

영지버섯 균주별 자실체의 베타글루칸과 폴리페놀 함량 비교 분석

조재한* · 이지영 · 이민정 · 오하나 · 강돈호 · 전창성

국립원예특작과학원 버섯과

Comparative analysis of useful β -glucan and polyphenol in the fruiting bodies of *Ganoderma* spp.

Jae-Han Cho*, Jee-Young Lee, Min-Jung Lee, Ha-Na Oh, Don-Ho Kang and Chang-Sung Jhune

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA Chungbuk Eumseong 369-873, Korea

(Received September 10, 2013 / Revised September 25, 2013 / Accepted September 27, 2013)

ABSTRACT – This study was carried out to compare the medicinal effects of various fruiting body of *Ganoderma* species and *Cordyceps militaris*, *Phellinus linteus* extracts. β -glucan and polyphenol are useful ingredient in mushrooms and they were known to have antioxidant activity. We analyzed β -glucan and polyphenol contents of fruiting body of *Ganoderma* spp., *Cordyceps militaris*, and *Phellinus linteus*. Most *Ganoderma* spp. exhibited β -glucan contents of 15 to 20%. *Cordyceps militaris* showed the highest β -glucan level of 25%. Interestingly, eight strains of *Ganoderma* spp. was analyzed to have higher contents of β -glucan than *Phellinus linteus*. Polyphenol contents was measured after extraction with different solvents. (D.W., 70% EtOH, 80% MeOH) The level of polyphenol in ASI 7020 strain was at maximum in the water extraction and ASI 7086 showed the highest level in the 70% EtOH extraction. The amounts of polyphenol in strain ASI 7113 was at maximum in the 80% MeOH extraction.

KEYWORDS – β -glucan, *Ganoderma* spp. Polyphenol

서 론

세계화로 인한 식생활이 과거와는 달리 많이 달라지고 있다. 패스트푸드 같은 음식을 손쉽게 구할 수 있게 되었고 이러한 음식들은 대부분 고칼로리 음식으로 바쁜 현대인들이 즐겨 찾는 음식이 되버렸다. 이러한 음식들을 과다하게 섭취하여 생겨나는 질병의 양상들도 많이 달라지고 있음을 알 수 있다. 그래서 ‘암’이라는 단어가 현대인들에게 쉽게 접할 수 있게 되었고, 주목받게 되었다. 이러한 각종 암을 물리치기 위해 앞 다퉈 항암제 개발을 하고 있으며, 대부분의 항암제는 암세포의 각종 대사경로에 개입하여 주로 핵산의 합성을 억제하여 항암활성을 갖는 약제이다. 하지만 이들 항암제는 암세포에만 선택적으로 작용하는 것이 아니라 정상세포, 특히 세포분열이 활발한 조직세포에도 손상을 입히기 때문에 골수기능 저하, 위장장애, 탈모증 등의 여러 가지 부작용이 나타나게 된다. 따라서 독성이 낮으면서 비교적 안전성

이 확보된 물질에 대한 관심이 증대되고 있다. 이 중 하나인 베타글루칸은 다당류의 일종으로 면역증강작용을 가지고 있으며 버섯류, 효모의 세포벽, 곡류 등에 존재하고 있다.

영지버섯의 유용성분 중 하나인 베타글루칸은 암세포를 직접 공격하지 않고 비특이적 면역반응으로 인간의 정상 세포의 면역기능을 활성화 시켜 암세포의 증식과 재발을 억제하고 혈당강하 및 혈중 콜레스테롤 감소 효과가 우수하며, 지질대사를 개선하여 체지방 형성과 축적을 억제함으로써 항 비만효과를 가지고 있는 것으로 보고되고 있다.

이와 유사한 기능을 갖는 폴리페놀은 우리 몸에 있는 활성산소를 해가 없는 물질로 바꿔주는 항산화물질 중 하나이며, 활성산소에 노출되어 손상되는 DNA의 보호나 세포구성 단백질 및 효소를 보호하는 항산화 능력이 커서 다양한 질병에 대한 위험도를 낮춘다고 보고되고 있으며, 항암작용과 함께 심장질환을 막아주는 것으로 알려져 있다.

*Corresponding author: limitcho@korea.kr

Table 1. List of *Ganoderma* strains used in this study

ASI No.	Scientific name	Collection year	Country
7002	<i>Ganoderma lucidum</i>	1980	Korea
7004	<i>Ganoderma lucidum</i>	1985	Korea
7005	<i>Ganoderma lucidum</i>	1981	Japan
7011	<i>Ganoderma lucidum</i>	1984	Japan
7017	<i>Ganoderma lucidum</i>	1984	Korea
7019	<i>Ganoderma lucidum</i>	1985	Japan
7020	<i>Ganoderma lucidum</i>	1982	Korea
7022	<i>Ganoderma lucidum</i>	1985	Korea
7023	<i>Ganoderma lucidum</i>	1985	Japan
7027	<i>Ganoderma lucidum</i>	1986	Japan
7029	<i>Ganoderma lucidum</i>	1984	Korea
7031	<i>Ganoderma lucidum</i>	1994	USA
7032	<i>Ganoderma neo-japonicum</i>	1987	Korea
7035	<i>Ganoderma</i> sp	1987	Papua New Guinea
7038	<i>Ganoderma</i> sp	1987	Papua New Guinea
7039	<i>Ganoderma lucidum</i>	1987	Korea
7058	<i>Ganoderma lucidum</i>	1995	Korea
7059	<i>Ganoderma lucidum</i>	1995	Korea
7060	<i>Ganoderma lucidum</i>	1995	Korea
7068	<i>Ganoderma lucidum</i>	1988	USA
7069	<i>Ganoderma lucidum</i>	1988	USA
7070	<i>Ganoderma oregonense</i>	1988	Korea
7071	<i>Ganoderma lucidum</i>	1988	Korea
7076	<i>Ganoderma lucidum</i>	1991	Korea
7078	<i>Ganoderma lucidum</i>	1991	Korea
7080	<i>Ganoderma lucidum</i>	1992	Korea
7081	<i>Ganoderma lucidum</i>	1992	Korea
7086	<i>Ganoderma lucidum</i>	1992	Korea
7089	<i>Ganoderma lucidum</i>	1992	Korea
7090	<i>Ganoderma lucidum</i>	1992	Korea
7102	<i>Ganoderma lucidum</i>	1993	Korea
7105	<i>Ganoderma lucidum</i>	1994	China
7113	<i>Ganoderma tropicum</i>	1996	Taiwan
7114	<i>Ganoderma tropicum</i>	1996	Taiwan
7118	<i>Ganoderma lucidum</i>	1997	USA
7126	<i>Ganoderma lucidum</i>	1998	Taiwan
7131	<i>Ganoderma lucidum</i>	2000	Korea
7148	<i>Ganoderma lucidum</i>	2010	Brazil

Table 2. Formula for measurement of β -glucan

AtB : Absorbance(510 nm) of blank of Total glucan

A α B : Absorbance(510 nm) of blank of α -glucan

AD : Absorbance(510 nm) of D-glucose standard

At : Absorbance(510 nm) of Total glucan

A α : Absorbance(510 nm) of α -glucan Δ Et : At - AtB Δ E α : A α - A α B

이번 연구는 영지버섯의 균주별 자실체를 각각의 측정방법에 맞게 추출하여 베타글루칸 함량과 폴리페놀함량을 비교분석 하였으며 좀더 구체적인 영지버섯 연구에 대한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

공시균주

실험에 사용된 영지버섯자실체와 상황버섯자실체는 Table 1과 같이 농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과에 보존되어 있는 ASI (Agricultural Sciences Institute) 균주 중 39종을 경기도 수원에 위치한 버섯과 재배사에서 재배하였다. 재배법은 영지버섯 및 상황버섯의 표준재배법에 따라 참나무 원목에 재배하여 각각의 자실체를 수확한 후에 열풍 건조하여 분쇄한 시료를 사용하였다.

영지버섯 자실체의 베타글루칸 함량분석용 시료조제

영지버섯 시료의 베타글루칸 함량은 Megazyme kit (Mushroom and Yeast β -glucan Assay Procedure K-YBGL)을 이용하여 시료 100 mg에 37% HCl 1.5 mL를 넣고 30°C water bath에서 45분간 교반한 후 3차 증류수 10 mL를 가하고 100°C water bath에서 다시 2시간 교반하였다. 이 반응액을 상온에서 식힌 후 2 N KOH 10 mL를 가하여 혼합하였다. 이 혼합물에 0.2 M sodium acetate buffer (pH 5.0)를 가하여 100 mL로 정량한 후 원심분리 (1,500×g, 10분)하여 상등액을 얻었다.

상등액 0.1 mL에 exo-1,3- β -glucanase (20U/mL)+ β -glu-cosidase (4U/mL) 용액 0.1 mL를 가하고 40°C water bath에서 60분간 반응시켰다. 이 반응액에 GOPOD (glucose oxi-dase/peroxidase, Megazyme) 시약 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 total glucan 함량의 계산에 사용하였다. 또한 시료 100 mg에 2 N KOH 2 mL를 넣고 ice water bath에서 20분간 교반

Table 3. β -glucan contents of *Ganoderma* spp., *Cordyceps militaris* and *Phelinus linteus* fruiting body(% , w/w)

Sample	Wt(mg)	At	A α	Δ Et	Δ E α	Total Glucan (% , w/w)	α -Glucan (% , w/w)	β -Glucan (% , w/w)
7002	100	0.2420	0.1270	0.1920	0.0735	14.588	0.575	14.013
7004	100	0.2600	0.1300	0.2100	0.0765	15.955	0.599	15.357
7005	100	0.2530	0.1090	0.2030	0.0555	15.424	0.434	14.989
7011	80	0.2165	0.1035	0.1665	0.0500	15.813	0.489	15.324
7017	100	0.3100	0.1210	0.2600	0.0675	19.754	0.528	19.226
7019	100	0.2900	0.1110	0.2400	0.0575	18.235	0.450	17.785
7020	75	0.2295	0.1610	0.1795	0.1075	18.184	1.122	17.062
7022	100	0.2910	0.1280	0.2410	0.0745	18.311	0.583	17.728
7023	100	0.2645	0.1390	0.2145	0.0855	16.297	0.669	15.628
7027	100	0.2700	0.1330	0.2200	0.0795	16.715	0.622	16.093
7029	100	0.2855	0.1640	0.2355	0.1105	17.893	0.865	17.028
7031	100	0.2270	0.1290	0.1770	0.0755	13.448	0.591	12.857
7032	100	0.2780	0.0920	0.2280	0.0385	17.323	0.301	17.022
7035	100	0.2310	0.1110	0.1810	0.0575	13.752	0.450	13.302
7038	100	0.2560	0.1140	0.2060	0.0605	15.651	0.473	15.178
7039	100	0.3025	0.2110	0.2525	0.1575	19.184	1.233	17.952
7058	100	0.3015	0.1630	0.2515	0.1095	19.108	0.857	18.252
7059	100	0.2775	0.1480	0.2275	0.0945	17.285	0.740	16.545
7060	100	0.2880	0.1770	0.2380	0.1235	18.083	0.966	17.116
7068	100	0.2700	0.1675	0.2200	0.1140	16.715	0.892	15.823
7069	100	0.3045	0.1440	0.2545	0.0905	19.336	0.708	18.628
7070	100	0.2800	0.1335	0.2300	0.0800	17.475	0.626	16.849
7071	100	0.3000	0.2005	0.2500	0.1470	18.995	1.150	17.844
7076	100	0.2680	0.1310	0.2180	0.0775	16.563	0.606	15.957
7078	100	0.2690	0.1285	0.2190	0.0750	16.639	0.587	16.052
7080	100	0.2560	0.1010	0.2060	0.0475	15.651	0.372	15.280
7081	100	0.2945	0.2070	0.2445	0.1535	18.577	1.201	17.375
7086	100	0.2560	0.1250	0.2060	0.0715	15.651	0.560	15.092
7089	100	0.2795	0.1345	0.2295	0.0810	17.437	0.634	16.803
7090	100	0.2600	0.1285	0.2100	0.0750	15.955	0.587	15.368
7102	100	0.2340	0.1245	0.1840	0.0710	13.980	0.556	13.424
7105	100	0.2185	0.0940	0.1685	0.0405	12.802	0.317	12.485
7113	100	0.3025	0.1360	0.2525	0.0825	19.184	0.646	18.539
7114	100	0.2760	0.0970	0.2260	0.0435	17.171	0.340	16.831
7118	100	0.2430	0.1305	0.1930	0.0770	14.664	0.603	14.061
7126	100	0.2745	0.1940	0.2245	0.1405	17.057	1.100	15.958
7131	100	0.2815	0.1240	0.2315	0.0705	17.589	0.552	17.037
7148	100	0.2970	0.1160	0.2470	0.0625	18.767	0.489	18.277
<i>Cordyceps militaris</i>	100	0.6880	2.9475	0.6380	2.8940	48.474	22.648	25.826
<i>Phelinus linteus</i>	100	0.2870	0.1180	0.2370	0.0645	18.007	0.505	17.502
Yeast	100	0.7310	0.3710	0.6810	0.3175	51.741	2.485	49.256

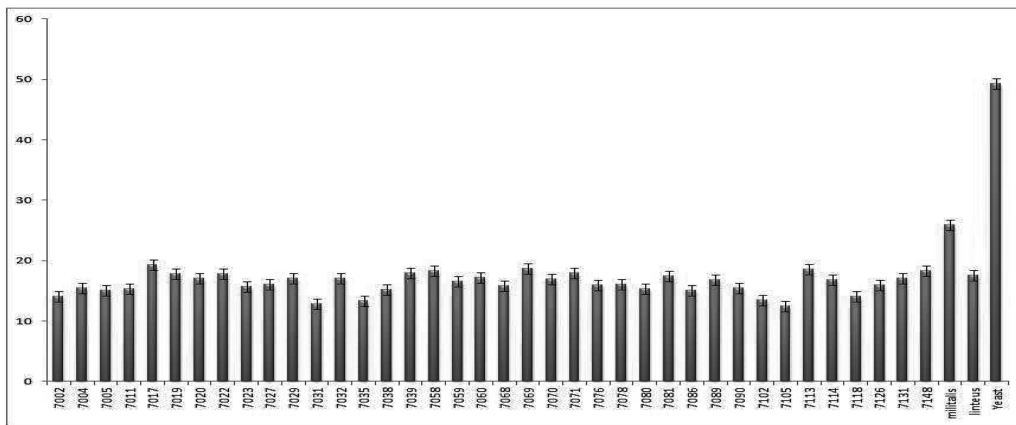


Fig. 1. β -glucan contents of *Ganoderma* spp., *Cordyceps militaris* and *Phelinus linteus* fruiting body(% , w/w)

하였다. 이 반응액에 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 mL와 amyloglucosidase (1630 U/mL)+ invertase (500 U/mL) 용액 0.2 mL를 가하고 40°C water bath에서 30분간 교반한 후 원심분리 (1,500×g, 10분)하여 상등액을 얻었다.

상등액 0.1 mL에 0.2 M sodium acetate buffer (pH 5.0) 0.1 mL와 GOPOD 시약 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510nm 파장에서 흡광도를 측정하여 α -glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과 α -glucan의 흡광도는 표준물질인 glucose 용액 (1mg/mL)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 각각 함량 (% , w/w)값으로 계산하였다. β -glucan 함량은 total glucan 함량에서 α -glucan 함량을 빼준 값으로 계산하였다.(Table. 2)

영지버섯 자실체의 폴리페놀 함량분석용 시료조제

영지버섯 자실체 시료의 총 폴리페놀 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdc acid와 반응하여 청색으로 발색되는 원리를 이용한 Folin-Denis 방법에 따라 분석하였다. 1 mg/mL로 제조한 추출물 0.5 mL에 Folin 시액 0.5 mL를 혼합한 뒤 3분간 실온에서 반응시킨 후, 2% Na₂CO₃ 1.5 mL를 첨가한 뒤 2시간 동안 암소에서 반응시킨 뒤 760 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 시료에 함유된 총 폴리페놀 함량은 gallic acid (5~1000 ppm)의 만들어진 표준곡선에 sample의 흡광도 값 (Y축)을 대입하여 농도 (X축)를 결정하였다.

결과 및 고찰

영지버섯 자실체의 베타글루칸 함량분석

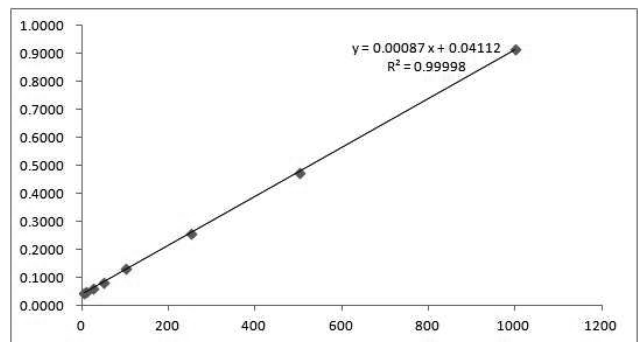


Fig. 2. Standard curve of gallic acid Polyphenol contents (ppm)

영지버섯 균주별 자실체의 베타글루칸 함량은 양성 대조구로 쓴 효모보다는 모두 낮게 나타났으며, 15~20%정도 차지하고 있는 것으로 보였고, 비교 대상이었던 동충하초가 영지버섯, 상황버섯보다 25%로 가장 높게 나타났다. 상황버섯의 함량 17.5%보다 높게 나온 영지버섯 균주는 ASI 7017, 7019, 7022, 7039, 7058, 7069, 7071, 7113, 7148 8균주이었으며, 그 중 ASI 7017은 19.2%로 가장 높았다.(Table 3, Fig. 1)

영지버섯 자실체의 폴리페놀 함량분석

영지버섯 균주별 자실체의 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 열수로 추출한 것 중 높은 함량을 갖고 있는 5 균주는 ASI 7020, 7004, 7060, 7022, 7039이었으며, 상황버섯보다 영지버섯 16균주는 상황버섯보다 폴리페놀 함량이 높음을 알 수 있었다. 그 외 다른 영지버섯 균주들도 동충하초보다 높은 함량을 갖고 있는 경향을 알 수 있었다. 또한 70% EtOH로 추출한 것 중 높은 함량을 갖고 있는 5균주는 ASI 7086, 7031, 7148, 7131, 7076이었으며, 특히 ASI 7086은 상황버

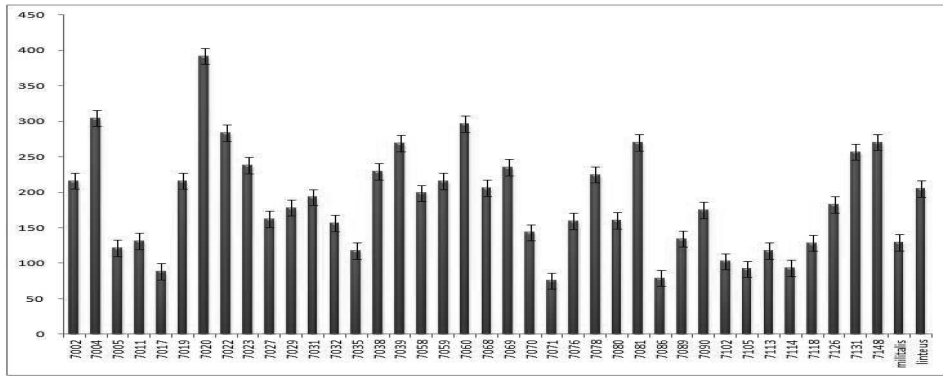


Fig. 3. Polyphenol contents of *Ganoderma spp.*, *Cordyceps mitalis* and *Phelinus linteus* fruiting body extracts in D.W.(ppm).

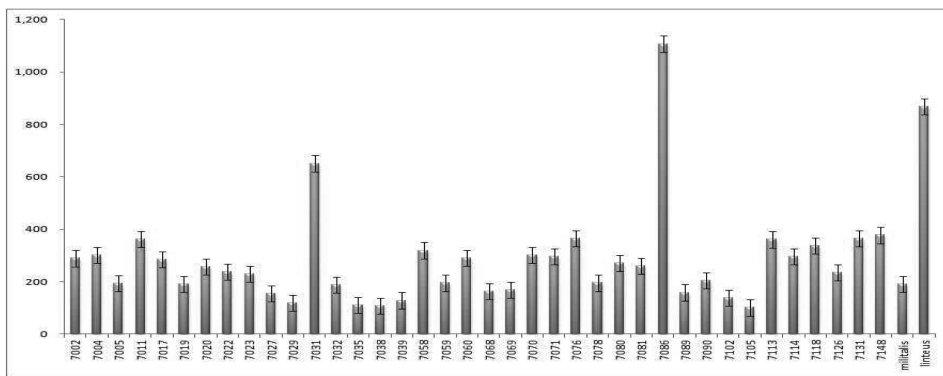


Fig. 4. Polyphenol contents of *Ganoderma spp.*, *Cordyceps mitalis* and *Phelinus linteus* fruiting body extracts in EtOH(ppm).

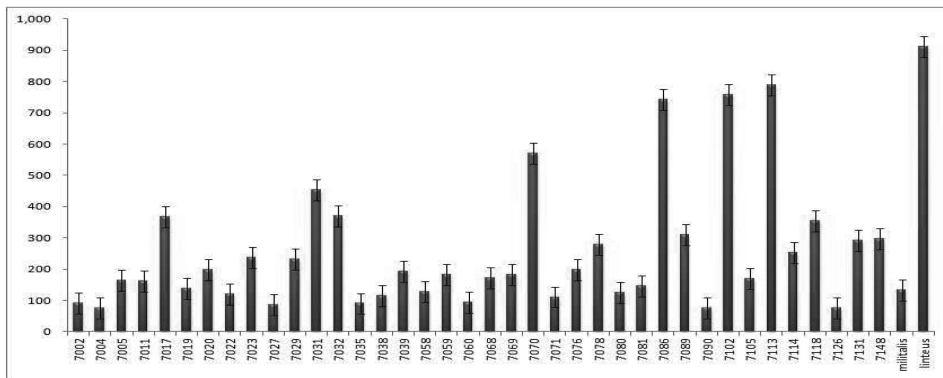


Fig. 5. Polyphenol contents of *Ganoderma spp.*, *Cordyceps mitalis* and *Phelinus linteus* fruiting body extracts in MeOH(ppm)

섯이 867.1 ppm인데 반해 1106.6 ppm으로 다른 균주 보다 월등하게 높음을 알 수 있었다. 그리고 마지막으로 80% MeOH로 추출한 것 중 높은 함량을 갖고 있는 5균주는 ASI 7113, 7105, 7086, 7070, 7031이었으며, 70% EtOH 추출에 이어 ASI 7086은 다른 균주 보다 높게 나타났다. 그 외 다른 영지버섯 균주들도 동충하초보다 높은 함량을 갖고 있는 경향을 알 수 있었다. 이렇게 용매를 달리하여 추출한 결과 각각의 폴리페놀 함량이 많게는 10배 이상 차이가 나는 것을 알 수 있었다. 한편 영지버섯보다 많은 베타

글루칸을 갖고 있는 동충하초의 폴리페놀 함량이 영지버섯과 비슷하거나 적게 함유하고 있다는 것이 의외의 결과였다.(Table 4, Figs. 2, 3, 4, 5)

적 요

영지버섯을 재배하여 자실체를 수확 한 후, 버섯류의 유용성분으로 알려진 베타글루칸과 폴리페놀에 대한 성분 함량을 비교 분석하였다. 영지버섯 대부분의 베타글루칸 함량은 15~20%정도 이었다. 상황버

Table 4. Polyphenol contents of *Ganoderma spp.*, *Cordyceps militaris* and *Phelinus linteus* fruiting body(ppm)

ASI NO.	Extraction of D.W (ppm)	Extraction of 70% EtOH (ppm)	Extraction of 80% MeOH (ppm)
7002	216.0	288.6	91.8
7004	304.5	300.0	74.0
7005	121.1	192.9	162.5
7011	130.9	362.5	160.8
7017	88.4	284.2	366.0
7019	216.0	189.7	137.8
7020	391.8	257.1	196.4
7022	283.8	237.5	118.3
7023	237.8	228.3	235.5
7027	161.9	153.8	85.5
7029	178.0	118.5	230.3
7031	193.0	650.5	452.7
7032	156.2	188.0	370.0
7035	117.7	109.8	89.5
7038	229.2	108.2	114.2
7039	268.8	127.7	192.4
7058	198.7	318.7	128.0
7059	215.7	194.6	181.5
7060	296.1	289.1	94.1
7068	205.6	162.7	172.3
7069	235.3	168.3	181.4
7070	143.4	300.1	570.0
7071	75.3	294.6	110.2
7076	159.4	363.8	197.6
7078	224.8	194.6	278.0
7080	160.4	270.9	124.0
7081	270.0	259.4	144.7
7086	79.0	1106.6	742.4
7089	134.4	158.3	310.2
7090	174.8	204.5	75.1
7102	102.4	137.4	757.3
7105	91.8	100.6	167.7
7113	117.3	360.8	787.8
7114	93.4	295.3	251.6
7118	128.5	336.1	353.9
7126	182.8	235.5	76.3
7131	256.7	365.4	290.1
7148	270.5	377.3	295.6
Cordyceps militaris	129.0	191.2	133.2
Phelinus linteus	205.1	867.1	910.8

섯의 함량 17.5%보다 높게 나온 영지버섯 균주는 8 균주로 ASI 7017, 7019, 7022, 7039, 7058, 7069, 7071, 7113, 7148이었으며, 그 중 ASI 7017은 19.2%로 가장 높았다. 또한 용매를 달리하여 추출해서 얻은 각각의 폴리페놀 함량은 많게는 10배 이상 차이가 나는 것을 알 수 있었다. 이것은 달리 말하자면 각각의 버섯에 맞는 용매를 써야 보다 효율적으로 유용성분이 추출된다는 것을 말해 주는 분석 결과이다. 이러한 연구 결과는 좀더 많은 버섯을 비교하여 추후 식용 및 약용버섯류의 기능성 평가를 위한 기초자료로 활용될 수 있다.

참고문헌

- Kim SS, Kim YS. 1990. Korean mushrooms. Yupoong Publishing Co., Seoul, Korea. p 3.3. Kim HJ, Lee IS. 2004. Anti-mutagenic and cytotoxic effects of Korean wild mushrooms extracts. Korean J Food Sci Technol **36** : 662-668.
- Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Lim SS. 2010. Physiological activities of extract from edible mushrooms. J Korean Soc Food Sci Nutr **39** : 1087-1096.
- Yang JH, Lin HC, Mau JL. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. Food Chem **77** : 229-235.
- Mus JL, Lin HC, Song SF. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. Food Res Int **35** : 519-526.
- Choi YH, Kim MJ, Lee HS, Yun BS, Hu C, Kwak SS. 1998. Antioxidative compounds in aerial parts of *Potentilla fragarioides*. Korean J Pharmacogn **29** : 79-85.
- A. O. A. C. 1984. Official methods of analysis, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. Agnese, A. M., C. Perez, and J. L. Cabrera. 2001. *Adesmia aegiceras* : antimicrobial activity and chemical study. Phytomedicine. **8**(5) : 389-394.
- Blosi, M. S. 1958. Antioxidant determinations by use of a stable free radical. Nature. **26** : 1199-1200.
- Chan, G.C., W.K. Chan, and D.M. Sze, The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. J. Hematol. Oncol. **2** : 25 (2009).
- Choi, J. S., S. H. Park, and I. S. Kim. 1989. Studies on the active principles of wild vegetables on biotransformation of drug. Kor. J. Pharmacogn. **20** : 117-122.
- Chon, S. U., C. H. Bae, and S. C. Lee. 2012. Antioxidant and cytotoxic potentials of methanol extracts from *Taraxacum officinale* F. H. Wigg. at different plant parts. Kor. J. Plant Res. **25**(2) : 232-239.
- Dellinger, E.P., et al., Effect of PGG-glucan on the rate of serious postoperative infection or death observed after high risk gastrointestinal operations. Betafectin Gastrointestinal Study Group. Arch. Surg. **134**(9) : 977-983 (1999).
- Liu, J., et al., Combined yeast-derived beta-glucan with anti-tumor monoclonal antibody for cancer immunotherapy. Exp.Mol. Pathol. **86**(3) : 208-214 (2009).

- Mueller, A., et al., The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology*. **10**(4) : 339-346 (2000).
- Novak, M. and V. Vetvicka, Beta-glucans, history, and the present: immunomodulatory aspects and mechanisms of action. *J Immunotoxicol*. **5**(1) : 47-57 (2008)
- Ramberg, J.E., E.D. Nelson, and R.A. Sinnott, Immunomodulatory dietary polysaccharides: a systematic review of the literature. *Nutr. J.* **9** : 54 (2010).
- Schepetkin, I.A. and M.T. Quinn, Botanical polysaccharides: macrophage immunomodulation and therapeutic potential. *Int. Immunopharmacol.* **6**(3) : 317-333 (2006).
- Wakshull, E., et al., PGG-glucan, a soluble beta-(1,3)-glucan, enhances the oxidative burst response, microbicidal activity, and activates an NF-kappa B-like factor in human PMN: evidence for a glycosphingolipid beta-(1,3)-glucan receptor. *Immunopharmacology*. **41**(2) : 89-107 (1999).