL에 20 µL씩 처리하고 CO₂ incubator에서 2~4시간 정도 배양 후 microplate reader(infinite M200; Tecan, Durham, NC, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정하여 세포생존율을 확인하였다.

Western blot analysis

6-well plate에 1×10⁶ cells/well의 밀도로 24시간 배양한 후 FBS가 없는 배지로 2 mL씩 교체하였다. 1시간 안정 후 배지에 시료를 1 mg/mL 농도로 처리하였다. 시료 처리 30분 후 H₂O₂를 250 µM 농도로 처리한 다음 CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 시료로 사용하였다. 얻어진 세포를 4°C PBS로 두 번 세척 후 protease inhibitor를 첨가한 lysis buffer(iNtRON Biotechnology, Seoul, Korea)를 사용하여 세포를 용해시켰다. 세포 용해액을 15,000×g, 4°C에서 15분간 원심분리 하여 상층액만 회수하였다. 회수한 단백질은 BCA assay 방법으로 정량한 다음 30 µL의 단백질을 10%, 12% acrylamide gel에 전기영동 후 nitrocellulose membrane(Schleicher & Schuell, Keene, NH, USA)으로 옮겼다. 5% skim milk로 1시간 blocking 후 membrane에 specific primary antibody를 5% bovine serum albumin에 넣고 4°C에서 24시간 반응시킨 다음 TBS-T(tris-buffered saline+0.1% Tween 20)로 세척한 후 secondary antibody를 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. Secondary antibody를 TBS-T로 세척한 후 chemiluminescent substrate 용액을 사용하여 목적 단백질을 확인하였다.

통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 평균치±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, SPSS 프로그램(SPSS 12.0 for windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 활용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였다. 유의적인 차이는 Student's two tailed *t*-test로 *P*<0.05 수준에서 비교하였다.

결과 및 고찰

세포생존율 평가

상황버섯균사체 쌀 추출물의 HT22 cell에 대한 세포생존율을 평가하기 위하여 MTS assay를 실시하였다. 추출물을 농도별로 처리한 후 24시간 동안 세포생존율을 측정하였고, 상황버섯균사체 쌀 추출물의 단일 독성은 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1A는 상황버섯균사체 쌀 추출물을 0, 0.1, 0.5, 1 mg/mL로 처리한 결과 1 mg/mL의 농도에서 높은 생존율을 보여 신경세포의 사멸에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. Fig. 1B는 독성을 일으키는 농도를 알아보기 위해 측정된 결과 5 mg/mL까지는 독성을 나타내지 않았고, 10 mg/mL 이상의 농도부터 농도 의존적으로 세포생존율이 감소함

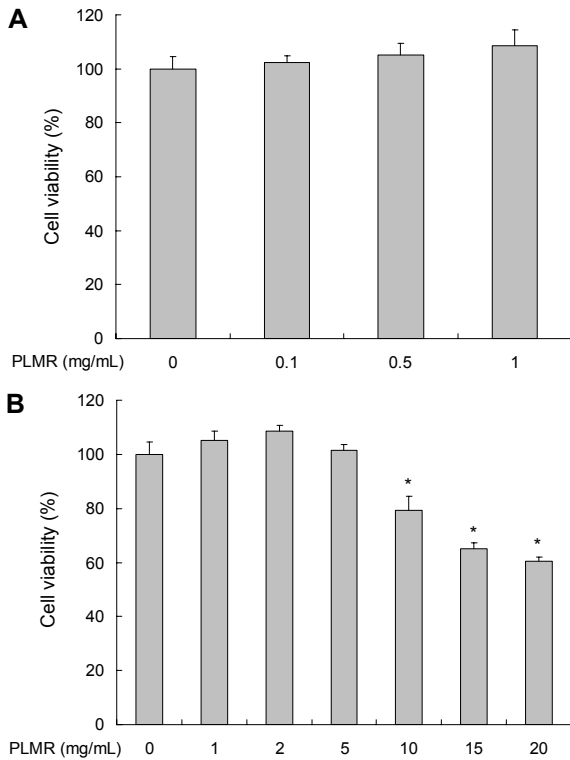


Fig. 1. Effect of rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLMR) on cell viability in HT22 cells. The MTS assay determined the cell viability. **P*<0.05: significantly different from the values of control cells.

을 확인할 수 있었다.

상황버섯균사체 쌀 추출물과 H₂O₂를 함께 처리하였을 때 뇌신경세포 보호 효과는 Fig. 2에 나타내었다. H₂O₂로 자극된 세포는 63.80%의 세포생존율을 보인 반면, H₂O₂ 처리 시료에 상황버섯균사체 쌀 추출물을 함께 처리한 결과 0.1 mg/mL 처리군은 76.85%, 0.5 mg/mL 처리군은 92.46%, 1 mg/mL 처리군은 95.57%로 농도 의존적으로 생존율을

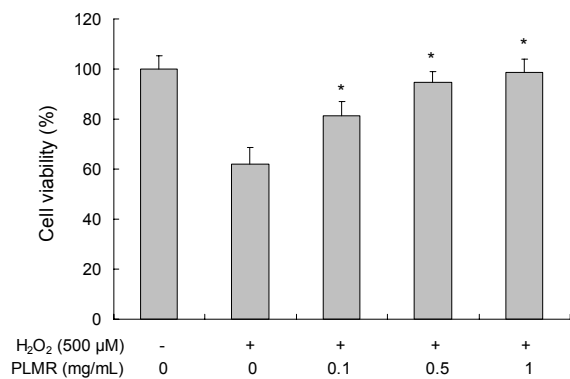


Fig. 2. Effect of rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLMR) on H₂O₂-induced oxidative damage in HT22 cells. The MTS assay was determined the cell viability. The PLMR was added with various concentrations (0, 0.1, 0.5, 1 mg/mL) to the cells which were exposed to 500 μM H₂O₂. **P*<0.05: significantly different from the values of H₂O₂-induced cells.

나타내었다. 이러한 결과 상황버섯균사체 쌀 추출물은 신경 세포에서 일어나는 H₂O₂의 자극을 억제할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

Han(22)의 연구에서 HepG2를 알코올로 손상시키고 상황버섯 추출물을 처리하였을 때 생존율이 증가하였다고 보고하였는데, 이는 상황버섯 추출물이 뇌신경세포 보호 효과 뿐만 아니라 간세포 보호 효과도 있는 것으로 생각된다.

Bax/Bcl-2 발현 양상의 변화

상황버섯균사체 쌀에 의한 apoptosis의 세포 내 기작을 관찰하기 위하여 미토콘드리아 기능 조절과 관련된 Bcl-2 family protein의 발현을 관찰하였다.

Bcl-2 family protein 내 pro-apoptotic protein과 anti-apoptotic protein은 각 단백질 인자의 비율 변화가 apoptosis 활성을 조절한다(23). Pro-apoptotic protein인 Bax는 정상시에는 세포 내 미토콘드리아 외막에 단위체로 존재하며, Bcl-2, Bcl-xL 등과 heterodimer를 형성하여 Bcl-2의 anti-apoptosis effect를 방해하고(24), 또한 미토콘드리아로부터 cytochrome C의 분비를 촉진해 세포사멸을 촉진시킨다(25). 반면에 anti-apoptotic protein으로 알려진 Bcl-2는 Bax를 미토콘드리아로의 이동을 억제시켜 세포사멸을 억제시키는 작용을 한다(24).

생체의 대사 과정이나 호흡 중에 생성되는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 여러 세포의 반응을 조절한다(26). ROS의 과도한 발현 및 축적은 산화적 스트레스의 유발로 세포 손상을 유발하여 세포자살을 일으키고, 이에 대한 결과로 파킨슨 증후군이나 알츠하이머와 같은 퇴행성 뇌 질환을 발병시키는 한 가지의 중요한 원인이 된다(27). 따라서 본 실험에서는 clonal mouse hippocampal cell line인 HT22 세포에 H₂O₂와 상황버섯균사체 쌀 추출물을 처리하였을 때 세포사멸을 조절하는 Bax와 Bcl-2 단백질 발현의 차이를 확인하고자 western blot을 수행하였다.

상황버섯균사체 쌀 추출물을 1 mg/mL 농도로 24시간 처리한 결과, Fig. 3에서 보이는 바와 같이 Bax의 발현은 H₂O₂ 처리군보다 감소하는 것이 확인되었고, 대조군과 유의적인 차이를 나타내었다. Bcl-2는 H₂O₂ 처리군보다 상황버섯균사체 쌀 처리군에서 발현이 증가하였지만 유의적인 차이는 없었다. 이에 따라 상황버섯균사체 쌀 추출물이 H₂O₂ 자극 시 apoptosis를 억제하는 것을 확인하였다.

Lee 등(28)의 연구에서 PC12 세포에 H₂O₂를 처리하고 노루궁뎅이 버섯 가수분해 추출물을 처리하여 단백질 발현량을 분석한 결과, 본 연구와 유사하게 세포사멸을 유도하는 Bax의 발현은 H₂O₂를 단독으로 처리한 군보다 감소하였고, Bcl-2의 발현은 H₂O₂를 단독으로 처리한 군보다 증가하였다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 실험과 유사한 결과를 나타내었고, 상황버섯균사체 추출물이나 노루궁뎅이 버섯 가수분해 추출물 등은 세포사멸과 관련된 단백질의 발현을 조절한다는 것을 의미한다.

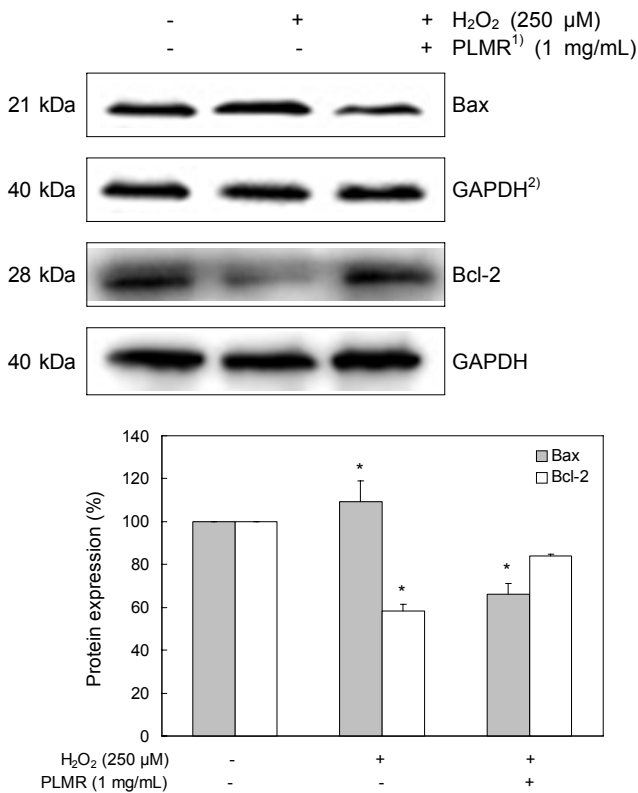


Fig. 3. Effect of PLMR on H₂O₂-induced apoptosis related proteins Bax and Bcl-2 in HT22 cells. Cells were treated of PLMR at the indicated concentration for 24 h. Equal amounts of cell lysate (30 μg) were subjected to western blot analysis of anti-Bax, Bcl-2, monoclonal antibodies. *P<0.05: significantly different from the values of control cells. ¹PLMR: rice with *Phellinus linteus* mycelium. ²GAPDH was used internal control.

Caspase-3/PARP 발현 양상의 변화

현재까지 수많은 apoptosis와 관련된 유전자가 알려져 있다. 그중에서도 caspase-3는 시스테인계의 단백질 분해 효소로 세포질 내에서 핵 안의 PARP로 이어지는 mechanism을 가지고 있다(29).

Caspase-3는 다양한 apoptosis 자극에 의하여 활성화될 수 있고, 활성화된 caspase-3는 절단된 형태로 바뀌고, 세포 내의 단백질 PARP의 분해를 촉진시켜 apoptosis를 일으키게 된다(30).

이에 따라 HT22 세포에 상황버섯균사체 찐 추출물을 1 mg/mL 농도로 24시간 처리하여 apoptosis 신호전달과정에서 절단된 caspase-3와 PARP를 측정하였다. 그 결과 Fig. 4에서 보이는 바와 같이 상황버섯균사체 찐 처리군에 절단된 caspase-3가 발현되었지만 H₂O₂ 처리군보다 감소한 양상을 보였으며, 대조군과는 유의적인 차이가 없었다. PARP 또한 효소가 발현되어 116 kDa이 89 kDa으로 떨어지면서 활성화되는 양상을 보였지만 상황버섯균사체 찐 처리군이 H₂O₂ 처리군보다 발현이 감소한 양상을 보였으며, 두 처리군 모두 대조군과 유의적인 차이를 나타내었다. 따라서 상황버섯균사체 찐 추출물이 뇌세포에서의 caspase-3

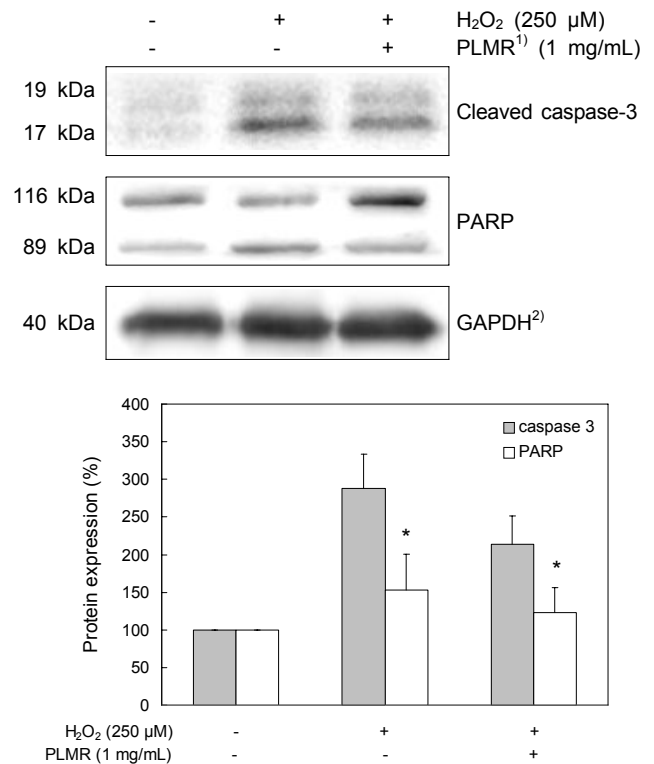


Fig. 4. Effect of PLMR on H₂O₂-induced apoptosis related proteins cleaved caspase-3 and PARP in HT22 cells. Cells were treated of PLMR at the indicated concentration for 24 h. Equal amounts of cell lysate (30 μg) were subjected to western blot analysis of anti cleaved caspase-3, PARP monoclonal antibodies. *P<0.05: significantly different from the values of control cells. ¹PLMR: rice with *Phellinus linteus* mycelium. ²GAPDH was used internal control.

활성을 억제하여 apoptosis 형태의 세포사멸을 억제하는 것으로 생각된다.

요 약

상황버섯균사체 찐의 뇌세포 보호 효과를 분석하여 상황버섯균사체 찐에 대한 기초자료를 제공하고, 이를 이용하여 뇌 질환의 예방과 관련된 기능성 식품으로의 개발가능성을 찾고자 하였다. 상황버섯균사체 찐 추출물을 처리하여 마우스 해마세포주 HT22의 세포보호 효과를 알아보기 위해 MTS assay를 이용한 세포생존율과 western blot을 이용한 세포사멸 단백질의 발현을 관찰하였다. 상황버섯균사체 찐 추출물의 단일 독성을 측정된 결과 상황버섯균사체 찐 추출물 처리군은 102.68% 이상의 생존율을 보여 신경세포의 사멸에 영향을 주지 않았다. 또한, 상황버섯균사체 찐 추출물과 H₂O₂를 함께 처리하였을 때 H₂O₂로 자극된 세포는 63.80%의 세포생존율을 나타내었고, 상황버섯균사체 찐 추출물과 H₂O₂가 함께 처리된 세포는 76.85%, 92.46%, 95.57%로 농도 의존적으로 세포생존율이 증가하였다. HT22 cell에 H₂O₂와 상황버섯균사체 찐 추출물을 처리하여 apopto-

sis 유도 단백질을 측정된 결과, pro-apoptotic protein인 Bax는 발현이 억제되었고, anti-apoptotic protein인 Bcl-2는 발현이 증가함을 확인하였다. 또한, caspase-3와 PARP의 발현을 억제하여 상황버섯균사체 싄 추출물이 H₂O₂로 유도되는 apoptosis를 억제하는 것을 확인할 수 있었다.

REFERENCES

1. Yang HS, Kim CS. 2010. Quality characteristics of rice noodles in Korean market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 737-744.
2. Kim JH, Moon JE, Kang MY, Lee SC. 2013. A comparison of cooking quality on commercial eco-friendly functional rice. *Korean J Crop Sci* 58: 451-458.
3. Yoo KA, Kang MY. 2005. Studies on bread-making quality of bread mixed with wheat flour and several functional rice flour. *Korean J Food Cult* 20: 299-304.
4. Kim GH, Han HK. 1998. The effect of mushroom extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 326-332.
5. Choi HY, Ha KS, Jo SH, Ka EH, Chang HB, Kwon YI. 2012. Antioxidant and anti-hyperglycemic effects of a Sanghwang mushroom (*Phellinus linteus*) water extract. *Korean J Food Nutr* 25: 239-245.
6. Yun WS, Jung HA, Roh SS. 2010. Effect of *Phellinus igniarius* *Quel* extract on the anti-inflammatory, anti allergy, anti-oxidant, anti-wrinkle. *J Korean Orient Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol* 23: 75-93.
7. An CS, Choi SY, Jim HL, Jeon YH, Hur SJ, Kim IH, Park GD, Jeoung YJ, Lim BO. 2009. Immunomodulatory effects of *Phellinus linteus* extracts on liver damage induced by carbon tetrachloride in rats. *Korean J Med Crop Sci* 17: 217-222.
8. Seo HC. 2011. Optimization of anticoagulant production from *Phellinus linteus* Mycelia. *Kor J Mycol* 39: 117-121.
9. Choi DJ. 2012. Neuroprotective effects of *Phellinus linteus* against ethanol-induced apoptosis of human SK-N-SH cells. *MS Thesis*. Catholic University, Seoul, Korea.
10. Kim SH, Song YS, Kim SK, Kim BC, Lim CJ, Park EH. 2004. Anti-inflammatory and related pharmacological activities of the n-BuOH subfraction of mushroom *Phellinus linteus*. *J Ethnopharmacol* 93: 141-146.
11. Park IH, Chung SK, Lee KB, Yoo YC, Kim SK, Kim GS, Song KS. 2004. An antioxidant hispidin from the mycelial cultures of *Phellinus linteus*. *Arch Pharm Res* 27: 615-618.
12. Park IH, Jeon SY, Lee HJ, Kim SI, Song KS. 2004. A β -secretase (BACE1) inhibitor hispidin from the mycelial cultures of *Phellinus linteus*. *Planta Med* 70: 143-146.
13. Schmidt P, Holsboer F, Spengler D. 2001. β 2-adrenergic receptors potentiate glucocorticoid receptor transactivation via G protein β -subunits and the phosphoinositide 3-kinase pathway. *Mol Endocrinol* 15: 553-564.
14. Chan PH. 2001. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 21: 2-14.
15. Halliwell B, Gutteridge JME. 1989. The chemistry of oxygen radicals and oxygen-derived species. In *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, UK. p 22-31.
16. Halliwell B, Gutteridge JME. 1989. Protection against oxidants in biological systems: the superoxide theory of oxygen toxicity. In *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, UK. p 86-89.
17. Baynes JW. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40: 405-412.
18. Satoh T, Sakai N, Enokido Y, Uchiyama Y, Hatanaka H. 1996. Free radical-independent protection by nerve growth factor and Bcl-2 of PC12 cells from hydrogen peroxide-triggered apoptosis. *J Biochem* 120: 540-546.
19. Lee SJ, Kim EK, Oh HJ, Kwon HJ, Hwang JW, Moon SH, Jeon BT, Park PJ, Lim BO. 2011. Free radical scavenging activity and protective effect against H₂O₂-induced stress in neuronal cells of enzymatic extracts from *Sarcodon aspratus*. *Korean J Med Crop Sci* 19: 77-82.
20. Hyun SD. 2008. Effects of culture extracts from *Coriolus versicolor* mycelium grown in citrus extract on ethanol-induced neurotoxicity. *MS Thesis*. Cheju National University, Jeju, Korea.
21. Lee SJ, Kwon HJ, Oh HJ, Hwang JW, Kim YS, Lim BO, Park PJ. 2010. Investigations of antioxidative activity against oxidative stress induced by hydrogen peroxide in PC-12 neuronal cells from enzymatic hydrolysates of *Flammulina velutipes*. Proceeding of the 2010 Symposium and Annual Meeting of the Korean Society of Medicinal Crop Science. Cheongju, Korea. p 339-340.
22. Han WRJR. 2013. Study on the hepatoprotective effects from *Phellinus baumii* extract. *MS Thesis*. Konkuk University, Seoul, Korea.
23. Park S, Ahn S, Cho J. 2005. Effects of *Ampelopsis japonica* extracts on tumor immunity. *Korean J Oriental Med* 11: 113-140.
24. Kroemer G, Zamzami N, Susin SA. 1997. Mitochondrial control of apoptosis. *Immunol Today* 18: 44-51.
25. Adams JM, Cory S. 1998. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 281: 1322-1326.
26. Coyle JT, Puttfarcken P. 1993. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 262: 689-695.
27. Rao KS. 2009. Free radical induced oxidative damage to DNA: relation to brain aging and neurological disorders. *Indian J Biochem Biophys* 46: 9-15.
28. Lee SJ, Kim EK, Hwang JW, Kim CG, Choi DK, Lim BO, Moon SH, Jeon BT, Park PJ. 2010. Neuroprotective effect of *Hericium erinaceum* against oxidative stress on PC12 cells. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53: 283-289.
29. Chiarugi V, Magnelli L, Turchetti A, Cinelli M, Cavari S, Ruggiero M. 1994. Cell survival and death programmes. *Pharmacol Res* 29: 101-110.
30. Gorman AM, Hirt UA, Orrenius S, Ceccatelli S. 2000. Dexamethasone pre-treatment interferes with apoptotic death in glioma cells. *Neuroscience* 96: 417-425.