

## 韓國產 高等 菌類의 成分 研究(第47報)

들버섯 培養 菌絲의 抗癌 成分

朴希珠 · 金河元 · 禹洺植 · 沈美慈\* · 朴婉熙\*\* · 崔應七 · 金炳珏

서울大學校 藥學大學 微生物藥品化學教室 · 서울市立大學\* · 京畿開放大學\*\*

## Studies on Constituents of the Higher Fungi of Korea(XLVII)

Antitumor Constituents of the Cultured Mycelia of *Agaricus campestris*

Hee Ju Park, Ha Won Kim, Myoung Sik Woo, Mi Ja Shim,\* Wan Hee Park\*\*

Eung Chil Choi and Byong Kak Kim

Department of Microbial Chemistry, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151

Seoul City University,\* Seoul 131, and

Kyonggi Open University,\*\* Seoul 132-02, Korea

**Abstract:** To find antitumor constituents in the shake cultured mycelia of *Agaricus campestris*, the mycelia were extracted with hot water. Purification of the extract was carried out by ethanol precipitation and by ion exchange chromatography using DEAE-Sephadex A-50. Each fraction obtained during the purification procedure was examined for antitumor activity against sarcoma 180 in ICR mice. The antitumor fraction C was isolated. It showed 56.1% inhibition ratio at a dose of 20 mg/kg/day and consisted of a polysaccharide moiety (45%) and a protein moiety (18%). The polysaccharide was analyzed by G.L.C. and found to contain mannose(42.0%), glucose (25.5%), xylose (16.6%), fucose and galactose. The protein moiety was composed of 17 amino acids. The antitumor fraction A showed immunopotentiating activity by accumulating peritoneal macrophages and by increasing plaque-forming cells in mice.

**Keywords:** *Agaricus campestris*, *Agaricaceae*, Basidiomycete, Antitumor activity, Protein-bound polysaccharide, Immunopotentiating activity, Macrophage, Plaque-forming cells.

담자균류의 대사산물로부터 항암 성분의 연구가 활발하게 진행되고 있다. Chihara등(1969)은 *Lentinus edodes*의 자실체로부터 sarcoma 180에 대하여 강한 항암 작용을 지닌 다당체를 분리하였고, 그 후 Chihara등(1970)은 lentinan을 분리 정제하였다. 한편 Tsugagoshi등(1974)은 *Coriolus versicolor*의 배양 균사로부터 항암성 단백질 합 다당류인 PS-K를 분리하였으며, Fujii등(1978)은 *Lentinus edodes*균주의 배양 균사로부터 항암성 단백질 합 다당류인 KS-2를 분리하는 등 새로운 항암 성분을 분리하는 연구가 계속되고 있다.

이들 담자균의 항암 성분들이 생체 면역 기능에 미치는 영향에 관한 연구도 진행되었는데 Maeda등(1971)은

lentinan이 cell-mediated immunity를 증강시키는 작용을 지니고 있음을 밝혔으며 Donnert등(1973)은 lentinan이 T-cell adjuvant로 작용함을 밝혀내었다. 이로써 담자균의 항암 성분인 lentinan이 직접적인 세포 독성을 나타내지 않고 생체의 면역 기능을 촉진시킴으로써 항암작용을 나타내는 것임을 알게 되었다.

한국산 담자균류의 항암 성분 연구는 저자들(Kim 등, 1979)이 구름버섯, 표고, 느타리 등의 자실체 열탕 추출물이 sarcoma 180에 강한 저지작용이 있음을 밝혀냄으로써 시작되었다.

저자들(Park 등, 1979)은 이들 항암성분의 화학 분석을 시행하였다. 또한 저자들(Park 등, 1979)은 표고

의 액내배양에 의한 항암성 단백질 합 다당체의 생성을 확인했다. 저자들(Kim 등, 1980)은 영지의 항암성분을 분리했고, 저자들(Shim, 1981)은 구름버섯 배양균사의 항암성분 및 배양에 관한 연구결과를 보고하여 균사의 액내배양에 의한 항암성분의 대량 생산 가능성을 제시하였다. 저자들(Lee 등, 1981)은 노랑다발 자실체의 항암성분을 분리, 보고하였다.

저자들은 한국산 고등균류중 보다 효과가 우수한 항암성분을 찾기 위한 연구로 버섯균사를 배양하여 스크리닝하던 중 들버섯의 배양균사체가 항암효과를 나타냄을 밝혀냈다. 이에 한국산 들버섯의 성분에 관해서는 아직 연구된 바가 없으므로 ion exchange chromatography로 항암 성분을 정제한 후 항암실험을 시행하였고 그 화학적 조성을 알아보기 위해 화학분석을 시행하였으며 항암기전의 일환으로 마우스의 면역촉진 효과를 실험하여 그 결과를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 실험 재료

본 실험에 사용한 들버섯 *Agaricus campestris* (the family *Agaricaceae* 들버섯과)의 균사는 경기도 수원시 농촌진흥청 농업기술연구소로부터 분양받은 것이다. 균주의 보존 및 고체배양용 배지로는 Difco사(미국, Detroit)의 감자 포도당 한천배지(Potato dextrose agar)를 사용하였으며, 배지농도는 39 g/l로 하였다. 액내 배양용 배지는 Table I에 표시된 조성의 배지를 사용하였으며, 배지에 사용된 Peptone, Yeast extract는 Difco사의 것을 사용하였으며, 기타 시약은 시판 특급 또는 일급을 사용하였다.

Table I. Composition of submerged culture medium.

Glucose	15 g
Peptone	10 g
Yeast ext.	10 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.87 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g
CaCl <sub>2</sub>	0.3 g
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10 mg
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	7 mg
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	4 mg
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	1 mg
Distilled water	1,000 ml
pH 5.0 before autoclaving	

#### 배양 방법

##### 1) 종균 배양

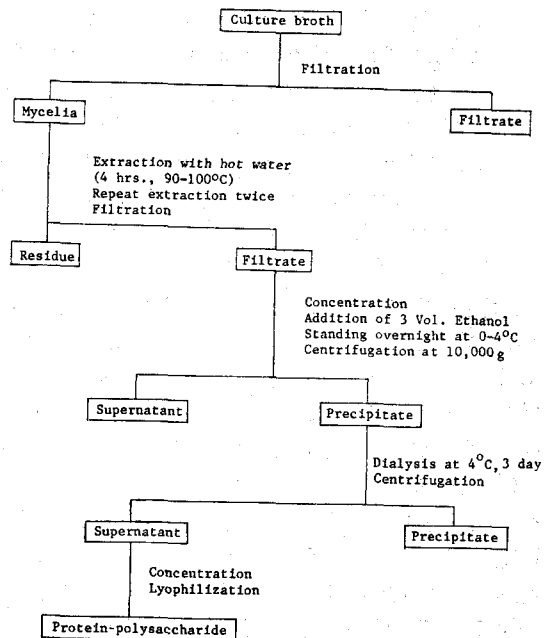
들버섯의 균사를 감자 포도당 한천배지에서 14일간 성장시킨 후, 무균적으로 분리하여 진탕배양용 배지 100 ml와 함께 10초간 microblender로 균질화하고 500 ml 삼각 flask에 옮겨 28±1°C에서 180 rpm의 속도로 14일간 진탕배양하였다.

##### 2) 본 배양

종균배양하여 얻은 균사체를 10초간 균질화하여 500 ml의 배지를 함유하는 2 l 삼각 flask에 무균적으로 이식하여 28±1°C에서 180 rpm의 속도로 10일간 진탕배양하였다.

#### 단백성 다당류의 추출 및 분리

본 배양액 15 l를 감압여과하여 배양균사를 얻고 이를 증류수로 세척한 다음 10 l의 증류수를 가하고 수욕상(90~100°C)에서 4시간 동안 열탕추출한 후 여과하였다. 잔사에 6 l의 증류수를 가하고 재차 4시간 추출하였다. 2회의 추출액을 합하여 감압농축하고 농축액에 농축액 3배량의 95% 에탄올을 가하여 침전시켰다. 침전을 완결시키기 위해 4°C에서 1일간 방치하였다. 10,000 g에서 30분간 원심분리하여 침전물을 취했다. 침전물을 증류수로 녹인후, 그 용액을 Visking tube에 넣어 4°C에서 3일간 투석하였다. 투석 후 10,000 g에



Scheme I. Extraction of protein-polysaccharide fraction from *Agaricus campestris*.

서 30분간 원심분리하여 물에 녹지 않는 물질은 제거하고 그 상정액을 취하여 감압농축하고 냉동건조하여(-65°C) 짙은 갈색의 분말(3.2 g)을 얻었다. 이를 분획 A라고 칭하였다(Scheme I).

단백성 다당류의 정제

DEAE-Sephadex A-50(Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweden, Cl form) 2 g을 1 l 삼각 flask에 넣고 0.01 M Tris buffer(pH 8.7)로 안정화시켰다.

분획 A를 2.5 g 취하여 0.01 M Tris buffer에 녹인 후 안정화시킨 DEAE-Sephadex A-50 gel에 넣고 혼든 후 1일간 방치하여 흡착시켰다. 여과한 후 여액에 대해서는 재차흡착을 시킨 후 여과하여 여액을 취하였다. 여액을 감압농축하고 4°C에서 3일간 투석을 실시한 후 냉동건조(-65°C)하여 DEAE-Sephadex A-50에 흡착되지 않은 분획 B(300 mg)를 얻었다.

잔사에 0.1 M Tris buffer(pH 8.7)를 가한 후 1일간 진탕하였다. 여과하여 여액을 앞에서 언급된 방법대로 처리하여 DEAE-Sephadex에 흡착된 분획 C(250 mg)를 얻었다. 0.1 M Tris buffer로 처리한 후 남은 잔사에 0.1 M NaOH를 넣고 진탕한 후 여과하여 여액을 얻었다. 여액을 앞에서 언급한 대로 처리하여 분획 D(400 mg)를 얻었다(Scheme II).

항암 실험

1) 실험 동물

본 실험에서 사용한 동물은 서울대학교 동물사육장

에서 구입한 ICR 마우스(암컷)이며, 체중이 18~22 g에 속하는 것을 사용하였다.

2) 종양 세포 및 암 유발

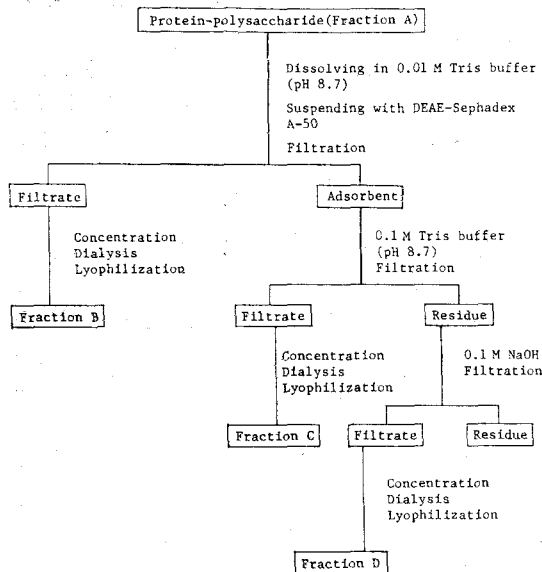
종양세포로 sarcoma 180을 사용하였다. 마우스 복강 내에 sarcoma 180세포의 현탁액 0.1 ml( $1 \times 10^7$  cells/ml)을 이식하여 일주일간 계대 배양하였다. 이 마우스를 죽인 후 해부하여 복강액 중의 sarcoma 180의 암세포를 분리하여  $1 \times 10^7$  cells/ml로 희석하고, 그 희석액 0.1 ml씩을 마우스의 왼쪽 서혜부에 피하 주사하여 고형암을 유발시켰다.

3) 실험액의 조제

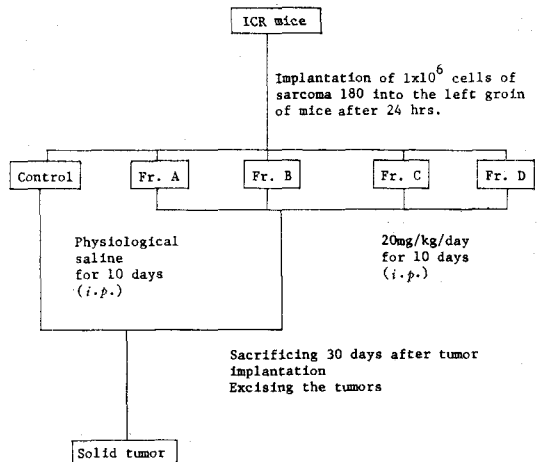
배양 균사체의 추출물인 4가지 분획 A, B, C, D의 건조 분말을 사용하여 각각 20 mg/kg의 농도로 조제하였다. 각 분획 40 mg을 10 ml의 생리식염수에 용해시켰다. 대조군에는 생리식염수를 사용하였다. 모든 실험액은 고압멸균하였다.

4) 동물 실험

종양세포를 이식한 마우스 9마리를 1군으로 하여 실험하였다. 종양세포 이식 후 24시간이 지난 후부터 약물투여를 시작하였다. 대조군에는 생리식염수를, 각 처치군에는 20 mg/kg의 농도로 조제된 실험액을 마우스 한마리당 0.1 ml씩 10일간 주사하였다(Scheme III). 종양세포 이식 후 30일 만에 마우스를 처사시키고 고형암을 적출하여 종양 평균 무게를 구하였다. 항암작용의 지표로 사용되는 이식종양의 저지배분률(Inhibition Ratio: 이하 I.R.로 칭함)을 다음과 같은 식에 의해 구하였다.



Scheme II. Purification of the protein-polysaccharide of *A. campestris*.



Scheme III. Antitumor test of the four fractions of *A. campestris*.

$$I.R. = \left(1 - \frac{T_w}{C_w}\right) \times 100$$

$C_w$  : 대조군의 중앙 평균무게

$T_w$  : 처치군의 중앙 평균무게

**항암 성분의 화학 분석**

1) 다당류의 함량 분석

총 다당류의 함량분석은 포도당을 표준으로 하여, Anthrone시약과 반응시켜 나타내는 발색도를 625 nm에서 흡광도를 측정하여, 검량곡선에 의거하여 정량하였다.

2) 구성 단당류의 분석

시료 20 mg을 3% HCl-MeOH와 함께 cap tube에 넣고 질소를 충전시킨 후 밀봉하여 80±5°C에서 24시간 동안 methanolysis 시켰다. 여과하여 감압농축한 뒤 1 ml의 pyridine에 용해시키고 0.2 ml의 hexamethyldisilazane과 0.1 ml의 trimethyl chlorosilane을 가하고 30초간 맹렬히 진탕하여 trimethylsilylation시킨 후 상법에 따라 G.L.C.를 실시하였다. 각 표준 단당류의 retention time과 비교하여 단당류를 확인하였으며 정량은 증량비로 산출하였다.

3) 단백질 함량 분석

단백질 함량은 bovine serum albumin을 대조로 하여 Lowry-Folin법으로 구하였다. 시료에 대해 각각 Lowry-Folin 반응을 실시한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여, 작성한 검량곡선으로부터 단백질 함량을 구하였다.

4) 구성 아미노산 분석

시료 20 mg을 5 ml의 6 N HCl과 함께 cap tube에 넣고 질소를 충전시킨 후 밀봉하여 110±5°C에서 24시간 가수분해시켰다. 여과한 후 감압농축하고 0.02 N HCl 2 ml를 가하여 용해시키고 0.5 ml씩을 아미노산 자동분석기에 주입하여 분석하였다.

얻어진 chromatogram을 표준 아미노산의 chromatogram과 비교하여 면적비로 정량하였다.

5) IR 스펙트로스코피

시료 1 mg을 사용 KBr disc법을 실시하여 IR 스펙트럼을 얻었다.

**항암 성분이 면역에 미치는 영향**

1) 마우스의 복강세포군에 미치는 영향

A) 실험동물

체중 20~23 g의 ICR마우스(수컷)를 각 실험군마다 5마리씩 사용하였다.

B) 시 약

① Balanced salt solution(BSS)

Stock No. 1 : Dextrose 10.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.6 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3.58 g, 0.5% Phenol red solution 20.0 ml를 2차 증류수에 녹여서 총 용량을 1 l가 되도록 하였고 4°C에서 보존하며 사용하였다.

Stock No. 2 : CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1.86 g, KCl 4.0 g, NaCl 80.0 g, MgCl<sub>2</sub> 1.04 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2.0 g을 2차 증류수에 녹여서 총 용량이 1 l가 되도록 하였고 4°C에서 보존하며 사용하였다.

사용시에는 Stock No. 1 100 ml와 Stock No. 2 100 ml를 섞어서 2차 증류수 800 ml를 가한 후 pH를 7.3으로 맞추었다.

② Phosphate buffered saline(PBS)

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 2.51 g과 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 22.4 g을 500 ml의 2차 증류수에 용해시킨 후 pH를 7.3으로 맞추었다. 여기에 NaCl 87.6 g을 가한 후 총 용량을 1 l로 했다. 사용시에는 10배 희석하였다.

③ Giemsa staining solution

Stock solution : Giemsa powder (BDH Chemicals England) 0.5 g을 glycerine 33.0 ml에 완전히 용해 (60°C수욕상) 한 후 absolute methanol 33.0 ml를 가하고 용해하여 여과한 후 사용하였다.

Working solution : 4 ml의 Stock solution에 증류수를 가하여 40 ml로 하여 사용하였다.

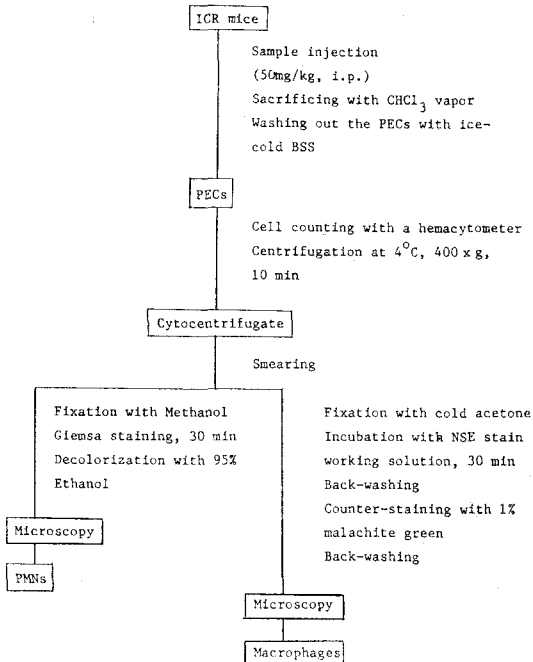
④ NSE(Non-specific esterase) staining solution

Stock solution : α-naphthyl acetate 1 g을 acetone 50 ml와 증류수 50 ml에 녹여서 4°C에서 보존하며 사용하였다.

Working solution : Stock solution 2.0 ml와 0.1 M Phosphate buffer(pH 7.3) 15 ml, 증류수 15 ml, fast red TR salt(4-chloro-o-toluidine diazotate, Polysciences사) 20 mg을 혼합하여 사용직전에 여과하였다.

C) 방 법

각 군의 실험 동물수는 5마리로 하고 시료 50 mg/kg을 PBS에 용해하여 고압멸균한 후 1 ml씩 복강내 주사하였다. 약물투여 후 1일, 2일, 3일, 5일 만에 실험동물을 치사시키고 즉시 해부하여 복강을 BSS로 세척하여 복강세포를 얻었다. 복강액 전체가 10 ml가 되도록 다음 hemocytometer로 총 복강내 세포를 세었다. 복강세척액을 4°C에서 400×g로 10분간 원심분리하여 세포침전물을 얻어 slide glass에 도달하여 건조시킨 다음 absolute methanol로 5분간 고정시킨 후 Giemsa staining solution을 가하고 30분간 염색하였다. 과잉의 염색액을 95% ethanol로 세척해내고 건조후 cedar oil을 mounting solution으로 하여 1,000배로 관찰하였



**Scheme IV.** Procedure of peritoneal cell accumulation test.

다. 이때 세포의 모양이 둥글고 진하게 염색된 여러개의 핵 또는 도너츠 모양의 핵을 지닌 세포를 PMN으로 보았다. 한편 도말 표본을 병냉의 acetone으로 5분간 고정시킨 후 saline으로 세척한 다음 NSE staining solution에 넣어서 26°C에서 30분간 염색하였다(Yam, 1970; Godon, 1978). 세척한 후 1% malachite green 용액으로 대조염색을 하고 세척, 건조하여 glycerine mounting solution으로 하여  $\times 1,000$ 로 관찰하였다. 이때 세포질내에 NSE stain에 의해 적색의 입자를 지닌 세포를 macrophage로 보았다(Scheme IV).

2) 마우스의 용혈반 형성 세포수에 미치는 영향

A) 실험 동물

체중 16~20 g의 ICR마우스(수컷) 5마리를 1군으로 하였다.

B) 시 약

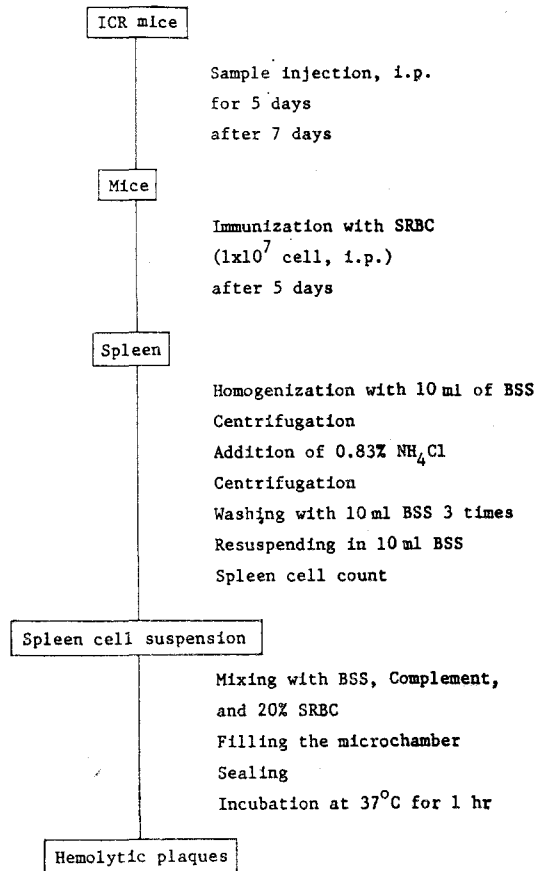
① Balanced salt solution(BSS)

② 면양 적혈구(Sheep Red Blood Cell) : 면양으로부터 채취한 신선한 혈액을 국립보건원으로부터 분양 받았다.

③ 보체 : guinea pig complement를 사용하였다.

C) 방 법

실험 방법은 Cunningham(1973)의 방법에 준하여 실험



**Scheme V.** Procedure of hemolytic plaque assay.

시하였다. 10 마리의 마우스를 5마리씩 2개군으로 나누고 한군은 대조군으로서 saline을 투여하고 처치군에는 50 mg/kg의 농도로 조제한 항암분획 A를 0.1 ml씩 5일간 복강내 주사하였다. 치료의 최종투여일로부터 7일경과후 면양적혈구 현탁액 1 ml씩( $1 \times 10^7$  cells/ml)을 투여하였다. 5일 경과 후 마우스를 처사시키고 비장을 적출하였다. 적출한 비장을 병냉의 BSS와 함께 균질화하고  $400 \times g$ 에서 10분간 원심하여 비장세포를 얻었다. 0.83%  $NH_4Cl$ 용액에 부유시켜 5분간 방치하여 적혈구를 용혈시킨 후 원심분리하여 상층액을 제거하였다. BSS로 3회 세척 후 다시 일정량의 BSS를 가하여 총세포수를 hemocytometer로 세었다. 그 현탁액의 일부를 취하여  $1 \times 10^6$  cells/ml의 비장세포 현탁액을 만들었다.

microwell에 20% SRBC 250  $\mu l$ , complement 500  $\mu l$ , 비장세포 부유액을 넣어 혼합한 다음 slide chamber에

100  $\mu$ l씩 기포가 생성되지 않도록 넣었다.

vaseline-paraffin(1:1)으로 봉하고 37°C에서 1시간 동안 배양하여 형성되는 용혈반의 수를 측정하였다 (Scheme V).

결 과

단백성 다당류의 함양 효과

들버섯의 배양균사체로부터 얻은 4가지 단백질 다당류의 sarcoma 180에 대한 함양효과를 실험한 결과 분획 C가 가장 높은 저지율인 56.1%를 나타내었다. 한편 정제하기 전인 분획 A는 53.7%, DEAE-Sephadex A-50에 흡착되지 않는 분획 B는 51.4%의 중앙 저지율을 나타내었다 (Table II).

함양 성분의 화학 분석

들버섯 배양물에서 얻은 4가지 분획에 대하여 총 다당체 함량과 총 단백질 함량을 측정된 결과를 Table III에 나타내었다. 이들 모두가 단백질 다당류로 되어 있으며 그중 분획 C는 45%의 다당류와 18%의 단백질로 구성된 protein-polysaccharide로 판명되었다. 또한 이들은 5가지의 다당류로 구성되어 있으며 (Table IV, Fig. 1), 단백질 부분은 17종의 아미노산으로 구성되어 있음을 알 수 있었다 (Table V).

IR spectrum을 보면 A, B, C분획 모두 3,300  $cm^{-1}$  부근의 O-H신축진동, 2,900  $cm^{-1}$  부근의 C-H신축진동, 1,000~1,100  $cm^{-1}$  부근의 C-H, C-O변각진동, 그리고 1,650  $cm^{-1}$  부근의 C=O 신축진동 등을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2).

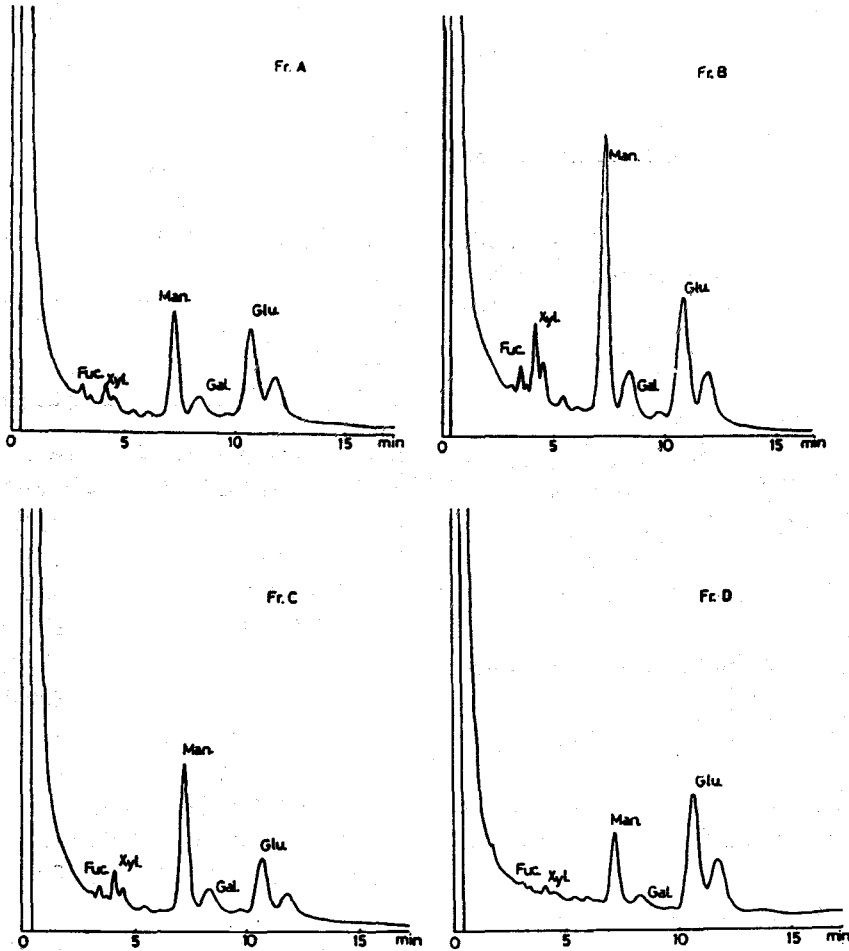


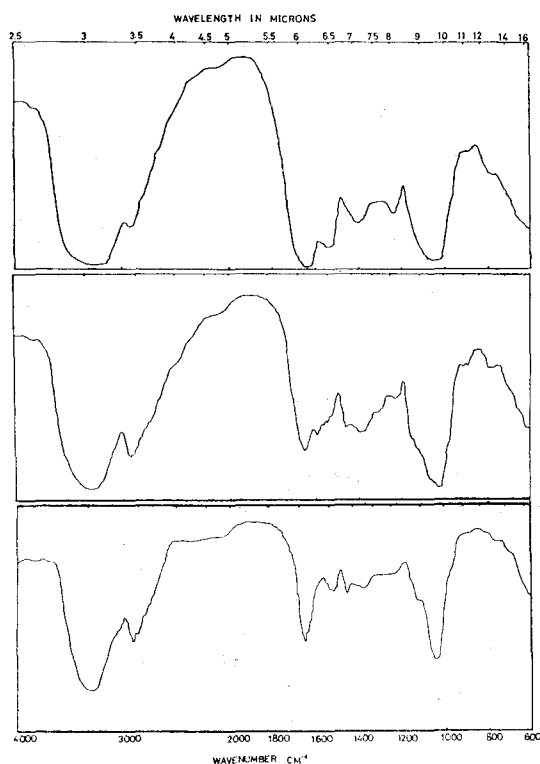
Fig. 1. G.L.C. patterns of monosaccharides of the four fractions of *A. campestris*.

**Table II.** Antitumor activities of the four fractions of *A. campestris* on sarcoma 180 in mice.

Group	Dose (mg/kg/day)	Average tumor weight (g)	Inhibition ratio(%)	Complete regression
Control	saline	2.55±0.54 <sup>a</sup>	—	0/9 <sup>b</sup>
Fraction A	20	1.18±0.73	53.7	0/9
Fraction B	20	1.24±0.61	51.4	0/9
Fraction C	20	1.12±0.45	56.1	1/9
Fraction D	20	1.26±0.63	50.6	0/9

a: Mean ± S.E.

b: The number of mice used



**Fig. 2.** IR spectra of the fractions A, B and C of *A. campestris*.

**항암 성분이 면역에 미치는 영향**

1) 마우스의 복강세포군에 미치는 영향

들버섯의 항암 성분을 복강내 주사한 후 복강내 세포들의 증감 여부를 관찰하였으며 그 결과를 Fig. 3에 표시하였다. 복강내 총 세포수는 항암 성분 투여 후 급속히 증가하기 시작하여 1일 만에 최고 농도로 나타났으며, 2일부터 서서히 감소, 5일이 경과한 후에도 정

**Table III.** Total polysaccharide and protein contents in the four fractions of *A. campestris*.

Fraction	Total polysaccharide content(%)	Total protein content(%)
Fraction A	56	29
Fraction B	35	12
Fraction C	45	18
Fraction D	54	33

**Table IV.** Monosaccharide contents in the four fractions of *A. campestris*.

Fraction	A	B	C	D
Monosaccharide(%)				
Fucose	12.8	9.0	11.1	11.5
Xylose	18.1	19.4	16.6	18.5
Mannose	32.0	41.0	42.0	24.2
Glucose	33.0	27.8	25.5	42.7
Galactose	2.1	2.8	4.8	3.1

**Table V.** Amino acid contents in the protein fraction of fractions A, B and C of *A. campestris*.

Amino acid(%)	Fr. A	Fr. B	Fr. C
Trp	0.5	2.0	1.2
Lys	6.7	3.3	3.1
His	1.1	0.8	0.8
Arg	1.8	1.4	1.4
Asp	15.6	16.7	18.9
Thr	6.5	12.2	6.8
Ser	0.7	9.3	4.7
Glu	16.9	10.2	16.2
Pro	+	0.2	+
Gly	20.4	14.3	11.1
Ala	11.3	10.2	12.2
Cys	6.7	6.0	9.7
Val	1.0	0.6	1.0
Met	0.2	0.1	0.2
Ile	3.1	3.7	4.2
Leu	4.9	6.5	5.8
Tyr	1.2	1.2	1.1
Phe	1.3	1.3	1.5

상 마우스 보다 상당히 높은 농도를 나타내었다. PMN 은 1일 만에 최고치를 나타내었으나 그 이후부터 급속

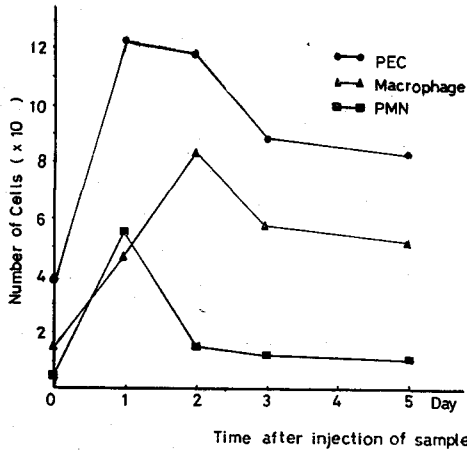


Fig. 3. Effects of the antitumor fraction A of *A. campestris* on peritoneal cell population of ICR mice.

히 감소하여 정상치로 회복되었다. 반면 macrophage는 주사한 후 증가하기 시작하여 2일 만에 최고농도를 나타내고 5일 경과 뒤에는 상당히 높은 농도를 유지하였다. 따라서 복강내 세포의 증가는 macrophage의 증가에 기인하였다.

2) 마우스의 용혈반 형성 세포수에 미치는 영향

들버섯의 항암성분이 마우스 비장세포의 항체 생성능에 미치는 영향을 Table VI에 표시하였다. 이 표에서 보는 바와 같이 들버섯의 항암성분 50 mg/kg투여시 대조군과 비교하여 볼 때 용혈반형성 세포수가 16배증가하였다.

Table VI. Effects of the antitumor component of *A. campestris* on hemolytic plaque forming cells (=PFCs) in the spleen of ICR mice immunized with sheep red blood cell (1 × 10<sup>7</sup>/mouse)

	Body weight (g)	Spleen cell count (×10 <sup>7</sup> )	PFC/10 <sup>6</sup> Spleen cells	PFC/Spleen (×10 <sup>2</sup> )
Control	26.0 ± 1.0*	10.8 ± 1.2	3.9 ± 0.9	4.2 ± 1.0
Sample	24.0 ± 2.2	20.5 ± 8.1	64.0 ± 7.5	131.2 ± 15.4

\*Mean ± S.D.

고 찰

들버섯의 배양 균사체로부터 추출, 분리한 후 정제하여 얻은 단백질함 다당류로 sarcoma 180에 대한 항암실험을 한 바 정제하기 전인 분획 A가 53.7%의 중앙저

저율을 나타내었고 정제된 분획 C는 56.1%의 저저율을 나타내었다. 그러나 이 효과는 *Lentinus edodes*로부터 얻은 lentinan이나 *Coriolus versicolor*의 PS-K에 비해 다소 낮은 효과를 나타내고 있다. 분획 C의 화학조성은 Table IV, V에 표시된 대로 다당류 부분은 mannose를 주성분으로 한 5종류의 다당류로 구성되어 있는 heteroglucan으로 판단되며 17종의 아미노산으로 이루어진 단백질과 결합한 상태로 되어있다.

다자균류의 항암성분인 다당류 또는 단백질함다당류는 다른 화학요법제가 암세포에 독작용을 일으키는 것과는 달리, 숙주의 암세포에 대항하는 면역기능을 증가시켜줌으로써 항암작용을 나타내는 것으로 발표된 바 있다. lentinan의 항암기전의 인자로써 macrophage가 관여함이 보고되었으며 Shim등은 구름버섯의 항암성분을 마우스에 주사한 결과 면역 저혈구를 용혈시키는 lymphocyte가 증가되었음을 보고한 바 있다.

따라서 들버섯의 항암성분을 마우스 복강내 주사한 후 macrophage의 증가 여부와 용혈반 생성 세포수의 증가여부를 검토하였다. 그 결과 macrophage가 현저히 증가하였으며 항체 생성능력을 지닌 용혈반 생성 세포수도 증가하였다. 이 결과로 보아 들버섯의 항암작용은 면역 촉진 기전을 통하여 나타나는 것으로 사료된다.

적 요

들버섯의 배양 균사체로부터 추출한 단백질함다당체는 마우스에 이식된 sarcoma 180에 대해서 유효한 항암력을 나타내었다. DEAE-Sephadex A-50를 이용하여 정제한 결과 4개의 분획을 얻었다. 이 중 가장 항암효과가 큰 분획 C는 56.1%의 중앙저저율을 나타내었다. 분획 C는 45%의 다당류와 18%의 단백질로 되어있다. 그 다당류는 mannose(42.0%), glucose(25.5%), xylose(16.6%), fucose(11.1%)와 galactose(4.8%)로 되어 있고 단백질은 17종의 아미노산으로 되어 있었다. 들버섯의 항암성분은 마우스 복강내에 있는 macrophage의 수를 현저히 증가시켰으며 비장내의 용혈반형성 세포수도 증가시켰으므로 면역증강 작용이 있다.

감사의 말씀

이 연구에 소요되는 경비의 일부는 서울대학교 藥大 綜合藥學研究所의 연구비로 충당되었으며 이에 깊이 감사하는 바이다.



## 문헌

- Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F. (1969): *Nature* 222:687.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. and Fukuoka, F. (1970): *Cancer Research* 30:2276.
- Cunningham, A. (1973): *Prog. Allergy* 17:5.
- Diller, I.C., Mankowski, Z.T. and Fisher, M.E. (1963): *Cancer Res.* 23:201.
- Donnert, G. and Tucker, D. (1973): *J. Natl. Cancer Inst.* 51: 1727.
- Fujii, T., Maeda, H. and Suzuki, F. (1978): *J. Antibiotics* 31: 1079.
- Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Costilow, R.N., Nester, E.W., Wood, W.A., Krieg, N.R. and Phillips, G. B. (1981): *Manual of Methods for General Bacteriology*. Am. Soc. Microbiol., Washington, DC.
- Godon, S. (1978): *Handbook of Experimental Immunology*. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Hamuro, J., Rollinghoff, M. and Wagner, H. (1980): *Immunology* 39:551.
- Herscowitz, H.B., Holden, H.T., Bellanti, J.A. and Ghaffar, A. (1981): *Manual of Macrophage Methodology*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Iizuka, C. (1980): *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 80:157, 517.
- Ito, H., Fujii, K. and Sugiura, M. (1972): *Mie Medical J.* 22:103.
- Ito, H., Fujii, K. and Terada, Y. (1973): *Mie Medical J.* 23:1.
- Ito, H., Naruse, S. and Shimura, K. (1977): *Mie Medical J.* 26:2-3.
- Kim, B.K., Choi, E.C. and Choi, H.J. (1973): *Kor. J. Pharmacogn.* 4:39.
- Kim, B.K., Chung, H.S., Chung, K.S. and Yang, M.S. (1980): *Kor. J. Mycol.* 14:107.
- Kim, B.K., Lee, M.H. and Shim, M.J. (1978): *Kor. J. Mycol.* 6:5.
- Kim, B.K., Lee, Y.S., Choi, E.C., Shim, M.J. and Lee, Y.N. (1977): *Kor. Biochem. J.* 10:47.
- Kim, B.K., Kang, C.Y., Choi, E.C. and Kim, K.H. (1976): *Kor. J. Mycol.* 4:27.
- Kim, B.K., Park, E.K. and Shim, M.J. (1979): *Arch. Pharm. Res.* 2:145.
- Lee, S.A., Chung, K.S., Shim, M.J., Choi, E.C. and Kim, B.K. (1981): *Kor. J. Mycol.* 9:25.
- Luzio, N.R., McNamee, R. and Browder, W.I. (1978): *Cancer Treat. Rep.* 62:1857.
- Maeda, Y.Y. and Chihara, G. (1971): *Nature* 229: 634.
- Miyazaki, T., Oikawa, N. and Yadomae, T. (1979): *Carbohydr. Res.* 69:165.
- Nakashima, S., Umeda, Y. and Kanada, T. (1979): *Microbial. Immunol.* 23:501.
- Ohno, R., Imai, K., Yokomaku, S. and Yamada, K. (1975): *Gann* 66:679.
- Park, D.W., Shim, M.J. and Kim, B.K. (1979): *Seoul Univ. J. Pharm. Sci.* 4:19.
- Park, E.K., Kim, B.K. and Choi, E.C. (1979): *Arch. Pharm. Res.* 2:153.
- Saito, H., Ohki, T., Takasuka, N. and Sasaki, T. (1977): *Carbohydr. Res.* 58:293.
- Sasaki, T. and Takasuka, N. (1976): *Gann* 67:191.
- Shibata, S., Nishikawa, Y. and Tanaka, M. (1968): *Chem. Pharm. Bull.* 16:12.
- Shim, M.J. (1981): *Kor. J. Mycol.* 9:49.
- Sidney, K. and Louis, H.T. (1971): *J. Chromatogr.* 64:247.
- Sober et al. (1956): *J. Am. Chem. Soc.* 78:756.
- Tsukagoshi, S. and Ohashi, F. (1974): *Gann* 65:557.
- Usui, T., Iwasaki, Y. and Hayashi, K. (1981): *Agric. Biol. Chem.* 45:3526.
- William, L.G. and Robert, H. (1972): *J. Chromatogr.* 72:83.
- Yam, L.T., Li, C.Y. and Croby, W.H. (1970): *Am. J. Clin. Path.* 55:283.
- Yoshioka, Y., Sano, T. and Ikekawa, T. (1973): *Chem. Pharm. Bull.* 21:8.

<Received May 14, 1985;

Accepted June 21, 1985>