

버섯의 抗癌性 成分(I)

구름버섯의 蛋白多糖類의 抗癌效果*

朴 恩 奎 · 金 炳 珪

서울대학교 藥學大學 微生物藥品化學敎室

Antineoplastic Components of Mushrooms

Antineoplastic Activities of PS-K, a Protein-bound Polysaccharide of *Coriolus versicolor* (Fr.) Quel.

Eun Kyu Park and Byong Kak Kim

Department of Microbial Chimistre, College of Pharmacy,
 Seoul National University
 Seoul, Korea.

서 론

여러 가지 고등 식물, 진균, 또는 박테리아로부터 추출한 다당류가 주로 sarcoma-180에 대해 강한 성장 억제 작용을 갖는 항암 물질임은 이미 여러번 보고된 바 있다. 특히 표고 버섯 [*Lentinus edodes* (Berk) sing.]에서 추출한 lentinan⁴⁾이 sarcoma-180에 대해 강한 항암작용을 나타내며 이의 항암 기전은 세포면역 반응의 촉진에 기인한 것으로 사료되고 있다⁶⁾. 이와 같은 다당류들은 비경구 투여, 특히 복강내 주사시 sarcoma-180에 대해 유효한 것으로 밝혀졌으며 경구 투여시에는 효력이 없었다.

그러나 구름버섯의 다당류는 경구로 투여해도 sarcoma-180에 대해 유효함을 관찰하게 되었다. 15% 정도의 단백질이 강하게 결합된 이 다당류는 PS-K로命名되었고 이는 담자균류의 구멍장이 버섯과에 속하는 「구름 버섯」 [*Polyporaceae: Coriolus versicolor* (Fr.) Qué.]에서부터 추출된 것으로서, 무미, 무취의 갈색

Table 1 Chemical Composition of PS-K

| | % |
|---|----|
| Saccharide portion (mostly glucose with minor amount of mannose and xylose) | 70 |
| protein portion (percentage of amino acids in protein ^{a)}) | 15 |
| Aspartic acid | 14 |
| Threonine | 7 |
| Serine | 7 |
| Glutamic acid | 13 |
| Proline | 1 |
| Glycine | 7 |
| Alanine | 8 |
| Cystine | + |
| Valine | 7 |
| Methionine | 1 |
| Isoleucine | 7 |
| Leucine | 7 |
| Tyrosine | 2 |
| Phenylalanine | 6 |
| Lysine | 3 |
| Histidine | 1 |
| Arginine | 3 |

*韓國菌學會 月例會에서 S. Tsukagoshi의 논문을 抄錄한 것임.

a) Four percent ammonia was detected in the analysis of protein portion

분말이며 분자량은 1만 이상되는 것이다. SP-K 의다 당류 부분의 구조는 5개 정도의 포도당마다 3번 또는 6번 위치에 branching이 되어 있는 α - 또는 β -(1→4) glucan이다.

단백질 부분의 아미노산의 조성은 다음 표 1과 같다 PS-K를 복강내 투여 또는 경구로 투여 하면 mouse의 sarcoma-180과 rat의 ascites hepatoma AH-13 cell에 대해 유효함을 알 수 있으며 또한 mouse의 선천적인 leukemia P 388에 대해서도 유효함을 알 수 있다. PS-K도 역시 세포 면역의 촉진에 기인한 항암 효과를 갖는 것으로 추정되며 동물 실험 결과, Cyclophosphamide (alkylating agent 계열의 항암 물질에) 의한 과립백혈구 감소증, 체중 감소 또는 면역 억제 작용 등과 같은 부작용을 어느 정도 방지할 수 있음을 알 수 있다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

구름 버섯의 균사체를 뜨거운 물로 처음에 추출하고 이를 원심 분리한 후 상등액을 황산 암모늄으로 포화시켜 염석법에 의해 침전을 얻고 이 침전을 투석법에 의해 분자량이 작은 물질 및 ion 물을 제거하여 순수한 PS-K를 얻는다

2. Sarcoma-180에 대한 동물 실험 방법

실험 동물로는 ICR-JCL mouse(20—25g)을 사용하며 먼저 Sarcoma-180 cell(10^6 cell/mouse)을 피하 주사로 이식하고 PS-K를 Sarcoma-180을 이식한 후 7일부터 투여 방법을 달리 하며 투여한 후 이식후 32일째 되는 날 tumor를 적출해 내어 그 무게를 달아서 control group의 것과 비교해서 저해 백분율을 산출해 낸다.

3. Ascites Hepatoma AH-13에 대한 실험

가) 실험 동물로는 Donryu rat(100—140g)를 사용하며 먼저 PS-K를 투여 방법을 달리하여 10일간 투여한 후 마지막 투여 후 10일 쯤되는 날에 AH-13 cell (10^6 cell/rat)을 복강내 주사하여 이식한 후 수명의 연장 정도를 가지고 실험 결과를 분석한다.

나) 역시 실험 동물로는 Donryu rat(100—140g)를 사용하며 실험 방법은 먼저 PS-K를 5일간 복강내로 투여한 후 AH-13 cell(10^6 cell/rat)과 PS-K를 혼합 또는 혼합치 않은 채 피하주사하고 일주일 후에 AH-13

cell을 복강내에 이식한다. 이식후 5일 후에 복강내의 ascites cell을 꺼내어 소량(약 1ml)의 생리 식염수로 5회 세척하고 Giemsa염색을 한 후 hemocytometer로 세포수를 측정하여 세포수/ml를 알아낸 후 이에 총혈탁액 용량을 곱하여 총복강내의 ascites cell을 산출해 내어 control과 비교하여 백분율을 계산해 낸다.

4. Leukemia P 388에 대한 동물 실험방법

실험 동물로는 CDF₁(C 57 B L/6 암컷 X DBA/2 숫컷의 F₁인) 암컷 mouse를 사용하며 실험 방법은 다음과 같은 scheme에 따라 실시하며 결과는 평균 생존 일수를 측정하여 control과 비교하여 백분율을 계산해 냄으로써 얻는다.

| 2주일 | | 2주일 | | 2주일 | |
|-----|----------------|----------------|---|-----|--|
| A | B | B | C | E | |
| | D ₁ | D ₁ | | | |
| | D ₂ | D ₂ | | | |

A: mouse에게 500mg/kg의 PS-K를 매일 5일간 복강내로 투여함.

Table 2 Effect of PS-K on Mice Bearing Sarcoma-180

| Route of administration | Dose (mg/kg) | No. of administration | Average tumor Weight(g) | Inhibition (%) |
|-------------------------------|--------------|-----------------------|-------------------------|----------------|
| Intraperitoneal (8mice/group) | Control | — | 2.56±1.20 ^{a)} | — |
| | 10 | 11 | 0.16±0.56 | 93.7 |
| | 100 | 11 | 0.06±0.17 | 97.6 |
| Oral (10mice/group) | 600 | 11 | 0.03±0.17 | 99.3 |
| | control | — | 2.36±1.42 | — |
| | 500 | 20 | 0.01±1.18 | 57.1 |
| Intramuscular (10mice/group) | 1,000 | 20 | 0.57±0.99 | 75.9 |
| | Control | — | 2.37±1.27 | — |
| Intravenous (8mice/group) | 100 | 11 | 0.50±0.40 | 78.0 |
| | Control | — | 3.52±1.97 | — |
| | 58 | 11 | 1.80±1.33 | 48.3 |

ICR-JCL mice were inoculated subcutaneously with sarcoma-180 (10^6 cell/mouse). Administration of PS-K started 7 days after inoculation of Sarcoma-180. Body and tumor were measured on the 32nd day after inoculation. a) Values are means±standard deviation (SD)

Table 3 Effect of Pretreatment of Rats Bearing Ascites Hepatomas with PS-K

| | Treatment (mg/kg × times) | Route | 60-days survivors | Average life span in days T/C |
|---------|---------------------------|-------|-------------------|-------------------------------|
| AH-13 | 250 × 10 | i.p. | 7/10 | 8.5/8.0 |
| | " | p.o. | 2/10 | 12.0/8.0 |
| | " | s.c. | 0/10 | 8.0/8.0 |
| | " | i.v. | 0/10 | 8.0/8.0 |
| AH-7974 | 250 × 10 | i.p. | 2/10 | 20.0/23.0 |
| AH-66F | 250 × 10 | i.p. | 4/10 | 8.5/9.0 |

PS-K (250mg/kg) was given intraperitoneally (i.p.), Subcutaneously (s.c.), intravenously (i.v.), or orally (p.o.) for 10 days to Donryu rats (10 rats/group) and rats were inoculated i.p. with ascites hepatoma, AH-13, AH-7974 or AH-66F (10⁶ cell/rat), 8 days after the last injection. Figures in parentheses indicate average life span (days) of the dead rats in the treated group (T) to that in the control (C).

Table 4 Effect of PS-K Pretreatment and Subcutaneous Inoculation of AH-13 Cells Admixed with PS-K on the Growth of Ascites Tumor Cells

| Group | Pretreatment | Subcutaneous inoculation | Intraperitoneal inoculation | Average total cell count | T/C ^{a)} (%) |
|-------|--------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------|
| 1 | — | AH-13 | AH-13 | 201 ± 258 | 100 |
| 2 | — | AH-13+PS-K | AH-13 | 214 ± 181 | 107 |
| 3 | PS-K | AH-13 | AH-13 | 39 ± 67 | 19 |
| 4 | PS-K | AH-13+PS-K | AH-13 | 6 ± 10 | 3 |

a) T/C = (average total cell count in group 2, 3, or 4 / average total cell count in group 1) × 100

Table 5 Effect of PS-K Pre-and or Posttreatment on the life Span of Mice Inoculated with P 388

| Treatment | MST ^{a)} (day) | T/C ^{b)} |
|------------------|-------------------------|-------------------|
| C | 10.5 | 100 |
| CE | 12.5 | 125 |
| AC | 10.5 | 105 |
| ACE | 15.0 | 150 |
| BC | 10.5 | 105 |
| BCE | 12.5 | 125 |
| ABC | 10.0 | 100 |
| ABCE | 13.5 | 135 |
| D ₁ C | 9.0 | 90 |

| | | |
|--------------------|------|-----|
| D ₁ CE | 12.5 | 125 |
| AD ₁ C | 11.0 | 110 |
| AD ₁ CE | 14.0 | 140 |
| D ₂ C | 9.0 | 90 |
| D ₂ CE | 14.0 | 140 |
| AD ₂ C | 10.0 | 100 |
| AD ₂ CE | 13.0 | 130 |

a) MST: median survival time

b) T/C = (MST in treated mice / MST of control mice) × 100

B: 10,000 rad의 X-광선을 조사시킨 0.1ml의 P 388 cell을 dorsum의 피하에 이식함.

D₁: B의 X-광선을 조사시킨 P 388 cell을 PS-K 25mg /ml/10⁸ cell과 혼합한 후 0.1ml의 세포 현탁액을 피하로 주사함.

D₂: D₁과 같은 조작을 하나 PS-K의 양만을 12.5mg/ml로 줄여서 투여함.

C: P 388 cell을 (10⁶ cell/mouse) 복강내로 이식함.

E: P 388 cell을 복강내로 이식한 후 첫째날부터 500mg/kg의 PS-K의 투여를 시작하여 5일간 mouse에게 복강내로 투여함.

상기 실험 2), 3)과 4)의 결과는 표 II, III, IV 및 V와 같다.

결 과

실험 2

복강내 주사시 가장 좋은 효과를 보이나 역시 경구 투여 (0.2ml/20g)를 해도 표 II에서 보는바와 같이 비교적 높은 저해율을 보인다.

실험 3

가) tumor를 이식하기 전에 PS-K를 복강내 주사했을 때 가장 좋은 효과를 보이나 경구 투여해도 좋은 효과를 얻을 수 있음을 보인다.

나) 표 IV에서 보는바와 같이 4번 group과 같이 처치한 것이 가장 좋은 효과를 보인다. 즉, PS-K를 먼저 투여하고 AH-13과 PS-K를 혼합하여 투여하고 AH-13을 이식한 group의 것의 cell의 수효가 가장 적음을 볼 수 있다.

실험 4

표 V)에서 보는 바와 같이 PS-K를 전후 6주 간격을 두고 투여한 경우가 가장 좋은 결과를 얻을 수 있음을 보인다. 즉 이 경우에는 수명이 50%나 더 연장이 됨을 볼 수 있다. 약독화시킨 P 388 cell을 피하로 이식시킨 후에 정상인 P 388 cell을 이식시킨 경우에는 수명을 연장시키는데 별 영향을 미치는 것 같지 않다.

고 찰

상기에서 본 바와 같이 단백질 강하게 결합된 다당류인 PS-K는 경구투여를 해도 sarcoma-180과 ascites hepatoma AH-13에 대해서 유효한 항암 작용을 나타내며 또한 선천적인 leukemia P 388에 대해서도 유효한 작용을 가짐을 알 수 있었다. 이 PS-K의 항암 기전은 현재로는 세포 면역 반응의 accelerator 역할을 함에 의한 것이 아닌가 하고 추정하고 있으며 이를 입증할 만한 실험 결과는 표 VI과 같으며 상기의 P 388에 대한 실험 결과인 표 V에 의해서도 다소나마 입증할 수 있다. 즉, 약독화 시킨 세포에 의한 영향이 거의 없다는 점으로 미루어 보아서 이 PS-K가 세포 면역와 관련 있음을 간접적으로 알 수가 있다.

또한 PS-K는 다른 종래의 항암제와 비교할 때 독성이 매우 낮음을 알 수 있다. 이를 뒷받침 해 줄 만한 동물 실험 결과는 다음 그림 1, 2와 3과 같다. 그림 1과 2는 Cyclophosphamide의 독작용인 과립백혈구 감소증과 체중 감소에 대한 비교 도표로 Cyclophosphamide

(Endoxan®)과 PS-K를 비교한 것이고 그림 3은 Vinka alkaloid계통인 Vincristine(소아의 백혈병 치료제)의 독성과 PS-K의 독성 여부를 비교한 것으로 오히려 PS-K를 혼합 투여함으로써 생명이 연장 되었음을 볼 수 있다.

이와 같이 PS-K는 비교적 독작용이 없이 치료 작용이 큼을 관찰하였다.

상기에서 본 바와 같이 PS-K는 치료작용이 경구투여로도 나타나며 종래의 Polysaccharide계통의 항암물질은 주로 sarcoma-180에만 유효한 것으로 나타났음에 비해 앞에서 밝힌 세종류의 tumor 모두에 대해 작용이 탁월하며 독작용도 적을 뿐 아니라, 함께 투여함으로써 다른약물의 독작용을 감소시키는 합목적적인 약물임을 알 수 있다.

현재 일본에서 임상 실험 결과도 아주 좋은 것으로 밝혀지고 있어 앞으로의 암 치료에 서광을 비추주고 있는 것으로 기대해 봄직한 약물임에 틀림 없다.

Table 6 Effect of Antilymphocyte Serum on the Antitumor Activity of PS-K

| Exp. | Samples | Dose | Average tumor weight(g) | D/T | Inhibition ratio (%) | Complete regression |
|-----------------|----------|---------------------|-------------------------|-----|----------------------|---------------------|
| 1 ^{a)} | PS-K | 50mg/kg×10i.p. | 0.25 | 1/8 | 94.7 | 5/7 |
| | PS-K+ | 50mg/kg×10+ | 3.03 | 1/8 | 35.3 | 0/7 |
| | ALS | 0.1ml×10 i.p. | | | | |
| | ALS | 0.1ml×10 | 3.67 | 1/8 | 21.6 | 0/7 |
| | PS-K+NRS | 50my/kg×10+ | 1.15 | 1/8 | 75.4 | 1/7 |
| | Control | 0.1ml×10 | 4.68 | 0/8 | — | — |
| 2 ^{b)} | PS-K | 50mg/kg×10 | 0.25 | 1/8 | 94.7 | 5/7 |
| | PS-K+ALS | 50mg/kg×10+0.1ml×10 | 1.44 | 1/8 | 69.2 | 0/7 |
| | ALS | 0.1ml×10 | 3.14 | 3/8 | 32.9 | 0/7 |
| | PS-K+NRS | 50mg/kg×10+0.1ml×10 | 0.76 | 0/8 | 83.8 | 4/8 |
| | Control | | 4.68 | 0/8 | — | 0/8 |

D/T: number of dead mice/number of total mice (ICR-JCL), NRS: norma rabbit serum.

a) PS-K and antilymphocyte serum were injected i.p. 24 hr after transplantation of sarcoma-180.

b) PS-K was injected 24 hr after tumor transplantation, and antilymphocyte serum injected 12 days after tumor transplantaton

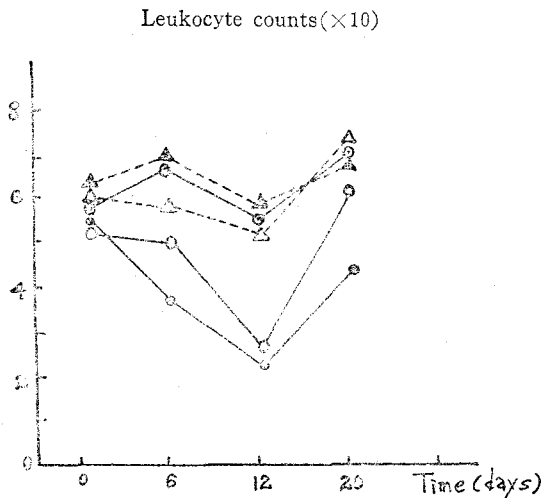


Fig. 1 Change of average leukocyte counts of mice treated with Endoxan and/or PS-K.

Animals: ICR-JCL mice

- : PS-K 1,000mg/kg p.o.;
- : PS-K +Endoxan 25mg/kg i.p.;
- : Endoxan; △ : Control; ▲ : normal.

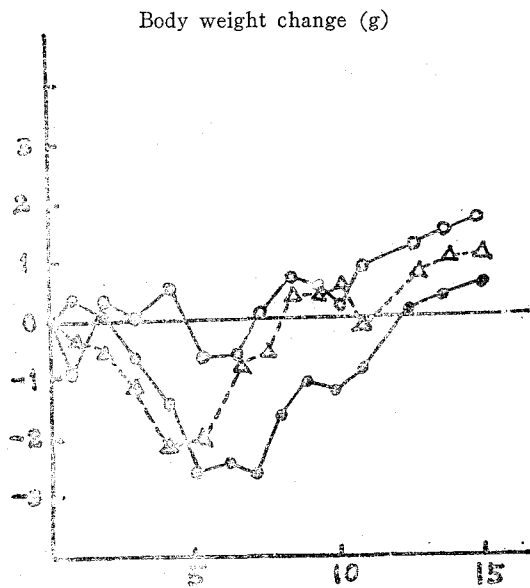


Fig. 2 Effect of PS-K on the body weight of mice given Endoxan.

Animals: ICR-JCL mice

- : PS-K+Endoxan 25mg/kg i.p.;
- : Endoxan 25mg/kg i.p.; △ : Control.

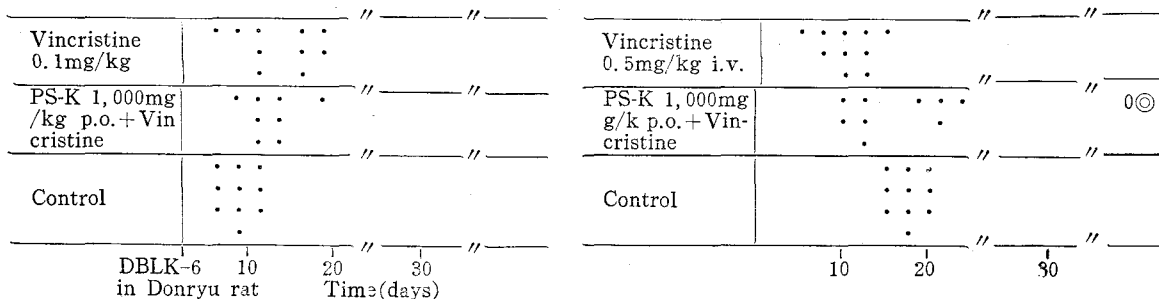


Fig. 3 Effect of PS-K on the life span of rats inoculated with DBLA-6 cells and treated i.v. with vincristine, DBLA-6 rat leukemia (10⁶ cells/rat) was inoculated intraperitoneally to Donryu rats (10 rats/group) and from the day after inoculation vincristine (0.1 or 0.5mg/kg) was injected every other day for 3-10 times i.v. with or without p.o. daily administration of PS-K (1,000mg/kg). Rat which received i.v. Vincristine alone 10.5mg/kg/day for 3 times) died before 10 days due to the toxicity of vincristine ● death of individual rat; ○ long survivor.

참고 문헌

- 1) Tsukagoshi, S., and Ohashi, F., *GANN* **65**, 557 (1974).
- 2) Tsukagoshi, S. "Host Defense against Cancer and its Potentiation," D. Mizuno *et al.* (Eds.), Univ. of Tokyo Press, Tokyo and Univ. Park Press, Baltimore, pp. 365 (1975).
- 3) Lowry, D.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Landall, R.J., *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- 4) Maeda, Y.Y., and Chihara, G., *Nature* **229**, 634 (1971).
- 5) Nakahara, W., Tokuzen, R., Fukuoka, F. and Wistler, R.L., *Nature* **216**, 274 (1967),
- 6) Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F., *Nature* **222**, 687 (1969).
- 7) Uhr, J.W., Salvin, S.B., and Pappaenheirer, A.M., *J. Exp. Med.* **105**, 11 (1957).
- 8) Hirase, S., Otsuka, S., Uneno, S., Yoshikumi, C., Ohara, M., Hirose, F., Fujii, T., Omura, Y., Wada, T., Matsunaga, K., Aoki, T., and Furusho, T., *Abstr. Papers Pharm. Soc. Japan* **IV**, 5, 1974 (in Japanese).