

## Agrocybe cylindracea로부터 추출한 다당류의 면역증강활성

김선희 · 이항우<sup>1</sup> · 배만중<sup>2</sup> · 이재성\*

연남대학교 자연과학대학 생물산업공학부, <sup>1</sup>연남대학교 이과대학 생물학과, <sup>2</sup>경산대학 생명자원공학부

*Agrocybe cylindracea*으로부터 분리 배양한 균사체 배양액을 이용하여 균사체내 다당류(IP)와 균사체의 다당류(EP)를 분리하고, 동물실험을 통한 각 다당류의 면역증강활성에 관해 실험을 실시하였다. 탐식능에 대한 실험결과, IP와 EP 모두는 복강 침출 세포(PEC)에서 대조군에 비해 6.6~50%, 말초 임파구(ML)에서 67~167%, 비장(SP)에서 16~90%의 전반적으로 높은 탐식능을 나타냈다. 또한 항체 생성능 측정을 위한 plaque forming cell(PFC)와 rosette forming cell(RFC)의 실험결과에서 볼 때, PFC형성능은 대조군에 비해 EP투여 II군에서 46~50%, IP투여 I군에서 49~70%의 활성증가를 나타내었다. 또한 RFC형성능은 대조군에 비해 IP투여 I군에서 91%의 증가를, EP투여 I군에서 33%, EP투여 II군에서 43%의 활성증가를 나타내어 높은 항체생성이 기대되었다. Mitogen 활성은 농도 의존적으로 세포 증식능을 보였으며, IP와 EP를 비교할 때, EP는 IP에 비해 약2.5배의 세포증식 활성을 보였다.

**Key words** □ *Agrocybe cylindracea*, mitogen activity, plaque forming cell, rosette forming cell

최근 급속한 경제성장과 더불어 식생활 수준이 향상됨에 따라 비만, 당뇨, 고혈압 등 성인병이 만연하게 되어, 이를 해결하기 위한 방안으로 올바른 식생활 양식을 확립하고, 식품 자체가 가지고 있는 기능성을 개발하여 질병을 예방하고자 하는 노력들이 시도되고 있다. 이러한 예로, 버섯류들이 함유하고 있는 다당체들이 면역계를 자극하여 항암 효과 등과 같은 기능을 갖는 것으로 보고되어 관심을 모으고 있다(10).

진균류에 존재하는  $\beta$ -glucan 구조를 가진 다당류들은 암의 치료시 발생하는 부작용을 줄이고 안전성을 확보하여 화학요법제와 병용할 수 있으므로 종양치료에 새롭게 관심을 끄는 분야로 알려지고 있다(8,13,15,16~19). 이(17~19)는 고등진균류로부터 여러 종류의 유용한 물질을 추출, 이용하는데 있어서 자실체 및 균사체의 추출물이나 균사체 배양물이 체질개선이나 각종 병의 예방과 치료에 효과가 있는 것으로 밝혀져 건강식품이나 의약품으로서의 용도가 크게 증가하고 있다고 보고하였으며, 이를 이용한 기능성 제품의 개발이 활발히 이루어지고 있다.

*Agrocybe cylindracea*로부터 추출한 다당류에 대한 연구로는 이미 균사체의 알카리 추출물이 sarcoma 180에 대해 항종양활성을 가지는 것이 보고되었으며(20), 자실체로부터 열수 추출한 중성 단백 다당체인 cylindran이 sarcoma 180에 대해 70%의 종양 억제율 및 180%의 수명연장 효과가 있음이 밝혀져 있다(14). 또한 이러한 효과를 이용하기 위하여 곡물을 이용한 고체 배양방법이 확립되었으며(11), 이때 균사체내 다당류뿐만 아니라 균사체의 다당류에 의한 생리활성 효과도 동시에 얻을 뿐만 아니라 추출 및 분리 등의 공정이 생략되므로 경제성도 높다.

따라서 본 실험에서는 *Agrocybe cylindracea* 균사체 배양액으로부터 얻어지는 균사체내 다당류와 균사체의 다당류를 mouse에 경구투여하여 탐식능, plaque forming cell 및 rosette forming cell의 생성능을 통하여 면역증강 활성을 측정하여 이에 따른 기능성 식품개발의 기초특성을 마련하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 배양

균주는 I.F.O.에서 분양받은 *Agrocybe cylindracea*를 사용하였으며, 실험동물은 국립보건원에서 분양받은 8~12 주령의 BALB/c 웅성 mouse를 사용하였으며, 사육 기간중 물과 사료(삼양유지회사)를 충분히 섭취하도록 하였다.

본 실험에서는 이 등(9)이 확립한 ACM(Starch 2%, Bacto soytone 0.4%, Yeast extract 0.6%,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.05%,  $KH_2PO_4$  0.046%,  $K_2HPO_4$  0.1%)배지를 다당류 생산배양에 사용하였다.

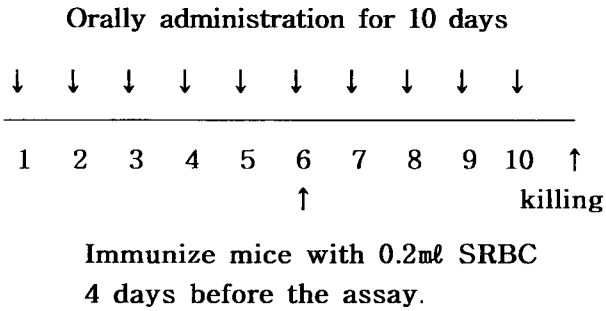
#### 단백다당류의 추출

배양된 균사체와 배양액을 분리하여 김 등(1)의 방법에 따라 시료를 전처리하여 균사체내 단백다당류(Protein binding Intracellular polysaccharide; 이하 IP)와 균사체의 단백다당류(Protein binding Extracellular polysaccharide; 이하 EP)를 얻었다.

#### 시료투여 및 면역 유발과정

항원으로는 10% sheep red blood cell(이하 SRBC)을 사용하였다. SRBC를 cold phosphate buffer solution(0.45  $\mu m$  filter 후 pH 7.2로 조정, 이하 PBS)로 3회 세척 후 면역용담을 유발할 경우에는 최종적으로  $1 \times 10^9$  cells/ml이 되도록 조제한 SRBC

\*To whom correspondence should be addressed  
Tel : 053-810-2955, Fax: 053-816-7365  
E-mail : jslee@ynucc.yeungnam.ac.kr



**Fig. 1.** Schedule of sample administration and immune induction.

0.2 ml를 mouse 복강에 면역시켰으며, 면역 후 6일째 비장을 적출해서 면역세포 부유액으로 조제하였다(Fig. 1).

또한 세포 배양액으로는 RPMI 1640(Gibco Co.)배지를 초순수 증류수에 용해하고 여기에  $\text{NaHCO}_3$ (2 g/l)와 penicillin(100 unit/ml), streptomycin(100  $\mu\text{g/ml}$ )을 첨가하여 pH 7.2~7.4로 조정된 다음 0.45  $\mu\text{m}$  filter로 여과한 것을 사용하였다.

약물투여군은 Control group(0.2 ml D.W./day/mouse), EAC I group(The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml-D.W./day/mouse), EAC II group(The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml-D.W./day/mouse), IAC I group(The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml-D.W./day/mouse), IAC II group(The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml D.W./day/mouse)으로 분류하고 각 실험군과 대조군은 5 마리의 mouse를 기준으로 하여 실험을 행하였다.

**말초 림프세포(Monolymphocyte, 이하 ML)의 회수**

Mouse의 말초혈액은 세정맥을 면도칼로 잘라 채취해서 Ficoil-Conray 중층 원심법에 의해서 말초 임파세포를 얻었다.

**복강내 침출세포(peritoneal exudative cells, 이하 PEC) 조제**

Mouse의 복강에 주사기를 이용하여 PBS를 주입하고 잘 맛 사지한 후, 복강세포를 채취하였다. 채취한 세포부유액을 원심분리(1,500 rpm, 10 min)하여 상층액을 제거하고 RPMI<sup>®</sup> 1640으로 3회 세척(1,500 rpm, 10 min)하여 세포수를 조정하였다.

**비장세포(Spleen cells : 이하 SP) 조제**

Mouse의 복부를 절개하여 비장을 적출한 후, 분절하여 세포 부유액으로 만들어 원심분리하였다(1,500 rpm, 10 min). 원심분리후 상정액을 제거하고 적혈구를 용해하기 위하여 0.83% ammonium chloride Tris buffer(pH 7.2)로 처리한 다음 RPMI<sup>®</sup> 1640으로 3회 세척(1,500 rpm, 10 min)하여 세포수를 조정하였다. 세포수 조정은 비장세포를 trypan blue exclusion검사로 염색한 후, 혈구계산반(hemocytometer)을 사용하여 현미경 상에서 생세포수를 측정하여 생존율 95% 이상인 세포만을 선택하여 사용하였다.

**Macrophage의 탐식능 측정**

탐식능 측정은 小松 등(16)의 방법에 따라 *Candida parapsilosis*의 candidacidal activity를 측정하였다. *C. parapsilosis* 균주는 한국 미생물 보존센터(KCTC 35428)로부터 분양 받은 것을 sabouraud-dextrose agar배지에서 계대배양해서 실험에 사용했다. *C. parapsilosis* 액체배양액 ( $8 \times 10^3$  cell/ml)과 대식세포 부유액 ( $8 \times 10^4$  cell/ml) 각각 50  $\mu\text{l}$ 와 동일계통 마우스 신신 혈청 5%를 첨가한 RPMI<sup>®</sup> 1640 배양액 100  $\mu\text{l}$ 를 96 well V형 microplate에 넣고 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>) 중에서 3시간 배양하였다. 배양 후 각 well의 배양액을 잘 혼합해서 50  $\mu\text{l}$ 를 sabouraud-dextrose agar배지로 옮겨 35°C에서 24시간 배양 후 살아있는 *C. parapsilosis*의 집락수를 세어 대식세포에 의해 탐식된 *C. parapsilosis*의 균수를 표시하였다.

**Plaque forming cell (이하 PFC) 측정**

항체 생산능을 보기 위해서 실시한 항체생산세포의 검색은 Fig. 1에서와 같이 약물투여는 10일간 행하고 6일째에 SRBC를  $1 \times 10^9$  cells/ml로 되게 조정하여 mouse의 복강에 0.2 ml 주사했다. 4일 후 비장을 적출하여 세포부유액으로 만들어 3회 세척 후, 각각  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  cell/ml가 되도록 조정된 spleen cells (200  $\mu\text{l}$ )와 10% SRBC (36  $\mu\text{l}$ ), guinea pig complement (21  $\mu\text{l}$ ) 그리고 5% FCS-HBSS(Hanks balanced salt solution)액(143  $\mu\text{l}$ )를 혼합하여, 제작한 cunningham chamber에 넣어 37°C에서 1 시간 배양한 후, 투명한 용혈반(plaque)수를 세어 항체생산 세포수를 산정하였다.

**Rosette forming cell (이하 RFC) 측정**

비장세포의 rosette형성 세포의 검사는 비장세포 부유액 ( $2 \times 10^7$  cell/ml) 200  $\mu\text{l}$ 와 1% SRBC부유액 200  $\mu\text{l}$ 를 시험관에 넣고 혼합하여 1,700 rpm에서 원심분리한 후, 이것을 다시 부유시켜 혈구계산반에 주입하여 RFC의 검정으로 관찰하였다. 현미경상에서 비장세포에 SRBC가 3개 이상 부착된 세포를 RFC로 판정하여 다음 공식에 준하여 계산하였다.

$$\text{RFC per ml in rosette mixture} / \text{Viability} \times 10 \\ = \text{RFC} / 10^6 \text{ viable nucleated cells}$$

**Mitogen 활성반응실험**

BALB/c mouse로부터 비장을 적출하여, RPMI<sup>®</sup>1640 배지 중에서 100 mesh 망으로 분쇄하여 단세포 부유액을 만들었다. 이 부유액을 RPMI<sup>®</sup>1640 배지로 3회 세척후, hemocytometer로 cell의 수를 세고, completed RPMI<sup>®</sup>10 배지(10% FBS 함유 RPMI<sup>®</sup> 1640에 2 mM L-glutamine, 50  $\mu\text{M}$  2-Mercaptoethanol이 함유된 배지)로  $2 \times 10^6$ /ml의 최종 농도로 조제하여 사용하였다.

Mitogen으로는 Concanavalin A(Con A)와 Lipopoly-saccharide(LPS, *E. coli* origin)를 RPMI<sup>®</sup>1640 배지에 각각 용해 (100  $\mu\text{g/ml}$ )하여, 여과멸균하고 이 액을 completed RPMI<sup>®</sup>10 배지로 희석하여 사용하였다. 96-well microplate위에 적당한 농도로 희석된 시료(최종농도:100, 300, 1,000  $\mu\text{g}$ )를 각 well에 50  $\mu\text{l}$

씩 넣은 후, 비장세포 부유액을 50  $\mu$ l씩 가하고 배지, Con A, LPS 용액을 각각 3  $\mu$ l씩 각각의 well에 첨가한 후, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C, 24시간 배양하였다. 배양 종료 4시간전에 각각의 well에 <sup>3</sup>H-thymidine (<sup>3</sup>H-TdR, specific activity: 50 Ci/mmol, ICN)을 0.5  $\mu$  Ci씩 가하였다. Cell harvester(Millipore사)를 이용하여 세포를 흡입여과하고, glass filter paper위에 세포를 떨어뜨리고 10분간 여과건조후 liquid-scintillation counter (Beckmann-LS6000, U.S.A.)를 이용하여 방사선 양을 측정하여 (<sup>3</sup>H)-TdR의 incorporation정도를 측정하였다.

### 통계처리

각 실험에 대한 통계처리는 Student's t-test에 의하였으며, 실험치의 표현은 Mean  $\pm$  S.D.로 하였고, p-value가 최대치 0.05 이하인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

## 결과 및 고찰

### Macrophage의 탐식능

생리활성을 가지는 다당류의 대부분은 항종양에 대한 활성을 나타내고 있으며 다당류의 구조에 따라 다른 작용메카니즘을 나타내고 있음은 특이할 만한 사실이다. 또한 항종양에 대한 특성을 가짐은 물론이거니와 면역계를 활성화시키는 특성 또한 배양방법에 따라 얻어지는 다당류에 따라 각기 다른 면역역활성을 나타낼 수 있다. 이에 본 동물실험에서는 IP 및 EP투여에 대한 기초면역특성을 PEC, SP 및 ML에 대한 대식세포의 탐식능으로 판단하였다. 그 결과(Table 1), PEC군에서는 EP를 투여한 경우 대조군에 비해 33%(P<0.05)~50%(P<0.01)의 탐식증강효과를, IP는 6.6~13.3%의 탐식증강효과를 나타내었다.

SP에서의 탐식능의 결과는 대조군에 비해 EP는 58%(P<0.01)~90%(P<0.01), IP는 16~37%(P<0.05)로 나타났고, ML에서, EP는 117, 167%(P<0.01), IP는 67, 100%(P<0.05)의 범위로 유의성이 인정되었다. 탐식능은 IP보다 EP를 투여한 경우에서 더 높은 탐식능을 보여 주었으며, 투여량에서 볼 때 1 mg을 투여한 것보다 10 mg을 투여한 군에서 증강된 경향을 나타내었다. 이러한 결과에 대해 배 등(5)의 보고에 의하면, 담자균에서 추출한 다당류들의 탐식작용에 대하여, 말초 림프세포와 PEC에 존재하는 마크로파아지의 활성화 작용으로 인한 탐식능 증강효과로 추측하고, 비장세포에 의한 탐식능의 증가효과는 활성세포의 이동에 의한 것이라기 보다는 비장세포에 대해서 직접 작용할 가능성이 높은 것으로 추측하였는 바, 본 실험의 결과에서 IP 및 EP가 말초 림프세포, PEC 이외에도 비장세포의 탐식작용에도 강한 영향을 미치고 있음을 보여 주었다. 또한 김 등(3)과 이 등(8)은 대식세포가 탐식 가능한 항원을 탐식케하여 항원의 제거와 항원이 표면에 제시됨에 따라 T 및 B세포에 전달하는 과정에 탐식이 선행되어야 하기 때문에 탐식능은 대식세포의 항미생물 기능 및 항종양 기능의 기본적인 지표라고 하였고, 탐식과정 중에 이물질이 대식세포 표면에 부착되는 동안 대식세포의 수많은 수용성 면역인자들이 방출되어 탐식기능을 돕는다고 보고하였다. 따라서 본 동물실험에서 IP·EP투여에 따른

**Table 1.** Effect of polysaccharide extracted from *Agrocybe cylindracea* on phagocytic activity of peritoneal exudate cells (PEC), spleen cells (SP) and monolymphocytes(ML).

Group	Phagocytosis (%)		
	PEC	SP	ML
Control group	30 $\pm$ 2.0	19 $\pm$ 1.0	12 $\pm$ 1.0
Extracellular group			
EAC I	40 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>	30 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	26 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>
EAC II	45 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup>	36 $\pm$ 3.5 <sup>a</sup>	32 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>
Intracellular group			
IAC I	32 $\pm$ 0.5	22 $\pm$ 0.5	20 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>
IAC II	34 $\pm$ 1.5	26 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>	24 $\pm$ 3.5 <sup>b</sup>

The samples were orally fed to BALB/c mice for 10 days. The mice were immunized with SRBC at 4 days before assay. Each value is mean  $\pm$  S.D. of 5 samples. <sup>a</sup> is significantly different from the control at 0.01 level. <sup>b</sup> is significantly different from the control at 0.05 level.

- Control group: 0.2 ml distilled water/day/mouse

- EAC I group: The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml distilled water/day/mouse.

- EAC II group: The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml distilled water/day/mouse.

- IAC I group: The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml distilled water/day/mouse.

- IAC II group: The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml distilled water/day/mouse.

탐식능의 증가는 면역증강의 기초적인 자료로 이용 가능하리라 본다.

### 비장세포의 PFC 형성능

용혈반 형성은 면역화된 마우스의 SP와 SRBC 및 보체를 혼합하면 항체생산세포는 면역 글로부린을 방출하고 방출된 면역 글로부린은 주위의 적혈구와 결합한다. 여기에 보체가 결합할 때, 항체를 형성한 적혈구는 용해되고 적혈구가 없어진 plaque는 항체생산세포를 둘러싸고 있게되는 현상을 볼 수 있다. 따라서 SP의 PFC 형성능은 간접적인 방법으로 항체 생성능을 측정하는 지표로 볼 수 있다. 이에 SRBC로 면역시킨 마우스에 액체배양에서 추출분리한 IP·EP를 식이시킨 후, 비장을 적출하여 IP·EP가 항체생성에 미치는 영향을 PFC로 측정한 결과를 Table 2에 표시하였다. PFC형성에 미치는 IP·EP의 영향과 그 농도의 영향을 살펴보기 위해 각기 다른 비장세포수를 이용하여 형성능을 비교하였다. PFC형성능은 대조군에 비해서 EAC I 군은 3.6~7.3%, EAC II 군은 46~50%(P<0.01), IAC I 군에서 49~70%(P<0.01)를 비롯하여, IAC II 군에서는 2.7~3.3%의 전체적인 증가경향을 보여주었다. 식이농도에 따른 PFC 형성능 비교는 EP의 경우, 농도 의존적으로 월등한 형성능을 나타내었고, 소량의 IP를 식이한 경우 PFC 형성능은 우수하였으나 농도를 증가시키기에 따라 그 형성능은 감소하는 경향을 보였다. 따라서 IP 및 EP의 식이에 따른 항체생성능은 면역계에 있어서 우

**Table 2.** Effect of polysaccharide extracted from *Agrocybe cylindracea* on the plaque forming cell after the anti-SRBC response in BALB/c.

Group	Number of PFC/1 × 10 <sup>7</sup> Spleen cell	Number of PFC/5 × 10 <sup>6</sup> Spleen cell
Control group	224 ± 11	151 ± 10
Extracellular group		
EAC I	232 ± 14	162 ± 13
EAC II	328 ± 16 <sup>a</sup>	227 ± 14 <sup>a</sup>
Intracellular group		
IAC I	334 ± 15 <sup>a</sup>	257 ± 14 <sup>a</sup>
IAC II	230 ± 12	156 ± 12

The samples were orally fed to BALB/c mice for 10 days. The mice were immunized with SRBC at 4 days before assay. Each value is mean ± S.D. of 5 samples. <sup>a</sup> is significantly different from the control at 0.01 level.

- Control group: 0.2 ml D.W./day/mouse
- EAC I group: The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.
- EAC II group: The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.
- IAC I group: The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.
- IAC II group: The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.

수한 면역증강을 나타내고 있는 반면 식이량에 따라 서로 다른 양상을 보여 주고 있는 것으로 보아 보다 심도 있는 실험이 요구될 것으로 생각된다.

**비장세포의 RFC형성능**

항체 생성능을 측정하기 위한 또 한가지 방법인 RFC를 측정한 결과는 Table 3과 같이 나타내었다. RFC형성능은 대조군에 비하여 IAC I 군이 91%(P<0.01), EAC II군이 43%(P<0.01), EAC I군이 33%(P<0.01)으로 전체적으로 높은 형성능을 보여 IP 및 EP의 식이에 따른 높은 항체생성 증강효과가 기대 되었으며, IAC II군은 13%로 증가시켰으나 유의성은 없었다.

이러한 사실로 볼 때, IP 및 EP의 식이에 따른 PFC와 RFC 형성능의 증가는 IP가 마크로파아지를 자극함으로 인해서 간접적으로 B세포가 활성화시키는 결과(4)와 일치되는 결과로 생각되며, 조 등(12)이 구름버섯의 다당체가 항체 생성과 지연성 과민반응 등의 다양한 면역반응을 상승시키거나 회복시킨다는 보고와도 관련성이 있다고 본다. 따라서 본 실험에서 다당류 투여군이 항체생성 증강효과가 높은 것으로 나타났으므로 기초면역계에 있어서 면역증강의 충분한 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

**Mitogen활성**

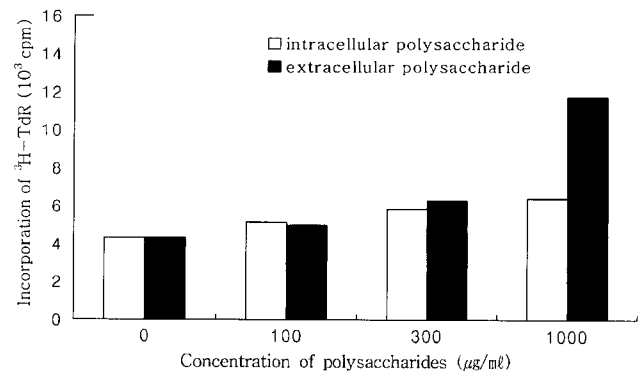
생체에 있어서 면역기능을 담당하는 비장세포는 림프구, 마크로파지, 백혈구등으로 이루어져 있으며 마우스에서의 비장세포

**Table 3.** Effect of polysaccharide extracted from *Agrocybe cylindracea* on rosette forming cell after the anti-SRBC response in BALB/c.

Group	Number of RFC/2×10 <sup>7</sup> Spleen cell
Control group	87 ± 9
Extracellular group	
EAC I	116 ± 5 <sup>a</sup>
EAC II	124 ± 5 <sup>a</sup>
Intracellular group	
IAC I	166 ± 12 <sup>a</sup>
IAC II	98 ± 12

The sample were orally fed to BALB/c mice for 10 days. The mice were immunized with SRBC at 4 days before assay. Each value is mean ± S.D. of 5 samples. <sup>a</sup> is significantly different from the control at 0.01 level.

- Control group: 0.2 ml D.W./day/mouse
- EAC I group: The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.
- EAC II group: The extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.
- IAC I group: The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.
- IAC II group: The intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml D.W./day/mouse.



**Fig. 2.** Mitogenic activity of *Agrocybe cylindracea* extra and intracellular polysaccharides in BALB/c spleen cell 24 hrs. Spleen cells were cultured with the addition of various concentrations the polysaccharides for 1 day. Activity is presented as cpm of <sup>3</sup>H-TdR

는 35%가 T 세포, 40%정도가 B 세포, 나머지는 백혈구와 마크로파지로 구성되어 있다. 이러한 구성으로 되어 있는 비장세포에서 Mitogen에 의한 세포증식효과(Direct proliferation assay)는 전반적인 면역증강을 나타내는 효과로 설명할 수 있다. 따라서 균사체내·외 다당류의 Mitogen활성은 비장세포 배양을 통해서 DNA합성에 (<sup>3</sup>H)-TdR의 incorporation정도로 측정하였다. 배양경과에 따른 결과는 Fig. 2와 같다. Mitogen활성도는 대조구(무첨가구)에 비해서 균사체 다당류를 첨가한 구에서 세포증식이 어느 정도 활성화된 것을 볼 수 있었으며, 첨가 다당류의 농도에 비례해서 점차적으로 증식되는 것으로 나타났다. 특히

IP에 비하여 EP의 증식효과가 뛰어나다는 것이 확인되었고, EP의 경우(1,000 µg/ml), 그 증식도는 대조구(무첨가구)에 비교하여 2.5배 이상의 증식 효과를 나타내었다.

### 감사의 글

본 연구는 과학기술처 선도기술개발사업비의 지원에 의하여 수행된 결과의 일부로서 이를 수행할 수 있도록 지원하여 주신 것에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. 김선희, 정인창, 김소연, 이종숙, 조현제, 이항우, 이재성. 1999. *Agrocybe cylindracea*로부터 분리한 다당류의 정제와 특성. 한국균학회지 27(2), 100-106.
2. 김성환, 김을상, 김영식. 1995. 영지버섯에서 분리한 항암성 다당체에 관한 연구. 한국영양과학회지 24(1), 147-153.
3. 김숙희, 김하원, 최웅칠, 김병각. 1995. 말버섯의 Collyban 에 관한 면역학적 연구. 균학회소식 17(2), 11-26.
4. 배만중. 1996. 고등균류 배양 및 이용기술, 고등균류의 알레르기 저감화 및 면역조절 기능성 탐색연구. 선도기술개발연구보고서.
5. 배만중, 박무희, 이재성. 1996. 고등균류 균사체의 면역조절 가능성에 관한 연구. 한국균학회지 24(2), 142-148.
6. 이권행, 이준우, 한만덕, 정훈, 김영일, 오두환. 1994. *Ganoderma lucidum* IY009로부터 분리된 항암성 다당류의 약리 및 독성. 한국산업미생물학회지 22(2), 190-196.
7. 이신영. 1996. 버섯유래 항암 다당류의 특성과 생산. 생물공학뉴스 3(2), 95-109.
8. 이인선, 하영득. 1994. 생약제가 면역세포 활성화에 미치는 영향. 한국영양과학회지 23(1), 150-155.
9. 이재성, 박신, 박경숙. 1989. *Agrocybe cylindracea*의 영양배지 조성 및 배양조건의 최적화. 한국식품과학회지 21(3), 399-403.
10. 정경수. 1995. 버섯류의 생리활성 성분. 식품과학과 산업 . 28, 29-36.
11. 정인창, 김선희, 권용일, 이재성. 1996. 곡물을 이용한 영지버섯의 균사체 배양조건. 한국균학회지 24(1), 81-88.
12. 조희정, 심미자, 최웅칠, 김병각. 1988. 한국산 고등균류의 성분연구 (제 57 보) - 구름버섯의 항암 성분의 비교. 한국균학회지 16(3), 162-174.
13. Chihara, G., J. Hamaro, Y. Maeda, Y. Arai, and F. Furuoka. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with warked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes*(Berk) Sing. *Cancer Res.* 30, 2776-2781.
14. Hyun, J. W. 1993. Studies on antitumor components of *Agrocybe cylindracea*. Ph. D.thesis University of seoul national, Korea.
15. 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.
16. 小松晴弘, 小野尚于之 1984. 貧食能測定法-マウス腹腔細胞および *candida parapsilosis* (CP)을 이용하여-炎炳, 4(4), 379.
17. Miyazaki, T., T. Oikana, H. Yadomae, H. Yamada, Hong-Yon, and H. Ito. 1979. Relationship between the chemical structure and antitumor activity of glucan prepared from *Grifola umbellata*. *Carbohydrates Res.* 69, 165-170.
18. Suzuki, I., K. Hashimoto, S. Oikawa, K. Sato, M. Osawa, and T. Yadomae. 1980. Antitumor and immunomodulating activities of a  $\beta$ -glucan obtained from liquid-cultured *Grifola flondosa*. *Chem. Pharm. Bull.* 37, 410-413.
19. Tadashi K., I. Masahiko, N. Katsnyumi, H. Chihiro, and U. Shigeo. 1987. Polysaccharides in Fungi XX. Structure and antitumor activity of a Branched(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Glucan from alkaline extract of *Yu er*. *Chem. Pharm. Bull.* 35(10), 4286-4293.
20. Tadashi K., Y. Isao, N. Katsuyuki, U. Shigeo, and H. Chihiro. 1989. (1-3)- $\alpha$ -D-Glucan from alkaline extract of *Agrocybe cylindracea*, and antitumor activity of its -O-carboxy methylated derivatives. *Carbohydrate Research.* 189, 273-279.

### ABSTRACT: Immunopotentiating Effect of Polysaccharides Extracted from *Agrocybe cylindracea*

Seon-Hee Kim, Hang-Woo Lee<sup>1</sup>, Man-Jong Bae<sup>2</sup>, and Jae-Sung Lee\*(Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam Univ. Kyongsan, 712-749, Korea, <sup>1</sup>Dept. of Biology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea, <sup>2</sup>Dept. of Food Science, Kyungsan University, Kyungsan 713-702, Korea)

The immunopotentiating effects of the polysaccharides, both intracellular and extracellular, was examined by an animal feeding test. The results are summarized as follows. The oral administration of intracellular and extracellular polysaccharides of *Agrocybe cylindracea* for 10 days resulted in the enhanced phagocytic activity of peritoneal exudate cells(PEC), spleen cells(SC), and monolymphocytes(ML). In the experiment of PFC(plaque forming cell) and RFC(rossette forming cell), the results showed that all the polysaccharide fractions enhanced the immune related cells. The EAC II group(the extracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 10 mg/0.2 ml distilled water/day/ mouse) increased the PFC and RFC by 46~50% and 43%, respectively, compared to the control group. On the other hand, the IAC I group(the intracellular polysaccharide of *Agrocybe cylindracea* 1 mg/0.2 ml distilled water/day/mouse) increased the PFC and RFC by 49~70% and 91%, respectively. In terms of the mitogenic activity, the extracellular polysaccharides of *A. cylindracea* showed a higher activity than the intracellular polysaccharides.