

Phellinus linteus 균사 배양물로부터 분리한 단백다당체 Kp의 항암활성

정경수[#] · 김신숙 · 김희수 · 한만우* · 김병각**
충남대학교 약학대학, *한국신약(주), **서울대학교 약학대학

(Received January 28, 1994)

Antitumor Activity of Kp, a Protein-polysaccharide from the Mycelial Culture of *Phellinus linteus*

Kyeong-Soo Chung[#], Shin-Sook Kim, Hee-Soo Kim, Man-Woo Han*, and Byong-Kak Kim**
College of Pharmacy, Chung Nam National University, 220 Gung-dong, You-seong-gu, Taejon 305-764,
*Han-Kook Sin-Yak Co., Ltd., 610-7 Kwan-jeo-dong, Soe-gu, Taejon 302-243
**College of Pharmacy, Seoul National University, San 158, Shin-lim-dong, Kwan-ak-gu, Seoul 151-742

Abstract—A protein-polysaccharide fraction Kp(53.9% polysaccharide, 14.2% protein) was separated from the shake-cultured mycelia of a basidiomycetous fungus, *Phellinus linteus*, and its antitumor activity against sarcoma 180 in ICR mice was investigated. When administered after the tumor implantation, Kp exerted antitumor activity by inhibiting the growth of the sarcoma 180 solid tumor by 71.5% and increasing the life span of the sarcoma 180 ascitic mice by 51.5% at 100 mg/kg. In pretreatment tests, in which Kp was administered once daily for 9 days before the tumor implantation, Kp inhibited the growth of the solid and ascites form of sarcoma 180, respectively, by 35.4% and by 80.3% at 100 mg/kg. However, Kp showed no *in vitro* cytotoxic activity against a murine leukemia L1210 and a human gastric tumor SNU.1 upto the concentration of 200 µg/ml. From these results, it is clear that the antitumor activity of Kp is exerted through its immunomodulating activity on the host's immune system.

Keywords □ *Phellinus linteus*, Kp, basidiomycete, shake-cultured mycelia, protein-polysaccharide, antitumor, immunomodulating, sarcoma 180, leukemia L1210, SNU.1.

담자균류의 항암성분에 관한 연구는 1950년대부터 본격적으로 시작되었다. 즉 Roland 등¹⁾은 *Calvatia gigantea*로부터 담자균 최초의 항암성분을 분리하여 calvacine이라 명명하였고 Gregory²⁾는 대대적인 검색을 통하여 20속 50균주의 항암력을 확인하였다. 한편 Ikegawa 등³⁾은 *Lentinus edodes*(표고) 등 수종의 식용버섯의 항암 효과를 확인하였으며 *L. edodes* 자실체로부터 lentinan,⁴⁾ *Coriolus versicolor*(구름버섯, 운지) 배양균사체로부터 PS-K(Krestin),⁵⁾ *Schizophyllum commune*(치마버섯) 균사체로부터 schizophyllan⁶⁾ 등의 항암 성분이 발견되었다. 담자균류 등으로부터 분리된 이들 항암성분들은 대개 다당체 또는 단백질이

결합된 다당체 즉 단백다당체인데 이들은 기존의 세포독성 항암제들과는 대조적으로 암세포에 독성을 나타내지 않으며 숙주의 면역기능을 통하여 간접적으로 항암력을 나타낸다.⁶⁾ 따라서 이들 담자균류의 항암성 단백다당체는 화학요법들과 달리 뚜렷한 부작용이 없을 뿐만 아니라 화학요법제의 부작용을 완화하기도 한다.⁷⁾ 때문에 이들은 암의 보조적 치료제로서 뿐만 아니라 면역조절제(immunomodulator) 또는 일종의 생물학적 반응조절제(biological response modifier, BRM)로서 각종 면역관련 질환의 치료 및 예방제로서 새로운 관심의 대상이 되고 있다.⁸⁾ 이중 가장 대표적인 예가 *C. versicolor*의 단백다당체 PS-K로서 이는 위암을 위시한 각종 암의 치료에 보조

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

적으로 사용되고 있으며 국내에서는 야생 자실체로부터 추출된 단백다당류(코포랑)가 동일한 용도로 사용되고 있다.⁹⁾ 이외에도 *C. versicolor*의 균사배양물로부터 분리한 단백다당체 Licovex는 면역억제성 간염치료제로 이용되고 있다.¹⁰⁾ 그러나 지금까지 연구된 담자균은 전체 담자균의 일부에 지나지 않으며 따라서 담자균류로부터 보다 우수한 항암 또는 면역활성 성분을 개발하기 위한 연구는 다방면으로 지속되고 있다. 본 연구는 이러한 연구의 일환이며, 그 대상이 되는 *Phellinus linteus*(桑黃)는 소나무비늘과(Hymenochaetaeaceae) 진흙버섯속에 속하며 뽕나무 등 오래된 고목에 붙어 자라는 다년생의 버섯이다.¹¹⁾ *P. linteus*의 항암효과는 Ikegawa 등¹²⁾에 의해 최초로 확인된 바 있으며 그 종양 저지율은 96.7%로서 *C. versicolor*를 위시하여 당시까지 항암력이 밝혀진 담자균류 중 가장 높은 수치였다. 그러나 *P. linteus*는 *C. versicolor* 등과는 달리 희귀종이며 인공 재배법도 개발되어 있지 않아 자실체의 항암성분을 의약품으로 개발하기는 불가능하였다. 이에 본 연구자들은 *P. linteus*의 항암성분을 개발하기 위한 연구의 일환으로 그 균사체를 액내 배양하고 그로부터 단백다당체를 분리하여 항암효과를 입증하였기에 보고하는 바이다.

실험방법

균주—실험균주 *Phellinus linteus* KCTC 0082BP는 한국과학기술원(KIST) 유전공학연구소에 기탁되어 있는 균주로서, 한국신약(주)으로부터 제공 받았으며 PDA(potato dextrose agar) 사면 배지상에 계대 배양하여 4℃에 보존하며 사용하였다. 본 균주는 PDA 배지 상에서 빠르게 성장하고 자갈색 내지 연한 주황색의 색소를 생성한다.

배양 및 단백다당체 분리—PDA 사면배지에 성장한 실험균주를 포도당(Ducksan Pharm. Co., Kyongkido), pepton (Difco Lab., Detroit, Michigan, USA), yeast extract(Difco Lab.), 무기염류(특급 시약) 등을 주요 조성으로하는 담자균 배양용 액체 배지¹³⁾에 접종하여 25℃에서 180 rpm으로 예비 배양을 실시하였다. 배양물을 blender내에서 균질화한 후 액체배지에 2%씩 접종, 5~7일간 재차 배양하였다. 배양물로부터 단백다당류를 분리정제한 과정은 이미 보고한 바¹⁴⁾와 같으나 약술하면 다음과 같다. 즉 배양물을 흡인 여과

하여 균사체와 배양여액을 분리한 후 균사체는 배양액의 용적에 해당되는 증류수를 사용하여 열탕 추출을 시행하였다. 균사 추출액을 배양여액과 합하여 감압농축하고 3배 용량의 95% 에탄올을 가한 후 4℃에 하룻밤 방치하였다. 침전된 조다당류를 4℃에서 원심분리한 후 증류수에 재용해시켜 투석막(Dialysis tubing D-0655, molecular weight cut off: 8000, Sigma Chemicals, St. Louis, MO)을 이용, 4℃에서 7일간 증류수에 대하여 투석을 시행하였다. 투석 내용물을 감압농축한 후 동결건조하여 증류수나 생리식염수에 잘 녹는 얼은 회갈색의 무정형 분말(이하 Kp라함)을 획득하였다.

실험 동물—한국화학연구소로부터 구입한 4~6 주령의 ICR 마우스를 실험동물로 사용하였다. 3~7일간 안정화시킨 후 실험군을 편성하되 암세포 이식 후 Kp 시료를 투여하는 일반 항암실험(‘後投與’ 실험)에서는 8마리를 1개 실험군으로 하였고 시료 투여를 완료한 후 암세포를 이식한 ‘前投與’ 실험에서는 통계적 유의성 확보를 위하여 12마리 또는 그 이상을 1개 실험군으로 하였다. 실험 기간 중 사료(항생제 무첨가 마우스용)와 물은 자유로 먹게하였고 실온은 22±2℃를 유지하였으며 별도의 언급이 없는 한 Student's t-test를 시행하여 p<0.05 및 p<0.01 수준에서 유의성을 판정하였다.

실험 암종 및 시료 투여—*in vivo* 항암실험에서는 쥐 육종암 sarcoma 180을, *in vitro* 세포독성 실험에서는 쥐 백혈병 세포주 L1210 및 인간 위암 세포주 SNU.1를 사용하였다. 시료는 생리식염수에 용해시켜 121℃에서 20분간 또는 0.45 μm 여과막을 통해 여과 멸균하여 0.1 ml씩 1일 1회 복강내 주사하였다. 상기 암세포 중 SNU.1은 충남대학교 의과대학 김삼룡 교수로부터 L1210은 충남대학교 약학대학 배기환 교수로부터 제공받았으며 sarcoma 180은 실험실에서 ICR

Table I—Number of sarcoma 180 cells implanted into and recovered from the peritoneum of the female ICR mice

No. of cells implanted (×10 ⁵)	No. of cells recovered(×10 ⁷) (mean±SD)	No. of mice with tumor/No. of mice used
1	6.75±1.3	4/5
2	9.05±1.4	5/5
10	13.45±2.5	4/5

마우스의 복강내에 계대 보존중인 것을 사용하였다.

sarcoma 180에 대한 後投與 항암 실험—sarcoma 180를 복수암으로 실험하기 위해서는 실험동물의 복강내에 1×10^6 개씩 이식하였으며 고행암을 유발하기 위해서는 동수의 암세포를 실험동물 왼쪽 사타구니 피하에 이식하였다. 시료는 암이식 24시간 후부터 매일 1회 총 10회 복강내 주사하였다. 항암효과 판정은 복수암의 경우, 수명연장율(% ILS=% increase in lifespan)을 계산하여 판정하되 % ILS가 20을 넘을 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였으며 고행암의 경우에는 암이식 28일 후에 고행암을 적출, 종양저지율(% tumor inhibition)을 계산하였다.

sarcoma 180 복수암에 대한 前投與 항암 실험—ICR 마우스에서 복수암을 유발시킬 수 있는 sarcoma 180 최소 이식 용량을 실험하여 2×10^5 cells/mouse에서도 복수암이 성공적으로 증식됨을 확인하였다 (Table I). 따라서 Fig. 1에 나타난 일정에 따라 암세포 이식 전에 Kp(100 mg/kg)를 9회 복강내 주사(前投與)한 후 sarcoma 180 세포 2×10^5 개를 복강내 이식하였다. 항암효과는 % ILS를 산출하거나, 암이식 6일 만에 실험동물을 처사시킨 후 병냉의 헤파린-생리식염수(50 U/ml) 5 ml를 복강내 주사하고 2분간 마사지하고 복강 내용물을 회수하여 hemocytometer로 현미경하에서 계수, 복수암 성장 억제율을 산출하여 판정하였다.

sarcoma 180 고행암에 대한 前投與 항암 실험—전항에 기술한 바와 같이 Fig. 1에 나타난 일정에 따라 시료를 투여하고 최종투여 다음날 sarcoma 180 암세포를 실험동물의 왼쪽 사타구니 피하에 1×10^6 개씩 이식하였다. 암세포 이식 후 제27일에 고행암을 적출하여 그 중량으로부터 종양저지 백분율을 산출하였다.

위암세포주 SNU.1에 대한 MTT assay—24-well culture plate내에서 활발히 성장하고 있는 위암세포주 SNU.1를 회석하여 U-bottomed 96-well microtiter plate(Corning Glass Works, Corning, NY, USA)에 접종하고 37°C, 5% CO₂ 대기하에 4일간 배양한 후 Mosmann¹⁵⁾의 방법에 따라 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(Sigma)를 이용한 MTT assay를 시행하였다. 단 배지로는 penicillin G 100 U/ml, streptomycin 100 µg/ml 및 fetal bovine serum(FBS, Hyclone사 Logan, Utah, USA) 5%를

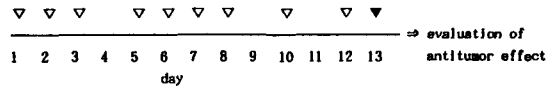


Fig. 1—Experimental schedule for the pretreatment effect of Kp against sarcoma 180 ascitic tumor in ICR mice.

▽: intraperitoneal injection of Kp.

▼: implantation of sarcoma 180.

첨가한 RPMI 1640 배지(Flow Lab., McLean, VA, USA)를 사용하였으며 실험 암세포의 농도는 3.3 또는 10×10^3 cells/well로 하였고 Kp 최종농도는 0~1000 µg/ml가 되도록 하였다. 본 실험은 4중으로 시행하였다.

L1210에 대한 in vitro 세포독성 실험—활발히 성장하고 있는 쥐백혈병 세포주 L1210을 5×10^4 cells/ml이 되도록 신선한 배지로 희석한 후 15 ml 시험관에 5 ml씩 넣고 Kp 최종농도를 0~200 µg/ml로 하여 37°C 5% CO₂ 대기하에 48시간 배양 후 trypan blue exclusion법¹⁶⁾으로 살아 있는 세포수를 계수하였다. 단 배지로는 Fisher's medium(pH 7.2, Gibco, Madison, WI, USA)에 horse serum(Gibco) 10%, penicillin G(100 U/ml)-streptomycin(100 µg/ml, Sigma)를 첨가하여 사용하였으며 본 실험은 4중으로 시행하였다.

화확분석—Kp 시료 중의 총다당체 함량은 anthrone시약을 이용하여 Herbert 등¹⁷⁾의 방법에 따라서 측정하였으며 총단백 함량은 bovine serum albumin을 기준으로하여 Lawry-Folin법¹⁸⁾에 따라 측정하였다. 한편 다당체를 구성하는 단당류 분석은 Laine의 방법¹⁹⁾을 변조하여 시행하였다. 즉 시료 20 mg을 5 ml의 3% HCl-MeOH과 함께 teflon sealed cap tube에 넣고 80±5°C에서 20시간 동안 metanalysis시켜 그 내용물을 여과 증발건고시킨 후 이를 hexamethyldisilazane과 trimethylchlorosilane을 이용 trimethylsililation 시킨 후 즉시 3% OV17(80~100 mesh shimalite) 컬럼을 이용하여 GLC 분석을 시행하였다.

결과 및 고찰

後投與에 의한 Kp의 항암력—*Phellinus linteus*(목

Table II—Antitumor activity of Kp, a protein-polysaccharide from the shake-cultured mycelia of *Phellinus linteus*, against sarcoma 180 acites tumor in the ICR mice

	Dose (mg/kg/day)	Mean survival days	%ILS ^a
control	—	17.0	—
Kp	100	25.8	51.5

a. % ILS(increase in life span) = $\frac{LS_t - LS_c}{LS_c} \times 100$,

where LS_t and LS_c , respectively, is the mean survival day(life-span) of the Kp-pretreated mice and the saline-treated control mice

질진흠버섯) 균사배양물로 부터 분리한 단백다당체 시료 Kp는 100 mg/kg 용량에서 ICR 마우스에 이식한 sarcoma 180 고형암의 성장을 71.5% 억제하였으며 (Table III) 복수암에 대해서도 51.8%의 수명 연장 효과를 발휘하였다(Table II). 이러한 결과는 *C. versicolor*의 항암성 단백다당체 PS-K⁽⁹⁾가 sarcoma 180 복수암에는 항암효과를 발휘하지 못하는 것과 대조적인 결과이다. 그러나 Ikegawa⁽¹²⁾도 *P. linteus* 자실체 추출물이 Ehrlich carcinoma 복수암에 대하여 수명 연장 효과를 나타냄을 확인한 바 있으며 김⁽²⁰⁾은 *Collybia confluens*의 단백다당류 collyban이 sarcoma 180 및 마우스 흑색종 MM46 복수암에 대하여 항암력을 발휘함을 확인한 바 있어서 본 연구자들이 얻은 실험 결과를 뒷바침하고 있다. 따라서 Kp, PS-K 등 담자균류의 항암성 단백다당류들이 숙주의 면역기능을 통하여 항암효과를 나타내나 그 세부 작용기전은 상이할 것으로 보여진다.

in vitro 세포 독성—암세포에 대한 직접세포독성 실험에서 Kp는 200 µg/ml 이하 농도에서 마우스 백혈병 세포 L1210에 대해 전혀 세포 독성을 나타내지 않았다(자료 제시 생략). 한편 위암 세포주 SNU.1에 대해서는 1000 µg/ml에서만 그 성장을 억제하였다 (Fig. 2). 그러나 SNU.1의 성장을 억제한 1000 µg/ml의 농도는 *in vivo* 실험에서 항암 효과를 나타낸 용량 (20~100 mg/kg)에 비해 인위적 고농도로 판단되며 따라서 Kp의 *in vivo* 항암효과는 암세포에 대한 직접 세포독성과 무관한 것으로 결론지을 수 있다.

복수암에 대한 전투어 항암 효과—앞의 두 항의

Table III—Antitumor activities of Kp, a protein-polysaccharide from the shake-cultured mycelia of *Phellinus linteus*, against sarcoma 180 solid tumor in the ICR mice

	dose (mg/kg)	tumor weight (g, mean± SD)	% tumor inhibition ^a
control	—	2.00± 0.58	—
Kp	100	0.57± 0.93*	71.5

a. % Tumor inhibition = $\frac{T_c - T_t}{T_c} \times 100$,

where T_c and T_t is, respectively, mean of the weight of the tumors of the control mice and that of the treated mice

*p<0.05.

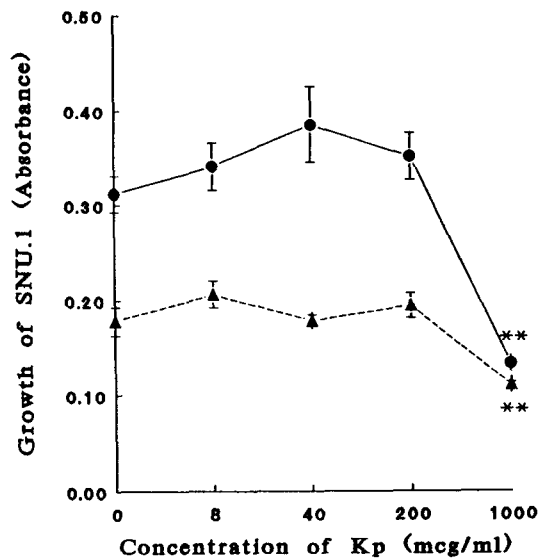


Fig. 2—*in vitro* Cytotoxicity of Kp, a protein-polysaccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus*, against a human gastric tumor SNU.1. Each data point is the mean of four experiments.

** : significant at p<0.01.

▲ : the initial cell concentration was 3.3 × 10³ cells/well.

● : the initial cell concentration was 10 × 10³ cells/well.

결과로부터 Kp가 숙주의존성 항암물질임을 알 수 있으며 그 항암력은 면역증강 효과에 기인할 것으로 추정할 수 있다. 그렇다면 Kp를 투여하여 면역계를

자극시킨 후 sarcoma 180 등의 암세포를 이식할 경우 어느 정도의 항암 효과를 기대할 수 있을 것이다. 그러나 이러한 가정하에 sarcoma 180 복수암에 대한 예비실험을 시행한 결과 기대했던 수면연장 효과가 입증되지 않았다(자료제시 생략). 이는 Kp 전투여로 인해 면적이 증강되더라도 치사량에 해당하는 1×10^6 cells/mouse의 암세포를 지속적으로 효과적으로 억제할 수 없었기 때문이라고 판단되었다. 따라서 예비실험을 통해 복수암을 안정적으로 유발시킬 수 있는 최소 이식용량(2×10^5 cells/mouse)을 확인한 후, 실험군당 동물수를 늘려 전투여 효과에 관한 두가지 실험을 시행하였다. 그중 6일 만에 복강내에 증식된 암세포를 회수한 실험 결과 Table IV에 나타낸 바와 같이 대조군에서는 395.4×10^6 개의 암세포가 회수된 반면 Kp 100 mg/kg 전투여군은 77.9×10^6 개가 회수

되어 80.3% ($p < 0.01$)의 복수암 증식 억제 효과가 입증되었다. 뿐만 아니라 20 mg/kg의 저농도에서도 53.3% ($p < 0.05$)의 유의성 있는 억제 효과가 얻어졌다. 한편 Kp 투여량에 의존한 비장 중량의 증가가 관찰되었는데(Table IV) 이는 Kp가 면역 세포들을 활성화시키거나 분화증식을 자극하는 mitogen-like effect를 발휘한다는 간접적인 증거로 받아들일 수 있다. 이를 뒷받침하는 또다른 증거로서 본 연구자들은 Kp가 항체 생성 세포수를 증가시킴을 확인한 바 있다.²¹⁾ 이로써 Kp의 항암효과는 면역증강 효과에 기인함이 입증되었다. 한편 동일한 시료투여 및 암이식 과정을 거친 후 30일 까지 생존일수를 관찰한 실험에서는 Kp 투여군의 생존기간이 19.8일로서 대조군의 17.4일에 비하여 13.8% ($p < 0.01$) 증가하였으며 Kp 투여군 16 마리 중 1마리는 관찰기간인 30일까지 생존하였다

Table IV—Antitumor effect of Kp-pretreatment against sarcoma 180 ascites tumor in the female ICR mice

dose (mg/kg)	No of mice	Body weight (g)	Spleen weight (mg)	No of sarcoma 180 cells recovered ^a ($\times 10^6$)	% inhibition ^b
0	14	33.0 \pm 2.6 ^d	142.9 \pm 27.6	395.4 \pm 281.5	—
20	16	33.7 \pm 2.0	158.8 \pm 35.2	184.7 \pm 150.3*	53.3
100	14	34.1 \pm 2.3	190.8 \pm 35.2**	77.9 \pm 92.6**	80.3

a. The tumor cells were harvested with heparin-phosphate buffered saline 6 days-after the tumor implantation and counted under a haemocytometer.

$$b. \% \text{ Inhibition} = \frac{N_c - N_t}{N_c} \times 100,$$

where N_c is mean of the numbers of sarcoma 180 cells in the control mice and N_t is mean of the numbers of sarcoma 180 cells in the treated mice.

c. mean \pm SD.

*: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$.

Table V—Antitumor effect of Kp-pretreatment on the lifespan of the female ICR mice ip implanted with 2×10^5 cells of sarcoma 180

dose (mg/kg)	Body weight (g) (m \pm SD)		No. of 30 day survivors	Lifespan ^a (m \pm SD)	% ILS ^b
	day 4	day 11			
0	25.5 \pm 2.3	32.5 \pm 3.7	0/16	17.4 \pm 1.3	—
100	25.2 \pm 2.3 ⁺	31.4 \pm 4.8 ⁺	1/16	19.8 \pm 3.2**	10.1

a. The life span of a 30-day survivor in the Kp-treated group was not included in the calculation.

$$b. \% \text{ Increase in life span(ILS)} = \frac{LS_t - LS_c}{LS_c} \times 100,$$

where LS_t and LS_c , respectively, is the mean survival day of the Kp-pretreated test mice and the control mice.

+ : not significant at $p < 0.05$.

** : significant at $p < 0.01$.

Table VI—Antitumor effect of Kp-pretreatment against sarcoma 180 solid tumor in the male ICR mice

dose (mg/kg)	No of mice	Body weight (g, mean± SD)	tumor weight ^a (g, mean± SD)	% tumor inhibition ^b
0	13	33.7± 3.0	5.37± 1.5	—
20	13	32.4± 1.9 ⁺	5.29± 1.78 ⁺	1.5
50	11	32.2± 2.5 ⁺	3.57± 2.24 [*]	33.5
100	12	33.0± 2.4 ⁺	3.47± 1.69 ^{**}	35.4

a. The tumor was excised 27-days after the tumor implantation.

b. % Tumor inhibition = $\frac{T_c - T_t}{T_c} \times 100$,

where T_c is mean of the weight of the tumors of control mice and T_t is mean of the weight of the tumors of treated mice.

⁺: not significant at $p < 0.05$.

^{*}: significant at $p < 0.05$.

^{**}: significant at $p < 0.01$.

(평균 수명 계산에 포함시키지 않았음)(Table V). 그러나 이는 암이식 6일 후에 판정한 앞의 실험 결과(80.3%)보다 현저히 낮은 값을 알 수 있다. 이처럼 두 실험에서 Kp의 前投與 항암효과가 현저히 차이는 것은 Kp 前投與로 증강된 면역상태가 장기적으로 지속되지는 못하기 때문이라 사료된다.

고형암에 대한 前投與 항암 효과—Kp를 9회 前投與한 후 sarcoma 180세포 1×10^6 개씩을 피하에 이식하고 27일 후에 고형암을 적출한 결과 50 mg/kg 및 100 mg/kg에서 각각 33.5% ($p < 0.05$) 및 35.4% ($p < 0.01$)의 고형암 억제효과가 확인되었다(Table VI). 여기서 특기할 것은 전항의 실험과 달리 통상적인 수치(1×10^6 개)의 암세포를 이식했음에도 불구하고 Kp의 전투여 항암 효과가 발휘되었다는 점이다. 이는 고형암이 복수암보다 느리게 성장하기 때문에 면역계가 효과적으로 작용할 수 있었기 때문이라 판단된다. 한편 5-fluorouracil, methotrexate, cytarabine 등 기존의 항암제가 조혈기관, 상피조직 등에 심한 독작용을 나타내고 면역기능을 억제²²⁾하는 것과는 대조적으로, Kp는 항암효과를 나타내는 농도에서 직접 세포독성을 나타내지 않으며 오히려 면역기능을 증강시키기 때문에 기존의 화학 요법제와 병용투여할 경우 그 항암 효과를 증대시킬 뿐만 아니라 부작용을 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다.²³⁾ 이러한 생각을 뒷받침하는 좋은 예로 PS-K와 Mitomycin-C의 병용 효과⁷⁾에 관한 연구 보고 등을 들 수 있다. 따라서

Table VII—The contents of polysaccharide and protein of Kp, a protein-polysaccharide preparation from the mycelial culture of *Phellinus linteus*

component	content (%)
polysaccharide	53.9± 9.6 ^a
protein	14.2± 1.5

a. The values (mean± SD) are from three experiments.

Table VIII—Monosaccharide compositiona of the polysaccharide moiety of Kp, a protein-polysaccharide preparation from the mycelial culture of *Phellinus linteus*

monosaccharide	contents (%)
Xylose	1.1 ^a
Mannose	50.6
Galactose	21.9
Glucose	26.4

a. The monosaccharide content of Kp was determined as described in the text by measuring the area of the peaks of the monosaccharides in the GLC chromatogram.

앞으로 Kp와 화학 요법제의 병용투여 효과에 관하여 연구를 수행하면 좋은 결과가 얻어질 것으로 기대된다.

물리화학적 성상—포도당을 표준당으로, bovine serum albumin을 표준 단백질로하여 총당 및 총단

백의 함량을 분석한 결과, Kp는 소량의 단백질(14.2%)을 갖는 단백다당체(다당체 함량 53.9%)로 밝혀졌고 (Table VII), 다당체는 mannose 50.6%, glucose 26.4%, galactose 21.9% 및 xylose 1.1%로 구성된 것으로 분석되었다(Table VIII).

결 론

*Phellinus linteus*의 균사체를 액내 진탕배양하여 그로부터 분리한 단백다당류 Kp는 옅은 회갈색의 무정형 분말로서 증류수나 생리식염수에 잘 녹고 ICR 마우스에 이식된 sarcoma 180 복수암 및 고형암을 효과적으로 억제하였다. 뿐만 아니라 Kp의 항암 효과는 암세포 이식 전에 투여 완료(前投與)한 경우에도 잘 발휘되었다. 그러나 인간 위암세포주 SNU.1 및 췌장암 세포주 L1210에 대한 *in vitro* 세포독성 실험에서 Kp는 직접 세포독성을 나타내지 않았다. 따라서 Kp는 숙주의 면역기능을 통하여 간접적으로 항암 효과를 발휘하는 항암성 면역조절 단백다당체이며 면역요법제로서 암의 치료 등에 효과를 발휘할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 한국신약(주) 및 충남대학교 약학대학 의약품개발연구소 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 심심한 감사를 드리는 바이다.

문 헌

- 1) Roland, J. F., Chmielwicz, Z. F., Weiner, B. A., Gross, A. M., Boening, O. P., Luck, J. V., Bardos, T. J., Really, H. C., Sugiura, K., Stock, C. C., Lucas, E. H., Byerrum, R. U., and Stevens, J. A.: Calvacine, a new antitumor agent. *Science*, **132**, 1987 (1960).
- 2) Gregori, F. J., Healy, E. M., Agerbory, H. P. K., Jr., and Warren, G. H. : Studies on antitumor substances produced by Basidiomycetes. *Mycologia*, **58**, 80 (1966).
- 3) Ikegawa, T., Uehara, N., Maeda, Y., Nakanishi, M., and Fukuoka, F.: Antitumor activity of aqueous extract of some edible mushrooms. *Cancer Res.*, **29**, 734 (1969).
- 4) Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y., Arai, Y., and Fukuoka, F.: Fractionation of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res.*, **30**, 2776 (1970).
- 5) Tsugagoshi, S., and Ohashi, F.: Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat ascites hepatoma AH-13 by oral use. *Gann*, **65**, 557 (1974).
- 6) Komatsu, N., Okuba, S., Likumoto, S., Kimura, K., Saito, G., and Sakaki, S.: Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann*, **60**, 137 (1969).
- 7) Oh-Hashi, F., Kataoka, T., and Tsugagoshi, S.: Effect of combined use of anticancer drugs with a polysaccharide preparation, Krestin, on mouse leukemia P388. *Gann*, **67**, 713 (1976).
- 8) Hengst, J. C. D., and Mitchell, M. S. : Principles of combining biological response modifiers with cancer chemotherapy. In Hellmann, K., and Carter, S. K.(Eds.). *Fundamentals of cancer chemotherapy*, McGraw-Hill Book Co., New York (1987), pp. 64-75.
- 9) Moon, C. K., Lee, S. H., Mock, M. S., and Kim, D. O.: Antitumor activity of the Polysaccharide-Fraction(Copolang) from *Coriolus versicolor* and its effect on the immune function. *Yakhak Hoiiji*, **31**, 126 (1987).
- 10) Park, Y. M., Yoon, S. K., Park, S. H., Baeg, N. J., and Kim, B. S.: Efficacy and safety of *Coriolus versicolor* polysaccharide(Licovek) in the treatment of chronic type B hepatitis. *Kor. J. Pharmacol. Ther.*, **1**, 45 (1993).
- 11) Park, W. H.: Colored Fungi of Korea, Kyo-Hak Pub. Co., Seoul, p.504 (1991).
- 12) Ikegawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G., and Fukuoka, F.: Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann*, **59**, 155 (1968).
- 13) Park, D. W., Shim, M. J., and Kim, B. K.: Studies on the constituents of the Higher Fungi of Korea (XVII). Production of antineoplastic components by

- the submerged culture of *Lentinus edodes*. Seoul Univ. *J. Pharm. Sci.*, **4**, 19 (1979).
- 14) Chung, K. S., Choi, E. C., and Kim, B. K.: Studies on the constituents of the Higher Fungi of Korea (XLI). An antitumor fraction from the culture filtrate of *Lentinus edodes* DMC7. *Kor. J. Mycol.*, **12**, 129 (1984).
- 15) Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods*, **65**, 55 (1983).
- 16) Hudson, L., and Hay, F., The lymphocytes: its role and function. In *Practical Immunology* 3rd Ed., Blackwell Scientific Pub., Oxford(1989). pp. 86-126.
- 17) Herbert, D., Phipps, J., and Strange, R. E.: Chemical analysis of microbial cells. In Norris, J. R., and Ribbons, D. W.(Eds), *Methods in Microbiology*. Vol. 5B. Academic Press, London (1971) pp.209-344.
- 18) Lowry, O. H., Rosenbergh, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
- 19) Laine, R. A., Esselman, W., and Sweeley, C. C.: Gas-liquid chromatography of carbohydrates. In Ginsburg, V.(Ed.) *Methods in enzymology*, Academic Press Inc., New York, **28**, 159 (1972).
- 20) Kim, S. H.: Studies on antitumor components of *Collybia confluens*. Thesis for Ph.D. in Pharmacy, Graduate School, Seoul National University, 1992.
- 21) Chung, K. S., Kim, S. S., Kim, H. S., Kim, K. Y., Han, M. W., and Kim, K. H.: Effect of Kp, an anti-tumor protein-polysaccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus*, on the humoral immune response of tumor-bearing ICR mice to sheep red blood cells. *Arch. Pharm. Res.*, **16**, 336 (1993).
- 22) Braun, D. P., and Harris, J. E. : Cancer chemotherapy and its impact on the immune system. In Hellmann, K., and Carter, S. K.(Eds.). *Fundamentals of cancer chemotherapy*, McGraw-Hill Book Co., New York (1987), pp. 77-100.