

마우스에서 Sarcoma-180에 대한 *Bifidobacterium adolescentis* ATCC-15703의 항암 효과

김경태^{1,2} · 배형석¹ · 백영진¹ · 이형환^{2*}

¹한국야쿠르트 유업(주) 연구소, ²건국대학교 이과대학 생물학과

Antitumor Activity of *Bifidobacterium adolescentis* ATCC-15703 against Sarcoma 180 in Mice

Kim, Gyung-Tae^{1,2}, Hyung-suk Bae¹, Young-Jin Baek¹ and Hyung-Hoan Lee^{2*}

¹Hankuk Yakult Institute for Dairy Technology and Microbiology,
Kyunggi-do, 437-020, Korea

²Department of Biology, Konkuk University, Seoul 133-701, Korea

Abstract — Antitumor and immunoadjuvant activities of *Bifidobacterium adolescentis* ATCC-15703 were investigated against the ascites and solid forms of tumor induced by Sarcoma 180(S-180) in ICR mice. When 100 µg of the bacterium was intraperitoneally administered in the mice, the survival rate(T/C %) of the mice was 132% for 50 days after the inoculation of S-180, however the increment of their body weights was suppressed. When the 100 µg was subcutaneously administered at the right grion, the suppression rate of the tumor growth on the 21st day after inoculation of S-180 were 62.3%. Complete suppression of the tumor growth was observed from 2 out of 8 test mice. The bacterium itself appeared to have noncytotoxic substance against the S-180 *in vitro*. The bacterial administration markedly enhanced the activity of peritoneal macrophages. The number of peritoneal macrophages at one day after the administration of the 100 µg increased about 8 times as much as that of the control, and the highest activity of acid phosphatase appeared at 2 days.

항암제와 함께 사용하는 보조약제(biological response modifiers)로는 BCG(*Mycobacterium bovis*), OK-432(*Streptococcus pyogenes*), *Corynebacterium parvum* 등이 있다. 이들의 항암효과는 숙주매개성이며 대식세포와 자연살해세포의 활성증폭에 기인한다고 알려져 있으나(1-3), BCG는 주로 생균상태로 사용하기 때문에 감염합병증을 일으키고 때로는 사망을 유발하기도하며, OK-432 등은 가끔 질병을 야기시켜 임상작용을 가로 막는 부작용을 일으킨다(4). 그러나 최근 유산균과 유산균으로 배양된 유제품이 항암효과를 가진다는 보고 이후로 지난 10여년간 유산균의 항암활성에 관한 연구가 활발히 진행되었다(5-7). 이러한 유산균은 그람양성이며 비병원성균으로 독성이 없고 생산비가 저렴하여 BRM 제제의 사용에 따른 부작용을 최소화할 수 있으므로, 새로운 면역요법제

로의 활용 가능성이 보여지고 있다.

특히 *Bifidobacteria*는 정상작용이 뛰어난 그람양성의 비병원성 혐기성균으로, 장내 정착성이 높을 뿐만 아니라 항암활성도 있음이 Mitsuoka(8)에 의해 보고되었다. *Bifidobacterium infantis*의 항암효과는 OK-432와 유사하며(9), *B. longum*의 항종양 효과와 면역부활 작용이 보고되기도 하였으나(10), *Bifidobacterium* 속에 대한 항암효과에 대해서는 아직 연구가 초보단계를 벗어나지 못하고 있어서 본 연구를 시작했다.

따라서 본 연구에서는 *Bifidobacterium adolescentis* ATCC-15703 균주가 Sarcoma-180의 복수암 및 고형암에 대한 항암효과 및 면역 증강효과를 ICR 마우스를 통하여 연구하였다.

재료 및 방법

실험 동물

Key words: *Bifidobacterium adolescentis*, antitumor activity, sarcoma-180

*Corresponding author

한국 화학 연구소 화학물질 안전성 연구센터로부터 4 주령의 수컷 ICR 마우스를 구입하여, 마우스를 2 주간 예비 사육한 후 실험에 사용하였다. ICR 마우스 (30±2 g, 6 주령)는 Sarcoma-180(S-180)의 복수암과 고형암을 유발하기 위한 숙주로 사용하였다. 마우스를 플라스틱 상자에 8~10마리씩 넣고, 22~24°C에서 상대습도는 60~70%로 조절하여 사육하였다. 사료는 펠릿형 실험동물 사료(신촌 사료)였으며 자유급식시켰다. 깔집은 주 2회 교체하였고 지하 정제수를 매일 교체하여 공급하였다.

암세포주

S-180 세포주는 유한양행 중앙 연구소로부터 분양 받았으며, 8~12주령된 ICR 마우스의 복강에서 계대 배양하였다. 복수암이 유발되어 복부가 팽만한 마우스의 복강에 1 ml 주사기를 삽입하여 노란색의 복수액을 채취한 후, 그 원액을 0.05 ml (1.0×10⁷ cells)씩 정상 ICR 마우스의 복강에 투여하여 동일한 암세포를 배양하였으며, 13일 간격으로 반복 계대하여 보존하였다.

유산균세포 시료의 제조

B. adolescentis ATCC-15703 균주를 BL 배지(11)에서 37°C, 18시간 동안 혐기 배양하였다. 특히 BL 액체배지는 혐기상태를 유지하기 위하여 파라핀 유액을 두께가 1 cm 되게 배지에 첨가한 후, 멸균하여 사용하였다. 배양된 세포는 10,000×g에서 10분간 원심분리한 뒤, 멸균 증류수로 3회 세척하여 회수하였다. 100°C에서 30분간 열처리하여 균체를 살균하고, 냉동 건조하여 분쇄·밀봉한 후 냉장고에 보관하면서 사용하였다.

유산균의 S-180 복수암에 대한 항암 효과 측정

ICR 마우스에서 *in vivo* 계대 중인 S-180 세포를 복강으로부터 채취하여 10% Fetal bovine serum이 첨가된 RPMI 1640 배지(GIBCO)로 희석하였으며, S-180 세포의 농도가 2×10⁷ cells/ml이 되게 한 다음 1 ml 주사기로 0.05 ml (1×10⁶ cells)씩 ICR 마우스(수컷, 6 주령, 30±2g)의 복강에 투여하여 복수암을 유발하였다. S-180 세포를 ICR 마우스의 복강에 투여시킨 즉시, 멸균 생리식염수에 농도별로 현탁된 유산균 시료(50~150 µg/mouse)를 마우스의 복강에 투여하여 21일까지 마우스의 체중을 3일 간격으로 측정하였으며, 또한 50일까지 마우스의 생존일을 관찰하였다. 시험군의 마우스 수는 8~10마리였으며 생존율(survival rates)은 다음 공식으로 산출하였다.

$$\text{Survival rate(T/C \%)} = \frac{\text{Mean survival days of treated mice}}{\text{Mean survival days of control mice}} \times 100$$

유산균의 S-180 고형암에 대한 항암 효과 측정

ICR 마우스에서 *in vivo* 계대 중인 S-180 세포를 복강으로부터 채취하여 RPMI 1640 배지(10% FBS 포함)로 희석하여 S-180 세포의 농도가 4×10⁷ cells/ml 되게 하였다. 이와 같이 희석한 S-180 세포액을 1 ml 주사기로 0.05 ml (2×10⁶ cells)씩 ICR 마우스 (male, 6 주령, 30±2 g)의 우측 서혜부에 피하 투여하여 고형암을 유발시켰다. S-180 세포를 ICR 마우스의 우측서혜부 피하에 투여시킨 즉시, 살균 건조된 유산균 시료를 멸균 생리식염수에 현탁하여 농도별로 (50~150 µg/mouse) 동일 부위에 피하투여 하였다. 시험군의 마우스 수는 8~10마리였으며 대조 마우스에는 생리식염수를 투여하였다. 21일이 경과하였을 때, 마우스의 우측 서혜부를 절개하여 암괴를 적출하고 무게를 microbalance(Mettler, PE 360)로 측정하였다. 고형암 증식에 대한 유산균의 억제효과(inhibition rate)는 다음 공식으로 산출하였다.

$$\text{Inhibition rate(\%)} = \left(1 - \frac{\text{Mean tumor weight of treated mice}}{\text{Mean tumor weight of control mice}} \right) \times 100$$

유산균의 시험관내에서 암 세포의 성장에 미치는 억제력

S-180 세포(3.0×10⁵ cells)를 RPMI 1640 배지(10% FBS 포함) 6 ml에 접종하여 25 cm² T-flask에 넣어 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 1일간 증식시켰다. *B. adolescentis* ATCC-15703 균세포가 부착된 암세포 배양액에 100~1000 µg/T-flask의 농도가 되도록 첨가한 후 1일간 배양하였다. 첨가된 *B. adolescentis* ATCC-15703 균을 제거하기 위해 T-flask 바닥에 붙은 암세포를 RPMI 1640 배지(10% FBS 포함)로 2회 세척하였다. 새로운 RPMI 1640 배지(10% FBS 포함) 6 ml를 T-flask에 넣고 2일간 추가 배양하였다. 배양일 별로 T-flask 바닥에 붙은 암세포를 scraper(Costar)로 수거하여 trypan blue 염색액으로 염색한 후 도립 현미경으로 살아있는 총 세포 수를 계측하였다.

복강 대식세포 수 측정

살균 건조된 유산균을 생리식염수에 용해하여(2 mg/ml saline) 6주령된 수컷 ICR 마우스의 복강에 0.05 ml (100 µg/mouse)를 투여하고, 11일 동안 마우스

스의 복강내 대식세포의 수 변화를 관찰하였다. 마우스의 두경부를 분리시켜 ICR 마우스를 죽인 후 사지를 고정하고 정중선 검상연골 부위의 표피를 박리시켰다. 8.0 ml Hanks' balanced salt solution (HBSS)을 복강 속으로 넣고 꼬리를 좌우로 충분히 흔든 후, 10 ml 주사기를 사용하여 복수액을 무균적으로 뽑아 내었다. 250×g에서 5분간 원심분리하여 복강 세포를 회수하고 RPMI 1640 배지(10% FBS 포함) 2 ml에 현탁하였다. 현탁액 10 μl에 40 μl의 RBC lysis buffer(10 mM KHCO₃, 0.155 M NH₄Cl, 0.1 mM EDTA)를 첨가하여 적혈구를 제거하고, RPMI 1640 배지(10% FBS 포함)로 적절히 희석하여 Hemacytometer를 사용하여 도립현미경에서 대식세포 수를 측정하였다.

Acid phosphatase 활성 측정

대식세포의 소화효소들 중의 하나인 acid phosphatase 활성을 측정하기 위하여 8 ml HBSS로 ICR 마우스의 복강을 세척하였다. 복수액을 250×g에서 5분간 원심분리하여 복강 세포를 회수하고 4°C의 RPMI 1640 배지(10% FBS 포함) 6 ml에 현탁하였다. 현탁액을 T-flask(Corning, 25 cm²)에 넣고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 90분간 배양하여 대식세포를 부착시켰다. 비부착 세포들을 제거하기 위하여 멸균된 PBS(Phosphate buffered saline)로 T-flask를 2회 세척하였다. T-flask 바닥에 붙은 대식세포들을 cell lifter(Costar)로 긁어서 수거한 후 1,900 rpm(Eppendorf)에서 6.5분간 원심분리하여 회수하였다. 이와같이 얻은 대식세포는 2% Triton X-100이 첨가된 100 mM phosphate 완충액(pH 6.0) 0.3 ml로 현탁하였으며, -20°C에서 2분간 냉동, 50°C에서 2분간 용해하는 과정을 4회 반복한 후 15,000 rpm(Eppendorf)에서 20분간 원심분리하여 상층액을 효소액으로 사용하였다. Acid phosphatase 활성을 측정하기 위한 기질로는 p-nitrophenyl phosphate(PNPP)를 사용하였다. 0.2 ml의 효소액에 100 mM citrate 완충액(pH 5.6) 0.7 ml와 50 mM PNPP 0.1 ml를 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후, 0.1 N NaOH 1 ml로 효소 반응을 중지시켰다. 효소활성은 405 nm에서 흡광도를 측정(Spectrophotometer; Milton Roy, Spectranic 20D)하여, 37°C에서 분당 1 μM p-nitrophenol을 생산·방출하는 양을 효소 단위 1 unit로 나타내었다.

통계 분석

암 성장에 대한 통계적 유의성은 Student' T-test(12)를 이용하여 분석하였다.

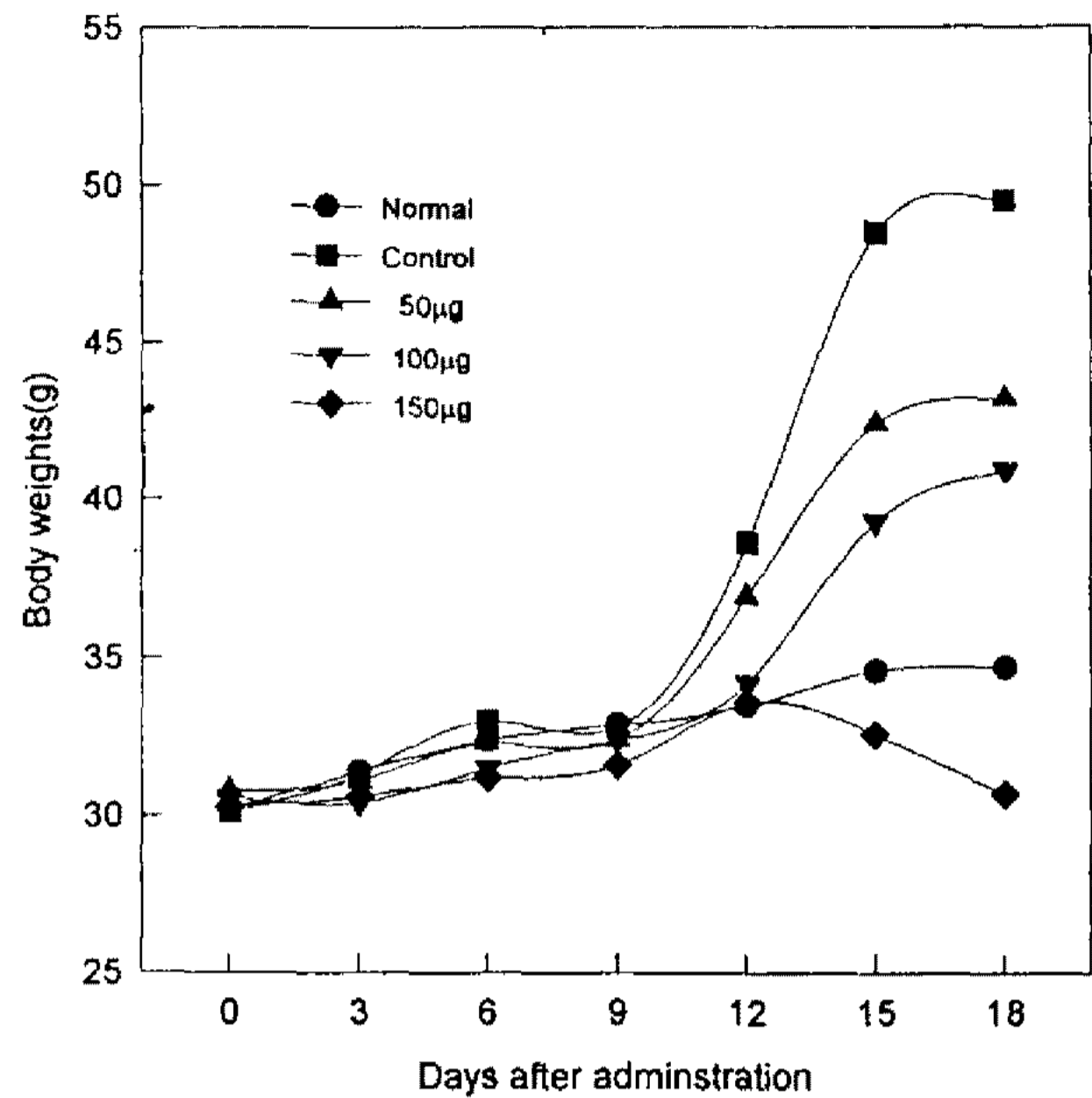


Fig. 1. Effect of intraperitoneal administration of BA 15703 on the increase of body weight in tumor-induced and normal ICR mice.

ICR mice(6 weeks of age, male, 30±2 g) were inoculated intraperitoneally with S-180(1×10⁶ cells/mouse). BA15703 was given intraperitoneally into the mice and body weights of the mice were measured for 18 days after S-180 inoculation. Each experimental group consisted of 10 mice

결 과

B. adolescentis ATCC-15703 균세포의 S-180 복수암에 대한 의 항암효과

ICR 마우스의 복강에 1×10⁶ 개의 S-180 세포를 접종한 결과, S-180 복수암에 걸린 마우스의 체중은 S-180 세포 접종 후 9일부터 급증하기 시작하여, 18일에는 49.5 g으로 정상 마우스 체중(34.7 g)의 1.4 배나 되었다(Fig. 1). 유산균 *B. adolescentis* ATCC-15703 균세포의 투여농도에 따른 항암 활성은 100 μg의 투여에서 S-180 복수암의 성장이 현저하게 억제되었다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 50, 100, 150 μg의 유산균 세포를 투여한 마우스들의 평균 체중은 S-180 세포 투여 후 18일에 각각 43.2, 40.9, 30.7 g으로서, 대조군 마우스들의 평균 체중 49.5 g보다 낮았다. 이 때, 150 μg의 유산균세포를 투여한 실험군은 암세포 투여 후 6일부터 마우스 개체의 체중이 오히려 정상 마우스보다 감소되어, 16일부터는 폐사되기 시작하였다.

B. adolescentis ATCC-15703 균세포를 50일 동안 50, 100, 150 μg을 투여한 마우스들의 생존율은 각각 119, 132, 113%로서 대조군(100%)에 비하여 높게 나타났다(Fig. 2). 25일 경과 후 대조군은 10마리 중 3마리만

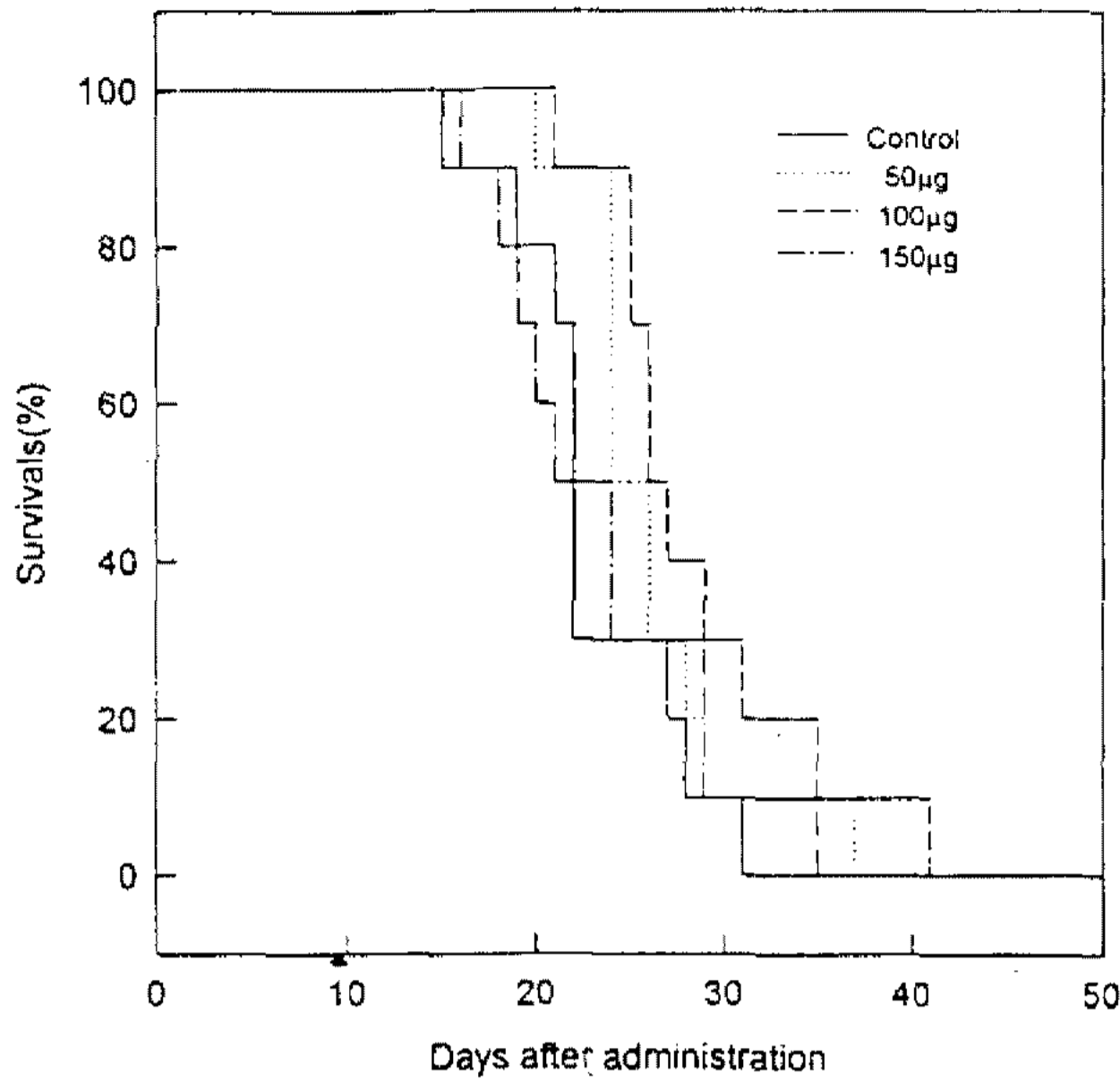


Fig. 2. Effect of intraperitoneal administration of BA 15703 on the survival of ICR mice after inoculation of S-180 intraperitoneally.

ICR mice(6 weeks of age, male, 30±2 g) were inoculated intraperitoneally with S-180(1×10⁶ cells/mouse). BA15703 was given intraperitoneally into the mice. Survival days of the mice were recorded for 50 days after S-180 inoculation. Each experimental group consisted of 10 mice

살아남았으나, 50 µg 투여군은 5마리, 100 µg 투여군은 7마리, 그리고 150 µg 투여군은 3마리가 살아남아서 100 µg을 투여한 마우스 그룹이 현저하게 높은 초기 생존율을 나타내었다.

B. adolescentis ATCC-15703 균의 S-180 고형 암에 대한 항암효과

S-180 세포를 접종한 후 21일 째에 마우스로부터 적출한 암괴의 무게는 6.90±2.75g이었으며, S-180 고형암의 성장은 ICR 마우스의 개체에 따라 다소 차이를 나타내었다. S-180 고형암에 대한 상기 유산균의 항암 활성도는 100 µg를 투여한 군에서 S-180 고형암의 성장이 현저하게 억제되었다. *B. adolescentis* ATCC-15703 균세포 50, 100, 150 µg 씩을 투여한 경우, S-180 고형암의 평균 무게는 각각 3.66, 2.60, 2.95 µg이었다(Table 1). 50 µg을 투여한 시험군은 대조군의 평균 암괴 무게 6.90 g에 대해 5% 유의차가 있었으며, 또한 100, 150 µg 투여군 모두 P<0.01로써 1% 유의차가 있었다. 100과 150 µg을 투여한 시험군에서 S-180 세포 접종 후 21일까지 고형암이 형성되지 않았던 마우스들은 8마리 중 2마리였으며 종양 성장에 대한 억제율은 각각 62.3, 57.2%이었다.

Table 1. Effect of *B. adolescentis* ATCC-15703 on the growth of solid form of tumor induced by S-180 in ICR mice

Dose (µg/mouse)	Tumor weight (g, mean±SD)	Inhibition rate (%)*	Tumor incidence	P value**
0	6.90±2.75	0	8/8	—
50	3.66±3.40	47.0	7/8	<0.05
100	2.60±1.97	62.3	6/8	<0.01
150	2.95±2.51	57.2	6/8	<0.01

The bacterial preparation(0, 50, 100 and 150 µg/mouse) was administered subcutaneously at the right groin of male ICR mice(6 weeks of age, 30±2 g) with S-180(2×10⁶ cells/mouse). Tumors were taken out of the ICR mice and weighed on the 21st day after S-180 inoculation. Each experimental group consisted of 8 mice.

$$*Inhibition\ rate = \left(1 - \frac{\text{Average tumor weight of tested mice}}{\text{Average tumor weight of control mice}} \right) \times 100$$

**Significantly different from control as determined by Student's t-test.

Table 2. *In vitro* cytotoxic effect of *B. adolescentis* ATCC-15703 on S-180

Incubation time (days)	No. of viable S-180 cells/T-flask at the administered conc.(µg/T-flask) of <i>B. adolescentis</i>			
	0	100	500	1000
0	3.0×10 ⁵	3.0×10 ⁵	3.0×10 ⁵	3.0×10 ⁵
1*	1.1×10 ⁶	1.1×10 ⁶	1.1×10 ⁶	1.1×10 ⁶
2**	2.0×10 ⁶	2.3×10 ⁶	1.9×10 ⁶	2.6×10 ⁶
3	4.5×10 ⁶	6.5×10 ⁶	6.8×10 ⁶	4.1×10 ⁶
4	8.5×10 ⁶	1.2×10 ⁷	1.0×10 ⁷	1.3×10 ⁷

S-180 cells(3.0×10⁵ cells/T-flask) were cultured in 6 ml RPMI 1640 medium containing 10% fetal bovine serum for 4 days at 37°C in 5% CO₂ incubator. *B. adolescentis* ATCC-15703 culture was added into the T-flask at concentration of 100, 500 and 1000 µg/T-flask on day 1, and then it was removed on day 2. Viable S-180 cells were collected and counted by the trypan blue dye exclusion method. Symbols: (*), the bacterium was added, and (**), it was removed.

시험관내에서 암세포의 성장에 미치는 억제성

B. adolescentis ATCC-15703 균이 S-180 세포에 대하여 직접적인 성장 저해성을 갖고 있는지의 여부를 확인하기 위하여, 살균 건조된 유산균세포를 T-flask 내에서 증식한 암세포 배양액에 다양한 농도로 첨가하여 암세포들의 성장 상태를 관찰하였다. Table 2에

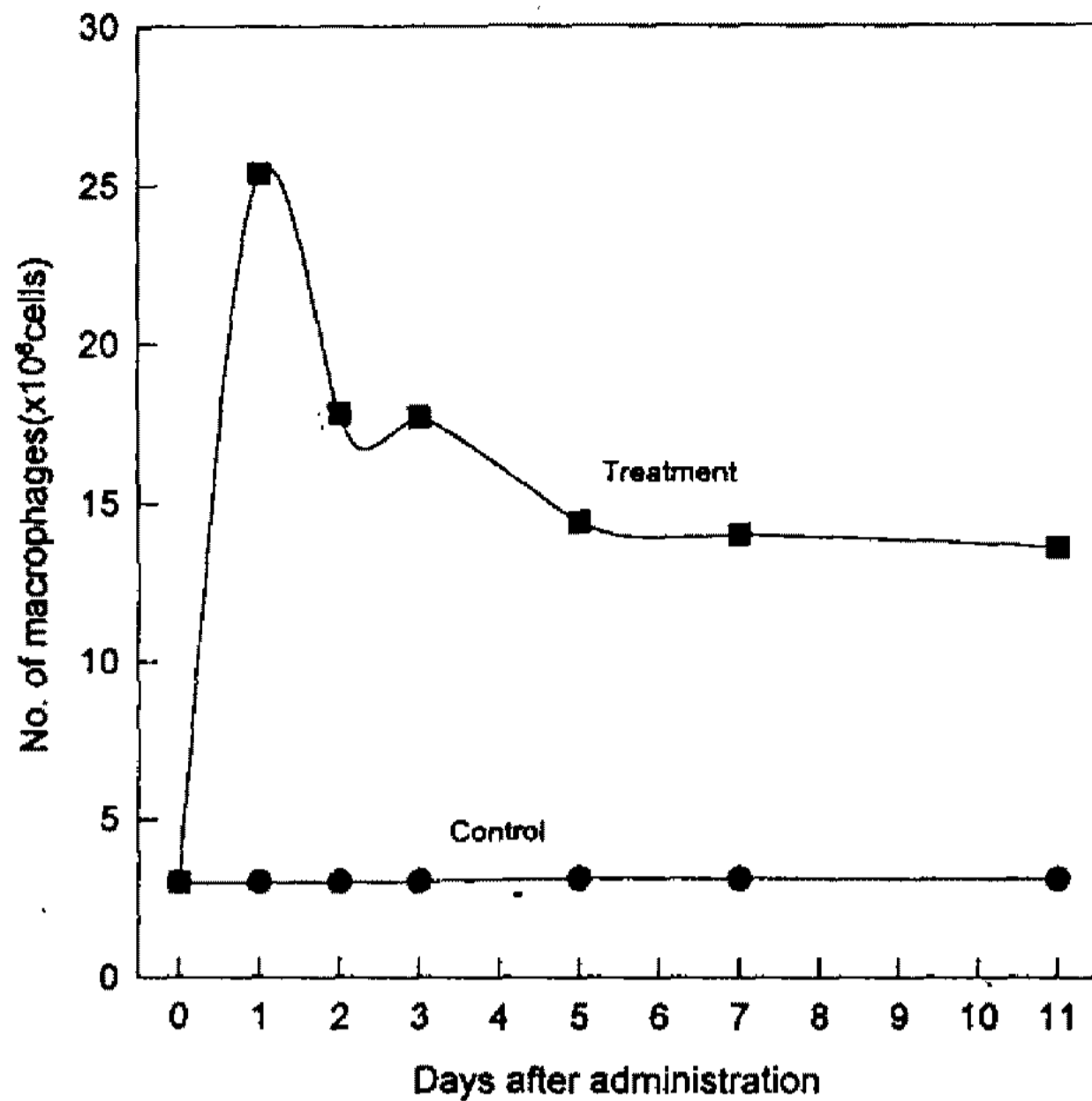


Fig. 3. Effect of BA15703 on the increase of peritoneal macrophages in ICR mice.

One hundred μg of BA15703 was intraperitoneally administered to ICR mice. The number of mouse peritoneal macrophages was assayed for 11 days after BA 15703 administration. Values represent mean \pm SD of 3 experiments

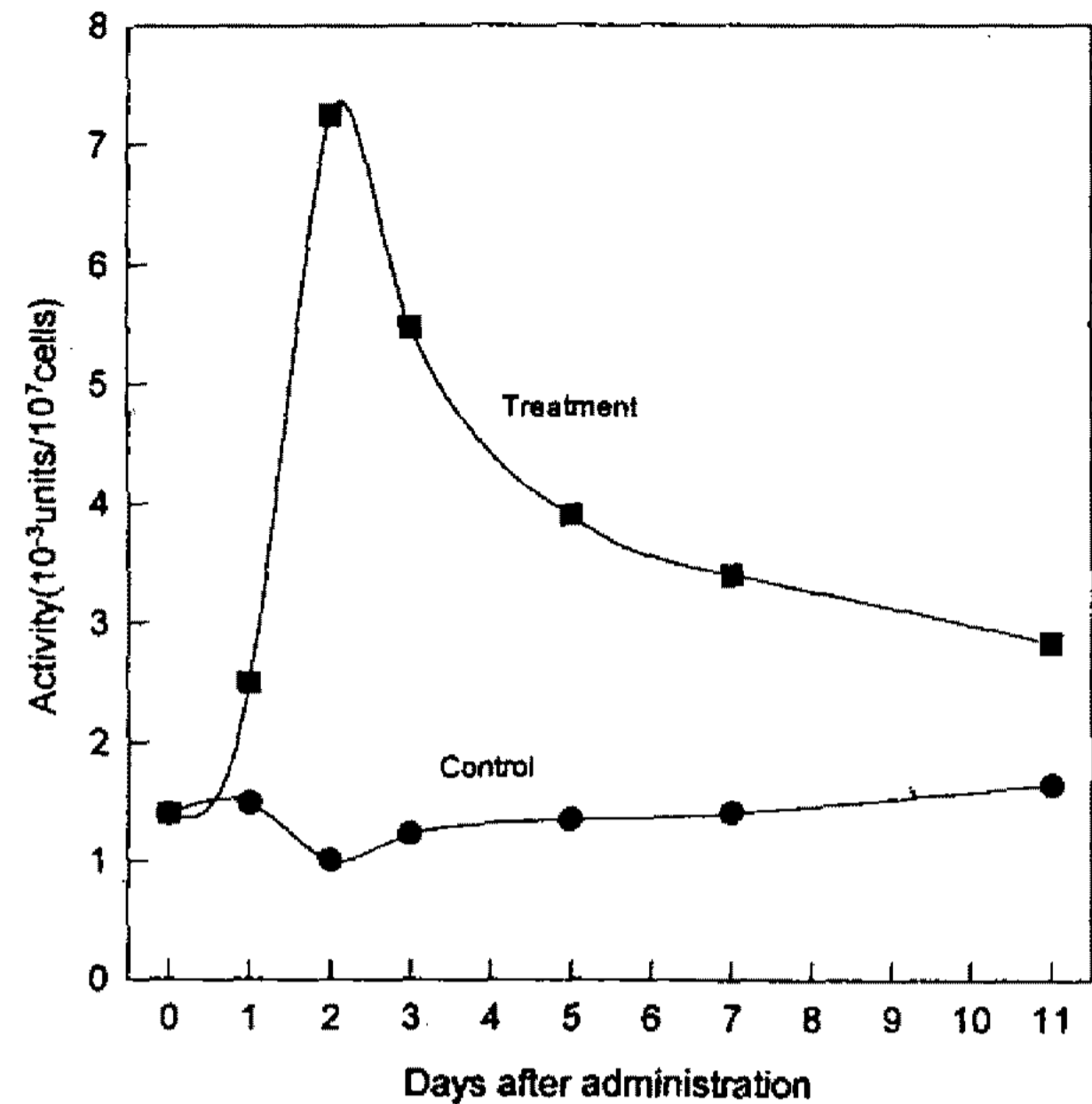


Fig. 4. Effect of BA15703 on the activity of acid phosphatase of the mouse peritoneal macrophages.

One hundred μg of BA15703 was intraperitoneally administered to ICR mice. The activity of acid phosphatase of the mouse peritoneal macrophages was assayed during 11 days after BA15703 administration. Values represent mean \pm SD of 3 experiments

서 나타난 바와 같이 유산균세포를 100~1000 μg /T-flask의 농도로 투여한 모든 군에서 암세포의 성장을 억제하지 못하고, 배양 4일째 S-180 세포는 모두 약 1.0×10^7 cells/T-flask로 증식하였다.

B. adolescentis ATCC-15703의 대식세포 활성화능

살균 건조된 *B. adolescentis* ATCC-15703 균세포를 100 μg 을 ICR 마우스의 복강에 투여한 후 11일 동안 경과일 별로 복강 대식세포를 채취하여 그 수의 변화를 측정된 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 균세포를 투여 후 1일째 대식세포 수가 가장 많이 증식하였다. 이 때 실험군의 대식세포 총수는 2.50×10^7 cells/mouse이었으며 대조군의 대식세포 수(3.0×10^6 cells/mouse)에 비하여 약 8.3배 증가된 것으로 나타났다. 대식세포 수는 균세포 투여 후 2일 이후부터 점차적으로 감소하였으나 11일까지는 대조군의 것보다 현저하게 높게 유지되는 것으로 확인되었다.

또한 채취된 복강 대식세포의 acid phosphatase 활성을 측정·비교한 결과는 Fig. 4와 같다. 대식세포의 acid phosphatase 활성은 오히려 1일 경과시 보다 2일 경과한 경우 7.24×10^{-3} units/ 10^7 cells로서 대조에 비하여 약 5배 가량 증가되었으며, 3일 경과부터는 점차 감소되었으나 11일 째에도 2.84×10^{-3} units/ 10^7 cells로서 대조군 1.65×10^{-3} units/ 10^7 cells보다 높게

유지되었다.

고 찰

유산균의 항암기전은 숙주 매개성이며 세포성 면역계의 활성화에 기인하고(5), 숙주에서의 면역계 활성화는 면역응답 향상, 대식세포와 자연살해세포의 활성화, cytokine의 생산과 관련이 있다고 한다(11). 이들 유산균에 의한 면역담당 세포의 활성화는 *Lactobacillus casei*의 복강투여 후 carbon clearance test, 대식세포의 식작용능, enzyme assay 등(13-15)에 의해 주로 대식세포와 자연살해 세포를 통해서 확인되었다. 따라서 본 실험에서는 *Bifidobacterium* 속의 항암활성여부의 판정을 위한 1차 검색방법으로 대식세포 수의 증식과 그의 acid phosphatase 활성을 측정하였다. *Bifidobacterium* 속 9 균주 중에서 위의 두 가지 실험에 의한 면역증강능의 효과가 일치되는 *B. adolescentis* ATCC-15703을 우수한 항암효과가 있는 균주로 선발할 수 있었다(자료 비삽입).

Sarcoma-180(S-180)과 Ehrlich 복수암에 대한 유산균의 항암효과가 다수 보고(10, 16)되었으며, 배 등(17)은 가열살균한 *L. casei* 세포가 마우스에서 S-180과 3 LL(Lewis lung carcinoma) 암세포의 성장을 억제한다고 하였다. Fig. 1, 2에서 보는 바와 같이 *B. adoles-*

ntis ATCC-15703도 100 µg 농도로 투여시 S-180 복수암세포의 성장을 현저히 억제하였고, 마우스의 생존율을 증가시켰으며 S-180 고형암괴의 형성을 저지하였다. *B. adolescentis* ATCC-15703 균세포를 150 µg/mouse의 농도로 투여하여 복수암 형성을 억제시킨 마우스군에서는 초기에 충격으로 인한 식이의 불충분으로 오히려 체중감소가 일어났으며, 16일부터 폐사되기 시작하였다.

B. adolescentis ATCC-15703 균이 암세포에 직접적인 독성물질을 갖고 있는지의 여부 판정을 위한 *in vitro* 실험에서는 배양 4일 경과시까지 100~1000 µg/T-flask 농도에서도 대조군과 커다란 차이 없이 S-180 세포가 성장하였으므로, S-180 세포의 성장을 직접 억제하지 않는 것으로 밝혀졌다. 이는 Kato 등(13)과 Sekine 등(18)의 결과와 유사하였으나 이들 암세포들에 대한 세포독성은 유산균의 균종과 균주에 따라서 차이가 있는 것으로 알려지고 있다(19).

그리고, *B. adolescentis* ATCC-15703 균세포 100 µg을 마우스의 복강에 투여하여 11일까지 마우스의 복강 대식세포 수의 변화를 측정된 결과, 투여 1일에 대식세포 수가 최고로 증폭됨을 알 수 있었다. 이는 *L. casei*에 의한 대식세포의 SRBC(Sheep red blood cells) 식작용능은 2일째 최고였으며(13), 대식세포의 증식은 1일째 최고로 증폭했다는 Matsuzaki 등(20)의 실험 결과와도 유사하였다.

Kato 등(13)은 실험동물에서 복강 대식세포의 acid phosphatase 활성이 *L. casei*의 복강 투여(1 mg/mouse)로 대조보다 2배 증가하였으며, Perdigon 등(14)은 *L. casei*와 *Lactobacillus bulgaricus*를 마우스 복강에 투여하였을 때, 복강 대식세포의 lysosomal 효소 활성은 대조에 비하여 각각 4배, 10배 증가되었다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 *B. adolescentis* ATCC-15703 균세포를 투여한 후 2일째 대조에 비하여 약 5배 가량 증가하였으며, 11일까지도 약 2배 가량의 높은 효소 활성을 가졌다.

*L.casei*와 *Lactobacillus acidophilus* 등에 대한 유산균의 항암효과와 항암물질에 대한 많은 실험에서 주요 항암물질들은 세포벽 성분의 Peptidoglycan, Polysaccharide 등(18,21)이라고 하나 장내 세균의 1/4을 우점하고 있는 *Bifidobacteria*의 항암효과와 항암물질에 관한 연구는 최근에 시작되었으며 그 결과는 아직 많이 발표되고 있지 않다. 따라서 ICR 마우스에서 Sarcoma 180에 대한 *B. adolescentis* ATCC-15703 균의 항암효과에 대한 본 결과는 그 기초적 자료로써 충분히 활용될 수 있으리라 믿으며, 항암물질의 규명과 함께 다른 종류의 암세포에 대한 항암활성도 확인되

어야 할 것으로 본다.

요 약

ICR 마우스에서 *Bifidobacterium adolescentis* ATCC-15703 균주의 Sarcoma-180(S-180) 복수암과 고형암에 대한 항암효과 및 면역증강 효과에 대하여 연구하였다. S-180 세포(1×10^6 cells/mouse)를 마우스의 복강에 접종하였을 때, S-180 복수암은 100% 유발되었으며, ICR 마우스의 체중은 암세포 접종 후 9일부터 급증하여 폐사 직전에는 정상 마우스의 1.4배였다. S-180 세포(2×10^6 cells/mouse)를 ICR 마우스의 우측 서혜부에 피하 접종한 후 21일에 100%의 고형암 유발을 확인하였으며, 적출된 암괴의 무게는 6.90 ± 2.57 g이었다. 균체를 복강에 100 µg 투여한 마우스에서 50일간의 평균 생존율(T/C %)은 132%였으며, ICR 마우스의 체중증가는 억제되었다. S-180 세포 접종 후 100 µg을 ICR 마우스의 우측 서혜부에 투여했을 때, 21일째의 종양성장 억제율은 62.3%였으며 시험군 8마리 중 2마리는 암괴가 형성되지 않았다. 균체 자체는 S-180 암세포에 직접적인 독성을 나타내지 않는 것으로 확인되었다. 균체를 암세포 배양액에 100~1000 µg/T-flask의 농도로 첨가하였을 때, S-180 암세포들은 대조와 거의 동일하게 성장하였다. 살균 건조된 균체는 대식세포의 활성을 현저하게 증가시켜 주었다. 100 µg을 ICR 마우스의 복강에 투여한 후 1일째 대식세포 수가 대조에 비해 약 8배 증가되었으며, acid phosphatase 활성도도 투여 후 2일째에 가장 높게 나타났다.

참고문헌

1. Azuma, I., M. Yamawaki, T. Ogura, T. Yoshimoto, R. Tokuzen, F. Hirao, and Y. Yamamura. 1978. Antitumor activity of BCG cell-wall skeleton and related materials. *Gann Monograph on cancer research* 21: 73-86.
2. Yamaue, H., H. Tanimura, M. Iwahashi, M. Tani, T. Tsunoda, K. Tabuse, K. Kuribayashi, and K. Saito. 1989. Role of interleukin-2 and interferon- γ in induction of activated natural killer cells from mice primed *in vivo* and subsequently challenged *in vitro* with the Streptococcal preparation OK432. *Cancer Immunol. Immunother* 29: 79-86.
3. Milas, L. and M.T. Scott. 1978. Antitumor activity of *Corynebacterium parvum*. *Adv. Cancer Res.* 26: 257-306.
4. Richman, S.P., J.U. Gutterman, E.M. Hersh, and E.E. Ribi. 1978. Phase I-II study of intratumor

- immunotherapy with BCG cell wall skeleton plus P₃. *Cancer Immunol. Immunother* **5**: 41-44.
5. Mitsuoka, T. 1981. *Intestinal Flora and Cancer*, Pp. 16-40. Second Annual National Symposium for Lactic Acid Bacteria and Health, Korea.
 6. Shahani, K.M. 1983. *The Anti-neoplasm Effects of Lactobacilli*, Pp. 3-20. Third Annual National Symposium for Lactic Acid Bacteria and Health, Korea.
 7. Takano, T. 1987. Role of lactic acid bacteria in carcinogenesis. *乳技協資料* **37**: 1-12.
 8. Mitsuoka, T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobact. Microflora*, **1**: 3.
 9. Kohwi, Y. 1982. Antitumor effect of *Bifidobacterium infantis* in mice. *Gann*. **69**: 613-618.
 10. Fujiwara, S., Y. Kado-Oka, T. Hirota, and H. Nakazato. 1990. Immuno-potentiating effects of *Bifidobacterium longum* SBT2928(BL2928) showing mitogenic activity *in vitro*. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **43**: 327-333.
 11. 光岡知足. 1980. 腸内菌の世界. Pp. 319. 叢文社.
 12. 趙載英, 張權烈. 1982. 實驗統計 分析法, Pp. 68-78. 郷文社.
 13. Kato, I., T. Yokokura, and M. Mutai 1983. Macrophages activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Microbiol. Immunol.* **27**: 611-618.
 14. Perdigon, G., S. Alvarez, M.E.N.D. Macias, R.A. Margni, G. Oliver, and A.A. Holgado. 1986. *Lactobacilli* administered orally induce release of enzymes from peritoneal macrophages in mice. *Milchwissenschaft* **41**: 344-348.
 15. Kato, I., S. Kobayaahi, T. Yokokura, and M. Mutai. 1981. Antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice. *Gann*. **72**: 517-523.
 16. Reddy, G.V., K.M. Shahani, and M.R. Banerjee. 1973. Inhibitory effect of yoghurt on Ehrlich ascites tumor cell proliferation. *J. Natl. Cancer Inst.* **50**: 815-817.
 17. 배형석, 백영진, 윤영호. 1993. 생취에서 Sarcoma 180과 Lewis Lung Carcinoma에 대한 *Lactobacillus casei*의 항암효과. *한국산업미생물학회지* **21**: 247-255.
 18. Sekine, K., T. Tatsuki, E. Watanabe, T. Toida, M. Saito, and T. Kawashima. 1990. Antitumor effect of purified cell wall(whole peptidoglycan, WPG) from *Bifidobacteria* on the growth of syngeneic tumors in mice. *Bifidus*. **3**: 135-141.
 19. Manjunath, N. and B. Ranganathan. 1989. A cytotoxic substance produced by a wild culture of *Lactobacillus casei* D-34 against tumour cells. *Indian J. experimental Biology* **27**: 141-145.
 20. Matsuzaki, T., T. Yokokura, and M. Mutai. 1988. Antitumor effect of intrapleural administration of *Lactobacillus casei* in mice. *Cancer Immunol. Immunother* **26**: 209-214.
 21. Nagaoka, M., M. Muto, K. Nomto, M. Matuzaki, T. Watanabe, and T. Yokokura. 1990. Structure of polysaccharide-peptidoglycan complex from the cell wall of *Lactobacillus casei* YIT 9018. *J. Biochem.* **108**: 568-571.

(Received April 9, 1994)