

## 야생식용버섯인 까치버섯(*Polyozellus multiplex*)의 암예방 효과

김현정 · 한 정 · 양의주 · 이갑람\* · 이인선†

계명대학교 식품가공학과

\*영남대학교 식품영양학과

### Chemoprevention Effect of *Polyozellus multiplex*, a Wild and Edible Mushroom

Hyun-Jeong Kim, Jung Han, Eui-Joo Yang, Kap-Rang Lee\* and In-Seon Lee†

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

#### Abstract

Methanol extract and its fractions of *Polyozellus multiplex* inhibited the growth of several tumor cell lines and its water fraction showed a higher cytotoxicity effect on the human gastric carcinoma cell, SNU668 than on the other cell lines. The glutathione S-transferase (GSH) content was decreased by MNNG treatment but increased by adding *Polyozellus multiplex* water fractions. Also the activities of GSH and superoxide dismutase were increased by the treatment of *Polyozellus multiplex* water fractions than by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) alone. *Polyozellus multiplex* water fraction caused a significant reduction in the proliferating cell nuclear antigen (PCNA) labelling index in the glandular stomach epithelium as compared with the value of MNNG alone.

**Key words:** *Polyozellus multiplex*, chemoprevention effect, MNNG, PCNA

#### 서 론

최근 세포생물학 및 분자생물학의 눈부신 발전으로 암에 대한 이해와 치료 및 예방에서 새로운 국면을 맞게 되었는데, 종전에는 치료단계에 머물던 암의 관리가 점차 예방 및 조기 검진체계로 전환되고 있다(1). 암예방을 위한 chemopreventive agent들은 구강, 위, 결장, 폐, 전립선 등과 같은 조직에서의 발암물질들에 대한 연구를 기초로 하여 조사되었으며, vitamin A와 D, 비스테로이드계 항염증제(NSAIDs) 그리고 2-difluoromethylornithine (DFMO) 등이 세포내에서 종양형성 과정을 억제하거나 혹은 종양이 악성으로 발전하는 과정을 억제하여 암을 예방한다고 보고되었다(2,3)

최근에 와서 기존의 암 치료법에 병행하여 자연계에 존재하는 천연물로부터 분리한 물질을 생체 방어기전에 이용하여 암을 치료하고자 하는 시도가 진행되고 있으며 그 중에서도 담자균류의 항암성분의 연구가 많이 보고되고 있다(4) 많은 담자균류의 균사체 및 자실체는 여러 가지 allogeneic 및 syngeneic tumor에서 우수한 항암효과 및 면역 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(5). 이처

럼 항암효과를 나타내는 담자균류는 일반 항암요법제와는 달리 뚜렷한 부작용이 없으며 면역기능을 증강시킴으로써 항암력을 나타낸다는 점에서 새로운 항암 면역요법제로 관심의 대상이 되고 있다(6).

한편 까치버섯은 강원도 일대에서 늦여름부터 가을에 걸쳐 소나무 등의 침엽수림 또는 가문바나무 등의 활엽수림의 부식토에서 군생하는 버섯으로 알려져 있으며, 자실체는 잎새버섯 모양 혹은 수국 모양으로 높이 10~20 cm, 폭 7~20 cm에 달하는 청흑색 또는 남흑색을 띠는 야생식용버섯이다(7). 까치버섯에 관한 연구는 파산화지질 효과와 항치매 효과가 보고되었으며, 그 성분이 polyozellin으로 밝혀지기도 하였다(8). 그러나 까치버섯의 항암 활성 및 약리작용에 대한 연구는 아직도 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 먼저 까치버섯 추출물과 분획물을 제조하여 암세포 증식 억제 효과를 조사하였다. 또한 강력한 위암발암제인 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)를 투여한 동물의 조직내의 항산화 효소 및 PCNA 활성 변화에 미치는 영향을 살펴봄으로써 까치버섯의 암예방 효과를 검토하고자 하였다.

†To whom all correspondence should be addressed

## 재료 및 방법

### 시료조제

강원도 오대산 지역에서 자생하는 야생식용버섯인 까치버섯(*Polyozellus multiplex*)을 채집하여 실온에서 풍건한 후 사용하였으며, 까치버섯은 한국고원대학교 이상선 박사께서 감정하였다.

건조된 까치버섯은 분말화(100 g)하여 10배의 80% methanol을 첨가한 후 37°C, 1,500 rpm의 진탕배양기에서 10시간 동안 3회 반복추출하여 그 상정액을 얻었다. 이 액을 여과하여 감압농축시킨 후 동결건조하여 methanol extract(78 g)를 얻었고, 이를 ethyl acetate와 증류수를 동량 혼합한 용액을 첨가한 후 교반, 추출하여 ethyl acetate fraction층(21 g)과 water fraction층(46 g)을 각각 얻어서 감압 농축시킨 다음 동결건조하여 사용하였다.

### 암세포 성장 저해 효과

#### 세포주 배양

본 실험에 사용된 암세포주중 인간유래의 혈액암 세포주인 Jurkat T, HL-60, U937는 Dr. Albert A. Nordin (Gerontology Research center, NIA/NIH, Baltimore, MD, USA)으로부터 분양받았으며, 인간의 결장암 세포인 HT-29, 간암세포인 HepG2, 위암세포인 SNU-668은 한국 세포주은행으로부터 분양받아 사용하였다. 이들 세포들은 RPMI-1640메지에 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)을 첨가하여 5% CO<sub>2</sub>가 존재하는 37°C 배양기에서 2~3일에 한번씩 계대배양하였다.

#### 세포증식 억제효과

까치버섯의 암세포주에 대한 세포증식 억제효과는 MTT assay(9)로 조사하였다. 그리고 정상 임파구에 대한 세포증식 억제효과는 20~25세의 건강한 성인 남자로부터 heparin 처리한 주사기를 사용하여 혈액을 채취한 후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 분리된 층의 경적면의 위, 아래 각 1.5 cm 정도의 층을 회수하였다. 회수한 액에 2배의 배지를 넣어 잘 섞은 후 비증착 용액인 histopaque-1077 위에 중층후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 histopaque-media 접촉면의 임파구층을 pasteur pipette로 회수한 다음, 다시 배지를 섞어 4,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 임파구 세포를 분리하였다(10). 까치버섯 추출물의 정상 임파구에 대한 세포 독성 검사는 임파구 세포수를  $1 \times 10^6$  cells/mL이 되게 조절한 다음 까치버섯 추출물을 첨가하여 암세포주와 동일한 방법으로 조사하였다.

### 까치버섯의 암예방 효과 검색

#### 실험동물의 사육 및 처치

실험동물은 6주령된 옹성의 Wistar rat를 SLC Inc

(Shizuoka, Japan)으로부터 분양받아 사용하였고, 이들은 온도 23±2°C, 상대습도 55±10%를 유지하고 밤, 낮의 길이를 12시간씩 인공조명으로 조절하여 사육하였다. 이때 사료(CRF-1, Japan Charles River Co, Japan)와 정제수는 자유로이 공급하였다. 실험동물은 각각 5마리씩 네군으로 나누었으며, 까치버섯 water fraction은 사료의 0.5% 및 1% 농도로 첨가하여 제공하였고 발암물질인 MNNG는 10% DMSO에 용해한 후 150 mg/kg b.w.으로 1회 경구투여하였다 즉 MNNG 투여 4시간 후부터 시료가 혼합된 사료를 3일간 공급하였으며, 이때 대조군은 10% DMSO를 150 mg/kg b.w.으로 1회 경구투여한 다음 사료만 3일간 공급하였다. 동물의 처치는 CO<sub>2</sub>로 마취시켜 복부 정중선을 따라 개복하였다.

분리한 간은 생리식염수로 표면에 붙은 혈액을 씻은 후 여지로 압박하여 생리식염수를 가능한 모두 제거한 후 무게를 칭량하였다. 또한 위는 생리식염수로 관류한 후 대만부를 따라 절개하여 위내부를 펼친 후 위점막을 굽어내어 액체질소에 보관하고, 일부는 metacan(methanol : chloroform : acetic acid = 6 : 3 : 1)에 고정시켜 병리조직 검사에 사용하였다.

#### 효소시르 조제

적출한 간조직 1 g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4)를 가한 후 glass teflon homogenizer로 빙냉하에서 마쇄하여 간 균질액(20% w/v)을 만들었다. 이 액을 4°C에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 그 상정액을 다시 13,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 원심분리 후 인은 상정액은 다시 24,000 rpm에서 1시간동안 초원심분리하여 cytosol fraction과 microsomal fraction을 얻었다. 간 균질액은 glutathione 함량 측정에, cytosol fraction은 glutathione S-transferase와 superoxide dismutase 활성 측정에 사용하였다. 그리고 적출한 위점막도 간과 동일한 방법으로 각각의 fraction을 얻어 실험에 사용하였다.

#### Glutathione 함량 및 항산화 효소 활성 측정

간조직중의 glutathione 함량은 Ellman의 방법(11)에 의하여 측정하였고 그 함량은 간조직 1 g당  $\mu$ mole로 나타내었다. Glutathione S-transferase는 Habig 등의 방법(12)에 준하여 측정하였고, 효소의 활성 단위는 효소반응 용액중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 생성시킨 결합물질의  $\mu$ mole로 나타내었다. 그리고 superoxide dismutase의 활성은 Marklund와 Marklund의 방법(13)에 준하여 파장 440nm에서 흡광도를 측정하였고, 활성도 1 unit는 피로갈롤 용액의 자동산화율 50% 억제하는 효소량으로 산정하였다 또한 단백질의 양은 Lowry법(14)에 준하여 측정하였다.

#### PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 측정

PCNA의 측정은 Nishikawa 등(15)의 방법에 준하여

실험하였다. Metacan에 고정된 위점막의 파라핀 절편을 약 5 μm두께로 박절한 후 58°C 항온기에 30분간 처리하고 xyline으로 탈파라핀화 하였다. 이것을 항원부활을 위해 microwave oven에서 10분간 가열처리한 후 조직내의 내인성 과산화효소를 차단하기 위해 3% hydrogen peroxide-methanol 용액에 30분간 반응시킨 후 증류수로 수세하였다. 비특이성 효소반응을 억제하기 위해 동물의 정상혈청(Dako Co., Japan)으로 30분간 항원처리하고 일차 항체인 PCNA(PCI0, Dako Co., Japan)을 1:30으로 희석하여 2시간동안 실온에서 반응시켰다. 반응후 PBS buffer로 3분씩 3회 수세하고 2차 항체인 anti-mouse IgG(Dako Co., Japan)와 30분간 실온에서 반응시킨 후 다시 3분씩 3회 수세하였다.

3-3-Diaminobenzidine tetrachloride로 10~20분간 발색시킨 후 흐르는 물로 수세하고 hemato-xyline으로 대조염색하여 alcohol로 탈수하고 봉입한 후 현미경으로 검색하였다. PCNA labelling index(PCNA LI)는 비교적 염색이 균일하게 이루어진 부위의 위암세포 100개중 핵이 PCNA에 암갈색의 과립상으로 염색된 세포의 핵분율로 산출하였으며, 2회 관찰한 결과의 평균치를 취하였다.

$$PCNA\ LI\ (\%) = \frac{PCNA\ positive\ cells}{Total\ of\ counted\ cells} \times 100$$

통계처리

실험 결과는 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군간의

통계적 유의성은 SAS program을 이용하여 5% 수준에서 Duncan's multiple range test 및 student's t-test로 검정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 암세포 성장 저해 효과

까치버섯 추출물의 종양세포 억제 효능 검증을 위하여 인간 유래의 6가지 종류의 암세포와 정상 입파구에 대한 MTT assay를 수행하였다. 인간 유래의 혈액암 세포주인 Jurkat T cell에 대한 저해효과는 Table 1과 같이, 까치버섯 water fraction의 0.5 mg/mL와 1.0 mg/mL의 농도에서 각각 61.6%, 53.7%의 저해율을 보였으며, methanol extract에서는 47.7%와 16.7%로 비교적 낮은 저해율을 나타내었다. 그리고 HL60 cell에서는 methanol extract와 water fraction에서 각각 70% 정도의 비교적 높은 수준의 저해율을 보였으나 ethyl acetate fraction에서는 10% 이하의 매우 낮은 저해효과를 보였다. U937 cell에 대해서는 methanol extract와 water fraction의 경우 1.0 mg/mL의 농도에서 65% 이상의 저해효과가 나타내었으며 다른 cell들과 마찬가지로 ethyl acetate fraction에서는 별 다른 저해효과를 볼 수 없었다.

한편 인간 유래의 간암세포인 HepG2의 경우 water fraction 1.0 mg/mL의 농도에서만 57% 정도의 저해율을 보였고, 결장암 세포인 HT29에서는 methanol extract에

Table 1. Effects of *Polyozellus multiplex* MeOH extract and its fractions on the growth of human cancer cell lines and human normal lymphocyte

Sample mg/mL	Cell growth (IR <sup>1)</sup> )						Cell growth (SR <sup>2)</sup> )
	Jurkat T	HepG2	HL60	HT29	U937	SNU668	Lymphocyte
Control	0.378±0.023	0.245±0.033	0.247±0.012	0.456±0.110	0.303±0.062	0.635±0.042	0.169±0.041
MeOH ext							
0.5	0.197±0.005 (47.9)	0.139±0.028 (43.3)	0.072±0.024 (70.8*)	0.197±0.004 (56.8*)	0.162±0.009 (46.5)	0.177±0.070 (72.1*)	0.158±0.021 (93.5)
1.0	0.315±0.080 (16.7)	0.127±0.027 (48.2)	0.059±0.029 (76.1*)	0.139±0.004 (69.5*)	0.102±0.004 (66.5*)	0.256±0.114 (39.7*)	0.156±0.303 (92.3)
EtOAc fr.							
0.5	0.399±0.034 (-)	0.219±0.090 (10.6)	0.225±0.056 (8.9)	0.412±0.181 (9.6)	0.271±0.053 (10.6)	0.559±0.070 (12.0)	0.153±0.018 (90.5)
1.0	0.559±0.039 (-)	0.215±0.083 (12.2)	0.224±0.049 (9.3)	0.408±0.104 (10.5)	0.269±0.058 (11.2)	0.554±0.093 (14.3)	0.155±0.017 (91.7)
Water fr							
0.5	0.145±0.010 (61.6*)	0.139±0.037 (43.3)	0.096±0.028 (61.3*)	0.117±0.010 (74.3*)	0.154±0.096 (49.2)	0.138±0.056 (78.3*)	0.162±0.044 (95.8)
1.0	0.175±0.018 (53.7*)	0.105±0.053 (57.1*)	0.069±0.017 (72.1*)	0.113±0.004 (75.2*)	0.104±0.017 (65.8*)	0.104±0.055 (83.6*)	0.163±0.026 (96.4)

Mean value±S.D. (n=5)

<sup>1</sup>The asterisks are significantly different from the control by student's t-test (p<0.05).

$$^{1)}\text{Inhibition rate (\%)} = \frac{\text{control group} - \text{sample group}}{\text{control group}} \times 100$$

$$^{2)}\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{sample group}}{\text{control group}} \times 100$$

서 56.8~69.5%의 저해효과를 보였으며, water fraction은 75% 정도의 높은 저해효과를 보였다. 그리고 위암세포인 SNU668에 대해서는 water fraction의 경우 78.3~83.6%로 다른 암세포주에 비해 가장 높은 저해활성을 나타내었으며, methanol extract에서도 60~72%의 강한 암세포 저해 활성을 보였다.

이와 같이, 여러 암세포들에 대한 까치버섯의 저해 효과는 주로 까치버섯 methanol extract와 water fraction에서 높게 나타났고, 특히 water fraction의 경우 위암세포인 SNU668에 대해 가장 높은 저해 활성을 보였다.

한편, 까치버섯 추출물들의 암세포 성장 저해효과가 암세포에 대한 선택적인 작용인지를 확인하기 위하여 성인 남성의 정상 임파구를 분리하여 세포성장 저해효과를 살펴본 결과, 시료에 관계없이 모두 90% 이상의 높은 생존율을 보였다. 따라서 까치버섯 추출물의 저해효과는 암세포에서만 일어나는 특이적인 효과인 것을 확인할 수 있었다. Yoo(16)는 까치버섯 추출물의 인체 종양세포주에 대한 세포독성을 조사하여 대장암세포주(KM12), 폐암세포주(NCI-H552), 중추신경계 암세포주(CNB-19)에 대한 IC<sub>50</sub>값이 0.21~0.45 ppm의 낮은 농도였으며, 이는 현재 항암제로 사용되고 있는 adriamycin과 비교해 볼 때 종양세포주에 대한 독성이 유사하고, 특히 adriamycin에서는 볼 수 없는 중추신경계 암세포주에 대한 항암활성이 우수하며 LD<sub>50</sub>값이 500 mg/kg 이상으로 인체 독성도 낮은 것으로 밝혀져 천연항암제로서의 유용성을 보고한 바 있다. 그리고 영지버섯, 구름버섯, 만년버섯, 표고버섯 등에서도 암세포 억제효과도 보고되었고(17,18), 이 버섯류들은 주로 면역기능을 촉진 또는 부활시킴으로써 그 효과를 나타내는 것으로 알려져 있으므로 앞으로 까치버섯이 면역활성에 미치는 영향 검토가 필요하다고 생각된다.

#### 까치버섯의 MNNG 투여에 의한 암예방 효과

MNNG는 Wistar rat에 투여하였을 경우 선위에서 약 70%의 높은 위암 발생률이 보고되었으며 또한 유발된 선암의 조직 양상이 사람의 위암 양상과 비슷한 것으로 알려져 있다(19). 까치버섯 water fraction이 위암세포주에 대해서 가장 강한 억제효과가 있었으므로, 이에 MNNG와 까치버섯 water fraction 투여시 간 및 위내 주요 효소 활성 변화 및 세포증식에 미치는 영향을 살펴보았다.

#### Glutathione 함량 및 항산화계 효소의 변화

여러 xenobiotics의 체내흡수로 인하여 분자상의 산소가 환원되어 superoxide radical, hydrogen peroxide 등의 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성된다(20). 이들 ROS는 세포막, 단백질 및 핵산 등을 손상시켜 세포기능을 억제시키며 나아가 DNA, RNA 및 단백질 등에 작용하여 돌연변이 및 발암을 유발하게 되며, 각종 성인병, 노화, 암 등을 발생시키기도 한다(21). 이 ROS의 생

체내 항상성을 유지하기 위한 항산화계에는 glutathione S-transferase, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화 효소와 glutathione, vitamin E, uric acid, β-carotene 등 비효소성 항산화제가 알려져 있다(22)

먼저 발암원에 의한 까치버섯의 GSH 함량 변화에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 1과 같이, 간에서의 GSH 함량은 MNNG 투여군에 비해 까치버섯 water fraction 0.5% 투여군에서 GSH 함량이 약 2배 이상으로 증가되었음을 알 수 있었다. 그리고 위점막에서도 역시 까치버섯 water fraction 0.5% 투여군에서 GSH 함량이 약 12% 정도 증가됨을 확인할 수 있었다 이는 MNNG가 체내로 흡수되면서 조직에 항산화상태 혹은 산화적 스트레스 환경을 유발하여 이를 해독하기 위한 GSH의 소모로 인해 체내 GSH가 감소하였으며(23), 0.5%의 까치버섯 water fraction의 투여로 체내의 GSH 소모를 덜어주어 그 함량이 증가된 것으로 추측된다.

또한 GST 활성에 대한 까치버섯 water fraction의 영향을 살펴보면 Fig. 2와 같이, 간에서는 까치버섯 water fraction 0.5%를 투여한 군의 GST 활성이 MNNG 단독투여군에 비해 26.3% 증가하였다 위의 경우 MNNG 단독투여군에 비하여 water fraction 0.5%와 1%를 투여한 군 모두가 각각 60.8% 35.7%로 높은 GST 활성 증가를 보였다 이는 까치버섯 water fraction이 GST를 활성화시켜 친전자성 외부물질에 glutathione을 결합시켜 수용성 물질로서 배설되기 쉽도록 해줌으로써 MNNG로부터의 조직 손상을 보호하는 것으로 생각된다(24).

SOD 활성 변화는 까치버섯 water fraction을 MNNG와 함께 투여하였을 경우 간에서는 MNNG 단독 투여군에 비해 0.5%와 1% 투여군 모두 4배 정도의 SOD의 활성 증가를 보였으며, 위에서도 역시 0.5%와 1% 투여군에서 각각 MNNG 단독 투여군에 비해 2배 및 4배 정도의 활성

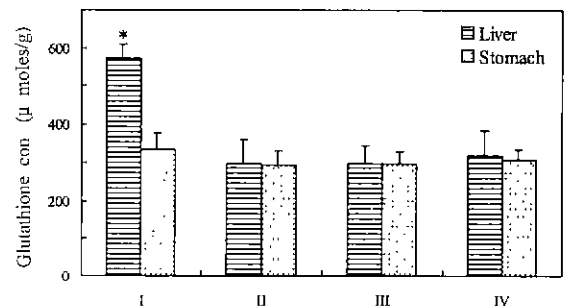


Fig. 1. Effect of *Polyozellus multiplex* water fraction on the glutathione contents in liver and stomach of rats treated with MNNG.

I: 0.5% water fraction of *Polyozellus multiplex*+MNNG group, II 1% water fraction *Polyozellus multiplex*+MNNG group, III MNNG group, IV Control group \*p<0.05

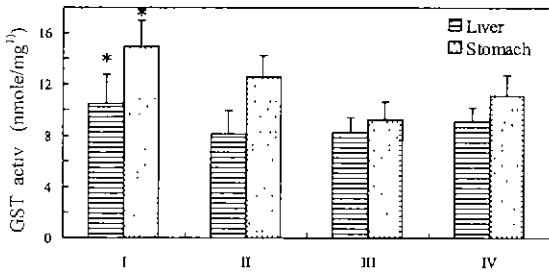


Fig. 2. Effect of *Polyozellus multiplex* water fraction on the activity of glutathione S-transferase in liver and stomach of rats treated with MNNG.

I) Conjugated 1,2-dinitro-4-nitrobenzene nmole/mg protein/min, I: 0.5% water fraction of *Polyozellus multiplex*+MNNG group, II: 1% water fraction of *Polyozellus multiplex*+MNNG group, III: MNNG group, IV: Control group  
\*p<0.05

증가를 나타내었다(Fig. 3). 이는 Nam 등(25)의 싯 추출물에서 얻은 결과와 유사한 것으로 까치버섯이 SOD활성을 증가시켜 생성된 독성산소의 제거효과가 큰 것으로 추측된다.

PCNA 발현에 미치는 영향

PCNA(proliferating cell nuclear antigen)는 세포주기에서 G1 후반기부터 S기 전반에 걸쳐 합성되는 물질로 DNA polymerase-β의 보조단백질로서 DNA 합성초기에 중요한 역할을 한다(26). 즉 세포주기 조절물질인 cyclin D-CDK(cyclin dependent kinase) 복합체와 결합하여 DNA polymerase의 활성을 높여서 DNA 복제를 촉진시키므로 세포증식의 표식자로 이용될 수 있다. 종양세포의 경우 특히 PCNA가 비정상적인 과발현을 보이므로 이를 통해 종양세포의 비정상적인 세포증식의 정도를 알 수 있는 것으로 알려져 있다(27).

위조직 내에서 까치버섯 water fraction이 종양세포에서 PCNA의 과발현에 미치는 영향을 검토한 결과, Fig.

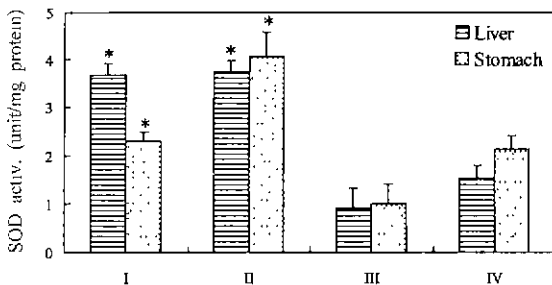
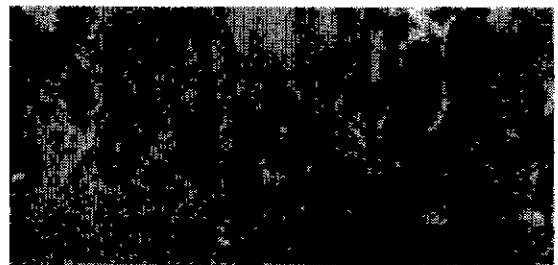


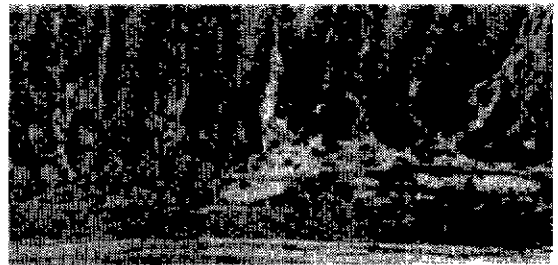
Fig. 3. Effect of *Polyozellus multiplex* water fraction on the superoxide dismutase activity in liver and stomach of rats treated with MNNG.

I: 0.5% water fraction of *Polyozellus multiplex*+MNNG group, II: 1% water fraction of *Polyozellus multiplex*+MNNG group, III: MNNG group, IV: Control group.  
\*p<0.05

4와 같이 위의 pylorus 부분에서 MNNG 투여시 핵내의 갈색 반점이 강하게 나타났던 positive cell들이 까치버섯 water fraction을 함께 투여하였을 경우 그 수가 감소되었고, 특히 1%의 water fraction 투여시 positive cell이 현저하게 감소되어 핵내 세포증식이 억제됨을 확인할 수 있었다 또한 Fig. 5와 같이 위의 fundus부분에서는 MNNG만 투여한 군에서 8.68±1.35%를 보이던 PCNA LI(PCNA labeling index)가 까치버섯 water fraction 0.5%와 1%을 투여하였을 경우 각각 6.06±1.85%와 5.57±0.98%로 감소되는 것을 알 수 있었다. 그리고 위의 pylorus 부분에서는 MNNG 투여군에서 16.19±2.80%인 PCNA LI가 까치



(A)



(B)



(C)

Fig. 4. Immunohistochemical photomicroscope of PCNA. (×260).

A The picture shows the pyloric tissue after MNNG treatment where brown spot shows nuclear cellular proliferation.  
B, C These pictures show the pyloric tissue after MNNG and 0.5% or 1% *Polyozellus multiplex* water fraction treatment where brown spot reduced nuclear cellular proliferation compared to A

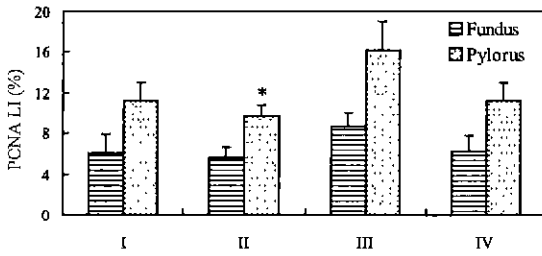


Fig. 5. Labelling index of PCNA in the rat stomach mucosal epithelium.

I: 0.5% water fraction of *Polyozellus multiplex* + MNNG group, II: 1% water fraction of *Polyozellus multiplex* + MNNG group, III: MNNG group, IV: Control group. \* $p < 0.05$

버섯 water fraction을 투여하였을 경우 각각  $11.20 \pm 1.80$  및  $9.67 \pm 1.10$ 으로 크게 감소하였다. 즉, 발암원 투여시 증가되었던 PCNA LI가 까치버섯 water fraction 투여시 감소되었으므로 까치버섯 water fraction은 종양세포의 증식을 진행시키는 PCNA 발현을 저해하여 DNA 손상으로 인한 비정상적인 세포증식을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

## 요 약

까치버섯(*Polyozellus multiplex*) methanol 추출물과 그 분획물은 인간유래의 여러 암세포주들에 대해 성장 저해효과가 높게 나타났으며, 특히 까치버섯 water fraction은 위암세포인 SNU668에 대해 가장 높은 저해활성을 나타내었다. 또한 까치버섯 water fraction은 MNNG를 투여한 다음 감소된 glutathione S-transferase와 superoxide dismutase의 활성과 glutathione의 함량을 높여주었으며, 위 조직내에서도 PCNA의 발현을 저해하여 종양세포의 비정상적인 세포 증식을 억제하였다. 이상의 결과로 까치버섯은 위암예방 및 항암에 좋은 효능을 나타내는 자원으로 그 활용성이 기대된다고 하겠다.

## 감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단의 '98 박사후 연수과정 연구 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 깊이 감사드립니다.

## 문 헌

- Kelloff, G.J., Boone, C.W. and Crowell, J.A.: Chemopreventive drug development' perspectives and progress. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **3**, 85-88 (1994)
- Wattenberg, L.W.: Chemoprevention of cancer. *Prev. Med.*, **24**, 44-50 (1996)
- Block, G., Patterson, B. and Subar, A.: Fruit, vegetables,

- and cancer prevention' review of the epidemiological evidence. *Nutr. Cancer*, **18**, 1-9 (1992)
- Kim, S.W., Kim, E.S. and Kim, Y.S.: Studies on the polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*. *J. Korea Soc. Food Nutr.*, **24**, 147-153 (1995)
- Shin, H.W., Kim, H.W., Choi, E.C., Toh, S.H. and Kim, B.K.: Studies on inorganic composition and immunopotentiating activity of *Ganoderma lucidum* in Korea (XLVI). *Kor. J. Pharmacology*, **16**, 181-186 (1985)
- Cho, H.J., Shim, M.J., Choi, E.C., See, Y.N. and Kim, B.K.: Studies on constituents of higher fungi of Korea (LXVII). comparison of various antitumor components of *Coriolus versicolor*. *Kor. J. Mycol.*, **16**, 162-169 (1988)
- Park, W.H. and Lee, H.D.: *Illustrated book of Korean medicinal mushrooms.*, Kyo-Hak Publishing Co., Seoul, p.448-449 (1998)
- Hwang, J.S.: Studies on the chemical structure and biological activities of a novel lipid peroxidation inhibitor from *Polyozellus multiplex*. *Ph. D. Dissertation*, Pusan National University (1994)
- Papazisis, K.T., Geromichalos, G.D., Dimitriadis, K.A. and Kortasris, A.H.: Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *J. Immunol. Methods*, **208**, 151-158 (1997)
- Lee, I.S., Park, S.H. and Lee, I.J.: Molecular-based sensitivity of human leukemia cell line U937 to antineoplastic activity in a traditional medicinal plants (*Selaginella tamariscina*). *J. Food Hyg. Safety*, **11**, 71-75 (1996)
- Ellman, G.L.: Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **82**, 70-77 (1959)
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B.: Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130-7139 (1974)
- Marklund, S. and Marklund, C.T.: Involvement of the superoxide anion radical into oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 311-319 (1974)
- Lowry, O.H., Rosebrough, J., Farr, A.L. and Randall, R.L.: Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biological Chemistry*, **193**, 265-275 (1951)
- Nishikawa, A., Lee, I.S., Furukawa, T., Kasahara, K. and Kim, S.U.: Effects of *Selaginella tamariscina* on *in vitro* tumor cell growth, p53 expression, G1 arrest and *in vivo* gastric cell proliferation. *Cancer Letters*, **144**, 93-99 (1999)
- Yoo, I.D.: Detection of new functional biological activity substance from mushrooms. *KSM News Letter*, **7**, 6-10 (1995)
- Kim, B.K., Choi, E.C. and Kim, B.K.: Studies on the constituents of higher fungi of Korea (XXIV). Antineoplastic activities of *Coriolus versicolor* (Lex Fr) Qule. *Pleurotus ostreatus* (Fr) Kummer and *Lentinus edodes* (Berk) Sing. *Arch. Pharm. Res.*, **2**, 145-151 (1979)
- Kang, C.Y., Shim, M.J., Choi, E.C., Lee, U.N. and Kim, B.K.: Studies on antitumor components of Korean Basidiomycetes. Mycelial culture and antitumor components of *Ganoderma lucidum*. *J. Kor. Biochem.*, **14**, 100-109 (1981)
- Saito, T., Sasaki, D., Tamada, R., Imamatsu, H. and Inokuchi, K.: Sequential morphological changes in MNNG carcinogenesis in the glandular stomach of rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **44**, 141-153 (1970)
- Kraut, E.H. and Sagone, A.L.: The effect of oxidant injury on the lymphocyte membrane and function. *J.*

- Lab Clin. Med.*, **98**, 697-703 (1981)
21. Hamilton-Koch, W., Snyder, R.D. and Lavelle, J.M. Metal-induced DNA damage and repair in human diploid fibroblasts and Chinese hamster ovary cells *Chem. Biol. Interact.*, **59**, 17-28 (1986)
  22. Chung, H.Y. and Kim, Y.K. : Age-associated alteration in the hepatic superoxide generation and antioxidant activities in the senescence-accelerated mice *Yakhak Hoeji*, **36**, 460-465 (1992)
  23. Leeuwenburgh, C. and Ji, L.L. : Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats *J. Nutr.*, **126**, 1833-1843 (1996)
  24. Kitahara, A., Satou, K., Nishimura, K., Ishikawa, T., Runke, K., Sato, K., Tsuda, H. and Ito, N. : Change in molecular forms of rat hepatic glutathione S-transferase during chemical hepatocarcinogenesis *Cancer Res.*, **44**, 2698-2703 (1984)
  25. Nam, S.M., Kim, J.G., Ham, S.S., Kim, S.J., Chung, M.F. and Chung, C.K. : Effects on *Artemisia iwayamogi* extracts on antioxidant enzymes in rats administered benzo(a)pyrene. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 199-204 (1999)
  26. Prelich, G., Tan, C. and Kostura, M. : Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase auxiliary protein. *Nature*, **326**, 517-520 (1987)
  27. Gerds, J., Schwab, U., Lemke, H. and Stein, H. : Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int. J. Cancer*, **31**, 13-20 (1983)

(1999년 12월 10일 접수)