

## 표고와 운지의 원형질체 융합균주의 항암작용

곽은경<sup>1</sup> · 김하원\*<sup>1</sup> · 심미자<sup>1</sup> · 현진원<sup>2</sup> · 김병각<sup>3</sup>

<sup>1</sup>서울시립대학교 생명과학과, <sup>2</sup>서울대학교 의과대학 약리학교실, <sup>3</sup>서울대학교 약학대학 종합약학연구소

### Antitumor Activity of the Intergeneric Protoplast Fusant between *Lentinus edodes* and *Coriolus versicolor*

Eun Kyung KWAK<sup>1</sup>, Ha Won KIM\*<sup>1</sup>, Mi Ja SHIM<sup>1</sup>, Jin Won HYUN<sup>2</sup> and Byong Kak KIM<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Life Science, University of Seoul, Seoul 130-743,

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul 110-799,

<sup>3</sup>College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received July 25, 2000; accepted September 5, 2000)

**Abstract** – Antitumor effect of LC43, a protein-bound polysaccharide (M.W. 43 kDa) that was purified from intergeneric protoplast fusant of *Lentinus edodes* and *Coriolus versicolor*, was elucidated against mouse sarcoma 180 cell *in vitro* and *in vivo*. By injecting LC43 into ICR mice bearing solid or ascitic sarcoma 180, tumor regression and survival rates were investigated. To examine the effects of LC43 on immunopotential activity, immunoorgan weight, B cell differentiation, T cell activity and macrophage activation were determined. LC43 showed antitumor effects against both solid tumor and ascitic tumor of sarcoma 180. It did not change significantly the immunoorgan weight but potentiated immune responses such as B cell differentiation and the release of superoxide anion from macrophages. These results suggest that the protein-bound polysaccharide of LC43 exhibited antitumor activities through the activation of immune-related cells and acted as an immunomodulator.

**Key words** □ Protoplast fusant, macrophage, plaque forming cell, delayed type hypersensitivity

고등균류에 속하는 담자균류의 약효 성분으로써 항균성분(Anke 등, 1990), 환각성분(Vanhaelen-Fastre와 Vanhaelen, 1984), 독성분(Fujimoto 등, 1986), 콜레스테롤 감소성분(Kuhnt 등, 1990) 등이 보고되었다. 최근에 와서는 항암성분의 연구가 활발히 진행되고 있으며(Roland 등, 1969; Jo 등, 1987; Chihara 등, 1990), 이들 담자균류의 항암작용은 숙주의 면역능 증가에 의한 것임으로 보고되었다(Hamuro 등, 1978). 담자균류에서 분리한 다당체 및 단백질 다당체를 다양한 추출법과 정제과정을 통하여 보다 우수한 항암효과를 나타내는 성분을 얻고자 하는 연구 보고도 있다(Adachi 등, 1990).

한국산 담자균류의 항암 성분에 관한 연구는 운지, 표고 및 느타리버섯의 항암성 단백질다당체(Kim 등, 1979), 말징버섯 균사체의 항암성분(Kim 등, 1992)도 보고된 바 있다. 이와 같이 담자균류가 숙주의 면역반응에 관여하는 대식세포, 항체, 세포 독성능 T 림프구 및 NK 세포 등의 작용을 증강시켜 암세포 투여로 인해 현저히 저하된 면역반

응을 활성화함으로써 항암효과를 나타내는 생체반응 조절 물질이라는 관점에서 담자균류의 항암성 다당체의 면역조절기전에 대한 새로운 검토가 이루어지고 있다(Sakagami 등, 1988; Tadafumi 등, 1987). 한편 이러한 고등균류의 자실체인 버섯은 자연상태에서 균사접합에 의해 재배되어 왔으나 환경의 악화, 병충해의 발생 등으로 안정재배가 어려워 생산력이 급격하게 떨어지게 되었고, 이에따라 새로운 품종 및 육종방법의 개발이 대두되게 되었다. 이러한 방법의 일환으로서 원형질체 융합기법에 의한 유전자전이로 잡종이나 형질전환된 신품종의 육성이 가능하게 되었고(Peberdy 등, 1979), 영지와 운지의 원형질체 융합(Park 등, 1991), 운지와 표고의 원형질체 융합(Kim 등, 1997) 및 영지와 표고의 원형질체 융합(Bok 등, 1994)에 성공하였다.

본 연구에서는 항암작용, 간염치료 작용, 후천성 면역결핍성 바이러스 복제 억제작용, 인터페론 유발작용 등을 지닌 표고와 항암작용을 포함한 다양한 면역증강작용을 나타내는 약용 버섯인 운지의 원형질체 융합체의 배양 균사체로부터 단백질 다당체를 분리정제한 성분 LC43에 대해 항

\*To whom correspondence should be addressed.

암 실험과 그 항암작용의 기전을 면역학적 측면에서 연구하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 실험방법

### 실험재료

*Lentinus edodes* (Berk.) Sing. DMC-1과 *Coriolus versicolor* (Fr.) Quel. strain DMC-1의 영양요구성 돌연변이주인 *Lentinus edodes* 207(Ser<sup>-</sup>)과 *Coriolus versicolor* 17(Arg<sup>-</sup>)의 원형질체 융합체로부터 얻은 F-10 융합체를 87 L를 액내 배양하여 얻은 균사체를 열수추출 하고 DEAE-cellulose anion exchange chromatography를 이용하여 분리 정제한 1.4 g의 단백결합 다당체인 LC43을 실험 시료로 사용하였다. 즉, 균사체의 열수추출물을 농축후 3배량의 에틸알콜을 가하여 형성된 침전분획을 7일간 투석하여 저분자성분을 제거하였다. 부분정제된 고분자 성분을 DEAE-cellulose(Cl<sup>-</sup>형, Sigma Chem. Co., USA) 이온수지 칼럼크로마토그래피(4×47 cm)에 흡착시킨 후 2 M NaCl로 용출시킴으로써 정제하였다. 용출된 각 분획을 anthrone 반응과 Lowry-Folin 반응에 양성인 분획을 취하여 3일간 투석하여 3.9 g을 얻었다. 이 분획을 다시 Sepharose CL-4B(Pharmacia Co., Sweden) gel filtration에 apply하여 0.01 M sodium citrate buffer로 용출시켜 anthrone 반응과 Lowry-Folin 반응에 양성인 분획만 취하여 3일간 투석하여 얻은 1.4 g의 성분을 LC43이라 칭하여 항암실험에 사용하였다.

### 고형암 및 복수암에 대한 항암작용 검색

고형암과 복수암에 대한 항암실험은 다음과 같이 실시하였다(Rhew 등, 1992). 고형암유발은 8 마리의 ICR 마우스의 서혜부에 sarcoma 180 세포  $2 \times 10^5$  cells씩 이식하였으며, 복수암은 동량의 세포를 복강에 주사하였다. 각 실험군은 10마리의 ICR 마우스를 사용하였다. 암세포 이식 후 24시간부터 생리식염수에 녹인 양성 대조군 krestin과 LC43를 각각 20 mg/kg/day의 용량으로, 대조군에는 생리식염수를 0.1 ml씩 매일 1회 10일간 연속하여 복강내에 주사하였다. 고형암실험의 판정은 암세포 이식 후 30일째 되는 날 실험동물을 치사시키고 유발된 고형암을 적출하여 그 중량을 측정하고 다음 식에 의거하여 종양저지 백분율(percent inhibition ration, IR, %)을 계산하였다.  $IR(\%) = 100 \times (Cw - Tw) / Cw$ , 단, Cw는 대조군의 평균 종양 중량이며, Tw는 시료투여군의 평균 종양 중량이다. 복수암실험 결과판정은 암세포 이식 후 대조군과 시료 투여군의 생존 여부를 관찰하여 평균생존일(mean survival day)을 계산한 다음 평균 생존 백분율(mean survival rate, MSR, %)로 항암효과를 계산하였다.  $MSR(\%) = 100 \times (\text{처치군의 평균 생}$

존일수/대조군의 평균 생존일수).

### 면역 관련 장기 중량의 변화

ICR 마우스를 각 실험군당 10마리씩 사용하여 4 실험군으로 분류하여 2 군은 대조군으로 나머지 2 군은 항암성분 투여군으로 준비하고 대조군과 투여군의 각 1 군에 sarcoma 180 세포 현탁액  $1 \times 10^6$  cells /mouse를 마우스의 서혜부에 이식하였다. 이식 24 시간 후부터 대조군에는 생리 식염수를 항암 성분 투여군에는 LC43을 20 mg/kg/day의 농도로 1일 1회 5일간 복강 내로 주사하였다. 시료 투여 7 일후에 실험 동물의 중량을 측정후 후 치사시키고 간, 비장, 흉선을 적출하여 중량을 측정했다.

### 마우스의 대식세포 활성화에 미치는 영향

대식세포의 활성화 여부를 알아보기 위해 활성화된 대식세포로부터 분비되는 superoxide anion 양을 다음의 방법에 따라 측정하였다(Ito 등, 1983). ICR 마우스를 각 실험군당 5마리씩 사용하였으며 4 실험군으로 구분하여 2 군은 sarcoma 180 세포 현탁액  $1 \times 10^6$  cells /mouse를 마우스의 서혜부에 이식하고 다른 2 군은 정상으로 하여 그들 각각을 다시 대조군과 시료 투여군으로 나누어 대조군에는 생리 식염수를 시료 투여군에는 LC43 20 mg/kg/day를 1일 1회 5일간 복강 내로 주사하였다. 최종 투여일로부터 5 일후에 마우스를 치사시키고 HBSS로 복강세포를 취하고  $\times 300$  g에서 10분간 원심분리하였다. 침전된 세포를  $5 \times 10^6$  cells/ml이 되도록 RPMI-1640 배지에 부유시키고 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 2 시간 동안 배양하여 plate에 부착된 대식세포만을 취했다. 분리한 대식세포에 10 mM glucose, 80 uM ferricytochrome C와 0.2 mg/ml opsonized zymosan을 함유한 PBS를 1.5 ml가하고 37°C에서 90 분간 배양하였다.  $\times 300$ g에서 10 분간 원심분리하여 상등액은 냉시현관으로 옮겨 반응을 종결 시킨 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대식세포로부터 유리된 superoxide anion(SOA)양은 다음 식에 따라 계산하였다.  $SOA(\text{nmol}/5 \times 10^6 \text{ macrophages}/90 \text{ mins}) = 15.87 \times O.D. \text{ at } 550 \text{ nm}$ .

### 마우스의 B 임파구 활성화에 미치는 영향

B 임파구의 분화 능력 척도로서 면역 적혈구(sheep red blood cell, SRBC)에 대한 항체 Ig M 생성능을 Cunningham의 방법을 개량하여 측정하였다(Cunningham, 1973). LC43 투여 및 마우스의 면역화는 4 실험군으로 분류하고 각 군마다 5 마리씩 사용하였다. 2 군은 대조군으로 나머지 2 군은 LC43 투여군으로 분류하고 대조군과 투여군의 각 1군에 sarcoma 180 세포 현탁액  $1 \times 10^6$  cells/mouse를 마우스의 서혜부에 이식하였다. 이식 24시간 후부터 대조군에는 생리 식염수를, LC43 투여군에는 20 mg/kg/day

를 1일 1회 5일간 복강내로 주사하였다. 투여 완료 7 일 후 SRBC  $1 \times 10^6$  cells/mouse를 복강내에 주사하여 면역 화시켰다. 면역화시킨 마우스를 5일 후에 경추 탈구법으로 치사시켜 비장을 적출하여 상기 방법대로 비장세포를 분리 하여 비장세포 수를 측정하였다. 5 ml round bottomed tube에 800  $\mu$ l의 agar 용액과 150  $\mu$ l의 SRBC 및 250  $\mu$ l의 비장 세포 부유액을 즉시 혼합하여 이 혼합액을 1.4% 한천배지에 가하고 도말하여 굳힌 후 보체를 가하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 2 시간 배양하였다. 배양 후 형성된 용혈반 형성세포 수를 측정하였다.

**통계학적 분석**

각 군간의 종양의 비교시 student-t test로 분석하였으며, p 값은 0.05 이하를 유의수준으로 하였다.

**실험결과**

**고형암 및 복수암에 대한 항암작용**

원형질 융합체 11개의 균주중에서 F-10균주의 배양균사 체로부터 분리 정제하여 Sepharose CL-4B에서 단일 band 를 나타내는 분획인 42번에서 52번의 분획을 취하여 분석 한 결과 DEAE-cellulose와 Sepharose CL-4B gel filtration 칼럼에서 단일 band를 나타내었다(Fig. 1). 그 분자량은 43 kDa의 단백결합 다당체로 밝혀졌으므로 LC43이라 칭 하였다. 이를 이용하여 Sarcoma 180 고형암에 대해 각 실험군당 8마리의 ICR 마우스를 이용하여 항암실험한 결과 20 mg/kg/day 용량에서 양성 대조군인 krestin과 lentinan 이 각각 43%와 39% 인 반면에 LC 43인 경우는 46%로 서 krestin 이나 lentinan보다 종양억제율이 높게 나타났다.

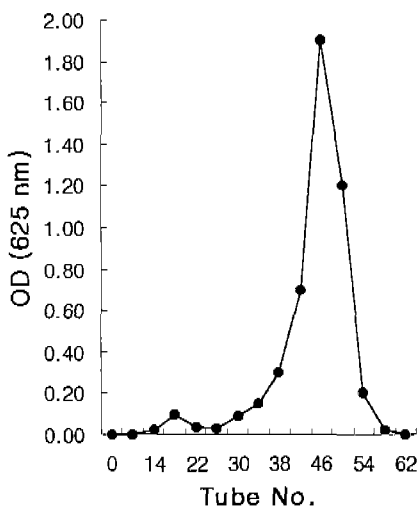


Fig. 1. Elution pattern of LC43 by Sepharose CL-4B gel filtration chromatography.

Table 1. Effects of LC43 on the solid tumor and ascitic tumor of sarcoma 180

Compound	Dose * (mg/kg/day)	Tumor wt <sup>†</sup> (g) or MST <sup>‡</sup> (day)	IR <sup>§</sup> (%) or MSR <sup>¶</sup> (%)	Complete regression
[Solid tumor]				
Control	Saline	6.7 ± 2.9 <sup>†</sup>	-	0/8
Krestin	20	3.8 ± 3.8 <sup>†*</sup>	43.3 <sup>§</sup>	1/8
Lentinan	20	4.1 ± 3.1 <sup>†</sup>	38.8 <sup>§</sup>	2/8
LC43	20	3.6 ± 1.7 <sup>†*</sup>	46.3 <sup>§</sup>	0/8
[Ascitic tumor]				
Control	Saline	29.6 ± 9.4 <sup>‡</sup>	100 <sup>¶</sup>	NA <sup>¶¶</sup>
LC43	20	35.3 ± 8.5 <sup>‡</sup>	119 <sup>¶</sup>	NA <sup>¶¶</sup>
LC43	50	39.3 ± 5.6 <sup>‡*</sup>	132 <sup>¶</sup>	NA <sup>¶¶</sup>

\*Samples were daily injected *i.p.* into 8 ICR strain mice for 5 days.

<sup>†</sup>Mean ± SD

<sup>‡</sup>Mean survival time

<sup>§</sup>Inhibition ratio (IR, %)=100×(wt of control-wt of treated)/(wt of control)

<sup>¶</sup>Mean survival rate (MSR, %)=100×(mean survival time of treated group)/(mean survival time of control group)

<sup>¶¶</sup>NA: not applicable

\*p<0.05

복수암의 경우 sarcoma 180 복수암에 대한 평균 생존율이 20 mg/kg/day의 LC43 투여군에서 119%, 50 mg/kg/day에서는 132%로 나타나 현저한 수명 연장효과를 보였다(Table 1). 그러나 고형암에서는 50 mg/kg/day이 20 mg/kg/day과 거의 유사한 결과를 나타내었으므로 이후의 실험에서는 20 mg/kg/day의 농도를 사용하여 실험을 수행하였다.

**마우스의 면역 관련 장기 중량에 미치는 효과**

각 실험군당 10마리의 ICR 마우스를 사용하여 실험한 결과 정상군에서는 LC43 투여가 체중변화에 아무런 영향을 미치지 아니하였다. 암세포 투여한 대조군의 체중은 증가하였지만 LC43을 투여하였을 때 암세포의 성장억제로 체중증가가 나타나지 않았다. 간 중량은 암세포 투여군에서 암 대조군에 비해 감소하였으나 정상 치료 투여군에서는 정상군에 비해 23%, 간 지수는 1.2배 증가하였다. 비장의 중량은 정상 치료 투여군의 경우 정상군에 비해 변화가 미약하였으나 암세포 투여군에서는 대조군에 비하여 43% 증가하였으며, 비장 지수는 1.4배 증가하였다. 흉선의 중량은 정상 치료 투여군에서 15% 증가하였으며, 암세포 투여군에서는 LC43 투여에 의해 5.1% 증가하였지만 흉선지수에는 영향이 없었다(Table 2).

**마우스의 대식세포 활성화에 미치는 효과**

대식세포가 활성화되어 분비되는 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)

**Table 2.** Effect of LC43 on immunoorgan weights of normal and sarcoma-180 bearing mice

	Normal group		Tumor-bearing group <sup>**</sup>	
	Control (n=10)	Treated (n=10)	Control (n=10)	Treated (n=10)
Body wt (g)	21.1 ± 1.2 <sup>†</sup>	22.5 ± 1.2	22.7 ± 0.7 <sup>**</sup>	21.3 ± 1.3
Wt increase (g)	2.4 ± 0.2	2.2 ± 0.5	3.4 ± 0.5 <sup>*</sup>	2.2 ± 0.7
Liver wt (g)	1.4 ± 0.1	1.7 ± 0.3	1.7 ± 0.2 <sup>*</sup>	1.5 ± 0.1
Wt increase (%) <sup>‡</sup>	-	22.9	25.8	6.25
Liver index <sup>§</sup>	1.0	1.2	1.2	1.1
Spleen wt (mg)	137.1 ± 53.3	134.3 ± 27.3	155.3 ± 29.8	196.3 ± 8.8 <sup>**</sup>
Wt increase (%)	-	-2.1	13.3	43.2
Spleen index	1.0	0.9	1.1	1.4
Thymus wt (mg)	19.5 ± 4.0	22.4 ± 3.2	21.7 ± 4.4	20.5 ± 2.7
Wt increase (%)	-	14.9	11.3	5.1
Thymus index	1.0	1.1	1.0	1.1

<sup>\*\*</sup>LC43 (20 mg/kg/day) was injected daily after 24 hrs of the inoculation of sarcoma-180 ( $1 \times 10^6$  cells/mouse) into ICR mice.

<sup>†</sup>Mean ± SD

<sup>‡</sup>Wt increase (%) =  $100 \times (\text{Wt of treated group} - \text{Wt of control group}) / (\text{Wt of control group})$

<sup>§</sup>Organ index =  $(\text{organ wt/body wt of treated group}) / (\text{organ wt/body wt of control group})$

\* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.05$

**Table 3.** Effect of LC43 on the release of superoxide anion by activated macrophages in normal and sarcoma-180 bearing mice

Mouse	Group	SOA released <sup>*</sup>	Stimulation index <sup>†</sup>
Normal	Control (n=5)	0.90 ± 0.86 <sup>‡</sup>	1.00
	Treated (n=5)	0.91 ± 0.63	1.01
Tumor-bearing	Control (n=5)	1.17 ± 0.45	1.29
	Treated (n=5)	1.58 ± 0.28 <sup>*</sup>	1.76

<sup>\*</sup>SOA released ( $\text{O}_2^-$  nmol/ $10^6$  macrophage/90 min) =  $15.87 \times \text{OD}_{550 \text{ nm}}$

<sup>†</sup>Stimulation index =  $(\text{SOA amount of treated group}) / (\text{SOA amount of control group})$

<sup>‡</sup>Mean ± SD

\* $p < 0.05$

의 양을 측정된 결과 정상군에서 시료를 투여한 군은 대조군(비투여군)에 비해 차이를 보이지 않았으나 암대조군에서

는 정상군에 비해 약 1.3배 그리고 암시료 투여군에서는 약 1.8배 증가하였다(Table 3). 따라서 LC43 투여에 의하여 대식세포가 활성화되었으며, 면역반응의 증가를 나타내었다.

#### 마우스의 B 임파구 활성화에 미치는 효과

B 임파구가 분화가 분화되어 항체생성능을 지닌 형질세포(plasma cell) 수를 측정된 결과 LC43 투여군의 SRBC에 대한 용혈반 형성 세포 수는 대조군에 비해 정상 시료 투여군에서는 1.4배 증가하였으며, 암시료 투여군에서는 1.9배 증가하였을 뿐만 아니라 비장 지수도 1.5배로 현저히 증가하여 B 임파구의 항체 생성능을 증가시켰다(Table 4).

## 고 찰

원형질 융합체 F-10의 배양군사체로부터 분리 정제한 평

**Table 4.** Effect of LC43 on the hemolytic plaque forming cells in sarcoma-180 bearing mice

	Normal group		Tumor-bearing group <sup>**</sup>	
	Control (n=5)	Treated (n=5)	Control (n=5)	Treated (n=5)
Spleen index <sup>†</sup>	1.00	1.00	1.29	1.50
Spleen cells ( $\times 10^6$ cells/ml)	14.7 ± 2.5 <sup>‡</sup>	15.3 ± 2.6	14.3 ± 0.5	18.3 ± 1.3 <sup>*</sup>
PFC/total spleen cells ( $\times 10^3$ cells)	1.7 ± 0.5	2.4 ± 0.8	1.5 ± 0.6	3.3 ± 1.6
Stimulation index <sup>§</sup>	1.00	1.40	0.88	1.90

<sup>\*\*</sup>LC43 (20 mg/kg/day) was injected for 5 days after 24 hrs of the inoculation of sarcoma-180 ( $1 \times 10^6$  cells/mouse) into ICR mice.

<sup>†</sup>Spleen index =  $(\text{Spleen wt/body wt of treated group}) / (\text{Spleen wt/body wt of control group})$

<sup>‡</sup>Mean ± SD

<sup>§</sup>Stimulation index =  $(\text{PFC of total spleen cells in treated group}) / (\text{PFC of total spleen cells in control group})$

\* $p < 0.05$

균 분자량 43 kDa의 단백질합 다당체인 LC43에 대해 Sarcoma 180 고형암에 대해 항암 실험을 한 결과 20 mg/kg/day 용량에서 양성 대조군인 krestin(운지의 항암성 다당체) 또는 lentinan(표고의 항암성 다당체) 보다 종양 억제율이 높게 나타났다. 동일 복수암에 대해서도 유효한 수명 연장 효과를 나타내었다. 따라서 융합균사체의 항암성 다당체는 운지 또는 표고의 항암성 다당체보다 항암효과가 우수하였다. 본 연구에서는 숙주의 면역세포에 영향을 주어 암에 대한 개체의 방어 능력을 증강시켜 항암효과를 나타내는 생체반응 물질의 관점에서 LC43 성분을 면역학적 측면에서 항암작용의 기전을 구명하고자 하였다.

먼저 면역 관련 장기에 대한 LC43의 영향을 살펴보면 간 및 흉선의 중량이 정상군에서 LC43을 투여했을 경우 대조군에 비해 증가하였으며 비장의 중량은 암 시료 투여군에서 현저한 증가를 보였다. 대식세포는 외부로부터 들어오는 이물질을 직접 탐식하여 분해하고 제거하는 기능을 가짐으로써 자연 면역반응에 매우 중요한 기능을 수행할 뿐만 아니라 외부로부터 흡수한 항원을 적절히 변형시켜 세포 표면으로 발현하여 T 임파구로 하여금 그 항원을 인식하게 하고 그 항원에 대한 면역반응을 유도하여 궁극적으로 항체를 만들도록 한다. 대식세포는 활성화된 정도에 따라 항균 및 세포독성 작용에 차이가 있을 뿐만 아니라 숙주의 방어기능의 진전과 더불어 기생체의 생존 능력이 진보하므로 대식세포가 완전히 활성화되지 않으면 비록 탐식을 했더라도 세포내 사멸작용은 할 수 없어 탐식작용이 오히려 기생체에 이로운 역할을 할 수 있음이 보고되었다 (Vanasbeck 등, 1985). LC43이 대식세포에 미치는 영향을 SOA 유리양으로 살펴본 결과 정상 시료 투여군의 경우 정상군에 비해 차이를 보이지 않았으나 암대조군에서는 정상군에 비해 약 1.3배 그리고 암시료 투여군에서는 약 1.8배 증가하였다.

B 임파구의 분화척도가 되는 SRBC에 대한 항체를 생성하는 용혈반 형성 세포 수를 측정한 결과 대조군에 비해 LC43 투여군은 1.9배 증가한 것으로 관찰되었으며 비장 지수는 1.5배 증가하였다. 이로 보아 LC43은 B 세포의 분화단계에 작용하는 것으로 보인다. Yadomae 등(1979)은 주발버섯 *Peziza vesiculosa* 자실체 성분인 vesiculogen이 강력한 B cell mitogen으로 작용할 뿐만 아니라 항원 비특이적으로 용혈반 형성세포 수를 증가시켜 B 임파구의 polyclonal B cell activator로서의 가능성을 제시하였다 (Yadomae 등, 1979).

상기의 실험결과로부터 LC43은 담암으로 인하여 저하된 숙주의 면역기능을 정상으로 회복시키거나 증강시켜 생체반응 조절물질로서 항암작용을 나타내는 것으로 사료되며 담자균류에서 분리한 성분이 숙주에 거의 독작용을 나타내지 않으면서 생체 면역기능을 증강시켜 주므로써 항암효과

를 나타낼 뿐 아니라 식용으로 할 수 있어서 그 실용적 가치가 점점 높아지고 있는 추세에 비추어 볼 때 원형질체 융합기법에 의한 보다 우수한 융합체의 개발 및 그 생리활성의 검색은 새로운 생체반응 조절 물질의 탐색을 위한 가능성을 제시해 줄 것으로 기대된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 서울대학교 약학대학부속 종합약학연구소의 연구비로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Adachi, Y., Ohno, N., Ohsawa, M., Oikawa, S. and Yadomae, T. (1990). Macrophage activation in vitro by chemically cross-linked (1→3)-β-D-glucan. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 988-992.
- Anke, T., Werle, A., Bross, M., and Steglich, W. (1990). Antibiotics from basidiomycetes. XXXIII. Oudemansin X, a new antifungal E-beta-methoxyacrylate from *Oudemansiella radicata* (Relhan ex Fr.) Sing. *J. Antibiot.* (Tokyo). **43**, 1010-1011.
- Bok, J. W., Choi, E. C. and Kim, B. K. (1994). Studies on protoplast fusion between *Lentinus edodes* and *Ganoderma lucidum*. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 492-496.
- Chihara, G., Hamura, J., Maeda, Y. Y., Arai, Y. and Fukuoka, F. (1990). Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk) Sing (an edible mushroom). *Cancer Res.* **30**, 2776-2781.
- Cunningham A. (1973). Plaque assay for antibody producing cells. *Prog. Allergy* **17**, 5-8.
- Fujimoto, H., Suzuki, K., Hagiwara, H., and Yamazaki, M. (1986). New toxic metabolites from a mushroom, *Hebeloma vinosophyllum*. I. Structures of hebevinosides I, II, III, IV, and V. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo). **34**, 88-99.
- Hamuro, J., Hadding, U. and Suermann, D. B. (1978). Solid phase activation of alternative pathway of complement by β-(1→3)-glucans and its possible role for tumor regressing activity. *Immunol.* **34**, 695-695.
- Ito, M., Suzuki, H., Nakano, N., Yamashita, N., Sugiyama, E., Maruyama, M., Hoshino, K. and Yano, S. (1983). Superoxide anion and hydrogen peroxide release by macrophages from mice treated with *Nocardia rubra* cell-wall skeleton: inhibition of macrophage cytotoxicity by a protease inhibitor but not by superoxide dismutase and catalase. *Gann* **74**, 128-136.
- Jo, S. K., Kim, S. H. and Yun, T. K. (1987). Effects of copolang on murine immune function and antitumor activity. *J. Korean Cancer Assoc.* **9**, 28-35.
- Kim, B. K., Kwun, J. Y. and Park, Y. I. (1992). Antitumor components of the cultured mycelia of *Calvatia craniformis*. *J. Korean Cancer Assoc.* **24**, 1-18.

- Kim, B. K., Park, E. K. and Shim, M. J. (1979). Antineoplastic activities of *Coriolus versicolor*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. *Arch. Pharm. Res.* **2**, 145-151.
- Kim, C. K., Choi, E. C. and Kim, B. K. (1997). Protoplast fusion between *Lentinus edodes* and *Coriolus versicolor*. *Arch. Pharm. Res.* **20**, 448-453.
- Kuhnt, D., Anke, T., Besl, H., Bross, M., Herrmann, R., Mocek, U., Steffan, B., and Steglich, W. (1990). Antibiotics from basidiomycetes. XXXVII. New inhibitors of cholesterol biosynthesis from cultures of *Xerula melanotricha* Dorfelt. *J. Antibiot. (Tokyo)*, **43**, 1413-1420.
- Park, S. H., Choi, E. C. and Kim, B. K. (1991). Studies on intergeneric protoplast and nuclear fusion between *Ganoderma lucidum* and *Coriolus versicolor*. *Arch. Pharm. Res.* **14**, 282-283.
- Peberdy, J. F. (1979). Fungal protoplast isolation, reversion and fusion. *Ann. Rev. Microbiol.* **33**, 21-39.
- Rhew, T. Y., Park, S. M., Chung, H. Y., Park, K. Y. and Hah, J. C. (1992). Antitumorigenic activities of linoleic acid detected by *in situ* hybridization on transplanted tumors in mice. *J. Korean Cancer Assoc.* **24**, 493-503.
- Roland, J. F., Chmoilewicz, Z. F., Weiner, B..A. and Gross, A. M. (1969). Calvacin: a new antitumor agent. *Science* **132**, 1987.
- Sakagami, Y., Mizoguchi, Y., Shin, T., Seki, S., Kobayashi, K., Morisawa, S. and Yamamoto, S. (1988). Effect of an antitumor polysaccharide schizophyllan on interferon- $\gamma$  and interleukin-2 by peripheral blood mononuclear cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **155**, 650-655.
- Tadafumi, S. T., Nakashima, H., Hirose, K. and Yamamoto, N. (1987). A biological response modifier, PSK, inhibits human immunodeficiency virus infection *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **148**, 726-733.
- Vanasbeck, B. S., Hoidal, J., Vercellotti, G. M., Schwartz, B. A., Moldow, C. F. and Jacob, H. S. (1985). Production against lethal hyperoxia by tracheal insufflation of erythrocyte: role of red cell glutathione. *Science* **227**, 756-759.
- Vanhaelen-Fastre, R., and Vanhaelen, M. (1984). Qualitative and quantitative determinations of hallucinogenic components of psilocybe mushrooms by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **312**, 467-472.
- Yadomae, T., Suzuki, I., Yonekubo, H., Nunomura, K. and Miyazaki, T. (1979). Examination of the mitogenic activity of materials from fungi on murine lymphocytes *in vitro*. *Microbial Immunol.* **23**, 815-819.