

## *Ganoderma lucidum* IY 009조다당 분획들의 항암활성과 항보체활성간의 상관관계

이권행 · 이준우<sup>1</sup> · 한만덕<sup>1</sup> · 정훈<sup>1</sup> · 김영일<sup>1</sup> · 오두환\*  
연세대학교 식품공학과, <sup>1</sup>일양약품(주) 중앙연구소 생물공학연구실

### Correlation between Anticomplementary and Antitumor Activity of the Crude Polysaccharide from *Ganoderma lucidum* IY009

Lee, Kweon-Haeng, June-Woo Lee<sup>1</sup>, Man-Deuk Han<sup>1</sup>, Hoon Jeong<sup>1</sup>  
Young-Il Kim<sup>1</sup> and Doo-Whan Oh\*

Department of Food Engineering, College of Engineering, Yonsei university,  
Seoul 120-749, Korea

<sup>1</sup>Biotechnology Lab., Central Institute of Research, Il Yang Pharmaceutical Co. Ltd.,  
Yongin, 449-900, Korea

**Abstract** — Antitumor polysaccharides were known to activate complement system and to increase specific serum proteins in mouse, and some researcher reported that antitumor activity of polysaccharides might be correlated with their biological properties such as activation of complement system and increase of specific protein L<sub>A</sub>, L<sub>B</sub> and L<sub>C</sub> within the mouse serum.

In case of several *Ganoderma lucidum*, there was no correlation between their antitumor activities and their biological properties, but the antitumor activities against sarcoma 180 of the alkali extracted crude polysaccharide fractions of the *Ganoderma lucidum* IY 009. AS, T, AI and M were correlated with their biological properties such as anticomplementary activity and intensity of mouse serum protein L<sub>A</sub>, L<sub>B</sub> and L<sub>C</sub>.

Biological response modifier(BRM)는 면역계를 자극하여 숙주의 생물학적 반응을 변화시키므로써 여러가지 치료효과를 나타내는 물질이다(1). 식물유래 다당류(2), *Corynebacterium parvum*의 성분(3), *Bacillus Calmette-Guérin*(4-6) 및 *Nocardia rubra*의 세포벽 성분(7)등과 같은 BRM들은 면역증강제로서 종양치료를 위한 면역요법제로 사용되고 있거나, 사용이 검토되고 있다. 최근에는 고등균류로부터 여러 종류의 면역증강제가 발견되었으며(8-11), 이들의 주 성분은 다당체로서, 현재 사용되고 있는 화학요법제가 암세포에 특이성이 적어 많은 부작용을 나타내는 반면, 이들은 숙주에 부작용을 거의 나타내지 않으면서 (12) 종양을 억제하는 작용을 나타내기 때문에, 면역증강 다당체는 종양치료에 새롭고도 관심을 끄는 분야이다. 고등균류 유래의 다당체의 항종양작용에 대한

기전은 아직 확실히 밝혀지지 않았으나, 이들이 주로 macrophage나 complement system 등과 관련이 있는 면역계를 활성화시켜 항종양 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(11). 특히 Okuda등(13)은 항종양활성과 serum hemolytic activity의 손실이 밀접한 관계가 있음을 입증하여, 보체계 성분의 활성화가 항종양 작용에 관여함을 관찰하였으며, 1986년에 Ito(14)도 항종양활성을 가진 다당을 이용하여 항종양작용과 보체계활성이 상관관계가 있음을 보고하였다. 또한 Matsuo등(15)은 항암활성 다당이 mouse serum내의 특정 단백질 성분을 증가시킨다고 보고하였다.

일반적으로 면역계를 활성화시켜 항암효과를 나타내는 약리활성 물질의 검색은 mouse에 암세포를 이식한 후 약물을 투여하여 암의 증식이 억제되는 정도나 생존 연장율을 관찰하므로써 가능하다. 그러나 이 방법은 1달 이상 소요되는 동물실험을 거쳐야 하는 번거로움이 따른다. 따라서 본 연구에서는 영지버섯의 균사체를 액체 배양하여, 항암성분을 분획한 후 이들의 항암활성과 항보체활성 및 mouse의 serum pro-

**Key words:** Antitumor activity, sarcoma 180, *Ganoderma lucidum*, anticomplementary activity, mouse serum protein L<sub>A</sub>, L<sub>B</sub> and L<sub>C</sub>.

\*Corresponding author

tein과의 상관관계를 관찰하여, 이들이 항암활성 물질 검색 및 정제에 이용될 수 있는 지를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주

본 실험에 사용된 균주 *G. lucidum* IY 009는 국내에서 자생하는 자실체로부터 균사를 분리한 것이다.

### 시약

보체로는 삼육축산에서 구입한 guinea pig에서 분리한 혈청과 신선한 정상인 혈청을 사용하였다. SRBC (sheep red blood cell)는 한국메디아에서 구입하였으며, antisheep hemolysin은 Difco사, 5, 5'-dimethylbarbituric acid sodium salt는 Merck사, gelatin, EDTA 및  $MgCl_2$ 는 Sigma사의 제품을 사용하였다. Polyacrylamide gel plate는 Pharmacia사의 제품을 사용하였다.

### 발효조배양

종균 보관용 배지로는 potato dextrose agar(Difco)를 사용하였으며, 액체배양에는 50 g의 glucose, 20 g의 peptone, 0.87 g의  $KH_2PO_4$ , 0.5 g의  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 와 20 ml의 basal medium을 가해 1 L로 조정된 합성 배지(pH 4.5)를 사용하였다. Basal medium은 0.5%  $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.36%,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ , 0.3%  $ZnCl_2$  및 0.05%  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 로 조성되었다(16). 균체를 포함한 배양액을 균질화시킨 종균을 5 L용 발효조(Marubishi, MD300)에 10%(v/v) 접종하였으며, working volume은 3 L로 하고 교반속도는 300 rpm, 통기량은 1.0 vvm으로 하여 27°C에서 6일간 배양하였다. pH 조정액으로는 0.5 N NaOH, 소포제로는 silicone resin을 사용하였다.

### 조다당류의 분획 조제

배양물을 2000×g에서 15분간 원심분리하여 균사체와 배양여액을 분리하였다. 균사체에는 2.5 N NaOH 용액을 가해 최종농도가 2 N되게 조정하고 24시간 방치한 후 원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액을 acetic acid로 pH 7.0으로 중화시켜, visking tube에 넣고 흐르는 물에 3일 동안 투석한 후, 2000×g에서 15분간 원심분리하여 물에 녹지 않는 침전물과 상등액을 얻었다. 여기서 얻어진 침전물은 동결건조 하였고(AI), 상등액은 농축한 뒤 3배량의 알콜을 가해 4°C에서 24시간 방치한 후, 원심분리하여

얻어진 침전물을 소량의 증류수에 용해시킨 후 동결건조하여 시료(AS)로 사용하였다. 배양여액은 3일 동안 흐르는 물에 투석한 후 농축하여, 농축액 부피의 3배량의 ethanol로 처리하여 얻어진 침전물을 소량의 증류수에 녹여 동결건조(M) 하였다. 또한 배양물 자체에 NaOH를 가해 최종농도가 2 N되게 한 것(T)과 배양물 자체를 121°C에서 30분간 추출한 것(H)은 상기 AS제조와 동일한 방법으로 시료를 조제하였다.

### Sarcoma 180에 대한 항암효과의 측정

Mouse 1군을 10마리로 하여, 0.1 ml( $5 \times 10^7$  cells/ml)의 sarcoma 180을 ICR계 mouse의 우측 서혜부에 피하이식하고, 72시간 후부터 20 mg/kg 농도의 시료를 1일 1회씩 10일간 투여하였다. 암세포 이식 30일째 되는 날에 mouse를 치사시키고, 고형암을 적출하여 중량을 평량하였다. 증식 저지율은 생리 식염수를 투여한 대조군과 비교하여 고형암 증식저지 백분율(percent inhibition ratio: I.R., %)로 계산하였다.

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

$C_w$  = 대조군의 종양무게  $T_w$  = 처치군의 종양무게

### 보체활성의 측정

보체 활성은 Yamada등(17)의 방법을 변형하여 측정하였다. 150  $\mu$ l의  $GVB^{2+}$  buffer(gelatin veronal buffered saline: 0.15 mM  $CaCl_2$ , 0.5 mM  $MgCl_2$ , 1.8 mM sodium barbital, 3.1 mM baturic acid, 141 mM NaCl 및 0.1% gelatin, pH 7.4)와 시료 50  $\mu$ l(250  $\mu$ g/ml)이 들어 있는 시험관에 50  $\mu$ l의 guinea pig complement(100  $\mu$ g/ml)를 가해 37°C에서 30분간 반응시킨 후,  $GVB^{2+}$  buffer를 가해 보체의 최종농도를 1 unit/ml로 조정한다. 조정된 보체 혼합물을 1.0 unit, 1.2 unit 및 1.6 units되게 각 시험관에 분주한 다음, anti-sheep hemolysin(2 MHU/ml)과 동량의 SRBC( $5 \times 10^8$  cells)를 혼합하여, 실온에서 30분간 감작된 SRBC 2  $\mu$ l씩을 가하고  $GVB^{2+}$  buffer로 최종용량이 5 ml되게 조정하여 37°C의 water bath에서 60분간 반응시켰다. 반응을 중단시키기 위해 70  $\mu$ l의 0.5 M EDTA를 가하여 혼합한 후, 400×g에서 5분간 원심분리하여 얻은 상등액의 흡광도를 541 nm에서 측정하였다. 보체활성은 대조군의 total complement hemolytic activity에 대한 저해율(TCH<sub>50</sub>, %)로서 표시하였다.

Serum protein의 분리 및 gel의 densitometry  
 웅성의 ICR mouse에 50 mg/ml의 각 조다당 분획을

연속 5일간 1일 1회씩 복강으로 투여하였다. 투여완료일 후 4일째에 mouse의 안와 정맥으로부터 채혈한 후, 채혈된 blood에서 분리된 serum 5  $\mu$ l를 4-30% gradient polyacrylamide gel에 load하여 Tris-borate buffer(90 mM Tris base, 80 mM Boric acid, 2.5 mM sodium EDTA, pH 8.3)에서 125 volt로 15시간 동안 전개하였다. 전개된 gel을 염색 및 탈색한 후, densitometer(Pharmacia LKB, GelScan XL)로 protein의 강도를 측정하였으며, 측정조건은 다음과 같이 하였다. Integration method; signal, Background option; horizontal, Peak width for peak search; 1 mm, Filtering; none, Area rejection; 1.0%, Peak height limit; 0.0 au, Maximum number of peaks to handle; 400, Start peak search from; 86 mm, End peak search at; 105 mm.

#### 시료의 당 및 단백질의 분석

당의 함량은 phenol-sulfuric acid법(18)에 의해 측정하였으며, 단백질 함량을 측정하기 위해서는 BCA protein assay reagent를 사용하였다(19). 구성당을 분석하기 위해, 시료 10 mg을 5 ml의 0.1 N HCl에 용해시켜 질소를 충전시킨 후 100°C에서 5시간 동안 가수분해시켰다. 여기에 3배량의 ethanol을 가해 4°C에서 하루밤 방치한 후, 원심분리하여 얻은 상등액을 동결건조하였다. 이것을 1 ml의 pyridine에 용해시키고 0.2 ml의 hexamethyl disilazane과 0.1 ml의 trimethyl chlorosilane을 가하고 80°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액 중의 당은 GLC(Shimadzu GL 9A)를 이용하여 분석하였으며, 분석조건은 다음과 같다. Column; 3% OV-17(80-100 mesh Shimalite) 3 mm(D)  $\times$  2 m(L) borosilicate glass column, Column temperature; 150-180°C gradient, Detector temperature; 190°C, Flow rate; N<sub>2</sub>-50  $\mu$ l/min, H<sub>2</sub>-60  $\mu$ l/min, air-60  $\mu$ l/min, Attenuation; 10<sup>2</sup>  $\times$  2<sup>1</sup> a.f.s.

시료중의 아미노산은 Beckman system 6300 amino acid analyzer를 이용하여 분석하였다. 시료 4 mg을 1 ml의 6 N HCl에 용해시켜, 질소를 충전한 후 밀봉하여 110°C에서 24시간 동안 가수분해시킨 후 여과하여 침전을 제거하고 감압농축하여 건조된 시료를 0.08 M sodium citrate와 0.2 N HCl이 함유된 완충용액 2 ml에 용해시킨 후, 이중 50  $\mu$ l를 아래의 조건에서 분석하였다. Column; beckman 2.6 mm  $\times$  200 mm L, ion exchange resin No.338076, Flow rate; buffer solution 0.33  $\mu$ l/min, ninhydrin 0.17  $\mu$ l/min, Analysis cycle time; 60 min, Column pressure; 147 kg/cm<sup>2</sup>, Ninhydrin pressure; 7 kg/cm<sup>2</sup>, Column temperature; 50-70°C gradient, N<sub>2</sub> pressure; 2.8 kg/cm<sup>2</sup>, Reaction bath temperature; 130°C, Wavelength; 440 nm, 540 nm, Detector; tungsten.

#### 결과 및 고찰

##### *G. lucidum*의 항암활성 및 항보체활성 검색

국내에서 자생하는 *G. lucidum*의 항암활성을 검색하기 위해 배양 균사체로부터 얻어진 조다당류를 sarcoma 180이 서혜부에 이식된 ICR mouse에 20 mg/kg의 용량으로 1일 1회씩 10일 동안 복강으로 투여하였다. 약물투여가 완료된 날로부터 30일째에 고형암을 적출하여 암중식 저지율을 측정하였다. Table 1에서와 같이 IY 005 균주에서는 항암활성이 나타나지 않았으며, IY 003과 IY 004에서는 36%, IY 010은 57%, IY 008은 81%, IY 009는 87%의 항암활성을 나타냈다. 또한 현재 일본에서 면역항암제로 시판되고 있는 Krestin [protein bound polysaccharide obtained from *Coriolus versicolor*(Fr.) Quel]은 52%의 항암활성을 나타내어, IY 010의 57%, IY 008의 81% 및 IY 009의 87%보다 활성이 낮았다.

보체계는 항암효과가 있는 다당성분에 의해 활성

**Table 1. Antitumor activity and anticomplementary activity of the alkali extracted crude polysaccharides of several *G. lucidum***

Isolate	Collected area	Antitumor activity against sarcoma 180 (Inhibition Ratio, %)	Anticomplementary activity (Inhibition of TCH <sub>50</sub> , %)
IY 003	Yongin, Gyeonggi	36.0	15.4
IY 004	Yongin, Gyeonggi	36.0	21.1
IY 005	Kwangneung, Gyeonggi	0.0	21.3
IY 008	Mt. Duryun, Chonnam	81.0	31.1
IY 009	Mt. Duryun, Chonnam	87.0	24.1
IY 010	Mt. Chiak, Gangweon	57.0	3.4

\*Crude polysaccharides designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of mycelia.

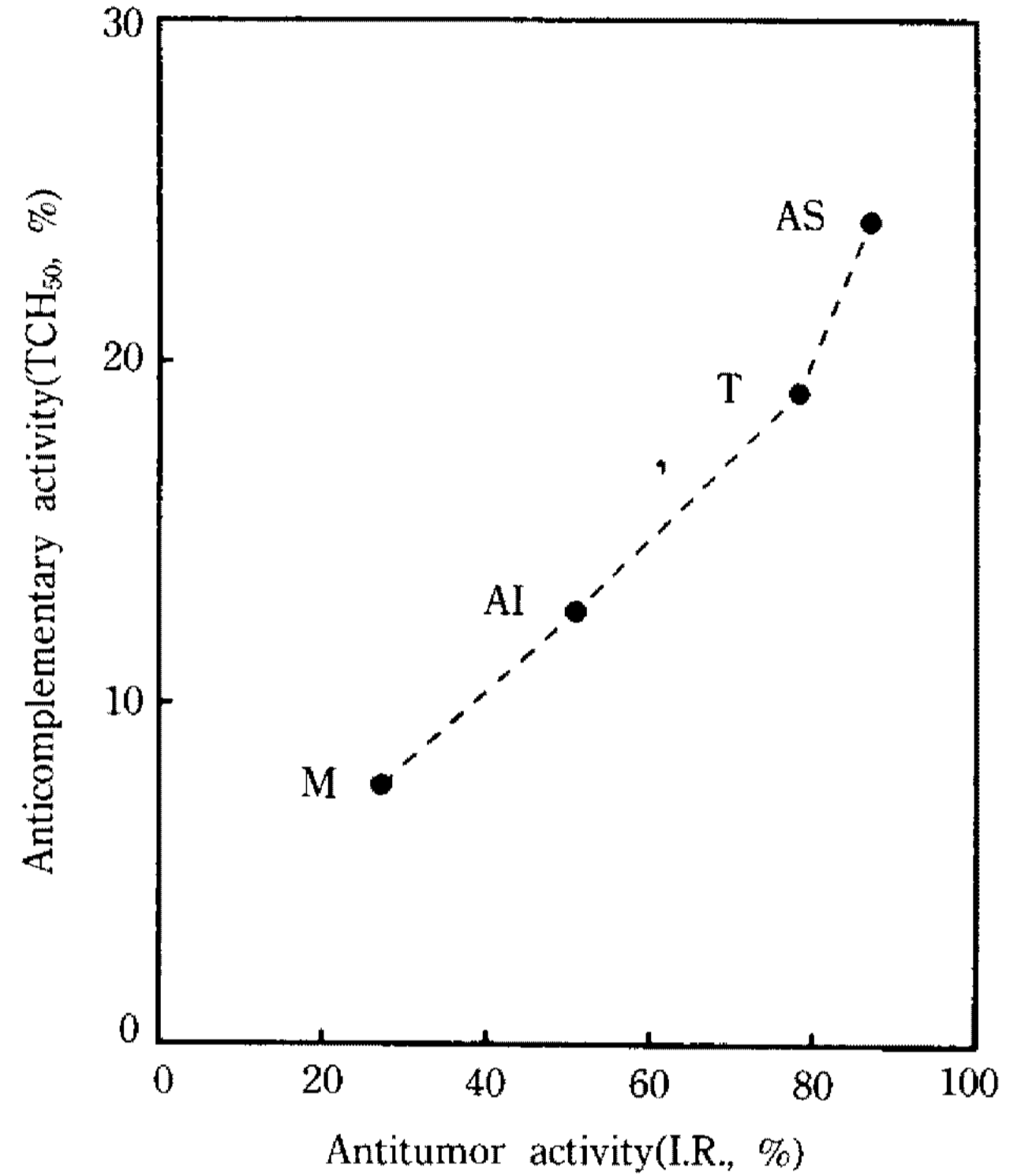
화된다는 보고가 있어(14), 항암활성 검색에 사용된 동일한 시료를 사용하여 항보체활성을 검색하였으며, 항보체활성은 대조군의 total complement hemolytic (TCH 50)에 대한 저해율(%)로서 표시하였다. 항보체활성이 가장 높게 나타난 것은 IY 008로 31.1%였으며, IY 009가 24.1%, IY 005가 21.3%, IY 004가 21.1%, IY 003이 15.5%, IY 010이 3.4% 순으로 나타났다(Table 1). 특이한 것은 항암활성이 거의 없는 IY 005에서 비교적 높은 21.3%의 항보체활성을 보였으며, 항암활성이 57%인 IY 010의 경우는 항보체활성이 3.4%로 상당히 낮았다. 따라서 상기 영지 균종간의 항암활성과 항보체활성에서는 특이한 상관관계가 없었다.

**G. lucidum IY 009 유래 조다당 분획들의 항암활성과 항보체활성과의 상관 관계**

1973년 Okuda등(13)은 다당에 의한 보체활성화와 항암활성이 밀접한 관계가 있다고 보고한 반면, Hamuro등(20)은 상관관계가 없다고 하였다. 본 실험결과에 의하면 각기 다른 *G. lucidum*의 알칼리 추출물이 *in vivo*에서 나타나는 항암활성과 *in vitro*에서 나타내는 항보체활성과는 특이한 상관관계가 없었다(Table 1). 따라서 상기 균주 중 항암활성 가장 높게 나타난 *G. lucidum* IY 009의 균사체를 알칼리로 추출한 조다당 분획, AS, AI, M 및 T분획의 항암활성과 항보체활성을 측정하였다. 그 결과 AS분획의 항암활성과 항보체활성은 각각 87.0%와 24.1%, T분획의 항암활성과 항보체활성은 각각 78.2%와 19.1%, AI분획의 항암활성과 항보체활성이 각각 50.9%와 12.7%, 및 M분획의 항암활성과 항보체활성이 각각 27.1%와 7.5%로 나타났다(Table 2). 이와같이 *G. lucidum* IY 009의 각 조다당 분획들 사이에서 항보체활성이 높은 것이 항암활성이 높게 나타나 이들이 서로 밀접한 관계를 보였으며, 각 분획의 항보체활성을 암저지율로 각각 plot 하였을 경우 Fig. 1과 같이 각 조다당 분획들

사이에서 항보체활성이 높은 것이 항암활성이 우수한 것으로 나타났다.

**G. lucidum IY 009의 각 조다당 분획의 투여에 의한 mouse serum protein의 변화와 항암활성과의 상관관계**



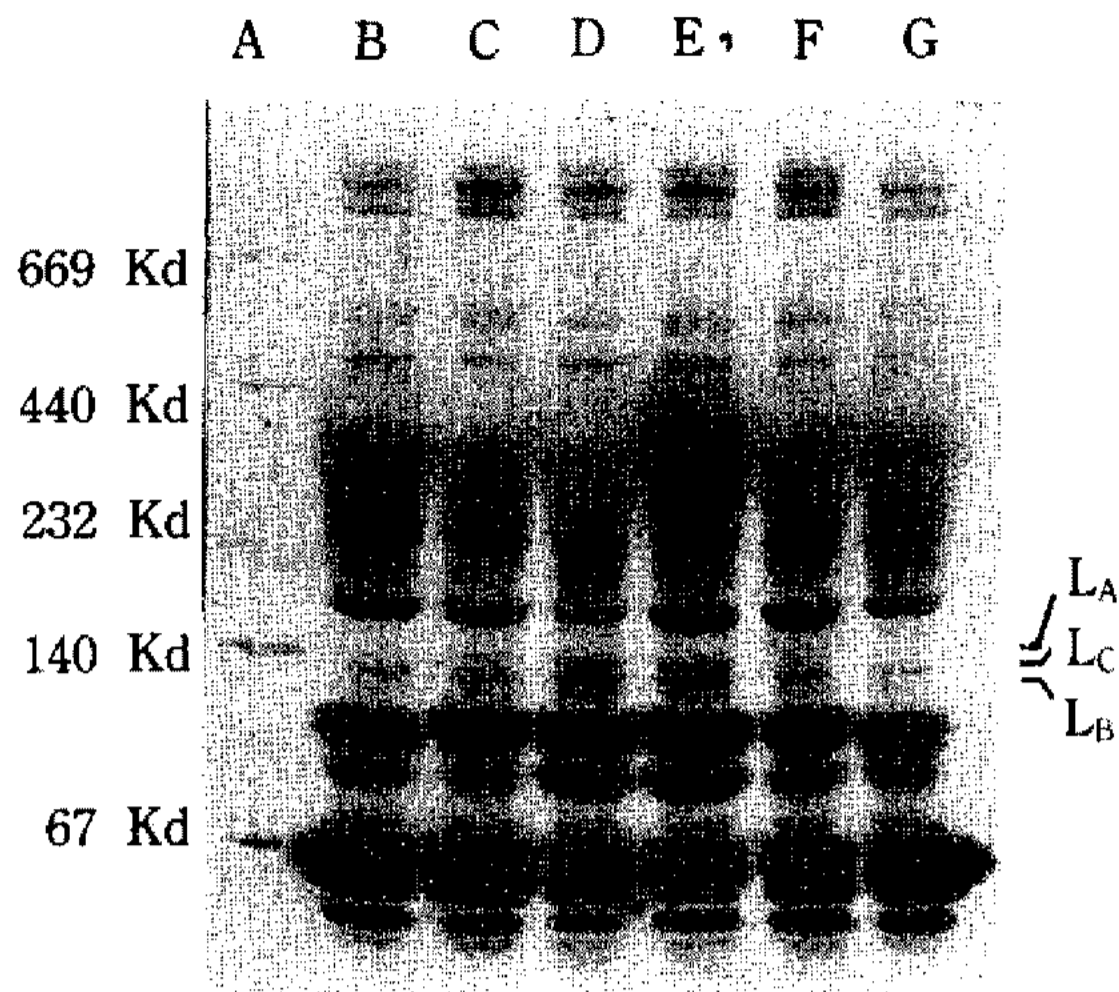
**Fig. 1. Correlation between anticomplementary activity and antitumor activity of each crude polysaccharide fraction obtained from *G. lucidum* IY 009.**

AS designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of mycelia, AI designated alkali extracted, ethanol precipitated water insoluble fraction of mycelia, M designated ethanol precipitated fraction of culture broth removed mycelia and T designate alkali extracted whole fraction of culture broth containing mycelia of *G. lucidum* IY 009.

**Table 2. Anticomplementary and antitumor activity of the crude polysaccharide fractions obtained from *G. lucidum* IY 009**

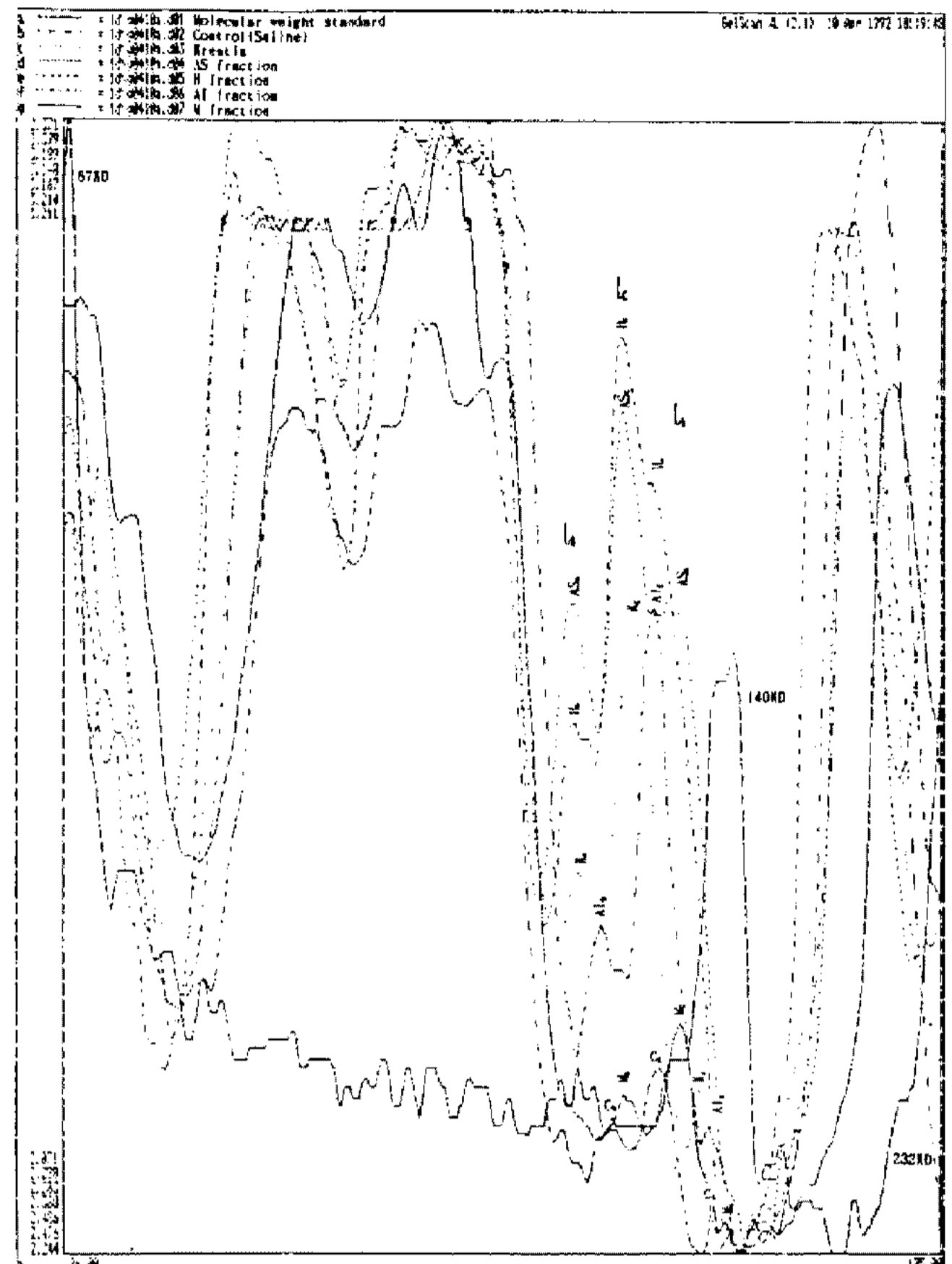
Crude polysaccharide fraction*	Yields of polysaccharide (g/l)	Antitumor activity against sacoma 180 (Inhibition Ratio, %)	Anticomplementary activity (Inhibition of TCH <sub>50</sub> , %)
AS	0.870	87.0	24.1
T	1.756	78.2	19.1
AI	0.342	50.9	12.7
M	0.669	27.1	7.5

\*AS designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of mycelia, AI designated alkali extracted, ethanol precipitated water insoluble fraction of mycelia, M designated ethanol precipitated fraction of culture broth removed mycelia and T designate alkali extracted whole fraction of culture broth containing mycelia of *G. lucidum* IY 009.



**Fig. 2. Electrophoretic profiles of ICR mice serum treated with various fractions of mycelial crude polysaccharide of *G. lucidum* IY 009 on 4-30% gradient polyacrylamide gel. All samples(50 mg/kg/day) were administered through i.p. for 5 days, Blood collected on day 9 after the initial administration. A) Molecular weight marker B) Nontreated control C) Krestin D) AS fraction E) H fraction F) AI fraction G) M fraction. AS designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of mycelia, AI designated alkali extracted, ethanol precipitated water insoluble fraction mycelia, M designates ethanol precipitated fraction of culture broth removed mycelia and H designates heat extracted whole fraction of culture broth containing mycelia of *G. lucidum* IY 009. LA, LB and LC represent ceruloplasmin, hemopexin and haptoglobin respectively.**

항암활성을 지닌 고등균류 유래 다당류를 mouse에 투여하면 serum내의 특정 단백질 성분인 LA(ceruloplasmin), LC(haptoglobin) 및 LB(hemopexin)가 증가되는 것으로 보고되었다(15). *G. lucidum* IY 009의 균사체를 알칼리로 추출한 조다당 분획, AS, AI 및 M과 열수추출 분획 H를 각각 50 mg/ml의 농도로 ICR mouse에 5일 동안 1일 1회씩 복강투여 하였다. 투여가 완료된 4일 후 채혈하여 serum protein을 4%-30%의 gradient polyacrylamide gel에 전기영동한 후 (Fig. 2), densitometer로 gel을 scan하여 LA, LB 및 LC protein의 강도를 측정하였다(Fig. 3). Table 3에서와 같이 알칼리로 추출된 조다당 분획, AS를 투여한 mouse의 serum 중의 LA, LC 및 LB protein은 생리식염수를 투여한 대조군의 90.9배, 3.7배 및 4.4배 증가하였으며, AI분획을 투여한 군은 3.6배, 2.2배 및 4.4배 증가하였으며, M분획을 투여한 군은 0.14배, 1.0배 및 2.8배가 각각 증가한 것으로 나타나 이들의 sarcoma 180에 대한 항암활성인 87.0%, 50.9% 및 27.1%과 비례적으로 증가하였으나, LA protein의 경



**Fig. 3. Densitogram of LA, LB and LC protein on the gel in Fig. 2.**

**Table 3. Intensity of LA, LB and LC protein of the mice serum treated with various fractions of mycelial crude polysaccharide of *G. lucidum* IY 009 by densitometry of the polyacrylamide gel**

Protein	Area(% Control)				
	AS	AI	M	H	Krestin
Protein LA	9092.0	356.5	14.1	2248.9	557.6
Protein LC	370.0	224.0	102.5	468.2	274.1
Protein LB	439.6	189.1	130.5	276.2	183.9

\*AS designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of mycelia, AI designated alkali extracted, ethanol precipitated water insoluble fraction mycelia, M designates ethanol precipitated fraction of culture broth removed mycelia and H designates heat extracte whole fraction of culture broth containing mycelia of *G. lucidum* IY 009 LA, LB and LC represent ceruloplasmin, hemopexin and haptoglobin respectively.

우는 대조군에서 약하게 나타나 시료투여군과 비교할 때 증감의 정도가 심하여 비례관계를 설명하기에는 곤란한 점이 있다. 열수추출 분획 H의 경우 항암활성이 9.8%로 비교적 낮은 반면, LA, LC 및 LB protein은 AS의 강도와 유사하였다. 따라서 추출 조건이

**Table 4. Carbohydrate contents and protein contents of the each crudopolysaccharide fractions of *G. lucidum* IY 009**

Crude polysaccharide fraction*	Yields of polysaccharide (g/l)	Carbohydrate content (%)	Protein content (%)
AS	0.870	53.0	24.7
AI	0.342	44.6	26.9
M	0.669	19.7	39.1
H	0.900	27.6	38.1

**Table 5. Component sugar content of the each polysaccharide fraction of *G. lucidum* IY 009**

Component sugar	Content(area %)			
	M	AI	AS	H
Arabinose	—	0.3	—	—
Ribose	0.4	2.5	11.8	3.6
Xylose	3.8	12.1	4.7	7.6
Mannose	20.5	38.6	19.0	19.7
Galactose	12.5	8.2	33.1	34.0
Glucose	63.3	38.3	24.5	35.1

\*AS designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of mycelia, AI designated alkali extracted, ethanol precipitated water insoluble fraction of mycelia, M designates ethanol precipitated fraction of culture broth removed mycelia and H designates heat extracted whole fraction of culture broth containing mycelia of *G.lucidum* IY 009.

각기 다른 *G. lucidum* IY009의 조다당 분획들 중의 L<sub>A</sub>, L<sub>C</sub> 및 L<sub>B</sub> protein의 강도와 이들이 나타내는 항암효과와는 비례관계가 있다고 보기는 어려웠다.

#### 조다당 분획의 성분분석

*G. lucidum* IY 009의 균사체를 알칼리로 추출한 조다당 분획, AS, AI 및 M과 열수추출 분획 H를 분석한 결과, 당의 함량은 각각 53.0%, 44.6%, 19.7% 및 27.6%였고, 단백질의 함량은 각각 24.7%, 26.9%, 39.1% 및 38.1%로 나타났으며(Table 4), 당은 주로 glucose, mannose, galactose 및 xylose로 이루어졌고(Table 5), 단백질은 glutamic acid, aspartic acid 및 leucine등 16종의 아미노산으로 이루어져 있었다(Table 6).

#### 요 약

항암활성 다당류들은 mouse의 보체계를 활성화시키고 serum내 특정 혈청 단백질을 증가시키는 것으로

**Table 6. Amino acid content of the each polysaccharide fraction of *G. lucidum* IY 009**

Amino acid	Content(area %)			
	AS	AI	M	H
Aspartic acid	12.8	11.1	13.1	9.7
Threonine	4.3	4.0	4.7	6.0
Serine	2.8	4.5	8.7	12.2
Glutamic acid	14.9	12.0	11.5	9.8
Proline	8.7	1.7	5.6	2.2
Glycine	10.9	11.2	27.1	25.6
Alanine	9.6	10.8	11.9	13.8
Valine	7.9	6.8	1.8	4.5
Methionine	1.3	0.5	0.4	—
Isoleucine	4.7	5.1	1.1	1.9
Leucine	8.1	13.1	2.5	5.0
Tyrosine	2.2	1.9	0.3	0.7
Phenylalanine	3.1	5.0	0.9	1.7
Histidine	2.0	1.3	0.5	1.0
Lysine	5.6	8.6	5.9	5.9
Arginine	1.1	2.4	4.0	—

\*AS designated alkali extracted, ethanol precipitated water soluble fraction of mycelia, AI designated alkali extracted, ethanol precipitated water insoluble fraction of mycelia, M designate ethanol precipitated fraction of culture broth removed mycelia and H designate heat extracted whole fraction of culture broth containing mycelia of *G.lucidum* IY 009.

알려져 왔다. 여러 연구자들의 의하면, 다당류의 항암활성은 보체계의 활성화와 mouse serum의 특정 단백질인 L<sub>A</sub>, L<sub>B</sub> 및 L<sub>C</sub>등의 증가와 관련이 있다고 보고하였다.

6종의 *Ganoderma lucidum*의 균사체로부터 얻은 조다당의 항암활성과 항보체활성 사이에는 상관관계가 없었으나, *G. lucidum* IY 009의 균사체를 알칼리로 추출하여 얻은 조다당 분획- AS, T, AI 및 M 사이에서 sarcoma 180에 대한 항암활성이 높은 것이 항보체활성이 높게 나타났다. 한편 AS, AI 및 M을 투여한 mouse의 serum중의 L<sub>A</sub>, L<sub>B</sub> 및 L<sub>C</sub> protein의 강도는 항암활성과 비례적으로 나타났으나, 열수추출 분획 H의 경우는 비례하지 않았다.

#### 참고문헌

1. 紫田承二. 1988. 新編 生物活性天然物質, Pp 334-337. 醫齒藥出版社, 東京.
2. Franz, G. 1989. Polysaccharides in pharmacy: current applications and future concepts. *Planta*

- Med.* **55**: 493-497.
3. Purnell, D., G. Bartlet, J. Kreider, and T. Biro. 1977. *Corynebacterium parvum* and cyclophosphamide as combination treatment for a murine mammary adenocarcinoma. *Cancer Res.* **37**: 1137-1140.
  4. Bjorsson, S., H. Takida, N. Kuberta, H. Preister, D. Higby, and E. Henderson. 1978. Combination chemotherapy plus methanol extracted residue of *Bacillus Calmette-Guerin* or *Corynebacterium parvum* in stage III lung cancer. *Cancer Treat. Rep.* **62**: 505-510.
  5. Michell, R.G., D. Kirkpatrick, B. Mokyr, and I. Gevy. 1973. On the mode action of BCG. *Nature New Biol.* **243**: 216-217.
  6. Yamaura, Y.M. Sakatani, T. Ogura, and I. Azuma. 1979. Adjuvant immunotherapy of lung cancer with BCG cell-wall skeleton(BCG-CWS). *Cancer.* **43**: 1314-1319.
  7. Kagawa, K., T. Yamashita, E. Tsubura, and Y. Yamamura. 1984. Inhibition of pulmonary metastasis by *Nocardia rubra* cell wall skeleton, with special reference to macrophage activation. *Cancer Res.* **44**: 665-670.
  8. Chihara, G., J. Hamuro, Y. Maeda, Y. Arai, and F. Fukuoka. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk) Sing. *Cancer Res.* **30**: 2776-2781.
  9. Tsukagoshi, S. and F. Ohashi. 1974. Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma-180 and rat ascites hepatoma AH-13 by oral use. *Gann.* **65**: 557-558.
  10. Miyazaki, T., N. Oikawa, T. Yadomae, H. Yamada, H. Hong-Yen, and H. Ito. 1979. Relationship between the chemical structure and antitumor activity of glucan prepared from *Grifola umbellata*. *Carbohydr. Res.* **69**: 165-170.
  11. Suzuki, I., K. Hashimoto, S. Oikawa, K. Sato, M. Osawa, M. and T. Yadomae. 1980. Antitumor and immunomodulating activities of a  $\beta$ -glucan obtained from liquid-cultured *Grifola flondosa*. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 410-413.
  12. Sugiura, M. and H. Ito, H. 1977. Toxicological studies of *Ganoderma lucidum* Karst. *Tokyo Yakka Daigaku Kenkyu Nempo.* **27**: 722-733.
  13. Okuda, T., Y. Yoshioka, T. Ikekawa, G. Chihara, and K. Nishioka. 1972. Anticomplementary activity of antitumor polysaccharides. *Nature New Biol.* **238**: 59-60.
  14. Ito, H. 1986. Effects of the antitumor agents from various natural sources on drug-metabolizing system, phagocytic activity and complement system in sarcoma 180-bearing mice. *Japan. J. Pharmacol.* **40**: 435-443.
  15. Matsu, T., T. Arika, M. Mitani, and N. Komatsu. 1985. Pharmacological and toxicological studies of a new antitumor polysaccharide, schizophyllan. **32**: 647-656.
  16. 강창률, 심미자, 최응철, 이영남, 김병각. 1981. 한국산 담자균류의 항암성분에 관한 연구. 만년버섯의 균사 배양 및 항암성분. *한국생화학회지.* **14**: 101-112.
  17. Yamada, H., H. Kiyohara, J.C. Cyong, Y. Kojima, Y. Kumazawa, and Y. Otsuka. 1984. Studies on polysaccharides from *Angelica acutiloba*. *Planta Med.* **50**: 163-167.
  18. Duboise, M. K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 350-356.
  19. Smith, P. K., R.L. Krohn, G.T. Hermanson, A.K. Mallia, F.H. Gartner, M.D. Provenzano, E.K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson, and D.C. Klenk. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* **150**: 76-85.
  20. Hamuro, J., U. Hadding, and D. Bitter-Suermann. 1978. Solid phase activation of alternative pathway of complement by  $\beta$ -1,3-glucans and its possible role for tumor regressing activity. *Immunol.* **34**: 695-705.

(Received July 12, 1993)