

차가버섯 추출물이 소화기계 암세포의 증식 및 Caspase-3 활성화에 미치는 영향

황용주 · 노건웅* · 김선희[§]

국민대학교 식품영양학과, 서울 알레르기 연구소*

Effect of *Inonotus Obliquos* Extracts on Proliferation and Caspase-3 Activity in Human Gastro-Intestinal Cancer Cell Lines

Hwang, Yong-Ju · Noh, Geun-Woong* · Kim, Sun-Hee[§]

Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul Allergy Research Center,* Seoul 136-702, Korea

ABSTRACT

We studied the effects of hot water extract of *Inonotus obliquos* mushroom on the proliferation and apoptosis of the human colon adenocarcinoma, HT-29 and the human stomach adenocarcinoma, SNU-484 cell. 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 the cell proliferation experiments, cells were seeded in 35 mm dishes, and were treated with the various concentrations of the extract for the different time course. Apoptosis was measured by caspase-3 activity. When we incubated HT-29 cells for 24, 48, 72, and 96 hours after treatments, the cell proliferation was more suppressed with more treatment time. In case of the human stomach cancer cell, SNU484, the extract significantly decreased the cell number. Thus, the treatment of 1.5 mg/ml extract decreased almost half of the cell number. Caspase-3 activity in HT-29 was increased by the treatment of mushroom extracts. In SNU484, caspase-3 activity tended to increase in proportion to the amounts of the extracts and the treatment of *Inonotus obliquos* affected the activity a lot. Therefore, *Inonotus obliquos* is suggested for the prevention of gastro-intestinal cancer and strongly recommended for the treatment of stomach cancer. (*Korean J Nutrition* 36(1) : 18~23, 2003)

KEY WORDS : apoptosis, caspase-3 activity, *Inonotus obliquos*, cancer cell.

서 론

천연물로부터 항암 효능을 갖는 생리활성물질을 찾는 연구가 선진국을 중심으로 세계 각국에서 활발하게 이루어지고 있으며, 국내에서도 우리나라에 자생하는 채소나 약용 식물 등에서 생리활성물질을 추출하여 생체 내 면역반응효과를 살펴보는 연구가 많이 진행되고 있다.¹⁻⁴⁾

생리활성물질은 종양세포에 작용하여 성장을 억제 또는 사멸시키거나, 생체의 면역반응을 강화시켜 종양에 대한 방어력을 높이며,⁵⁻¹¹⁾ 생체의 생물적 반응을 변화시켜 종양 세포의 감수성을 높이고,¹²⁻¹⁴⁾ 항암 약물과 방사선 조사에 따르는 독성에 대한 피해를 경감시킴으로써¹⁵⁾ 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,¹⁶⁾ 실제 이러한 버섯추출물 성분을 가지고 생리활성에 대한 연구는 아직 부족한 실정이다.

차가버섯 (*Inonotus obliquos*)은 북위 45° 이상의 깊은 산에 자생하는 검은 자작나무에 덩이로 자생하는 버섯으로 러시아 시베리아와 캐나다, 일본 홋카이도 지역에서 많이 발견된다. 차가버섯은, 갓을 형성하지 않고 표면은 딱딱하고 검은 광택이 있으며 내부는 딱딱한 코르크질로 되어 있어 상황버섯과 모양이 비슷하다. 끓였을 때 색깔이 상황버섯은 황금빛인데 반하여 차가버섯은 더 검은 황금빛을 띄며, 맛과 향기는 없는 편으로 담백하고, 그 지역에서 소화

접수일 : 2002년 10월 30일

채택일 : 2003년 1월 8일

[§]To whom correspondence should be addressed.

기계 암과 당뇨병 환자에게 특히 우수한 치료효능을 보인다고 알려져 있다.

신체를 구성하고 있는 기본단위인 세포는 조직의 항상성을 유지하기 위하여 세포분열과 죽음을 조절하는데 이 중에서 능동적인 죽음을 자가사멸 (apoptosis) 또는 programmed cell death라고 한다.¹⁷⁾ 이 과정에서 원하지 않거나 손상을 입은 세포는 제거된다. 이러한 자가사멸은 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 세포 외로 유리되지 않아 다른 세포에 손상을 주지는 않는다. 형태학적으로는 세포의 비중 감소와 세포막의 파괴 및 염색체의 응축과 더불어 사멸체 (apoptotic body) 형성과 함께 식세포 작용을 거치는 작용을 의미하며, 생화학적으로는 염색체 DNA가 큰 조각에서 작은 조각으로 갈라지는 DNA fragmentation을 의미한다.^{18,19)} 자가사멸 과정에서 실행경로의 활성화 과정에 관여하는 caspase는 세포 사멸시 활성화되는 중요한 단백질 분해효소이므로²⁰⁾ 이 효소의 활성도를 측정하여 자가사멸 정도를 파악할 수도 있다.

그러므로 본 연구에서는 차가버섯의 열수 추출물이 한국인 위암세포인 SNU-484와 대장암세포 HT-29의 세포 증식과 자가사멸을 이끄는 caspase-3 효소의 활성을 측정하여 소화기계 항암효능을 확인하고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 시료추출

본 실험에 사용한 차가버섯 (*Inonotus obliquus*)은 러시아산으로 인천계양영농버섯조합에서 구입하였으며, 차가버섯 25 g을 증류수 200 ml에 넣고 90분간 가열하여 추출액을 따라 놓고 다시 200 ml의 증류수를 넣고 120분간 가열한 후 1차 추출액과 합하였다. 이 추출액을 Whatman filter paper (#2)로 여과하여 -40°C에서 6~8시간 진공냉동건조 (freeze-dryer with concentrator : Lisin, Korea) 하였다. 건조된 차가버섯 시료에 serum free medium을 넣어 용해시킨 후 sterile disposable syringe (acetate, 0.22 μm, 25 mm) filter로 여과하여 사용하였다.

2. 세포배양

본 실험에서 사용한 세포는 두 종류로 대장암 세포는 HT-29 (human, adenocarcinoma, colon)로 한림대학교에서 ATCC (American Type Culture Collection, U.S.A.)

으로부터 구입한 것을 제공받아 사용하였고, 위암세포인 SNU484 (human, adenocarcinoma, primary)는 한국 세포주은행에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에서 HT-29는 passage 161~168에서, 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, U.S.A.)의 제품이었고, fungizone은 Gibco/BRL (Grand Island U.S.A.)에서 구입하였다. 세포 배양에 사용한 1회용 멸균 용기는 대부분 Corning과 Falcon (U.S.A.)의 제품이였다.

3. 시료처리

본 실험은 세포를 계대배양하여 충분한 세포수를 확보하게 되면 35 mm dish에 세포를 넣고 75~85% confluence 해지면 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.

4. MTT 분석

세포 수의 측정은 살아있는 세포수를 측정할 수 있는 좋은 방법으로 알려진 MTT법²¹⁾을 이용하였는데, 이는 mitochondria dehydrogenase가 3-(4,5)-dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT., Sigma Chemicals, U.S.A.)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, U.S.A.)로 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. Caspase-3 활성측정

이 분석법은 예정된 세포사멸인 apoptosis를 이끄는 cysteine protease의 일부인 caspase-3의 활성을 조사하

는 방법으로 세포 내에서 자가사멸이 유도되면 단백 분해 효소가 활성화되고, 이와 같이 활성화되면 caspase-3 효소는 세포내의 p-nitroanilide와의 기질결합체인 DEVD-pNA를 분해하여 푸른빛의 pNA와 DEVD를 만든다. 이 효소의 분석은 ApoAlert caspase-3 colorimetric assay kit (Clontech Co., USA)를 이용하였는데, 배양접시에서 시료처리한 세포를 떼어내어 1,500 r.p.m.에서 5분간 원심분리 (Microspin, Hanil Co. Korea)하여 침전물을 택하고, chilled cell lysis buffer를 첨가한 후 얼음에 10분간 두었다가 4°C, 15,000 r.p.m.에서 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.

6. 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 활성화 측정을 위한 처리과정에서 부유액을 일부 취하여 96 well에 넣고 염색시약을 첨가하여 37°C에서 5분간 배양 후 microplate reader로 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 자료의 처리

자료는 SPSS를 이용하여 분석하였는데, 평균과 표준편차를 구하고 대조군에 대한 백분위를 구하였으며 세포증식은 일원변량 분산분석 후 각 실험군간의 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.

실험결과 및 고찰

1. 차가버섯이 암세포 증식에 미치는 영향

1) 대장암세포 HT-29에 미치는 영향

대장암 세포인 HT-29에 버섯 추출액을 첨가하고 첨가 수준에 따른 세포 증식을 알아보기 위하여, 차가버섯 추출물을 serum free medium (SFM)에 각각 1.5 mg/ml, 3.0 mg/ml 첨가하고 48시간 배양한 다음 세포수를 측정 한 결과는 Table 1에서와 같다. 버섯 추출물의 첨가에서 1.5 mg/ml 첨가 시에 세포 수는 유의적으로 감소하였으며,

Table 1. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on cell proliferation in HT-29

Extract (mg/ml)	Cell number ($\times 10^5$ /dish)
Control	19.4 \pm 2.9 ¹⁾²⁾
1.5	16.0 \pm 3.0 ^b
3.0	13.2 \pm 1.7 ^c

1) Values represent means \pm SD.

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

Table 2. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on cell proliferation in HT-29 in each treatment period

Extract (mg/ml)	Cell number ($\times 10^5$ /dish)			
	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Control	19.7 \pm 0.9 ¹⁾²⁾	35.0 \pm 1.5 ^b	37.5 \pm 4.0 ^b	21.9 \pm 0.8 ^b
1.5	16.4 \pm 3.0 ^b	31.8 \pm 2.6 ^c	34.0 \pm 1.6 ^c	9.7 \pm 2.2 ^b
6.0	22.8 \pm 1.0 ^c	22.0 \pm 0.8 ^c	18.3 \pm 0.2 ^b	5.2 \pm 1.8 ^b
12.0	28.1 \pm 1.2 ^d	20.9 \pm 0.5 ^c	1.4 \pm 0.8 ^b	2.9 \pm 0.0 ^b

1) Values represent means \pm SD.

2) Means sharing a same superscript letter in a row are not significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.0 mg/ml 첨가에서는 1.5 mg/ml 첨가에 비해 다시 유의적으로 감소하였다. 이와 같은 차가버섯 추출물 첨가량 증가에 따른 대장암세포 증식억제효과는 항암효능의 증가는 Park 등²²⁾이 간암세포인 H22와 백혈병세포인 L1210에 대한 표고버섯과 느타리버섯의 항암효능을 확인하고 버섯의 첨가량이 증가할수록 암세포의 저지율이 증가하였다는 결과와 유사하다. 차가버섯 추출물 1.5 mg/ml를 첨가하였을 때 세포 수는 대조군의 82.7%로 감소하였고 3.0 mg/ml 첨가에서는 77.2%로 감소하였다. 따라서 차가버섯의 HT-29 세포증식 억제 효과를 알 수 있었으며, 버섯 추출물의 첨가 수준이 높아짐에 따라 증식 억제 효과가 더 뚜렷함을 알 수가 있었다.

차가버섯 추출물 첨가가 HT-29 세포에 대해 항암 효과가 있음을 확인한 후 추출물의 첨가 수준과 처리시간에 따라 HT-29 세포에 대한 증식이 어떠한지를 알아보려고 하였다. 차가버섯 추출물을 1.5 mg/ml, 6.0 mg/ml, 12.0 mg/ml를 넣고 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 배양한 후 세포 수를 측정하였다. 그 결과는 Table 2에서와 같이, 대조군의 경우 세포 수는 24시간의 배양시간에 비해 48시간에 유의적으로 증가하였으며 72시간에는 약간의 증가 경향을 보였고 96시간에는 유의적으로 감소하여 24시간의 수준으로 되돌아갔다. 차가버섯 추출물 1.5 mg/ml 첨가 시 24시간에 비해 48시간과 72시간에 대조군과 마찬가지로 증가하였고 96시간에는 유의적으로 감소하였다. 6.0 mg/ml 첨가에서는 48시간에는 24시간과 비슷한 수준이었으나 72시간에는 유의적으로 세포 수가 감소하였고

96시간에서는 세포 수가 매우 유의적으로 감소하였다. 12.0 mg/ml 첨가에서는 48시간에서 이미 24시간에 비해 유의적으로 세포 수가 감소하였으며 72시간 이후에는 살아있는 세포가 거의 없는 것으로 나타났다. 따라서 차가버섯 첨가량이 많을수록 HT-29 세포증식을 억제함을 알 수 있었는데 특히 처리시간이 길수록 증식의 억제 효과가 더 뚜렷하였다. 표고버섯 다당체를 흰쥐의 백혈병성 임파모 세포인 P388에 처리한 연구결과²³⁾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 억제된 결과와 유사하다. 또한 이는 파래와 곤피의 당단백질을 Sarcoma-180 암세포에 첨가한 연구²⁴⁾에서도 시간의 경과에 따라 암세포증식이 억제되었다는 결과와 동일하다. 썩의 열수추출물과 향기성분이 세균의 증식에 미치는 영향을 살펴본 연구²⁵⁾에서 보면 함유 성분에 따라 12시간에 항균 효과가 큰 경우도 있고 36시간에 항균효과가 큰 경우도 있고 36시간에 항균 효과가 나타나는 경우도 있었다.

그러므로 차가버섯 열수추출물의 첨가는 대장암 세포인 HT-29에 항암효과가 있으며 첨가량이 많을수록 배양시간이 길수록 항암효능이 증가함을 알 수 있었다.

2) 위암세포 SNU484에 미치는 영향

차가버섯 추출물을 1.5 mg/ml, 3.0 mg/ml, 6.0 mg/ml, 12.0 mg/ml, 18.0 mg/ml, 24.0 mg/ml의 농도로 첨가하여 48시간 배양하고 세포 수를 측정할 결과는 Table 3에서와 같다. 차가버섯 추출물 1.5 mg/ml 첨가에서는 세포 수가 9.2×10^3 으로 대조군의 19.5×10^3 에 비해 매우 유의적으로 감소하였으며, 320 mg/ml 첨가에서는 세포가 거의 관찰되지 않았다. 즉 차가버섯 추출물의 첨가량이 증가

Table 3. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on cell proliferation in SNU-484

Extract (mg/ml)	Cell number ($\times 10^5$ /dish)
Control	$19.5 \pm 1.1^{1)a2)}$
1.5	9.2 ± 0.8^b
3.0	8.9 ± 1.4^b
6.0	7.4 ± 1.7^b
12.0	3.3 ± 1.4^c
18.0	1.9 ± 0.1^{cd}
24.0	0.0 ± 0.0^d

1) Values represent means \pm SD.

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

할수록 SNU484 세포 수는 매우 감소하는 경향을 알 수 있었다.

차가버섯 첨가량에 따른 세포 성장을 Fig. 1에서 보면 1.5 mg/ml, 3.0 mg/ml, 6.0 mg/ml, 12.0 mg/ml, 18.0 mg/ml, 24.0 mg/ml의 첨가에서 세포수가 대조군의 56.1% 54.8%, 48.3%, 30.6%, 6.7%, 1.1%로 감소하였다. 이러한 차가버섯 첨가량과 세포수의 관계를 회귀분석해보면 $Y = -2.6932 X + 61.904$ ($r^2 = 0.9758$)의 반비례 직선을 볼 수 있다. 즉 차가버섯 첨가량이 많아질수록 세포수가 감소하므로 차가버섯은 위암 치료제로 응용해 볼 수 있을 것이다.

2. 차가버섯이 암세포의 자가사멸에 미치는 영향

1) 대장암세포 HT-29에 미치는 영향

차가버섯이 HT-29 세포의 자가사멸에 미치는 영향은 Fig. 2에서와 같이 차가버섯 1.5 mg/ml 첨가에서 caspase-3 활성이 대조군의 152%, 3.0 mg/ml에서 153%, 6.0 mg/ml에서 171%, 12.0 mg/ml에서 198%, 18.0 mg/ml에서 254%, 24.0 mg/ml에서 270%로 나타났다. curcumin을 인간의 상피암세포인 A-431에 처리한 연구²⁶⁾에서보면 curcumin 주입 48시간 뒤 세포 생존율은 10 μ M에서 80% 이상이었으나 20 μ M 이상에서는 20% 이하로 감소하였으며, 이때 caspase-3 활성은 증가하였으므로 curcumin에 의해 유도된 자가사멸을 확인하였다.

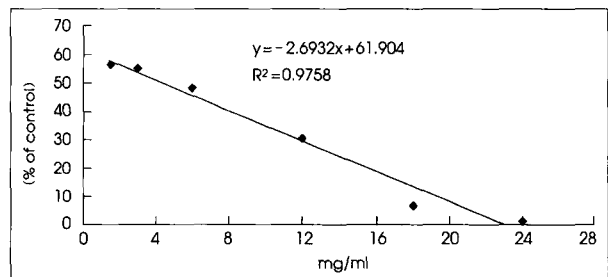


Fig. 1. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on cell proliferation in SNU-484.

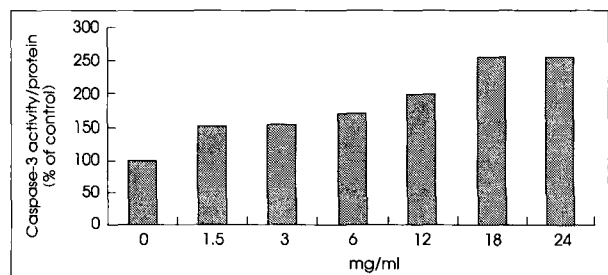


Fig. 2. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on caspase-3 activity in HT-29.

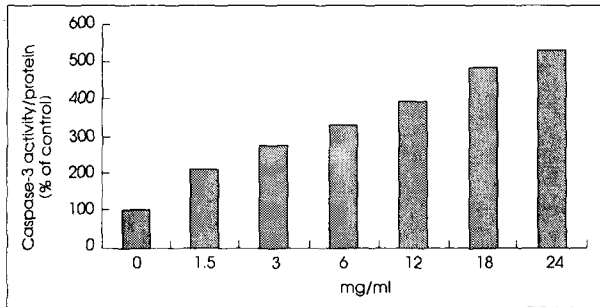


Fig. 3. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on caspase-3 activity in SNU-484.

또한 비스테로이드 항염제제, 예를 들어 sodium salicylate는 대장암, 폐암, 유방암, 백혈병²⁷⁾에서 caspase 활성을 증가시켜서 자가사멸을 유도하였다. Inanami 등²⁸⁾은 인간의 백혈병 세포에 X-ray를 조사한 후 지방과산화물을 방지하는 항산화제인 Trolox를 투여하고 X-선에 의해 유도된 자가사멸과의 관계를 살펴보았는데, 세포의 자가사멸에서 사다리와 같은 절단에 caspase-3가 관련된다고 하였다. 현재까지 영양소가 자가사멸에 영향을 미치는지는 별로 알려진 바 없으나 PC12 세포에서 choline 결핍에 의해 유도된 자가사멸은 choline을 보충하였을 때 완전히 방지되었고 choline 결핍 시 48시간 내에 배양액에 caspase inhibitor를 첨가하였을 때 자가사멸이 방지되었다고 하는 연구결과²⁹⁾로 볼 때 영양소도 자가사멸에 영향을 미칠 수 있는 것으로 보인다.

2) 위암세포 SNU484에 미치는 영향

Caspase-3 활성이 SNU484 세포에 미치는 영향을 Fig. 3에서보면, 차가버섯 추출물의 첨가량이 증가할수록 caspase-3 활성이 급격히 증가하였다. 차가버섯 추출물 1.5 mg/ml의 소량 첨가에도 caspase-3 활성이 대조군의 209%로 2배 증가하였으며 6.0 mg/ml 첨가에서 대조군의 327%, 12.0 mg/ml에서 391%, 18.0 mg/ml에서 481%, 24.0 mg/ml에서 529%로 가파른 증가를 나타내었다. 그러므로 차가버섯은 러시아 지역에서 일반적으로 위암의 예방과 치료효과가 있다고 알려진 바와 같이 위암 세포의 증식을 억제하고 이는 caspase-3 활성을 증가시켜 자가사멸을 이끄는 것으로 나타났다.

결론

본 연구에서는 일반적으로 여러 종류의 질병에 약리 효과가 있다고 알려진 버섯류 중 차가버섯을 택하여 열수추출하고 이 추출물을 인간의 대장암 세포인 HT-29와 한

국인 위암세포인 SNU484에 첨가한 후 세포 증식과 자가사멸을 이끄는 caspase-3 활성을 알아보고자 하였다.

대장암 세포인 HT-29에 차가버섯 추출물을 첨가하였더니 대조군에 비하여 유의적으로 세포 수가 감소하였으며 첨가량이 많아질수록 유의적으로 세포 증식이 더 억제되었다. 차가버섯의 첨가 후 배양시간에 따른 세포증식 억제효과를 살펴보았더니 24, 48, 72, 96시간으로 시간이 경과함에 따라 HT-29 증식이 유의적으로 억제됨을 볼 수가 있었다. Caspase-3 활성은 1.5 mg/ml 첨가에서 대조군의 1.5배, 12.0 mg/ml 첨가에서 2배로 증가하였으므로 소량의 버섯첨가에서도 caspase-3 활성이 증가함을 보였으나 첨가량이 많아져도 증가속도는 완만함을 나타내었다.

1.5 mg/ml 위암 세포인 SNU484의 경우에서도 차가버섯 추출물의 첨가량이 많아질수록 반비례하여 SNU484의 증식이 유의적으로 감소하였으며 HT-29에 비해 세포증식 억제효과가 더 뚜렷하였다. Caspase-3 활성의 경우에서도 차가버섯 추출물 1.5 mg/ml 첨가에서 활성이 2배, 12.0 mg/ml 첨가에서 4배, 18.0 mg/ml 첨가에서 약 5배로 증가하였다.

그러므로 차가버섯은 소화기계 암세포, 특히 위암세포의 증식을 매우 억제할 뿐 아니라 자가사멸을 유도하므로 위암에 대한 항암물질로 개발할 필요가 있을 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Lee JY, Hwang WI, Lim ST. Effect of *Platycodon grandiflorum* DC extract on the growth of cancer cell lines. *Korean J Food Sci Technol* 30(1): 13-21, 1998
- 2) Byrd JC, Park JHY, Schaffer BS, Garmroudi F, MacDonald PG. Dimerization of the insulin-like growth factor II/mannose 6-phosphate receptor. *J Biol Chem* 25(6): 18647-18656, 2000
- 3) Hwang YK, Kim DC, Hwang WI, Han YB. Inhibitory effect of *artemisia princeps* Pampan. extract on growth of cancer cell lines. *Korean J Nutr* 31(4): 799-808, 1998
- 4) Kim YS, Kim MN, Kim JO, Lee JH. The effect of hot water-extract and flavor compounds of mugwort on microbial growth. *J Korean Soc Food Nutr* 23(6): 994-1000, 1994
- 5) Kuo ML, Huang TS, Lin JK. Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells. *Biochim Biophys* 1317(10): 95-100, 1996
- 6) Beaulieu JF, Quaroni A. Clonal analysis of sucrase-isomaltase expression in the human colon adenocarcinoma Caco-2 cells. *Biochem J* 280: 599-608, 1991
- 7) Lal CN, Butler A, Matney TS. Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. *Mutation Res* 77: 245-250, 1980
- 8) Bertram S, Churley M, Kappock L, Wilkins L, Cooney V. Diverse carotenoids protect against chemically induced neoplastic trans-

- formation. *Carcinogenesis* 12(4) : 671-678, 1991
- 9) Cross S, Quatoni A. Inhibition of sucrase-isomaltase expression by ECF in the Human colon adenocarcinoma cells Caco-2. *Am J Physiol* 261: C1173-1183, 1991
 - 10) Fitzgerald P, Teng M, Chandraratna RAS, Heyman RA, Allegretto EA. 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, 1997
 - 11) Rubin M, Fenig E, Rosenauer A, Celia M-B, Achkar C, Benre L, Yahalom J, Mendelsohn J, Miller WIT. *Cancer Res* 54: 6549 - 6556, 1994
 - 12) Joo EJ, Kim IS, Seo EA. Effects of fructus schisandrae water extract on cultured mouse myocardial cells induced by xanthine oxidase/hypoxanthine. *Korean J Nutr* 33(7) : 739-744, 2000
 - 13) Lee JH, Kim KH, Kim DY. Effect of various of dietary fat on cell proliferation of rat colon. *Korean J Nutr* 32(4) : 394-400, 1999
 - 14) Rho SN, Hong JJ. Anti-tumor effect and the change of chitisan in human lung cancer line. *Korean J Nutr* 31(4) : 739-746, 1998
 - 15) Ahn DK. Medicinal fungi in Korea. *Korean Mycol* 20: 154-166, 1992
 - 16) Chung KS, Kim BK. Studies on antitumor constituents of *Pluteus cervinus*. *Seoul Univ J Pharm Sci* 10: 1-18, 1985
 - 17) Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 267: 1445-1449, 1995
 - 18) Lee CH, Chung MC, Lee HJ, Kho YH. An apoptosis regulator isolated from *Petasites japonicum*. *Korean J Food Sci Technol* 32(2) : 448-453, 2000
 - 19) Jaruga E, Sokal A, Chrul S, Bartosz Z. Apoptosis-independent alteration in membrane dynamics induced by curcumin. *Exp Cell Res* 245: 303-312, 1998
 - 20) Jiang S, Cai J, Wallace C, Jones P. Cytochrome c-mediated apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *J Biol Chem* 27(4) : 29905-29911, 1999
 - 21) Denizot F, Lang R. 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, 1986
 - 22) Park MH, Oh KY, Lee BW. Anti-cancer of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 30(3) : 702-708, 1998
 - 23) CHoi MY, Jung TY, Hahm KJ. Cytotoxic effects of hot water soluble polysaccharides from mushroom, *lentinus edodes* and vitamin A and E supplementation against P388 cells. *Korean J Nutr* 28(11) : 1091-1099, 1995
 - 24) Lee YS, Kim DS, Ryu BH, Lee SH. Anti-tumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *J Korean Soc Food Nutr* 21(5) : 544-550, 1992
 - 25) Rhee YK, Han MJ, Park SY, Kim DH. In vitro and vivo Anti-tumor activity of the fruit body of *Phellinus linteus*. *Korean J Food Sci Technol* 32(2) : 477-480, 2000
 - 26) Shim JS, Lee HJ, Park SS, Cha BG, Chang HR. Curcumin-induced apoptosis of A-431 cells involves caspase-3 activation. *Biochem Mol Biol* 34: 189-193, 2001
 - 27) Klampfer L, Cammenga J, Wisniewski H-G, Nimer S.D. Sodium salicylate activates caspases and induces apoptosis of myeloid leukemia cell line. *Blood* 93(7) : 2386-2394, 1994
 - 28) Inanami O, Takahashi K, Kuwabara M. Attenuation of caspase-3 dependent apoptosis by trolax post-treatment of x-irradiated MO-LT-4 cells. *Int J Radiation Biol* 75: 155-164, 1999
 - 29) Yen CLE, Mar MH, Zeisel SH. 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, 1999