J East Asian Soc Dietary Life
17(1): 43~50 (2007)

감초로 배양한 표고버섯 균사체 추출물이 항암 효과 및 알레르기 억제 효과 검증

배만종[1†] · 이성태[2] · 예은주[3]

[1]대구한의대학교 한방식품약리학과, [2]순천대학교 생물학과,
[3](재)경북테크노파크 대구한의대학교 한방생명자원특화센터 효능검증원

Anti-Cancer and Anti-Allergy Activities of Mycelia Extracts of *Lentinus edodes* Mushroom-Cultured *Glycyrrhiza radix*

Man-Jong Bae[1†], Sung-Tae Yee[2] and Eun-Ju Ye[3]

[1]*Dept. of Herbal Foodceutical Science, Daegu Haany University, Geongsan 712-715, Korea*
[2]*Dept. of Biology, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea*
[3]*Efficacy and Safety Research Center for Traditional Oriental Medicine, Daegu Haany University, Kyungbuk Technopark, Daegu 706-060, Korea*

Abstract

This study investigated the effects of mycelia of *Lentinus edodes* mushroom-cultured *Glycyrrihiza radix*(LMG) on cancer cell lines and sarcoma 180(S-180), as well as on human mast cells. In an anti-cancer tests using Hep3B(hepatic cancer cell), MCF-7(breast cancer), and HeLa(uterine cancer) cells, LMG extract exhibited greater anti-proliferation effects than *Glycyrrihiza glabra*(GG) extract. LMG extract multiplication restraining effects were 60% that of ethanol at 3 mg/mL extract also displayed tumor suppressive effects in mice injected with S-180 cells. The growth-inhibition rates against tumor cells were 56% for LMG and 37% for GG. When LMG was added to human mast cells, the Intensity of RT-PCR products using primers(FCεRI c-kit) decreased. significantly compared with that of control. These results suggest that *Lentinus edodes* Mushroom-Cultured *Glycyrrhiza glabra* has an anti-proliferation effects against cancer cell lines(Hep3B, MCF-7 and HeLa) and S-180 tumors and will be also beneficial in treating allergic reactions.

Key words : *Glycyrrihiza radix,* anticancer activity, mycelium, sarcoma-180.

서 론

최근 여러 종류의 버섯에서 항암 효과와 혈중 콜레스테롤 저하 효과 등이 있다는 것으로 알려진 이래 버섯류의 생리 활성 물질에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 표고버섯 균사체의 단백 다당체가 종양에 대한 생체 고유의 방어력을 높여줌으로서 간접적으로 종양 세포의 증식을 저해하거나(Chihara G 1985) 암세포나 병원성 균을 직접 사멸시키는 중요한 역할을 담당하는 대식세포의 수를 증가시키는 작용을 하는 것으로 보고되었다(Takehara M 1979a). 이러한 단백다당체는 바이러스성 질병에 스스로 방어하고 인터페론과 같은 항체 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있으며(Takehara M 1979b, Tsunoda A 1969) 표고버섯으로부터 분리한 lentinan이 항암 및 항암 보조제로 시판되고 있다(Fujii *et al* 1978). 균사체의 약리 효과는 항암, 콜레스테롤 저하(Suzuki & Oshima 1976), 혈당 강하(Hikino *et al* 1985), 항종양 작용(Lee *et al* 1990) 등이 입증됨으로써 균사체를 이용한 식품, 또는 약제로서의 이용 가능성이 크게 대두되고 있다.

감초(*Glycyrrhiza radix*)는 콩과에 속하는 다년생 식물로 주로 뿌리가 이용되며, 맛이 달고 독이 없어 한약 조제시 첨가하여 사용하는 경우가 많은 약제 중 하나이다(Chung *et al* 2001). 주요 성분인 glycyrrhizin은 비당질의 고감미에 속하는 천연 감미료로서 설탕의 250배의 감미를 가지고 있어 과자류, 음료, 조미료, 담배의 향 등에서도 이용된다. 또한 항산화성을 가지고 있어서 식품 성분의 산화를 방지하여 품질을 안정화시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있다(한숙완 1982). 이 밖에도 항균 작용, 항종양 작용, 혈중 cholesterol 저하 작용(Shin *et al* 1994, Abe *et al* 1982, Pompei *et al* 1979, Nishino *et al* 1986)이 있는 것으로 보고되고 있다. 이에 본 연구에서는 항암 효과를 조사하여 이의 효용 가치를 극대화시킬 수 있는 방안으로 기능성 식품 소재를 개발하고자, 생약 소재인 감초를 이용하여 한방 발효 균사체를 생산하여 한방 소재 균

† **Corresponding author** : Man-Jong Bae, Tel : +82-53-819-1425, Fax : +82-53-802-2490, E-mail : bamajo@dhu.ac.kr

사체의 항암 관련 기능성을 검증하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

감초는 대구광역시 약령 시장의 한약 도매상에서 구입하였다. 표고 균사체는 한국 농용미생물보존센터(KACC)에서 분양받아 사용하였고, 인체 간암세포주인 Hep3B(KCLB 58064), 인체 자궁경부암세포주인 HeLa(KCLB 10002), 인체 유방암 세포주 MCF-7(KCLB 30022), 생쥐 복수암세포인 sarcoma 180 (40066)은 한국세포주은행(KCLB)에서 분양받아 사용하였다. 실험 동물은 6주령의 ICR 웅성 생쥐를 (주)대한바이오링크로부터 구입하였고, RPMI 1640 배지, DMEM 배지, FBS(fetal bovine serum)은 Gibco BRL(Grand Island, NY, USA) 제품을 사용하였다.

2. 감초 균사체 배양

분양 받은 표고 균사체는 Potato Dextrose Agar(PDA, Difco. Co. USA)로 계대 배양하여 4℃에서 냉장 보관하며 사용하였다. 감초는 1시간을 침지하고 10분 단위로 60분까지 자연 탈수시키면서 자동 수분 측정기(7639-32967, Precisa, Switzerland)로 수분을 측정하여 수분이 60% 될 때, 이것을 121℃에서 20분간 멸균하여 표고 균사체를 접종하여 24℃에서 25일간 배양하면서 생육 상태를 관찰하여 최적 상태의 감초 균사체를 시료로 사용하였다(Fig. 1).

3. 감초 및 감초 균사체 추출물 조제

감초 및 감초 균사체를 60℃에서 72시간 건조한 후 마쇄한 다음 60% 에탄올을 10배량을 가한 후 60℃에서 4시간 추출한 후 여과하였다. 60% 에탄올 추출물을 rotary vacuum evaporator로 60℃에서 감압 농축한 후 동결 건조하여 암세포(Hep3B, HeLa, MCF-7) 증식 억제 실험에 사용하였다.

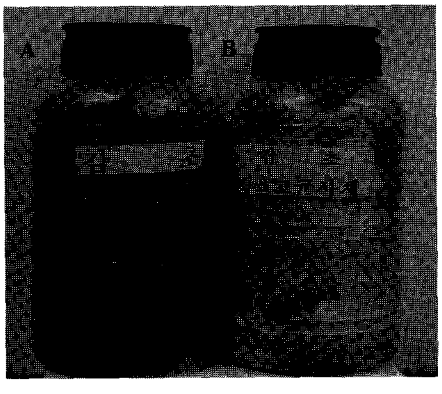

Fig. 1. Mycelia of mushroom-cultured *Glycyrrhiza radix*.
Mycelium was cultured at 27℃ for 25 days in incubator.
A: *Glycyrrhiza radix*, B: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.

4. 암세포 증식 억제 효과

간암 세포주(Hep3B)는 10X antibicotic-antimycotic(Gibco, USA) 1 %와 FBS 10% 첨가한 DMEM(high glucose)배지를 사용하여 배양하였고, 유방암 세포주 (MCF-7), 자궁경부암 세포주(HeLa)는 10X antibicotic-antimycotic(Gibco, USA) 1 %와 FBS 10% 첨가한 RPMI 1640 배지를 사용하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다. Hep3B 및 HeLa 암세포주는 5×10^5 cells, MCF-7 암세포주는 1×10^6 cells를 cell culture plate (NUNC, 60 mm)에 분주하고, 37℃, 5 % CO_2 incubator(3154 S/N 32504-1811, Forma Scientific Inc, USA)에서 24시간 배양한 후 각 시료 추출물을 최종 농도가 1 mg/mL, 3 mg/mL, 5 mg/mL 되도록 첨가하여 24시간 동안 다시 배양시켰다. 배양된 세포는 위상차현미경(NICON TMS, Japan) 100 배율로 관찰하고, 0.4 % trypan blue assay로 세포 증식 억제율을 계산하였다(Park *et al* 2005).

5. 고형암(S-180)의 성장 억제 실험

S-180 고형암 성장 억제 실험은 Jo SG(1995)의 방법을 변형하여 실시하였다. ICR 마우스는 항온 항습 시스템에서 1주간 적응하여 S-180 세포를 7주령 된 ICR 마우스의 복강에서 계대 배양하였다. 즉, 복수암에 걸려서 복부가 팽만한 마우스의 복강 속으로 일회용 1 mL 주사기로 찔러 노란색의 복수액 1 mL를 채취한 후, 그 원액을 0.1 mL씩 ICR 마우스의 복강 속에 접종하고 배양하면서 13일마다 계대 배양하였다. ICR 마우스의 복강에 *in vivo* 계대 중인 S-180 세포를 멸균된 주사기로 채취하고 RPMI 1640 배지로 희석하여 S-180 세포의 농도가 4×10^7 cells/mL가 되게 하였다. 이와 같이 희석한 S-180 세포액을 50 μL(2×10^6 cells)씩 ICR 마우스 우측 서혜부에 피하 이식한 후, 10% 감초 및 감초 균사체 분말을 자유 급식하였다. 종양 세포 이식 29일째 되는 날 치사시켜 생성된 고형암을 적출하고, 그 무게를 측정한 후 종양 성장 저지 백분율(tumor growth inhibition ratio, I.R. : %)을 계산하였다.

6. 알레르기 억제 효과

1) 세포 배양

실험에 사용한 HMC-1(human mast cell)은 37℃ 습윤한 5% CO_2 incubator에서 Iscove's Modified Dulbecco's medium에 10% FBS를 첨가하여 배양하였다. 탈 이온화된 3차 증류수로 배지를 제조하여 0.22 μm pore size membrane filter(Cor-

ning, NY, USA)를 사용하여 멸균하였다. 세포 배양에 필요한 IMDM 배지와 FBS(fetal bovine serum)는 Gibco BRL(Grand Island, NY, USA) 제품을 사용하였고, 항생제(antibiotic-antimycotic)와 sodium bicarbonate($NaHCO_3$), 2-ME(2-mercaptoethanol)는 Sigma(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다.

2) RT-PCR

HMC-1(human mast cell)을 sample과 함께 6시간 배양한 다음, 세포를 모아 원심 분리하여 상층액을 제거하고, RNA zol을 이용하여 RNA를 추출하였다. Total RNA 1 ㎍을 75℃에서 5분간 변성시킨 후, dNTP(1 mM), oligo(dT) 15(0.5 ㎍), AMV reverse transcriptase(20U), RNase inhibitor(0.5U), RT buffer, $MgCl_2$(5 mM)와 DEPC로 처리된 증류수로 최종 부피가 20 ㎕가 되도록 하여, 42℃에서 30분간 반응시켜 cDNA를 합성하여 효소 중합 연쇄 반응에 사용하였다. 효소 중합 연쇄 반응은 합성된 cDNA 2 ㎕를 주형으로 FcεRIα, tryptase, c-kit와 GAPDH의 sense primer와 antisense primer(15 pmol), Taq polymerase(0.5U), polymerase buffer를 DEPC로 처리된 증류수로 최종 부피가 20 ㎕ 되도록 하여 predenaturation: 95℃ 5분, denaturation; 95℃ 1분, annealing; 55℃ 1분, elongation; 72℃ 1분을 35cycle한 다음, postelongation을 72℃에서 5분하는 조건으로 수행하였다(Table 1). 효소 중합 연쇄 반응의 product는 20 ㎕씩 2% agarose gel에 loading하여 100 V에서 40분간 전기 영동하여 ethidium bromide로 염색하여 UV하에서 관찰하였다.

3) 세포 표면 단백질 분석

HMC-1을 sample과 함께 배양한 다음 washing 용액으로 세척한 후 tryphan blue 시약을 이용하여 혈구 계산판으로 생세포수를 측정하였다. 먼저 비특이적인 염색을 막기 위해 세포 1×10^6개를 anti-FcγRII/III-specific mAb(2.4G2)로 30분간

Table 1. Oligonucleotide primers used in the reverse transcription-polymerase chain reactions

Gene	Sense/ antisense	Primer sequence
FcεRI	Sense	CTT AGG ATG TGG GTT CAG AAG T
	Antisense	GAC AGT GGA GAA TAC AAA TGT CA
Tryptase	Sense	GGA GCT GGA GGA GCC CGT GA
	Antisense	ACC TGG GTA AGG AAG CAG TGG TG
c-kit	Sense	CGT TGA CTA TCA GTT CAG CGA G
	Antisense	CTA GGA ATG TGT AAG TGC CTC C
GAPDH	Sense	GAT GAC ATC AAG AAG GTG GTG
	Antisense	GCT GTA GCC AAA TTC GTT GTC

blocking한 다음 FITC- conjugated c-kit(CD117), PE-conjugated FcεRIα 로 30분간 냉암소에서 염색하였다. 다음 washing 용액으로 세척한 후 유세포 분석기(COULTER, Epics XL)로 분석하였다.

7. 통계학적 분석

실험 결과는 mean±S.E.로 나타내었고, 각 그룹간의 측정치에 대한 자료 분석은 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 $p<0.05$ 수준에서 유의성을 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 암세포주 형태 변화

1) 간암세포주의 형태 변화

감초와 감초 균사체를 60% 에탄올로 추출한 것을 간암세포에 처리했을 때 세포 모양의 형태 변화는 Fig. 2와 같다. 각 세포는 다각형의 형태로 군집을 형성하며 자랐고 감초 추출물로 처리하였을 때, 1 mg/mL에서부터 다각형의 세포의 밀도가 감소하고 원형의 부유 세포가 나타났으며, 감초 추출물이 3 mg/mL, 5 mg/mL로 농도가 증가할수록 전체 간암 세포의 수가 확연히 줄어들고 사멸 세포 형태인 원형의 세포수가 증가하였으며, 정상 형태의 간암 세포와 사멸 세포 모두 줄어든 것을 볼 수가 있었다. 3 mg/mL에서 부터는 세포 말단에 돌기들이 뻗어 나오고 원형화의 손실이 큰 것을 관찰할 수 있었다. 그리고 감초 균사체 추출물을 처리했을 때는 감초 추출물로 처리했을 때와 비교했을 때 비슷한 경향을 보였으며, 특히 1 mg/mL로 처리했을 때는 감초 추출물로 처리했을 때보다 다각형의 간암 세포의 밀도가 낮아진 것을 관찰할 수 있었다. 감초 균사체 추출물 3 mg/mL, 5 mg/mL로 처리했을 때는 사멸 세포 형태인 원형태의 세포수가 감초 추출물을 처리했을 때보다 증가한 것을 볼 수가 있었다. 이러한 결과는 인삼박으로 배양된 버섯 균사체 추출물이 암세포에 미치는 영향(Park *et al* 2005)의 연구와 버섯 균사체에 의한 암세포 성장 억제 효과(Kwon *et al* 2003)에 관한 연구에서 유사한 결과를 나타났다.

2) 유방암 세포주의 형태 변화

감초와 감초 균사체를 60% 에탄올로 추출한 후 자궁경부암세포에 처리했을 때 세포 모양의 형태 변화는 Fig. 3과 같다. 감초 추출물을 1~5 mg/mL로 처리했을 때는 control과 비교하여 처리 농도와 비례하여 다각형의 정상 세포의 수가 줄어드는 것을 관찰할 수가 있었고, 감초 추출물을 각 농도별로 처리하였을 때에는 1 mg/mL로 처리하였을 때부터 정

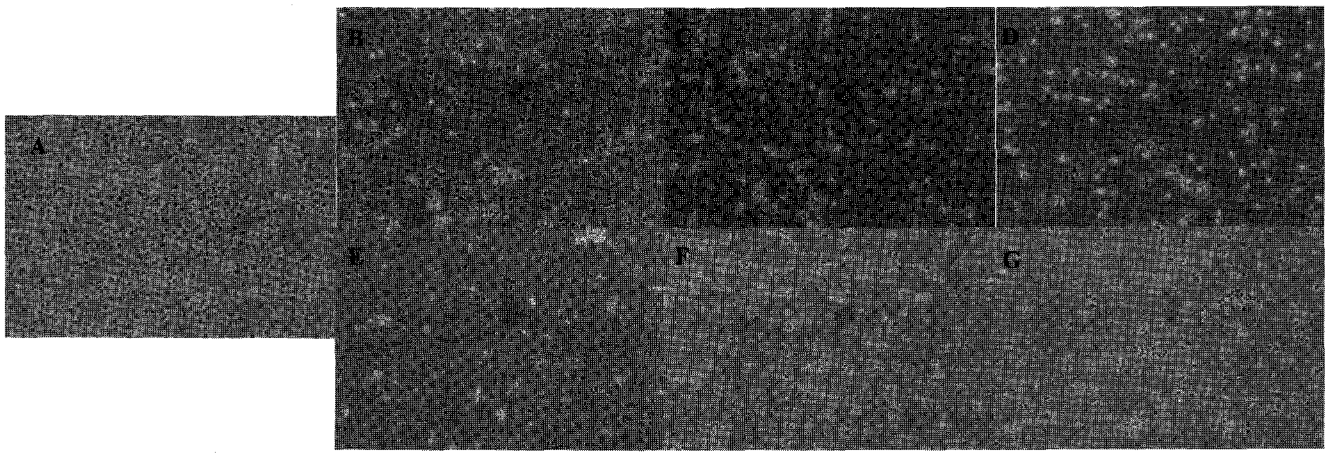

Fig. 2. Morphology of Hep3B cells treated with 60% ethanol extract from *Glycyrrhiza radix* and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.
A: Control, B: *Glycyrrhiza radix* 1 mg/1 mL, C: *Glycyrrhiza radix* 3 mg/1mL, D: *Glycyrrhiza radix* 5 mg/1 mL, E: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 1 mg/1 mL, F: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 3 mg/1 mL, G: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 5 mg/1 mL.

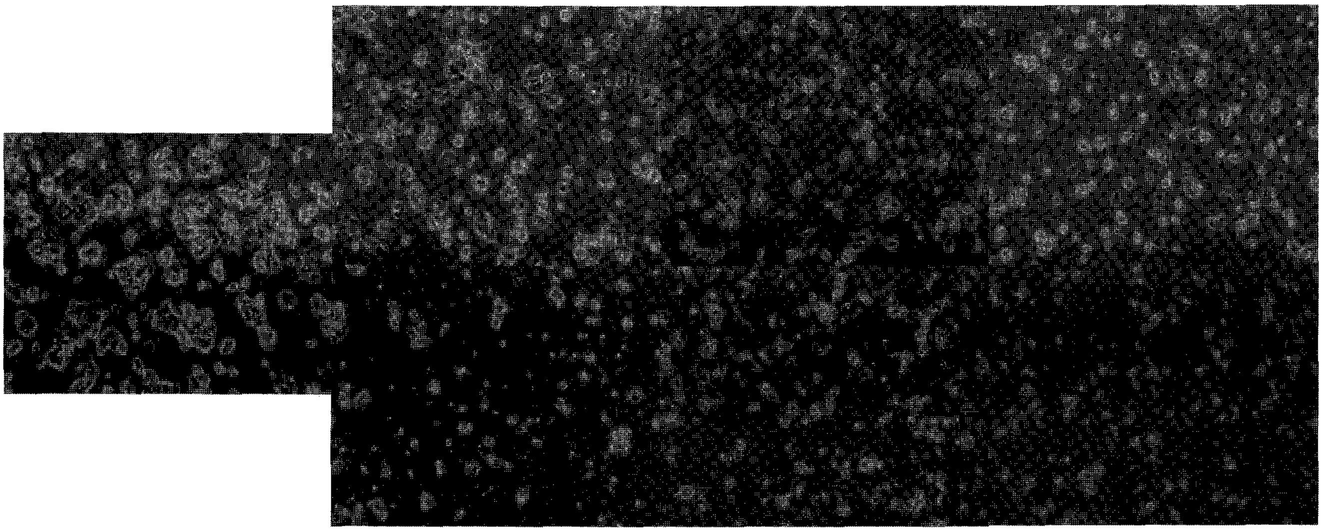

Fig. 3. Morphology of MCF-7 cells treated with 60% ethanol extract from *Glycyrrhiza radix* and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.
A: Control, B: *Glycyrrhiza radix* 1 mg/1 mL, C: *Glycyrrhiza radix* 3 mg/1 mL, D: *Glycyrrhiza radix* 5 mg/1 mL, E: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 1 mg/1 mL, F: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 3 mg/1 mL, G: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 5 mg/1 mL.

상 암세포의 수가 확연히 줄어들고 부유 세포의 수가 늘어나는 것을 관찰할 수가 있었다.

3) 자궁경부암 세포주의 형태 변화

감초와 감초 균사체의 60% 에탄올로 추출한 후 자궁경부암세포에 처리했을 때 세포 모양의 형태 변화는 Fig. 4와 같다. 감초 추출물을 농도별로 처리했을 때는 control과 비교하여 세포수와 세포 형태의 변화를 관찰할 수가 없었으나, 감초 균사체를 처리하였을 때는 1 mg/mL로 처리하였을 때부터 부유하는 세포의 형태가 많이 나타나기 시작하여 처리한 농도가 높아질수록 부유하는 세포가 더욱 많아졌으며, 5 mg/mL로 처리한 경우에는 정상적인 자궁경부암 세포를 거의 관찰할 수가 없었다.

2. 암세포 증식 억제 효과

Hep3B 세포주에서 암세포 증식 억제율은 감초가 33.26~

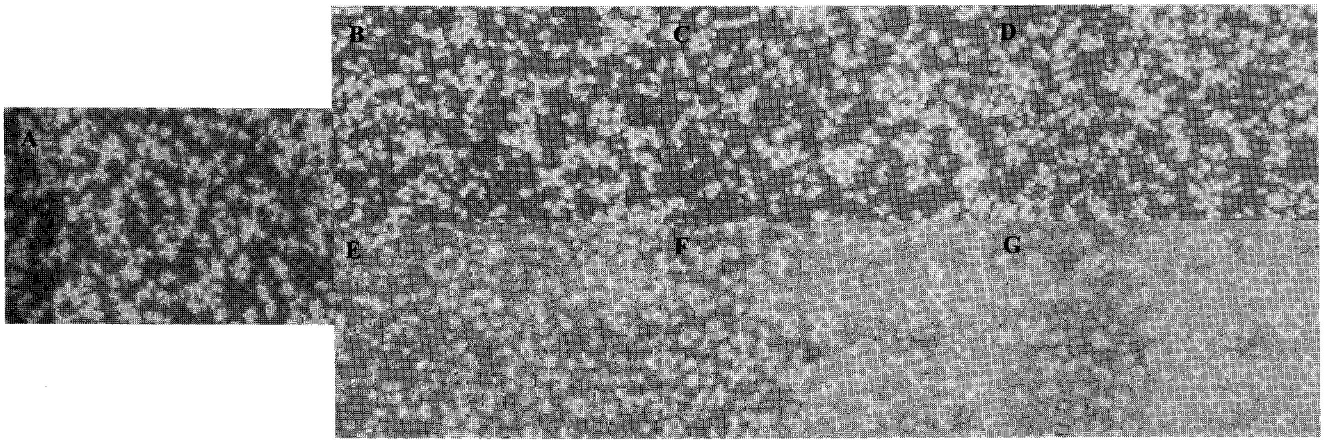

Fig. 4. Morphology of Hela cells treated with 60% ethanol extract from *Glycyrrhiza radix* and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.
A: Control, B: *Glycyrrhiza radix* 1 mg/1 mL, C: *Glycyrrhiza radix* 3mg/1mL, D: *Glycyrrhiza radix* 5 mg/1 mL, E: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 1 mg/1 mL, F: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 3 mg/1 mL, G: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* 5 mg/1 mL.

52.77%, 감초 균사체는 78.81~100%로 나타났다(Fig. 5). 모든 농도에서 감초 균사체가 감초보다 증식 억제율이 높게 나타났으며, 1 mg/mL에서 47.23%, 3 mg/mL에서 51.03%, 5 mg/mL에서 45.55% 더 높은 것으로 나타났다. MCF-7 세포주에서 암세포 증식 억제율은 감초가 31.17~46.61%, 감초균사체는 48.61~100%로 나타났으며, 감초 균사체가 감초보다 1 mg/mL에서 17.44%, 3 mg/mL에서 64.85%, 5 mg/mL에서 53.39% 더 높게 나타났다(Fig. 6). 특히 3 mg/mL 이상 처리했을 때 완전 사멸하여 강력한 항암 효과가 있었다. HeLa 세포주에서 암세포 증식 억제율은 감초가 4.62~7.16%, 감초 균사체는 28.67~97.73%로 나타났으며, 감초 균사체가 감초보다 1 mg/mL에서 24.05%, 3 mg/mL에서 86.99%, 5 mg/mL에서 90.57% 더 높게 나타났다(Fig. 7). 감초와 감초 균사체의 Hep3B, MCF-7, HeLa 세포주에 대한 암세포 증식 억제율을 비교해 보면, 감초 균사체를 Hep3B 세포주에 1 mg/mL로 처리했을

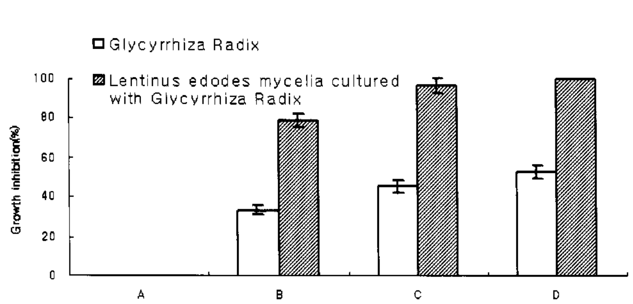

Fig. 5. Growth inhibition of Hep3B cells by 60% ethanol extracts from *Glycyrrhiza radix* and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.
A: Control, B: 1 mg/mL, C: 3 mg/mL, D: 5 mg/mL.

때 78.81%의 증식 억제율이 나타나서 다른 암세포에서 보다 암세포 증식 억제율이 월등히 높은 것을 알 수가 있었고,

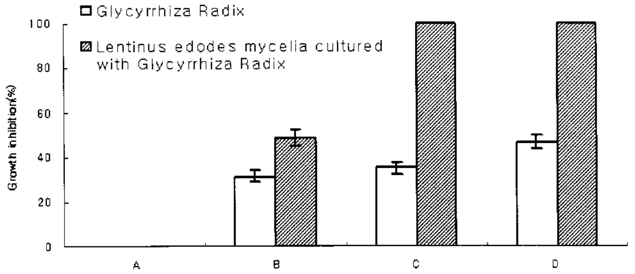

Fig. 6. Growth inhibition of MCF-7 cells by 60% ethanol extracts from *Glycyrrhiza radix* and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.
A: Control, B: 1 mg/mL, C: 3 mg/mL, D: 5 mg/mL.

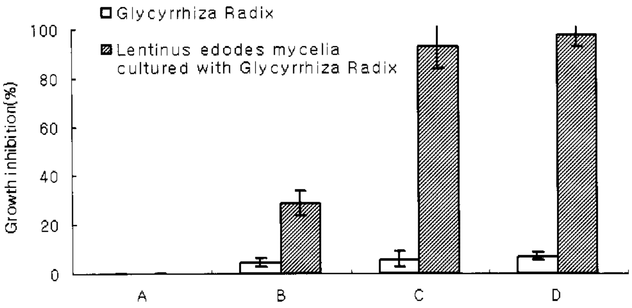

Fig. 7. Growth inhibition of HeLa cells by 60% ethanol extracts from *Glycyrrhiza radix* and *Lentinus edodes* mushroom mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.
A: Control, B: 1 mg/mL, C: 3 mg/mL, D: 5 mg/mL.

MCF-7, HeLa의 순서로 암세포 증식 억제율이 높은 것으로 나타났다. 그리고 감초에서도 증식 억제율의 순서는 감초 균사체를 처리한 것과 같은 순서였다. 균사체 추출물의 농도에 따른 간암세포의 증식 억제 효과는 표고버섯이 간암세포인 H22에 대해 항암 효능이 있으며, 버섯 첨가량이 증가할수록 암세포 억제율이 증가하였다는 Park *et al*(1998)의 균사체 추출물의 농도가 증가할수록 간암세포 증식 억제 효과가 큰 것으로 나타났다는 보고와 유사한 결과를 얻을 수 있었다.

3. 고형암 억제 효과

S-180 세포를 ICR 생쥐의 우측 서혜부에 피하 접종한지 29일이 지난 후 마우스로부터 적출한 고형 암괴의 무게는 대조군에서 2.06±0.16 g이었다. Table 2에 나타난 바와 같이 시료 투여에 따른 고형암괴의 억제는 실험군에 따라 차이가 있어, 감초군은 암괴 무게가 1.30±0.93 g으로 대조군에 비해 37 %, 감초 균사체군은 0.92±0.18 g으로 56%의 암괴 무게가 감소하는 항암 효과를 보였다. 이러한 결과로 볼 때 감초 균사체를 식이한 군이 감초를 식이한 군보다 *in vivo*상의 항암 억제의 경향이 더 높다고 볼 수 있으며, S-180 세포에 대한 상황(Tamura *et al* 1973), 영지(Hartwell JL 1971) 및 운지(Li *et al* 1990)의 항종양 효과에 대한 연구와 많은 담자균류의 균사체는 항암 효과 및 면역 활성 증강 효과가 있는 것으로 보고(Choi *et al* 1996)의 경향과 유사한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 감초 자체의 효능과 더불어 표고 균사체를 접종·배양하여 발효시킴으로써 생긴 단백 다당체와 부산물에 따른 영향으로 사료된다.

4. RT-PCR에서의 유전자 발현 및 세포 표면 단백질 분석

HMC-1(human mast cell)에 sample을 10 μg/mL로 처리하여 6시간 배양한 후 cell을 수거하여 RT-PCR을 수행한 결과는 Fig. 8과 같다. 대조군과 비교하여 시료를 처리하여 발현 정도를 비교하였을 때(Table 3) GAPDH의 발현량은 대조군과 시료를 처리한 실험군에서 모두 비슷하게 나타났다. 감초 및 감초 균사체 추출물을 처리한 것이 알레르기를 유발하는 면역 글로불린 IgE가 부착하는 비만 세포의 FcεRI의 발현을 억제하였으며, 감초 균사체 추출물을 처리한 것이 비만 세포의 FcεRI mRNA의 발현을 더 많이 억제하는 것으로 나타났다. 그리고 c-kit의 mRNA 발현도 감초 균사체 추출물이 더 많이 억제하였다. 그러나 Trytase mRNA 발현에서는 감초가 감초 균사체보다 발현 억제율이 더 높은 것으로 관찰되었다 (Fig. 9).

Table 2. Effect of *Glycyrrhiza radix* and *Lentinus edodes* mushroom mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix* on the growth of solid form tumor induced by sarcoma 180 ICR mice

[1]Group	Tumor weight (g)	Inhibition rate (%)
A	2.06±0.16[2)a3)]	-
B	1.30±0.33[b]	37
C	0.92±0.18[c]	56

[1] A: control, B: *Glycyrrhiza radix*, C: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.
[2] Value are means±SE of 6 mice.
[3] Values with different superscripts indicate significant difference from each other(p<0.05).

요약 및 결론

감초를 이용하여 표고 균사체를 접종, 배양하여 얻어진 감

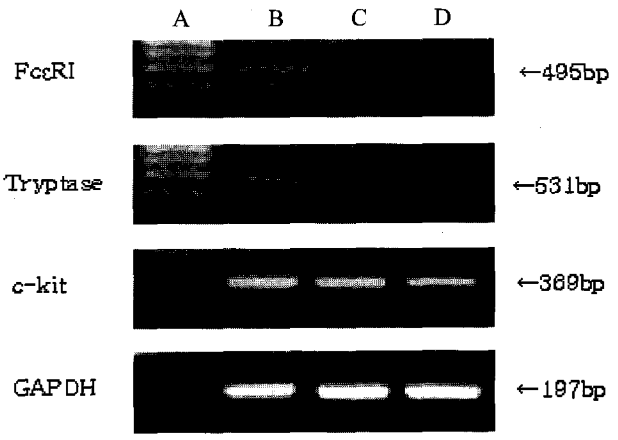

Fig. 8. RT-PCR using primers(FCεRI, Tryptase, c-kit) in HMC-1 cell line.
A: Marker, B: Control, C: *Glycyrrhiza radix*, D: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.

Table 3. Intensity of RT-PCR using primers(FCεRI, Tryptase, c-kit)

primers \ Sample	A	B	C
FCεRI	2,628	1,661	774
Tryptase	2,578	794	1,658
c-kit	9,522	8,679	7,608
GAPDH	10,141	11,280	11,258

A: Control, B: *Glycyrrhiza radix*, C: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.

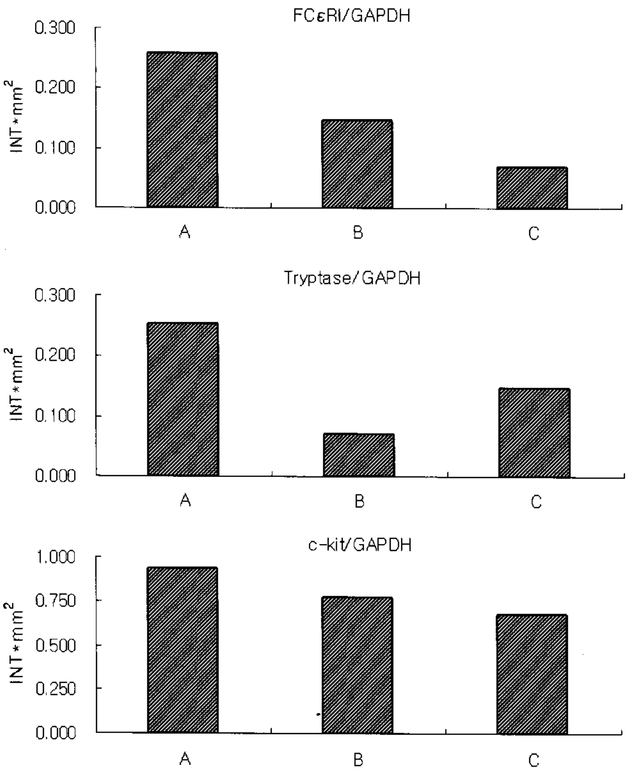

Fig. 9. Primers(FcεRI, Tryptase, c-kit)/GAPDH ratio. A: Control, B: *Glycyrrhiza radix*, C: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Glycyrrhiza radix*.

초 균사체 추출액의 간암 세포(Hep3B), 유방암 세포(MCF-7), 자궁경부암세포(HeLa) 그리고 고형암(S-180)의 증식에 미치는 영향을 조사하였다. 3가지 암세포의 형태 변화 및 증식 억제에 미치는 영향은 감초 균사체 추출물이 감초 추출물보다 효과적인 것으로 나타났으며, 간암세포와 유방암 세포에서 1 mg/ mL로 처리하였을 때 감초 균사체 추출물이 암세포 형태 변화가 더 뚜렷한 것으로 나타났다. 그리고 자궁경부암세포에서는 모든 처리 농도에서 감초 균사체가 감초 추출물로 처리하였을 때보다 더 효과적이었다. 특히 유방암세포에서 감초 균사체 추출물 3 mg/mL로 처리하였을 때 강력한 암세포 증식 억제 효과가 있는 것으로 나타났다. 고형암 억제 효과에서도 대조군에 비해 감초 균사체 추출물이 56%의 고형암 억제 효과가 있었고, 감초 추출물보다 고형암 억제 효과가 19% 더 높았다. 비만 세포주(HMF-1)에서의 유전자 발현 및 세포표면 단백질 분석 결과 FcεRI mRNA과 c-kit mRNA에서는 감초 균사체 추출물이 감초보다 발현을 더 많이 억제하였고, Trytase mRNA 발현에서는 감초가 감초 균사체보다 발현 억제율이 더 높은 것으로 관찰되었다. 이상의 결과로 볼 때 감초에 균사체 배양 기법의 접목으로 기능의 상승 효과를 기대할 수 있겠다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역혁신센터사업(대구한의대학교 한방생명자원연구센터)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

한숙완 (1982) A study on the anti-oxidation effect of glycyrhizae radix acetone extracts in the soybean oil. 숙명여자대학교 석사학위논문.

Abe N, Ebina T, Ishida M (1982) Interferon induction by glycyrrhizin and glycyrrhetinic acid in mice. *Microbiol Immunol* 26: 535-539.

Chihara G (1985) Immune modulation agents and their mechanisms(Lentinan, a T-cell oriented immunoproentiator). *NY Basel* 19: 409-436.

Choi JH, Ha TM, Kim YH, Rho YD (1996) Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. *Korean J Mycol* 24: 214-222.

Chung WT, Lee SH, Cha MS, Sung NS, Hwang B, Lee HY (2001) Biological activities in roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Korean J Medicinal Crop Sai* 9: 45-54.

Fujii T, Maeda H, Suzuki F, Ishida N (1978) Isolation and characterization of a new antitumor polysaccharide, KS-2, extracted from culture mycelia of *Lentinus edodes* L. *Antibiotics* 31: 1079-1085.

Hartwell JL (1971) Plants used against cancer. *A Suvey Lloyda* 34: 386-389.

Hikino H, Kanno C, Mirin Y, Hayashi T (1985) Isolation and hypoglycemic acitivity of Ganoderans A and B, glycans of *Ganoderman lucidum* fruit bodies. *Planta Med* 51: 339-340.

Jo SG (1995) Experimental studies on the change of cytotoxic and antitumor effects according to the prebrewed method of *Semen tiglii* and *Rhizoma coptidis*. *J Korean Oriental Oncology* 1: 191-211.

Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST (2003) Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia of mushroom. *Korean J Food & Nutr* 16: 15-21.

Lee JW, Chung CH, Jeong HJ, Lee KH (1990) Anticomplementary and antitumor activities IY-105. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 18: 571-577.

Li XY, Wang JF, Zhu PP (1990) Immune enhancement of a

polysaccharide peptides isolated from *Coriolus versicolor. Zhobgguo Yao Li Xue Bao* 11: 542-545.

Nishino H, Yoshioka K, Iwashima A, Takiziwa H, Konoshi S, Okamoto H, Okabe H, Shibata S, Fujiki H, Sugimura T (1986) Glycyrrhetic acid inhibits tumor-promoting activity of teleocidin and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-actate in two- stage mouse skin carcinogenesis. *J Cancer Res* 77: 8-33.

Park EM, Kim SJ, Ye EJ, Bae MJ, Jo KC (2005) Effect of mycelia extracts of mushroom-cultured ginseng by-product on proliferation in cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 323-329.

Park MH, Oh KY, Lee BW (1998) Anti-cancer activity of *Letinus edodes pleurotus. Korean J Food Sci Technol* 30: 702-708.

Pompei R, Flore O, Marccialis MA, Pani A, Loddo B (1979) Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. *Nature* 281: 689-690.

Shin DH, Han JS, Kim MS (1994) Antimicrobial effect of ethanol extracts of *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils and *Glycyrrhiza glabra* L. var. *Glandulifera* Regel et Zucc on *Listeria monocytogenes*. *Korean J Food Sci Technol* 26: 627-632.

Suzuki S, Oshima S (1976) Influence of shiitake(*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. *Mushroom Sci* 9: 463-467.

Takehara M (1979a) Antiviral activity of virus-like partiales from *Lentinus edodes*(Shitake). *Arch Virol* 59: 269-280.

Takehara M (1979b) Antiviral effect of virus-like particles from *Lentinus edodes*(Shiitake) on Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Arch Virol* 68: 297-303.

Tamura Y, Niinobe M, Arima T, Okuda H, Fujii S (1973) Studies on aminopeptidases in rat liver and plasma. *Biochim Biophys Acta* 327: 437-445.

Tsunoda A (1969) A mushroom extract as an interferon inducer. *Ann NY Acad Sci* 173: 719-725.

(2006년 11월 8일 접수, 2006년 12월 18일 채택)