

本文章已註冊DOI數位物件識別碼

▶ 以體外細胞染色體異常試驗評估巴西蘑菇食品安全性

Evaluation of Food Safety of *Agaricus blazei* Murrill Extract in vitro Chromosomal Aberration Test

doi:10.30046/JBLS.201212.0005

Journal of Biomedical & Laboratory Sciences, 24(4), 2012

生物醫學暨檢驗科學雜誌, 24(4), 2012

作者/Author：吳銘芳(Ming-Fang Wu);李美慧(Mei-Hui Lee);常傳訓(Chuan-Hsun Chang);黃幸妮(Hsing-Ni Huang);敖曼冠(Man-Kuan Au);劉嘉又(Jia-You Liu);薛樹清(Shu-Ching Hsueh);廖年捷(Nien-Chieh Liao);呂旭峰(Hsu-Feng Lu)

頁數/Page：133-138

出版日期/Publication Date：2012/12

引用本篇文獻時，請提供DOI資訊，並透過DOI永久網址取得最正確的書目資訊。

To cite this Article, please include the DOI name in your reference data.

請使用本篇文獻DOI永久網址進行連結:

To link to this Article:

<http://dx.doi.org/10.30046/JBLS.201212.0005>



DOI Enhanced

DOI是數位物件識別碼（Digital Object Identifier, DOI）的簡稱，是這篇文章在網路上的唯一識別碼，用於永久連結及引用該篇文章。

若想得知更多DOI使用資訊，

請參考 <http://doi.airiti.com>

For more information,

Please see: <http://doi.airiti.com>

請往下捲動至下一頁，開始閱讀本篇文獻

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE



以體外細胞染色體異常試驗評估巴西蘑菇食品安全性

吳銘芳^{1*} 李美慧^{2*} 常傳訓^{3,4,7} 黃幸妮³ 敖曼冠⁵
劉嘉又⁶ 薛樹清⁶ 廖年捷⁶ 呂旭峰^{6,8}

¹台灣大學醫學院動物中心 ²彰化基督教醫院遺傳諮詢中心、振興醫療財團法人振興醫院
³營養治療科 ⁴腫瘤外科 ⁵骨科 ⁶臨床病理科
⁷台北醫學大學保健營養系 ⁸輔仁大學

對癌症病患而言，輔助與替代醫學的運用已全球化。常規醫學無法改善病情或未覺療效的病患期待，輔助與替代醫學能治癒、延長壽命、減輕症狀、強化免疫力並改善生活品質。在日本，巴西蘑菇普遍被用於治療癌症病患，但很少科學證據證明其食品安全性。為評估巴西蘑菇的食品安全性，吾輩以巴西蘑菇處理中國倉鼠卵巢細胞，研究其染色體變異情形。分別使用五種不同濃度包括5、2.5、1.25、0.625與0.3125 mg/mL處理下列中國倉鼠卵巢細胞(i)細胞加入肝臟酵素S9且與巴西蘑菇作用3小時(ii)細胞未加肝臟酵素S9且與巴西蘑菇作用3小時(iii)細胞未加肝臟酵素S9且與巴西蘑菇作用20小時。細胞經由上述不同條件處理之後，再加入秋水仙素。於細胞第一次分裂中期觀察每100個細胞具有多少個細胞具染色體異常。實驗組其染色體與染色分體構造異常包括染色體斷裂(chromosome break)、染色體缺失(chromosome deletion)、染色分體裂隙(chromatid gap)、染色分體斷裂(chromatid break)、染色分體缺失(chromatid deletion)、Y形三分染色體(triradial)、星型四分染色體(quadriradial)、環狀染色體(ring)、複雜性染色體易位(complex rearrangement)、雙中心節染色體(dicentric)、多倍染色體(polyploidy)與粉碎染色體(pulverized)，共12種，少了染色體裂隙(chromosome gap)。五種濃度實驗組的不正常細胞每100個細胞約05.-3個，少於陽性對照組的12-26個。結果顯示巴西蘑菇對中國倉鼠卵巢細胞不具基因毒性。

關鍵字：輔助與替代醫學、中國倉鼠卵巢細胞

前 言

巴西蘑菇學名 *Agaricus blazei*，又名巴西洋菇或是柏氏蘑菇、小松菇，原產於中南美洲的巴西、秘魯等地。目前大都產自於巴西亞特蘭大森林東南部聖保羅郊外的碧野達德(Piedade)高地，長在野馬排便轉成的天然堆肥上，當地人稱之為“Cogmelo de Deus”，意即“Mushroom of God” (神菇)，當地居民自古以來就把它當成食用菇。1960年由日裔古本隆壽(Takatoshi Furumoto)發現，1965年將之送回日本鑑定因而引進日本市場，1967年比利時海寧曼(Heinemann)鑑定歸屬於真

菌類之擔子菌綱(Basidiomycetes)、同擔子菌亞綱(Homobasidiomycetidae)、傘菌目(Agaricales)、傘菌科(Agaricaceae)、蘑菇屬(*Agaricus*) [1-2]。

巴西蘑菇的組成水份佔90%，其他包括蛋白質、脂肪、碳水化合物、纖維、鹽、礦物質如磷、鎂、鈣、鈉、鐵及微量元素如鋅、錳、銅、硒、鎳等。每種蕈類多多少少都含有多醣體類的物質存在，且種類與結構也都多不相同。巴西蘑菇較特殊的成分就是在於含有獨特且豐富的巴西蘑菇高分子多醣體，它的組成經過研究發現至少包括 α -D-葡聚糖、 β -D-葡聚糖、 β -半乳糖葡聚糖、 β -(1-6)-D-葡聚糖蛋白質複合體、木糖葡聚糖等分子結構不同的高分子多醣體[3-9]。根據各家標榜的巴西蘑菇功效，大致上強調的是提高人體免

收稿日期：101年08月23日 修稿日期：101年09月19日 接受日期：101年11月21日

通訊作者：呂旭峰

聯絡地址：112 台北市北投區振興街45號 振興醫療財團法人振興醫院臨床病理科

電話：886-(02)28264400 # 5850 E. mail: ch1835@chgh.org.tw

*代表相同貢獻度

疫功能：巴西蘑菇在於子實體所含有的多醣類，初步認為乙型葡聚糖(β -glucan)能提高人體免疫功能，多醣體是由一些單糖分子串聯成的一型聚多糖，它能增強巨噬細胞(Macrophage)的活性及引發補體的免疫活化能力，而巨噬細胞是白血球的一種，巨噬細胞的活躍表示免疫系統的功能增強，也因此常看到業者宣傳巴西蘑菇可以抗癌、預防癌症。其餘宣傳的功能還有降低膽固醇、調整血壓、治療肝炎、糖尿病等效果[10-13]。

近來誤食不明減肥菜造成心肺功能衰竭、生吃有機蔬菜引發廣東住血線蟲症、產生全身紅腫長疹子之案例時有所聞，甚至被列入保健食品研究重點之山藥，也應注意體弱者生食易發生過敏、腹瀉症狀或是造成性激素增加現象。除此之外，薏仁亦有實驗證明會使胚胎著床點下降、胚胎再吸收數增加之負面效應，故在保健食品之發展上，確定其功能性外理應進行該食品之安全檢測工作[14]。巴西蘑菇的液體萃取物被證明可減少染色單體斷裂與等位染色單體斷裂，因此可防癌[15]，然而有些研究卻指出以正己烷從巴西蘑菇的子實體所提煉的萃取液會造成哺乳類細胞產生基因毒性、細胞毒殺與抗染色體斷裂，因此進一步研究其食品安全性有其必要。[16]。

材料與方法

試驗物質及濃度

在無菌操作台下將長庚生技公司所生產之巴西蘑菇膠囊剖開，所得的粉末直接加入培養液中。細胞存活數之預備試驗顯示，當處理劑量為 5 mg /mL 時，未超過 50 %的細胞毒性。所以此試驗以 5 mg/ml 為最高處理劑量，而其他劑量經由連續稀釋後分別為 2.5、1.25、0.625 及 0.3125 mg /ml。

老鼠肝臟活化酵素混合液 S9 mix 細胞培養液

試驗所用之肝臟活化酵素為 MOLTOX 廠牌的 post mitochondrial supernatant (S9; Lot No. 1660)。S9 細胞培養混合液(rat liver microsomal enzymes with cofactors)，5.0 ml 之 McCoy's 5A 細胞培養液(不含胎牛血清)，包括 2.7 μ l 之 1 M glucose-6-phosphate、20.5 μ l 之 0.1 M β -NADP 及 40 μ l 之 rat liver S9。

實驗方法

約將 5×10^5 個購自食品工業發展研究所的中國倉鼠卵巢細胞 CHO-K1 植入每個 60mm 培養皿之 McCoy's 5A 培養基，且內含 10%胎牛血清(fetal bovine serum)、 NaHCO_3 2.2 g/L、2 mM L-glutamine、penicillin-streptomycin solution(penicillin 100 X/ml，streptomycin 100 μ g/ml)，調整 pH 值為 7.2 ~ 7.4。S9 mix 細胞培養液不含胎牛血清。培養條件為置於 5% 二氧化碳，飽和水蒸氣的 37°C 恆溫培養箱中。24 小時之後以 PBS 洗滌兩次。之後實驗分成三大組，(i) 不加 S9，處理 3 小時。(ii) 不加 S9，處理 20 小時。(iii) 加 S9，處理 3 小時。每一大組又分成七小組，包括陽性與陰性對照組、五組實驗組(5、2.5、1.25、0.625 及 0.3125 mg /mL 巴西蘑菇配置液)。不加 S9 之陽性對照組為 2 μ M mitomycin C。加 S9 之陽性對照組 80 μ M cyclophosphamide monohydrate。陰性對照組為加入二次無菌蒸餾水。反應 18 小時，加入秋水仙素(colcemid)，再經過 2 小時，計算每盤細胞之細胞存活數。將細胞拍打震盪下來，離心收集並經 KCl 處理，最後加入固定液(methanol : glacial acetic acid = 3 : 1) 冷藏固定後滴片，再以 5% Giemsa solution 染色。每試驗之細胞盤處理均採二重複，以代碼方式(blind code)於 1000 倍顯微鏡下，每一重複處理均觀察 100 個分裂中期細胞。選擇染色體均勻散開，觀察染色體數目為 18 ~ 22 的細胞其各類異常染色體結構及形態，並計算出現染色體結構異常的細胞之百分率。利用卡方分佈分析統計染色體異常之細胞數，當陰性對照組染色體異常細胞數在 3 %以下，且陰性對照組與陽性對照組間有顯著差異時($p < 0.01$)時，則該次實驗為有效試驗。

結 果

表 1 顯示每 100 個細胞中染色體異常之細胞數，且實驗為二重複。本實驗陰性對照組之染色體異常細胞數並未超過 3 %，且陰性對照組與陽性對照組間有顯著差異($p < 0.01$)，表示此次實驗數據有效。經試驗物質處理 3 小時、20 小時(未添加 S9) 或處理 3 小時(添加 S9)，各劑量之染色體異常細胞數與陰性對照組並無顯著差異($p < 0.01$)。各組別之染色體異常細胞數結果歸納於表 1。整個實驗組中以試驗物質處理 20 小時

(未添加 S9) 或處理 3 小時(添加 S9)此兩大組之劑量 5 mg/mL 所造成的染色體異常之細胞數最多。然而值得注意的是經試驗物質處理 20 小時(未添加 S9) 或處理 3 小時(添加 S9)此兩大組別其染色體異常之細胞數會

隨著巴西蘑菇劑量的增加而增加，具有劑量正相關性，但染色體異常之細胞數仍在容許範圍內。

染色體異常之種類觀察結果歸納於表 2。常見 13 種染色體與染色分體構造異常包括染色體裂隙

表 1. 每 100 個細胞中染色體異常之平均異常細胞數(實驗二重複)

劑量 (mg/mL)	染色體異常之細胞數/100 個觀察細胞		
	作用 3 小時 S9 (-)	作用 20 小時 S9 (-)	作用 3 小時 S9 (+)
5	2.5(3/2)	3(3/3)	3(3/3)
2.5	1(1/1)	2(1/3)	2.5(3/2)
1.25	1(1/1)	2(2/2)	2(2/2)
0.625	2.5(2/3)	2(1/3)	1.5(1/2)
0.3125	1.5(1/2)	0.5(0/1)	1(1/1)
陰性對照組	1.5(2/1)	1.5(2/1)	1(0/2)
陽性對照組	12.5(12/13)	25(24/26)	15.5(16/15)

以二次蒸餾水為陰性對照組。不加 S9 處理之陽性對照組其致變劑為 2 μM mitomycin C，而加 S9 處理 3 小時之陽性對照組其致變劑為 80 μM cyclophosphamide monohydrate。

表 2、經試驗物質處理 3 小時(未添加 S9)、20 小時(未添加 S9)或處理 3 小時(添加 S9)，且實驗經二重複，各劑量之染色體異常種類之數目

組別 (mg/ml)	200 個細胞中染色體異常之種類													異常細胞數
	sg	sb	sd	tg	tb	td	tr	qr	r	cr	dc	pp	pc	
5	0	2	0	3	0	1	1	1	0	0	0	0	0	5b
	0	0	0	2	1	1	2	0	0	0	0	1	1	6d
	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0	0	1	1	6f
2.5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2b
	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	4d
	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	5f
1.25	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2b
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1	4d
	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	4f
0.625	0	0	0	3	1	0	0	3	1	0	0	0	0	5b
	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	1	4d
	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	3f
0.3125	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1	1	3b
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1d
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2f
陰性對照組	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	3b
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3d
	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2f
陽性對照組	0	0	1	3	5	1	5	8	6	0	0	0	1	25a
	0	0	0	0	6	1	25	7	0	10	0	0	7	50c
	0	0	0	9	6	1	4	11	16	0	4	1	0	31e

各劑量組中，第一列呈現作用 3 小時 S9 (-)，第二列為作用 20 小時 S9 (-)，第三列為作用 3 小時 S9 (+)。各種染色體和染色分體縮寫如述：sg(染色體裂隙)、sb(染色體斷裂)、sd(染色體缺失)、tg(染色體裂隙)、tb(染色體斷裂)、td(染色體缺失)、tr(Y 形三分染色體)、qr(星型四分染色體)、r(環狀染色體)、cr(複雜性染色體易位)、dc(雙中心節染色體)、pp(多倍染色體)、pc(粉碎染色體)。

- a 代表作用 3 小時 S9 (-) 之各劑量組結果與陰性對照組具統計學差異
- b 代表作用 3 小時 S9 (-) 之各劑量組結果與陽性對照組具統計學差異
- c 代表作用 20 小時 S9 (-) 之各劑量組結果與陰性對照組具統計學差異
- d 代表作用 20 小時 S9 (-) 之各劑量組結果與陽性對照組具統計學差異
- e 代表作用 3 小時 S9 (+) 之各劑量組結果與陰性對照組具統計學差異
- f 代表作用 3 小時 S9 (+) 之各劑量組結果與陽性對照組具統計學差異

(chromosome gap)、染色體斷裂(chromosome break)、染色體缺失(chromosome deletion)、染色體裂隙(chromatid gap)、染色體斷裂(chromatid break)、染色體缺失(chromatid deletion)、Y 形三分染色體(triradial)、星型四分染色體(quadriradial)、環狀染色體(ring)、複雜性染色體易位(complex rearrangement)、雙中心節染色體(dicentric)、多倍染色體(polyploidy)與粉碎染色體(pulverized)，本研究除染色體裂隙之外，其餘皆可觀察到。實驗組中發生頻率最高的是染色體裂隙，發生率為 10/3000，其次為粉碎染色體，發生率為 9/3000。實驗組中除染色體裂隙未發生之外，發生頻率最低的是雙中心節染色體。

根據以上結果，本試驗之試驗物質「巴西蘑菇膠囊」在本試驗濃度下於體外哺乳類細胞染色體異常試驗結果為陰性反應。

討 論

隨著回歸自然與健康養生的概念逐漸風行全球，傳統醫學或輔助替代療法已逐漸普及。對許多已開發國家而言，補充替代醫學的興起，或可歸因於民眾對化學藥品引起副作用之疑慮、對現代醫學療法的疑問以及許多公開的健康資訊持續教育下使然。未來隨著全球人口結構趨於老年化、慢性病成為主要疾病型態，以及消費者自我照護意識抬頭等市場因素驅動下，將促使具有預防或保健概念的傳統醫學或補充替代醫學備受重視，也讓相關草本植物來源的產品成為各國產業發展重點。

世界糧農組織和世界衛生組織聯合專家委員會曾多次指出，經由食物污染所造成的疾病，可能是當今世界上最廣泛的衛生問題，而且也是經濟生產力降低的主要原因。食品的安全和營養是人們對食品的基本要求，故食品安全是指食品本身對食品消費者的安全性。食品要保證其安全，首先即不得含有有毒有害物質，確保食品在適宜環境中生產、加工、儲存和銷售，減少其在各階段所受到的污染，以保障消費者身體健康[17]。

在第 5 屆營養性及機能性食品國際會議暨展覽(WORLDNUTRA 2004，於美國舊金山)會議中，美國學者 Dr. Blumenthal 報導：草本植物萃取物之安全性評估中有 6 件，曾引起癌症、腎衰竭、肝功能失調甚至死亡之案例，如最近常談論到的(1)Ephedra(麻

黃)FDA 已在 2004 年 4 月 12 日禁止使用。(2)Bitter orange(苦橘)中 Synephrine 之結構與 ephedrine(麻黃素)相似，亦會引起心血管疾病問題。(3)black cohosh(黑升麻)由 CSPI 組織向 FDA 提出申請：應警告大眾此類萃取物會增加乳癌之發生率，另外有 3 件造成肝毒事件，而其中有 2 件為複合產品。(4)即使以往對 Kava 此產品在傳統上認為安全，目前 FDA 於 2002 年公告應小心使用，有 8 個國家已禁止，在美國市場上，此產品多已下架，英國也重新審視其安全性問題，因有肝毒事件發生，但其有毒成分尚未分離出。(5)St. John's wort 經肝臟酵素 P450 作用後，易造成免疫力下降，也會增加與其他藥物交互作用。(6)Comfrey(紫草科植物)也有毒性之案例，目前多以 CO₂ 萃取當外用藥，則無毒害現象出現。(7)scullcap 含有 germander 毒性成分。(8)Asian ginseng(亞洲人蔘)有誤用症狀之出現，如易怒、過敏、不眠、腹瀉及高血壓等神經性病徵，多與 caffeine 成分相關[18]。

近幾年來，台灣已有少數的農場也開始栽種巴西蘑菇，主要產地集中於南投埔里、台中霧峰、雲林及台南，但總產量並不多。由於巴西蘑菇具有超強的吸附力，故種植用的土壤若殘留有重金屬或農藥，巴西蘑菇就會照單全收，當巴西蘑菇吸附了不好成分後再經由攝食進入人體，就無法達到有益身體健康的效果，且反而會造成反效用[19-23]，最近報導大陸的巴西蘑菇被重金屬污染及是最好的例證。因此，確保巴西蘑菇的品質，除對生產原料之種類、來源、生產地、種植方式、加工、運輸、週遭環境等條件進行監控之外，食品安全的檢驗勢在必行。

巴西蘑菇被定位為第二類健康食品，第二類健康食品安全評估內容包括基因毒性試驗及 28 天亞急性毒性試驗。基因毒性試驗則包括(1)體外試驗：微生物基因突變分析與哺乳類細胞基因毒性分析。(2)體內試驗：動物體內基因毒性分析。其中 28 天亞急性毒性試驗本團隊曾經發現當使用人體 100 倍劑量時，母鼠之 AST 與 ALT 呈現異常值，不過病理報告仍屬正常，至於人體 50 倍劑量尚屬正常，當然日常生活不可能服用人體的 100 倍劑量。其他包括各種檢驗皆正常[24]，顯示出長庚生技公司所產的巴西蘑菇膠囊不具亞急性毒性。另外本團隊同時指出以沙門氏菌逆突變法證明長庚生技公司所產的巴西蘑菇膠囊不會明顯造成沙門氏菌逆突變，代表不具基因毒性[24]。本研究再次以哺乳類細胞染色體角度切入，證明長庚生技公司所產的巴西蘑菇膠囊基因毒性為陰性反應。未來

將執行 90 天亞慢性試驗，觀察其對肝腎等生化檢驗值的影響，並以解剖病理角度分析對內臟器官的病理生理是否被改變。另外將以週邊血液的微核試驗了解造血系統是否被改變。

參考文獻

1. Firenzuoli F, Gori L, Lombardo G. The Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murrill: Review of Literature and Pharmacotoxicological Problems. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2008; 5: 3-15.
2. Mizuno TK. *Agaricus blazei* Murrill medicinal and dietary effects. *Food Rev Int* 1995;11:167-72.
3. Ohno N, Furukawa M, Miura NN, Adachi Y, Motoi M, Yadomae TI. Antitumor-glucan from the cultured fruit body of *A. blazei*. *Biol Pharm Bull* 2001;24:820-8.
4. Ohno N, Hayashi M, Iino K, Suzuki I, Oikawa S, Sato K, et al. Effect of glucans on the antitumor activity of grifolan. *Chem Pharm Bull* 1986;34:2149-54.
5. Dong Q, Yao J, Yang X. Structural characterization of watersoluble of b-D-glucan from fruiting bodies of *Agaricus blazei* Murr. *Carbohydr Res* 2002;337:1417-21.
6. Mizuno T, Hagiwara T, Nakamura T, Ito H, Shimura K, Sumiya T. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "Himematsutake", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murrill. *Agric Biol Chem* 1990;54:2889-96.
7. Camelini CM, Maraschin M, de Mendonca MM, Zucco C, Ferreira AG, Tavares LA. Structural characterization of b-glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. *Biotechnol Lett* 2005;27:1295-9.
8. Mizuno M, Morimoto M, Minato K, Tsuchida H. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice.
9. Biosci *Biotechnol Biochem* 1998;62:434-7. 22. Mizuno M, Minato K, Ito H, Kawade M, Terai H, Tsuchida H. Antitumor polysaccharide from the mycelium of liquid-cultured *Agaricus blazei* mill. *Biochem Mol Biol Int* 1999;47:707-14.
10. Murakawa K, Fukunaga K, Tanouchi M, Hosokawa M, Hossain Z and Takahashi K: Therapy of myeloma in vivo using marine phospholipid in combination with *Agaricus blazei* Murrill as an immune response activator. *J Oleo Sci* 56(4): 179-188, 2007.
11. Hetland G, Johnson E, Lyberg T, Bernardshaw S, Tryggestad AM and Grinde B: Effects of the medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill on immunity, infection and cancer. *Scand J Immunol* 68(4): 363-370, 2008.
12. Talcott JA, Clark JA and Lee IP: Measuring perceived effects of drinking an extract of basidiomycetes *Agaricus blazei* Murrill: a survey of Japanese consumers with cancer. *BMC Complement Altern Med* 7: 32, 2007.
13. Yu CH, Kan SF, Shu CH, Lu TJ, Sun-Hwang L and Wang PS: Inhibitory mechanisms of *Agaricus blazei* Murrill on the growth of prostate cancer in vitro and in vivo. *J Nutr Biochem* 20(10):753-764, 2009.
14. 農業生技產業資訊網。
<http://agbio.coa.gov.tw/theme/detailinfo.aspx?dno=12969&gno=5>
15. Bellini MF, Angeli JPF, Matuo R, Terezan AP, Ribeiro LR, Mantovani MS. Antigenotoxicity of *Agaricus blazei* mushroom organic and aqueous extracts in chromosomal aberration and cytokinesis block micronucleus assays in CHO-K1 and HTC cells. *Toxicology in vitro* 2006;20:355-60.
16. Machado MP, Filho ER, Terezan AP, Ribeiro LR, Mantovani MS. Cytotoxicity, genotoxicity and antimutagenicity of hexane extracts of *Agaricus blazei* determined in vitro by the comet assay and CHO/HGPRT gene mutation assay. *Toxicology in vitro* 2005;19:533-9.
17. 王聞淨 (2008) 台灣農產品產銷履歷驗證制度之建構與未來展望，*農業生技產業季刊*，16:17-24.
18. 吳家駒(2005) 保健食品之安全性評估，*農業生技產業季刊*，13:13-18。
19. Kasai H, He LM, Kawamura M, Yang PT, Deng XW, Munkanta M, et al. IL-12 Production Induced by *Agaricus blazei* Fraction H (ABH) Involves Toll-like Receptor (TLR). *Evid Based Complement Alternat Med* 2004;1:259-67.
20. Sorimachi K, Akimoto K, Niwa A, Yasumura Y. Delayed cytotoxic effect of lignin derivatives on virally transformed rat fibroblasts. *Cancer Detect Prev* 1997;21:111-7.
21. Bellini MF, Angeli JPF, Matuo R, Terezan AP, Ribeiro LR, Mantovani MS. Antigenotoxicity of *Agaricus blazei* mushroom organic and aqueous extracts in chromosomal aberration and cytokinesis block micronucleus assays in CHO-K1 and HTC cells. *Toxicology in vitro* 2006; 20: 355-60.
22. Delmanto RD, Alves de Lima PL, Sugui MM, da Eira AF, Salvadori DM, Speit G, et al. Antimutagenic effect of *Agaricus blazei* Murrill mushroom on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. *Mutat Res* 2001;496:15-21.
23. Luiz RC, Jordão BQ, Eira AF, Ribeiro LR, Mantovani MS. Nonmutagenic or genotoxic effects of medicinal aqueous extracts from the *Agaricus blazei* mushroom in V79 cells. *Cytologia* 2003;68:1-6.
24. Chang JB, Lu HF, Liao NC, Lee CS, Yeh MY, Liu CM, Chung MT, Man-Kuan A, Lin JJ, Wu MF, Chung JG. Evaluation of genotoxicity and subclinical toxicity of *Agaricus blazei* Murrill in the Ames test and in histopathological and biochemical analysis. *In Vivo* 2012 ; 26: 437-445.

Evaluation of Food safety of *Agaricus blazei* Murrill Extract in vitro Chromosomal Aberration Test

Ming-Fang Wu^{1*} Mei-Hui Lee^{2*} Chuan-Hsun Chang^{3,4,7}
Hsing-Ni Huang³ Man-Kuan Au⁵ Jia-You Liu⁶ Shu-Ching Hsueh⁶
Nien-Chieh Liao⁶ Hsu-Feng Lu^{6,8}

¹National Taiwan University College of Medicine, Animal Medicine Center, Taipei,
²Department of Genetic Counseling Center, Changhua Christian Hospital, Changhua,
³Department of Nutrition Therapy, ⁴Surgical Oncology, ⁵Orthopaedics,
⁶Clinical Pathology, Cheng Hsin General Hospital, Taipei;
⁷School of Nutrition and Health Sciences, Taipei Medical University, Taipei;
⁸Fu-Jen Catholic University, Taipei, Taiwan

The use of complementary and alternative medicine (CAM) has become common among many cancer patients worldwide. Cancer patients who do not improve or feel beneficial effects from ordinary medicine expect CAM to cure their disease, prolong life, alleviate symptoms, improve their quality of life and boost their immune system. *Agaricus blazei* is widely used among cancer patients in Japan but no scientific evidence supports their safety. In order to evaluate the food safety, we perform the chromosome aberration test in Chinese hamster ovary cells (CHO-K1) treated with *Agaricus blazei* Murrill extract in vitro. Different concentrations (5, 2.5, 1.25, 0.625 and 0.3125 mg/ml) of *Agaricus blazei* Murrill were used in the following conditions: (i) treatment by metabolic activation S9 for 3 h; (ii) treatment by no metabolic activation S9 for 3 h; and (iii) treatment by no metabolic activation S9 for 20 h. After all the above treatments, the cells were harvested after exposed to Colcemid. The frequencies of chromosomal aberrations were determined in the first metaphase after treatment. A total at 100 metaphases per treatment were scored. For the chromosome and chromatid structures alterations, the chromosome break, chromosome deletion, chromatid gap, chromatid break, chromatid deletion, triradial, quadriradial, ring, complex chromosomal rearrangement, dicentric, polyploidy and pulverized cell were all observed in the experiments displayed except chromosome gap. The numbers of abnormal cells per 100 cells in 5 experiment groups were around 0.5 to 3 cells fewer than 12 to 26 cells of positive controls. *Agaricus blazei* Murrill extract was not genotoxic in CHO cells.

Key words: *Complementary and alternative medicine, Chinese hamster ovary cells*

Received: August 23, 2012 Revised: September 19, 2012 Accepted: November 21, 2012

Correspondence to: Hsu-Feng Lu

Address : Department of Clinical Pathology, Cheng-Hsin General Hospital, Taipei, Taiwan, R.O.C.

No.45, Cheng Hsin St., Pai-Tou, Taipei, Taiwan, R.O.C.

Phone: 886-(02)28264400 # 5850 E. mail: ch1835@chgh.org.tw