

## 흰목이(*Tremella fuciformis*)에서 추출한 조다당류의 면역 활성화 및 항암 효과

오윤희 · 김상범 · 이건우 · 김혜영 · 심미자<sup>1</sup> · 노현수<sup>2</sup> · 이현숙<sup>2</sup> · 이민웅<sup>3</sup> · 이우윤 · 이태수\*

인천대학교 생물학과, <sup>1</sup>서울시립대학교 생명과학과, <sup>2</sup>경상대학교 미생물학과, <sup>3</sup>동국대학교 생물학과

## The Immuno-Modulatory and Antitumor Effects of Crude Polysaccharides Extracted from *Tremella fuciformis*

Yun Hee Oh, Sang Beom Kim, Gun Woo Lee, Hye Young Kim, Mi Ja Shim<sup>1</sup>, Hyun-Su Rho<sup>2</sup>,  
Hyun Sook Lee<sup>2</sup>, Min Woong Lee<sup>3</sup>, U Youn Lee and Tae Soo Lee\*

Department of Biology, University of Incheon, Incheon 402-749, Korea

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

<sup>2</sup>Department of Microbiology, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>3</sup>Department of Biology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

(Received November 27, 2006)

**ABSTRACT:** *Tremella fuciformis*, one of edible and medicinal mushroom belonging to Tremellaceae of Basidiomycota, has been known to have a curative effect on sarcoma 180 of mice and lowering high blood pressure of human beings. Neutral salt soluble [0.9% NaCl (Fr. NaCl)], hot water soluble (Fr. HW) and methanol soluble (Fr. MeOH) substances were extracted from *Tremella fuciformis*. *In vitro* cytotoxicity tests, Fr. HW and Fr. NaCl were not cytotoxic against cancer cell lines such as NIH3T3, Sarcoma 180, and HT-29 at the concentration of 2000 µg/ml, while Fr. MeOH was cytotoxic to NIH3T3 and Sarcoma 180. Intraperitoneal injection with Fr. NaCl showed antitumor effect with life prolongation of 53% in mice inoculated with Sarcoma 180. Fr. NaCl improved the immunopotential activity of B lymphocyte by increasing the alkaline phosphatase activity by 3.0~8.1 folds, respectively. Intraperitoneal injection with Fr. NaCl increased the numbers of peritoneal exudated cells and circulating leukocytes by 7.4 folds and 1.6 folds, respectively, than in the control group. The antitumor effect of *T. fuciformis* against Sarcoma 180 of mice was likely due to immunopotential activity.

**KEYWORD:** Antitumor effect, Crude polysaccharides, Immuno-modulatory, *Tremella fuciformis*

흰목이(*Tremella fuciformis* Berk.)는 봄부터 가을에 걸쳐 활엽수의 고목, 마른 가지 및 줄기 위에 발생하는 목재 부후성 버섯으로 한국, 일본, 중국, 인도, 유럽 및 북아메리카 등 전 세계에 걸쳐 널리 분포하고 있다. 자실체의 형태는 3~8×2~5 cm의 겹꽃모양으로 반투성의 아교질이다. 표면은 평활한 백색이며 자실체의 가장자리는 물결모양으로 이루어져 있다. 예로부터 중국에서는 이 버섯을 상식하면 면역체계가 활성화되어 암과 노화를 막는 것은 물론 고혈압이나 동맥경화도 예방할 수 있다고 하여 버섯시장에서 인기가 높은 버섯이다(박·이, 1999, Ying 등, 1993).

예로부터 버섯은 인체에 중요한 각종 영양성분을 골고루 함유하고, 맛과 향이 뛰어나며, 광범위한 약리 작용을 갖고 있어서 전통식품 및 민간약의 재료로 널리 이용되어 왔다(Chang *et al.*, 1989). 일반적으로 버섯의 약리학적 효과는 면역 증강작용, 인체의 항상성 유지 및 성인병 예

방효과가 있으며 최근에는 콜레스테롤의 감소, 항혈전 작용과 혈압 및 혈당강하에도 효과가 있는 것이 보고되었다. 또한 버섯은 여러 종류의 항암작용을 나타내는 물질도 함유하고 있는 것이 보고되었으며 그 주된 물질은 다당체라는 것이 밝혀졌다(이 등, 1992; 우 등, 1983).

버섯의 항암성분에 관한 연구는 1960년 Roland 등이 큰칼장버섯(*Calvatia gigantea*)으로부터 함암성분인 calvacin을 분리하여 보고한 이후 Chihara 등(1970)이 표고(*Lentinus edodes*)의 자실체로부터 β-1,3-glucan인 lentinan을 추출하여 이 다당 성분이 Sarcoma 180 종양에 강한 억제효과를 나타내는 것을 보고하였다. 최근 심 등(2003a)은 우리나라의 매미눈꽃등충하초(*Paecilomyces sinclairii*)의 자실체에서 분리한 중성염 추출물이 Sarcoma 180의 증식을 강하게 억제한다는 것을 밝혔으며, 후에 심 등(2003b)은 삼색도장버섯(*Daedaleopsis tricolor*) 자실체의 중성염 추출물도 Sarcoma 180에 대해 강한 억제 효과를 갖고 있다는 것을 보고하였다.

\*Corresponding author <E-mail: tslee@incheon.ac.kr>

따라서 최근 버섯에서 추출한 유용물질은 섭취하게 되면 면역성이 증가되어 암을 비롯한 여러 성인병으로부터 보호가 가능하다는 것이 알려짐에 따라 다양한 버섯으로부터 물질을 추출하여 검색하는 연구가 활성화되었다.

따라서 본 연구에서는 흰목이로부터 추출한 중성염용액(0.9% NaCl), 80% 메탄올 및 열수 성분을 이용하여 *in vitro*와 *in vivo*에서 생쥐를 대상으로 항암능력이 향상되고 면역이 활성화되는지를 알아보려고 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 흰목이(*Tremella fuciformis*)는 서울의 경동시장에서 건조한 자실체를 구입하여 실험에 사용하였다.

### 성분의 추출 및 분리

흰목이로부터 조다당류의 추출은 중성염용액(0.9% NaCl), 80% 메탄올 및 열수를 이용하여 조 등(1995)의 방법에 따라 추출하였으며, 추출한 물질은 각각의 수율을 조사하였다.

분쇄한 흰목이 자실체 500 g을 80% 메탄올 용액에 침지하여 48시간 동안 상온에서 추출한 후, 메탄올 추출물을 여과한 다음 감압 농축하고 동결건조하여 메탄올 추출물인 'Fr. MeOH'을 얻었다. 메탄올 추출물을 제거하고 남은 자실체에 0.9% NaCl 용액을 2 l 첨가하여 24시간 동안 침지시켜 2회 반복 추출하였다. 이 추출물을 여과한 다음 동결건조하고 300 ml의 3차 증류수를 가하여 용해시킨 후 투석막을 사용하여 4°C에서 48시간 동안 투석하였다. 투석막 내 액에 4배 용량의 에탄올을 가한 뒤 4°C에서 24시간 동안 정치시킨 후 원심 분리하여 침전물을 얻었고 이 침전물은 증류수 300 ml로 용해시켜 위의 방법으

로 재투석하고 동결건조하여 중성염용액 추출물인 'Fr. NaCl'을 얻었다.

분쇄한 자실체 500 g에 3차 증류수 5 l를 첨가하여 95°C에서 10시간 동안 추출하였다. 추출액에 4배의 에탄올을 첨가하여 4°C에서 24시간 동안 정치시킨 후 원심 분리하였다. 침전물은 3차 증류수 500 ml에 용해시켜 4°C에서 48시간 동안 투석한 후 투석막 내 액을 동결건조하여 실험에 사용한 열수 추출물인 'Fr. HW'을 얻었다(Fig. 1).

### 세포독성 실험

실험에 사용한 세포주는 정상세포로는 마우스 섬유아세포 NIH3T3, 암세포로는 인간 대장암세포 HT-29 및 마우스 육종암세포 Sarcoma 180을 사용하였으며, 세포독성 실험은 Denizot 등(1986)의 방법에 따라 수행하였다. HT-29와 NIH3T3 세포는  $1 \times 10^5$  cells/ml의 세포를 96 well microtiter plate에 100  $\mu$ l씩 주입한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 각 추출물의 농도가 10~2000  $\mu$ g/ml이 되도록 조정된 후 100  $\mu$ l씩 세포에 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 5 mg/ml의 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide(MTT) solution을 10  $\mu$ l를 각 well에 첨가한 후 4시간 동안 암 상태로 배양하였다. 푸른색의 MTT formazan이 생성되면 dimethylsulfoxide(DMSO) 100  $\mu$ l로 용해시켜 ELISA plate reader를 이용하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

Sarcoma 180은  $2 \times 10^5$  cells/ml의 세포를 96 well microtiter plate에 50  $\mu$ l씩 주입하고 각 추출물의 최종 농도를 10~2000  $\mu$ g/ml이 되도록 암세포에 처리하여 최종 용적이 100  $\mu$ l가 되도록 하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양하였다. 1 mg/ml 2,3-bis(2-methoxyl-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide(XTT) solution 당 25  $\mu$ M phenazine methosulfate가 포함된 용액을 well 당 30  $\mu$ l씩 처리하여 암 조건에서 2시간 배양한 후 ELISA plate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 실험군의 흡광도를 대조군의 흡광도와 비교하여 생존율을 구하였고, 50% inhibition concentration(IC<sub>50</sub>)은 실험군이 대조군에 비해 생존율이 50% 감소하는 값을 의미한다.

$$\text{Viability (\%)} = (T - B) / (C - B) \times 100$$

T : 실험군의 평균 흡광도

C : 대조군의 평균 흡광도

B : Blank

### 수명연장 실험

Sarcoma 180을  $5 \times 10^6$  cells/ml이 되도록 부유시켜 0.2 ml 씩( $1 \times 10^6$  cells/mouse) ICR 마우스의 복강에 이식하여 복수암을 유발시키고 Sarcoma 180을 이식한 24시간 후

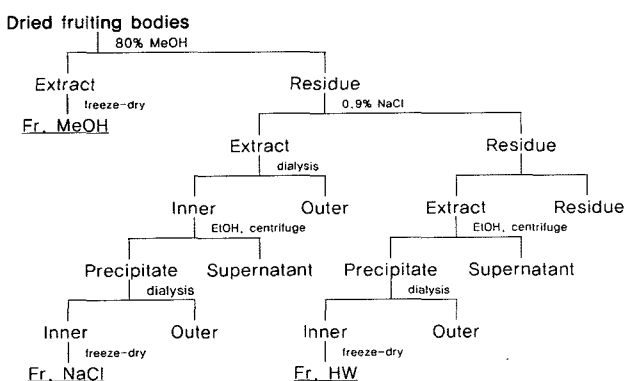


Fig. 1. The extraction procedures to obtain crude extracts from *Tremella fuciformis*. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol.

부터 20 mg/kg body weight 농도의 추출물을 생리식염수에 용해시켜 0.22  $\mu\text{m}$ 의 membrane filter로 여과시킨 후 각각의 추출물을 매일 1회 10일간 복강 내에 0.2 ml씩 투여하였다. 대조군에는 같은 기간, 동량의 생리식염수를 투여하였으며, Sarcoma 180 최종 투여 후 32일까지 관찰하여 평균 수명 일수를 계산하고 다음 식으로 increase of life span(ILS)을 계산하여 암세포의 성장 억제 효과를 평가하였다.

$$ILS = [(T - C)/C] \times 100$$

C : 대조군의 평균 수명 (일)

T : 실험군의 평균 수명 (일)

#### 마우스의 B 림파구 활성화에 미치는 영향

Ohno 등(1986)의 방법에 따라 분화된 B 림파구의 표면에 발현되는 alkaline phosphatase를 측정하였다. 준비된 비장세포를  $1 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 조정하여 well 당 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하고 50, 200, 500  $\mu\text{g/ml}$ 의 추출물과 양성 대조군으로 5, 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 LPS(lipopolysaccharide)를 가함으로써 최종 부피가 200  $\mu\text{l}$ 가 되도록 하였다. 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 48시간 배양한 후, 세포 배양액을 원심분리하고 침전물에 1 mM MgCl<sub>2</sub>를 포함한 50 mM sodium carbonate buffer(pH 9.0)에 1 mg/ml이 되도록  $\rho$ -nitrophenyl phosphate를 첨가한 용액을 100  $\mu\text{l}$ 씩 가한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 1시간 반응시켰다. 빙냉의 0.3 N NaOH 용액 50  $\mu\text{l}$ 를 가하여 반응을 종결시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며 다음 식에 따라 계산하였다.

Alkaline phosphatase activity

$$(\rho\text{-nitrophenol } \mu\text{mol}/1 \times 10^5 \text{ lymphocytes}/60 \text{ mins.}) \\ = 1.15 \times \text{O. D. at } 405 \text{ nm}$$

#### 총 복강세포 수에 미치는 영향

6주령의 ICR 웅성 마우스를 실험군과 대조군으로 나누어 3일간 연속으로 10, 20, 50 mg/kg body weight의 농도로 추출물을 복강 내에 투여하였고, 대조군은 생리 식염수를 투여하였다. 추출물 투여 최종일로부터 24시간 후 마우스를 경추탈골시켜 10 ml의 PBS buffer(pH 7.2)로 복강 내를 세척한 다음 복강 세포를 채취하여 Turk's solution으로 염색한 후 혈구계수기를 이용하여 측정하였다.

#### 혈 중 백혈구 수와 면역 장기 중량에 미치는 영향

6주령의 ICR 웅성 마우스를 실험군과 대조군으로 나누어 10일간 연속으로 복강 내에 10, 20, 50 mg/kg body weight의 농도로 추출물을 투여하였으며, 대조군은 생리 식염수를 투여하였다. 추출물 투여 최종일로부터 2일 후 심장체혈하여 혈액을 채취하여 Turk's solution으로 염색

하여 혈구계수기로 백혈구 수를 측정하였다. 또한 간, 비장 및 흉선을 적출하여 중량을 측정하였고 상대장기 중량은 장기의 중량을 부검 전 체중으로 나누어 백분율로 산출하였다.

## 결과 및 고찰

### 성분의 추출 및 분리

흰목이버섯 추출 방법에 따른 각 추출물의 수득율을 비교하였을 때 중성염용액 추출물과 열수 추출물은 각각 1.43%와 3.26%의 수득율을 나타내었으며, 메탄올 추출물은 8.84%로 가장 높은 수득율을 나타내었다(Table 1).

### 수명 연장 효과

흰목이버섯 추출물이 생체에서 마우스 육종암세포인 Sarcoma 180에 미치는 효과를 분석한 결과(Table 2), 대조군의 평균 생존 일수는 17.4일이었으며, 중성염용액 추출물을 투여한 실험군의 평균 생존일수는 26.7일로 53%의 생명 연장 효과를 나타내었다.

담자균에서 분리된 다당체가 Sarcoma 180에 대한 높은

**Table 1.** Recovery rate of crude extracts from *Tremella fuciformis* by various extraction methods

Fraction <sup>a</sup>	Weight of the used mushroom (g)	Weight of extract (g)	Recovery rate <sup>b</sup> (%)
Fr. NaCl	500	7.17	1.43
Fr. HW	500	16.31	3.26
Fr. MeOH	500	44.22	8.84

<sup>a</sup>Fr. NaCl; Fraction extracted with 0.9% NaCl solution, Fr. HW; Fraction extracted with hot water, Fr. MeOH; Fraction extracted with 80% methanol.

<sup>b</sup>Recovery rate (%) = [Weight of extract (g)/Weight of the used mushroom (g)]  $\times$  100.

**Table 2.** Effect of crude extracts from *Tremella fuciformis* on the life span of ICR mice inoculated with Sarcoma 180 (i.p. injection<sup>a</sup>)

Group <sup>b</sup>	Dose (mg/kg body weight)	Survival days <sup>c</sup>	ILS (%) <sup>d</sup>
Control	0	17.40 $\pm$ 0.76	-
Fr. NaCl	20	26.70 $\pm$ 2.62	53.4
Fr. HW	20	20.30 $\pm$ 1.65	16.7
Fr. MeOH	20	18.90 $\pm$ 0.74	8.6 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>i.p. intraperitoneal injection.

<sup>b</sup>Fr. NaCl; Fraction extracted with 0.9% NaCl solution, Fr. HW; Fraction extracted with hot water, Fr. MeOH; Fraction extracted with 80% methanol.

Each experimental group consisted of 10 mice.

<sup>c</sup>Survival days of each animal in experimental group were counted individually and the mean survival days (M  $\pm$  S.E. : mean  $\pm$  standard error) of each groups were calculated.

<sup>d</sup>ILS: Increase of life span.

항암력이 있다는 연구 결과 보고(Tsugagoshi *et al.*, 1974)와 락티코 버섯(*Daedalea dickinsii*)의 열수 추출물이 30.88%의 생명 연장 효과를 나타내었다는 실험결과로 보

아 본 실험 결과 흰목이의 중성염용액 추출물이 Sarcoma 180 복수암에 항암효과가 있다고 판단된다.

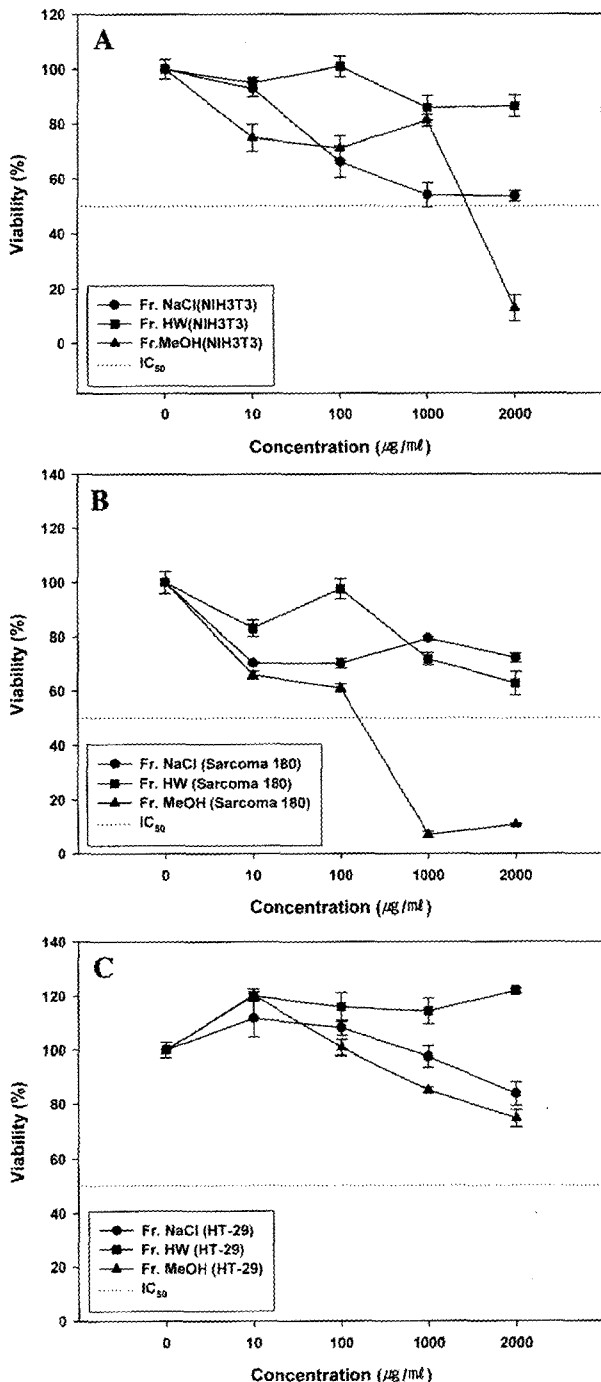
**세포독성효과**

정상세포와 암세포에 대한 흰목이 추출물의 직접적인 세포독성 실험을 한 결과(Fig. 2) 정상세포주인 NIH3T3과 마우스 육종암세포 Sarcoma 180에 대하여 중성염용액 추출물과 열수 추출물은 2000  $\mu\text{g/ml}$ 의 높은 농도에서도 세포독성을 나타내지 않았으나, 메탄올 추출물은 2000  $\mu\text{g/ml}$ 의 높은 농도에서 세포독성을 나타내었다. 인간 대장암세포 HT-29에 대하여는 모든 추출물이 2000  $\mu\text{g/ml}$ 의 높은 농도에서도 세포독성을 나타내지 않았고 오히려 10~2,000  $\mu\text{g/ml}$ 에서 세포수가 약간 증가되는 경향을 나타내었다. 이 실험 결과 중성염용액 추출물이 정상세포에 세포독성이 없다는 것을 알았으며, 생체에서 마우스 육종암세포인 Sarcoma 180에 미치는 효과를 분석한 결과와 비교하였을 때 Sarcoma 180 세포의 증식 억제효과라기 보다는 면역 활성 증가 효과라고 사료된다.

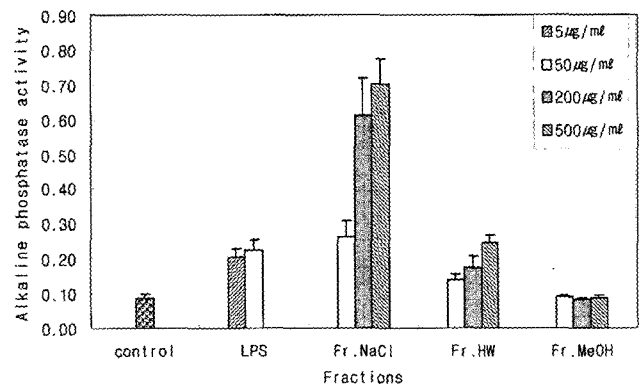
**면역 활성 효과**

**마우스 B 임파구 활성화에 미치는 영향.** B 임파구 활성화 시 분해되는 alkaline phosphatase의 양을 측정된 결과(Fig. 3) 중성염 용액 추출물과 열수 추출물이 50~500  $\mu\text{g/ml}$ 의 각 농도에서 대조군의 alkaline phosphatase에 비해 3.0~8.1배 높은 활성을 나타냈고, 특히 50  $\mu\text{g/ml}$  농도의 중성염 용액 추출물은 LPS의 50  $\mu\text{g/ml}$  농도와 유사한 수치를 보였다.

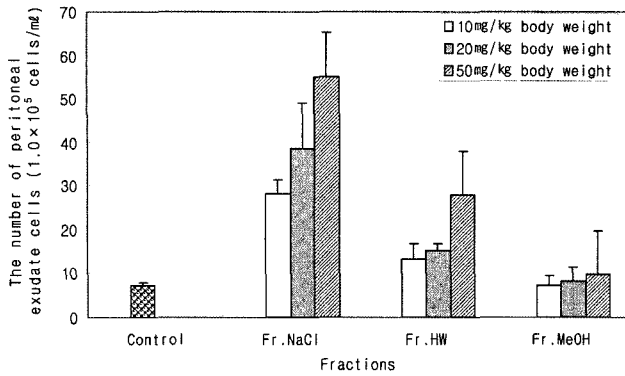
표고와 영지의 원형질 융합체 P22를 배양한 군사체로부터



**Fig. 2.** *In vitro* cytotoxicity of fractions extracted from *Tremella fuciformis* against (A) NIH3T3, (B) Sarcoma 180, (C) HT-29. Cytotoxicity was measured after 24 hours of incubation. Concentration of cells was  $1 \times 10^4$  cells/well. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol. IC<sub>50</sub> means 50% inhibition concentration.



**Fig. 3.** Effect of fractions extracted from *Tremella fuciformis* on the alkaline phosphatase activity in the murine spleen cells. Alkaline phosphatase activity was calculated as follows : Alkaline phosphatase activity ( $\rho$ -nitrophenol  $\mu\text{mol/l} \times 10^7$  lymphocytes/60 mins) =  $1.15 \times$  optical density at 405 nm. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol. LPS (lipopolysaccharide) was purified from *Escherichia coli* 0111:B and was used in positive control.



**Fig. 4.** Effect of Fr. NaCl extracted from *Tremella fuciformis* on the number of peritoneal exudate cells in ICR mice. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol.

터 열수 추출물에서 대조군과 비교해서 alkaline phosphatase의 활성을 1.6배 활성시켰다는 연구 보고(김 등, 1996)에 비하여 본 연구 결과가 더 높은 수치를 보였다.

B 임파구가 분비하는 alkaline phosphatase는 B cell mitogen에 의해 직접 자극을 받거나, T cell mitogen에 의한 lymphokine에 의해 간접적으로 자극 받음으로써 B 임파구가 형성되는 경우에 활성화된다(Ohno *et al.*, 1986). 그러므로 흰목이의 중성염용액추출물은 B cell 또는 T cell의 mitogen으로의 역할을 함으로써 B 임파구를 활성화시키는 것으로 판단된다.

**총 복강 세포 수에 미치는 영향.** 복강 세포 수가 대조군  $7.44 \times 10^5$  cells/ml에 비해 중성염용액 추출물은 농도

**Table 3.** Effect of crude extracts from fruiting body of *Tremella fuciformis* on the number of circulating leukocytes in ICR mice

Group <sup>a</sup>	Dose (mg/kg body weight)	No. of mice	No. of leukocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )
Control	-	10	$4.40 \pm 0.17^b$
Fr. NaCl	10	10	$5.65 \pm 0.14$
Fr. NaCl	20	10	$5.95 \pm 0.58$
Fr. NaCl	50	10	$6.94 \pm 0.62$
Fr. HW	10	10	$5.05 \pm 0.24$
Fr. HW	20	10	$6.10 \pm 0.63$
Fr. HW	50	10	$6.24 \pm 0.60$
Fr. MeOH	10	10	$4.22 \pm 0.55$
Fr. MeOH	20	10	$3.48 \pm 0.23$
Fr. MeOH	50	10	$4.26 \pm 0.52$

<sup>a</sup>Fr. NaCl; Fraction extracted with 0.9% NaCl solution, Fr. HW; Fraction extracted with hot water, Fr. MeOH; Fraction extracted with 80% methanol.

<sup>b</sup>Mean  $\pm$  S.E.

따라  $28.01 \times 10^5$  cells/ml,  $38.78 \times 10^5$  cells/ml,  $55.3 \times 10^5$  cells/ml로 증가하는 것을 볼 수 있다(Fig. 4). 이러한 복강 세포 중 polymorphonuclear leukocytes(PMN)와 macrophage는 생체 내에 염증이 생기면 식균작용을 하는 세포이며, 항원을 인지해서 T cell, B cell과 반응하여 면역을 담당한다(Gross *et al.*, 1980).

**혈액 중 백혈구 수에 미치는 영향.** 혈액 내의 백혈구 수는 대조군  $4.40 \pm 0.17$ 에 비하여 중성염용액 추출물 50 mg/kg body weight에  $6.94 \pm 0.62$ 으로 1.6배 증가하였다(Table 3).

이 실험 결과 백혈구는 면역체의 형성으로 생체를 감염

**Table 4.** Effect of crude extracts from *Tremella fuciformis* on the body and immunoorgan weight of ICR mice

	Group <sup>a</sup>									
	Control	Fr. NaCl			Fr. HW			Fr. MeOH		
Dose (mg/kg body weight)	-	10	20	50	10	20	50	10	20	50
No. of mice	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Body weight (g)	$36.08 \pm 0.79^b$	$36.38 \pm 0.65$	$33.54 \pm 1.04$	$33.52 \pm 0.74$	$34.52 \pm 1.01$	$34.07 \pm 0.92$	$35.30 \pm 1.10$	$33.55 \pm 1.25$	$33.60 \pm 1.26$	$33.24 \pm 0.46$
Liver weight (g)	$2.18 \pm 0.08$	$2.47 \pm 0.05$	$2.32 \pm 0.11$	$2.42 \pm 0.09$	$2.04 \pm 0.09$	$1.92 \pm 0.07$	$2.38 \pm 0.07$	$2.02 \pm 0.05$	$1.90 \pm 0.14$	$1.74 \pm 0.09$
Liver/Body (%)	$6.05 \pm 0.23$	$6.81 \pm 0.18$	$6.90 \pm 0.22$	$7.24 \pm 0.39$	$5.91 \pm 0.16$	$5.62 \pm 0.14$	$6.78 \pm 0.33$	$6.04 \pm 0.19$	$5.63 \pm 0.22$	$5.24 \pm 0.21$
Spleen weight (g)	$0.23 \pm 0.02$	$0.31 \pm 0.02$	$0.33 \pm 0.04$	$0.38 \pm 0.00$	$0.22 \pm 0.01$	$0.24 \pm 0.02$	$0.28 \pm 0.03$	$0.16 \pm 0.01$	$0.14 \pm 0.01$	$0.16 \pm 0.01$
Spleen/Body (%)	$0.64 \pm 0.04$	$0.85 \pm 0.05$	$1.00 \pm 0.12$	$1.12 \pm 0.02$	$0.63 \pm 0.03$	$0.70 \pm 0.05$	$0.80 \pm 0.05$	$0.49 \pm 0.03$	$0.41 \pm 0.03$	$0.47 \pm 0.03$
Thymus weight (g)	$0.08 \pm 0.01$	$0.08 \pm 0.01$	$0.08 \pm 0.01$	$0.09 \pm 0.01$	$0.08 \pm 0.00$	$0.08 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.01$	$0.08 \pm 0.01$	$0.08 \pm 0.01$	$0.06 \pm 0.01$
Thymus/Body (%)	$0.23 \pm 0.02$	$0.22 \pm 0.02$	$0.24 \pm 0.02$	$0.28 \pm 0.01$	$0.24 \pm 0.02$	$0.24 \pm 0.01$	$0.21 \pm 0.02$	$0.24 \pm 0.02$	$0.24 \pm 0.02$	$0.17 \pm 0.02$

<sup>a</sup>Fr. NaCl; Fraction extracted with 0.9% NaCl solution, Fr. HW; Fraction extracted with hot water, Fr. MeOH; Fraction extracted with 80% methanol.

<sup>b</sup>Mean  $\pm$  S.E.

으로부터 방어하여 면역반응에 관여하는 1차적 세포로서 중요한 기능을 수행한다는 것을 알 수 있다(Arthur and Guyton, 1986).

**면역 장기 중량에 미치는 영향.** 면역과 관련된 장기인 간, 비장 및 흉선의 체중에 대한 중량변화를 알아보았다. 간의 중량비는 대조군 6.05%에 비해 중성염 추출물을 10, 20, 50 mg/kg body weight로 투여하였을 때 각각 6.81%, 6.90%, 7.24%로 다소 증가하였다. 또한 비장의 경우에는 대조군이 0.64%인데 비하여 중성염 추출물은 농도에 따라 0.85%, 1.00%, 1.12%로 증가추세를 보였다 (Table 4). 이 실험 결과 간에는 Kuffer cell, 비장에는 splenic macrophage를 함유하고 있으며, 이들이 체내의 이물질에 대한 방어 작용을 담당하고 있다는 사실을 감안할 때, 간과 비장의 중량 증가는 macrophage 기능의 증가에 기인된다고 사료된다. 흉선의 중량비 변화는 대조군이 0.23%인데 비하여 중성염 추출물의 농도에 따라 0.22, 0.24, 0.28로 약간의 증가를 보였다.

## 적 요

흰목이 자실체로부터 중성염용액, 열수 및 메탄올을 이용하여 조다당류를 추출하였다. 세포 독성 실험 결과, 열수 추출물은 2000 µg/ml의 높은 농도에서도 세포독성을 나타내지 않았으며, 중성염용액 추출물도 정상세포에 대해 세포독성은 보이지 않아서 이들 물질을 세포에 투여할 경우 안전성이 있다는 것을 알 수 있었다. 중성염용액 추출물을 Sarcoma 180 복수암을 유발시킨 생쥐에 투여하고 수명연장효과를 측정한 결과 53%의 수명연장효과를 나타냈다. 또한 중성염용액 추출물은 B 임파구의 alkaline phosphatase 활성을 3.0~8.1배 증가시켰으며, 총 복강 세포 수에서도 처리군이 대조군에 비하여 7.4배 증가하였으며, 혈액 중 처리군의 백혈구 수도 대조군에 비하여 1.6배 증가하였다. 또한 면역 장기인 간, 비장 및 흉선의 무게가 처리군이 대조군에 비하여 증가하였다. 따라서 흰목이 중성염용액 추출물은 면역을 활성화시키는 것은 물론 생쥐의 Sarcoma 180에 대한 항암효과를 나타내는 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 과학기술부, 과학재단이 지원하는 특수소재 연구은행인 야생버섯균주은행을 통해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

구현옥, 김인천, 박신자, 정상희, 박종명, 이재진, 유한상, 이영순. 1999. 신령버섯(*Agaricus blazei* Murill)에서 분리한 다당체의

- Staphylococcus aureus* 감염 및 마우스 Sarcoma 180 종양세포에 대한 방어효과. 한국실험동물학회지 **15**: 155-158.
- 박상신, 유국현, 민태진. 1998. 버섯추출물의 항산화 활성에 관한 연구. 한국균학회지 **26**: 69-77.
- 박완희, 이호득, 1999. 한국약용버섯도감, 교학사.
- 신혜원, 김하원, 최웅철, 도상학, 김병각. 1985. 한국산 영지의 무기 성분 및 면역 증강 작용에 관한 연구. 생약학회지 **16**: 181-190.
- 심성미, 임경환, 이우윤, 김정완, 심미자, 이민용, 이태수. 2003a. 매미눈꽃동충하초(*Paecilomyces sinclairii*)에서 추출한 조다당류의 면역활성 및 항암효과에 관한 연구. 한국균학회지 **31**: 155-160.
- 심성미, 임경환, 김정완, 이우윤, 김하원, 이민용, 이태수. 2003b. 삼색도장버섯(*Daedaleopsis tricolor*)에서 추출한 조다당류의 면역활성 및 항암효과. 한국균학회지 **31**: 161-167.
- 조수목, 이재훈, 한상배, 김환목, 유승헌, 유익동. 1995. *Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류(I)-중성염 용액 추출 다당류의 특성. 한국균학회지 **23**: 332-339.
- 조수목, 이재훈, 한상배, 김환목, 유승헌, 유익동. 1995. *Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류(II)-열수추출 다당류의 분리 및 특성. 한국균학회지 **23**: 340-347.
- 진미립. 1996. 잣버섯 성분의 면역세포 및 전사인자의 활성화 작용에 관한 연구. 서울대학교 대학원 논문집. Pp 1-121.
- 한만덕, 이은숙, 김영권, 이종우, 정훈, 윤경하. 1998. 영지의 균사체성 β-glucan에 의한 Raw 264.7 대식세포의 Nitric Oxide 생성. 한국균학회지 **26**: 246-255.
- 水野 卓, 川合正允. 1992.キノコの化学・生物学. 學會出版センタ.
- Arthur, C. and Guyton, M. D. 1986. Textbook of medical physiology. 7th Ed. W. B. Saunder company. Pp 51-59.
- Chihara, G., Hamuro, G., Meada, Y., Arai, Y. and Fukoka, F. 1970. Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (Pachman). *Nature* **225**: 973-948.
- Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F. 1969. Inhibition of mouse Sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Nature* **222**: 687-688.
- Choi, S. H., Jun, C. D., Lee, B., S., Park, S. D., Oh, J. S. and Chung, H. T. 1993. Effect of various extrinsic and intrinsic factors on the nitric oxide production of murine macrophage. *Kor. J. BRM* **3**: 15-22.
- Denizot, F. and Lang, R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**: 271-277.
- Gross, R. L. and Newberne, P. M. 1980. Role of nutrition in immunologic function. *Physiol. Rev.* **60**: 188-302.
- Jan, A. M., Marielle, E. B., Peter, H. N., Pieter, S. H. and Ralph, V. F. 1992. INF-γ induced 1-arginine-dependent toxoplasma activity in murine peritoneal macrophages is mediated by endogenous tumor necrosis factor-α. *J. Immunol.* **148**: 568-571.
- Kishida, E., Sone, Y., Shibata, S. and Misaki, A. 1981. Preparation and immunochemical characterization of antibody of branched β-(1→3)-D-glucan of *Volvariella volvacea* and its use in studies of antitumor actions. *Agric. Biol. Chem.* **53**: 1849-1859.
- Komatsu, N., Okubo, S., Kikumoto, S., Kimura, K. and Saito, G. 1969. Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann.* **60**: 137-44.
- Mossman, B. T. 1983. In vitro approaches for determining mechanisms of toxicity and carcinogenicity by asbestos in the gastrointestinal and respiratory tracts. *Environ. Health Perspect.*

- 53: 155-161.
- Ohno, N., Arai, Y., Suzuki, I. and Yadomae, T. 1986. Induction of alkaline phosphatase activity in murine spleen cells treated with various mitogens. *J. Pharmacobio-Dyn.* **9**: 593-599.
- Roland, J. F., Chmielewicz, Z. F., Weiner, B. A., Gross, A. M., Boenong, O. P., Luck, J. V., Bardos, T. J., Rerlly, H. C., Sugiyura, K., Stock, C. C., Lucas, E. H., Byerrum, R. U. and Stevens, J. A. 1960. Calvacine, a new antitumor agent. *Science* **132**: 1987.
- Sugihara, T., Yoshioka, Y. and Nishioka, K. 1972. Anticomplementary activity of antitumor polysacchrides. *Nature New Biol.* **235**: 59-60.
- Suzuki, M., Arika, T., Amemiya, T. and Fujiwara, M. 1982. Cooperative role of T lymphocytes and macrophages in antitumor activity of mice pretreated with schizophyllan. *Jpn. J. Exp. Med.* **50**: 59-65.
- Tsugagoshi, S. and Ohashi, F. 1974. Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat ascites hepatoma AH-13 by oral use. *Gann.* **65**: 557.
- Whistler, R. L., Bushway, A. A., Singh, P. P., Nakahara, W. and Tokuzen, R. 1976. Noncytotoxic, antitumor polysaccharides. Pp 235-275. *In: Tipson, R. S. and Horton, D. Eds. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry.* vol. 32. Academic Press, New York.
- Ying, J., Mao, X. and Ma, Q. 1987. *Icones of Medicinal Fungi from China.* Science Press., Beijing.