THE KOREAN JOURNAL OF MYCOLOGY
Vol. 28, No 2, p123-125 October 2000
Copyright © 2000 by The Korean Society of Mycology
Printed in S. KOREA

한국산 야생버섯의 용혈작용에 대한 연구
- 제 2보 : 색시졸각버섯(*Laccaria vinaceoavellanea*) 등 22종의 *in vitro* 용혈활성 검색 -

정경수* · 이지선 · 조문주 · 이임선

충남대학교 약학대학

Studies on the Hemolytic Activities of Korean Wild Mushrooms (II)
- Screening of 22 Mushrooms Including *Laccaria vinaceoavellanea* for Their Hemolytic Activities -

Kyeong-Soo Chung*, Ji-Seon Lee, Moon-Joo Jo and Im Seon Lee

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

ABSTRACT: To investigate the hemolytic toxicities of the Korean basidiomycetes, the cold-water extracts of 22 wild mushrooms were tested for their hemolytic activities on the erythrocytes of a mouse and a rat. As a result, three species including *Collybia confluence*, *Laccaria vinaceoavellanea* and *Lenzites betulina* showed strong hemolytic activities. Of these, *L. vinaceoavellanea* retained more than 80% of its hemolytic activity even after it was boiled for 30 minutes, while the other two were inactivited in five minutes.

KEYWORDS: Basidiomycetes, *Collybia confluence*, Hemolytic activity, *Laccaria vinaceoavellanea*, *Lenzites betulina*

야생 독버섯에 의한 중독사고는 전세계적으로 빈번히 발생하고 있으나, 이들의 독성분에 관한 연구는 광대버섯속 등에 국한하여 매우 제한적으로 이루어지고 있다. 지금까지 알려진 이들의 대표적인 독성분으로는, RNA polymerase 기능을 차단하는 amanitin 류 및 phalloidin(Enjalbert, 1993; Faulstich 등, 1994; Wieland·Faulstich, 1978)과 용혈독소 phallolysin(Seeger, 1975a; Seeger, 1975b; Seeger 등, 1976, 1981; Seeger·Bunsen, 1980; Seitz 등, 1981) 등이 있다. 이들 중에서 가장 치명적인 것은 amanitin 및 phalloidin 이지만, phallolysin 등의 용혈독소도 적혈구를 파괴하여 빈혈을 일으키며 심한 경우 사망을 초래할 수 있기 때문에 관심을 기울일 필요가 있다. 그러나 광대버섯속 이외의 버섯이 함유하는 용혈독소에 관한 연구보고는 *Rhodophyllus rhodopolius*(Suzuki 등, 1990) 등 극히 일부에 국한되어 있는 실정이다.

한편 국내에는 1150 여종의 버섯이 자생하고 있음에도 불구하고, 이들의 용혈독소에 관한 연구는 전혀 이루어지지 않았었다. 그러던 중 본 연구자 등(양 등, 1997) 이 46종의 야생담자균 냉침액(cold water extract)의 용혈작용 및 열안정성을 실험하여 그 중 12종의 용혈 작용을 확인하였고, 무우자갈버섯(*Hebeloma crustulineforme*)의 용혈작용 및 용혈성분의 열안정성을 확인한 바 있다. 한편, 용혈작용이 확인된 12종 중 우산버섯(*Amanita vaginata*) 및 큰갓버섯(*Macrolepiota procera*)은 식용버섯으로 알려져 왔기 때문에 야생담자균류의 용혈작용에 관하여 보다 광범위하고 체계적인 연구가 필요함을 제기한 바 있다. 이에 본 연구자들은 우리나라에 자생하는 야생버섯을 대상으로 용혈작용에 대한 2차 검색을 실시하여, 유의성을 얻었기에 보고하고자 한다.

*Corresponding author <E-mail: chung_es@cnu.ac.kr>

재료 및 방법

검색 시료

시료로 사용한 버섯은 모두 22종으로, *Amanita* 속 3종(*A. ceciliae*, *A. porphyria*, *A. sp.*), *Russula* 속 4종(*R. albonigra*, *R. delica*, *R. subnigricans*, *R. cyanoxantha*), *Laccaria* 속 2종(*L. laccata*, *L. vinaceoavellanea*), *Psathyrella* 속 2종(*P. candolleana*, *P. velutina*) 및 기타 속 11종(*Abortiporus biennis*, *Collybia confluens*, *Coprinus comatus*, *Formitella fraxinea*, *Hygrocybe nitrata*, *Lenzites betulina*, *Leucocoprinus bresadolae*, *Lycoperdon pedicellatum*, *Pluteus leoninus*, *Scleroderma verrucosum*, *Trametes suaveolens*)이었다. 이들은 1996년 7월부터 2000년 7월에 걸쳐 충남대학교 구내 및 충청남북도, 경기도, 서울 등지로부터 채집하였으며 그 자실체의 육안적 형태 및 현미경적 형태를 관찰하여 문헌(이, 1993; 박, 1991; Gerhardt, 1995; Imazeki·Hongo, 1975; Imazeki 등, 1993; Lincoff, 1992)에 의거하여 동정하였다. 신선한 자실체 또는 동결된 자실체 1 g 정도

에 4 ml 가량의 생리식염수를 가하고 분쇄한 후 4°C에 하룻밤 방치하고 1,300 rpm으로 8분간 원심분리하여, 그 상등액을 취해 0.2 μm 또는 0.45 μm membrane filter로 여과한 냉침액(cold water extract)을 용혈 실험의 시료로 사용하였다. 한편 본 연구에 사용한 담자균 시료는 증거표본으로 5 년 이상 보존할 예정이다.

적혈구

생후 약 4개월 된 ICR mouse와 체중 400 g 정도의 건강한 Sprague-Dawley rat로부터 말초혈액을 채취하여, 5 IU/ml 헤파린-생리식염수로 10배 희석하여 실험 적혈구로 사용하였다.

용혈 실험

앞서 보고한 방법(양 등, 1997)을 변형하여 실시하였다. 즉 버섯 냉침액(cold water extract) 50 μl에 마우스 적혈구 50 μl를 가하고 빙욕(ice bath) 위에서 10분간 용혈 여부를 육안으로 관찰한 후 37°C 수욕상에서 30분간 용혈반응을 진행하였다. 이어서, 차가운 생리식염수 1.8 ml을 가하여 반응을 종결시키고 원심분리하여 415 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 한편 용혈활성이 확인된 시료는 끓는 수욕상에서 5분 내지 30분간 가열 처리한 후 동일한 방법으로 용혈실험을 시행하였다.

결과 및 고찰

Mouse와 rat 적혈구에 대한 용혈독성

버섯 냉침액(cold water extract)을 적혈구에 가하고, 용혈 여부를 육안으로 관찰한 후, spectrophotometer로 흡광도를 측정한 결과, Table 1에 나타낸 바와 같이, 야생버섯 22종 중에서 *C. confluence*, *L. vinaceoavellanea* 및 *L. betulina* 등 3종은 mouse 및 rat 적혈구에 대하여 강력한 용혈 작용을 나타내었으며, 특히 *L. betulina* 및 *L. vinaceoavellanea*의 냉침액은 각각 8배 및 4배로 희석하여도

Table 1. Hemolytic activities of the cold-water extracts of the Korean wild mushrooms on the mouse and rat erythrocytes[a]

	Rat	Mouse			
		not diluted	1 : 2[b]	1 : 4	1 : 8
Collybia confluence	+++[c]	+++ (-)[d]	+++	-	-
Laccaria vinaceoavellanea	+++	+++ (+++)	+++	+++	-
Lenzites betulina	++	+++ (-)	+++	+++	+++

[a]The 1 : 10 diluted peripheral blood of a ICR mouse and a Sprague-Dawley rat was used as erythrocytes.
[b]The cold-water extracts were diluted two to eight times with saline.
[c]The absorbance at 415 nm (A_{415}) was measured by a spectrophotometer and hemolytic activities were expressed as follows.
- : $A_{415} < 0.5$, + : $0.5 \le A_{415} \le 1.0$, ++ : $1.0 \le A_{415} \le 1.5$, +++ : $1.5 \le A_{415}$.
[d]The hemolytic activity shown in the parenthesis is that of the extract heated for five minutes on a boiling water bath.

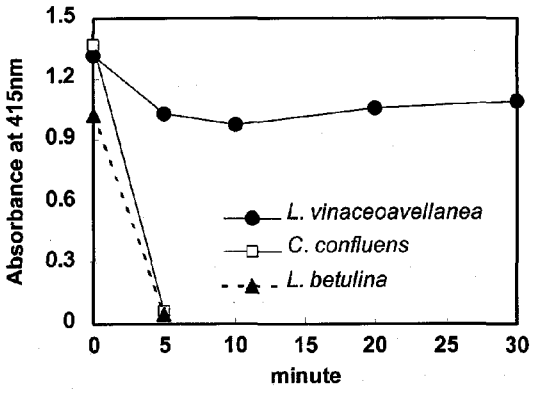

Fig. 1. Heat stability of the hemolytic component of *Laccaria vinaceoavellanea*. The cold-water extract of carpophores of *L. vinaceoavellanea* was heat-treated on a boiling water bath and then its hemolytic activity on mouse erythrocytes was measured as described in the text.

강력한 용혈작용이 확인되었고, *C. confluence*는 빙욕상에서 10분간 방치 중에 용혈이 관찰되었다(자료제시 생략). 한편 이들 중 *C. confluence*와 *L. vin- aceoavellanea*는 식용버섯으로 알려져 있음을 감안할 때 용혈독소 함유 여부와 식용 여부가 일치되지 않음을 알 수 있었다.

용혈성분의 열안정성

버섯류의 용혈독소들은 통상적으로 열에 불안정하나(Suzuki 등, 1990; Seeger, 1975b), *L. vinaceoavellanea* 의 경우 100°C 수욕상에서 30분간 가열하여도 용혈활성이 80% 이상 유지되어, 열에 매우 안정한 것으로 나타났다(Fig. 1). 따라서 가열 조리하여도 중독 가능성이 남아있으므로, *L. vinaceoavellanea*는 그 동안 알려진 것과는 달리 식용으로 적합하지 않다고 사료된다. 뿐만 아니라 이와 유사한 예로 *H. crustulineforme*가 이미 본 연구자 등(양 등, 1997)에 의해 보고된 바 있고, 그 냉침액(cold water extract)은 실험동물을 사망케 할 정도로 맹독성을 보였다(양, 1996). 이상의 연구 결과들을 종합할 때, 독버섯으로 알려진 야생버섯들은 물론, 식용 가능성이 불명확한 버섯 또는 식용버섯으로 알려진 것들까지 용혈 독소 함유 여부와 열안정성에 관한 광범위하고 체계적인 재검토가 절실히 요구된다.

적 요

한국산 야생버섯 22종의 용혈독성을 규명하기 위하여 그 냉침액(cold water extract)의 용혈활성을 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *Collybia confluence*(밀버섯), *Laccaris vinaceoavellanea* (색시졸각버섯) 및 *Lenzites betulina*(조개껍질버섯) 등 3 종이 mouse 및 rat 적혈구에 대하여 강력한 용혈 작용을 나타내었다.

2. *L. vinaceoavellanea*은 100℃ 수욕상에서 30분간 가열하여도 mouse 적혈구에 대한 용혈활성이 80% 이상 유지되어, 열에 매우 안정한 용혈성분을 함유하는 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구의 일부는 2000년도 충남대학교 약학대학 부설 의약품개발연구소 연구비지원으로 이루어졌기에 감사드리며, 시료의 채집과 동정에 함께 수고한 충남대학교 약학대학 미생물면역학교실 장혜진과 홍상희의 노고에 감사합니다.

참고문헌

이지열. 1993. 원색 한국버섯도감(3판). 도서출판 아카데미 서적. 서울.

박완희. 1991. 원색도감 한국의 버섯. 교학사. 서울.

양희정. 1996. 무우자갈버섯(*Hebeloma crustulineforme*) 등 한국산 담자균류의 용혈활성에 관한 연구. 석사학위논문. 충남대학교. 대전.

양희정, 정수현, 김진향, 정경수. 1997. 무우자갈버섯(*Hebeloma crustulineforme*)을 위시한 한국산 담자균류 46종의 용혈활성 검색. 한국균학회지 **25**: 253-256.

Enjalbert, F., Gallion, C., Jehl, F. and Monteil, H. 1993. Toxin content, phallotoxin and amatoxin composition of *Amanita phalloides* tissues. *Toxicon* **31**: 803-807.

Faulstich, H. and Weckauf. Bloching, M. 1974. Isolation and toxicity of two cytolytic glycoproteins from *Amanita phalloides* mushrooms. *Hoppe. Seylers. Z. Physiol. Chem.* **355**: 1489-1494.

Gerhardt, E. 1995. BLV Handbuch, Pilze. BLV Verlagsgesellschaft mbH, Munchen.

Imazeki, R. and Hongo, T. 1975. Colored illustrations of fungi of Japan. Hoikusha Pub., Osaka.

Imazeki, R., Otani, Y. and Hongo, T. 1993. 日本のきのこ. Yama-Kei Pub., Tokyo.

Lampe, K. F. 1979. Toxic fungi. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **19**: 85-104.

Lincoff, G. H. 1992. The Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms. Alfred A. Knopf, New York.

Pacioni, G. 1981. Simon & Schuster's Guide to mushrooms. Simon & Schuster's Inc., New York.

Seeger, R., Kraus, H. and Wiedmann, R. 1973. Presence of hemolysins in *Amanita* species. *Arch. Toxicol.* **30**: 215-226.

Seeger, R. 1975. Demonstration and isolation of phallolysin, a haemolytic toxin from *Amanita phalloides*. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Phamacol.* **287**: 277-287.

Seeger, R. 1975. Some physico-chemical properties of phallolysin obstained from *Amanita phalloides*. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* **288**: 155-162.

Seeger, R., Burkhardt, M., Haupt, M. and Feulner, L. 1976. The Haemolytic effect of phallolysin. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Phamacol.* **293**: 163-170.

Seeger, R. and Bunsen, E. 1980. Degranulation of rat mast cells in vitro by the fungal cytolysins phallolysin, rubescenslysin and fascicularelysin. Naunyn. *Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* **315**: 163-166.

Seeger, R., Odenthal, K. P. and Mengs, U. 1981. Toxic effects in mouse and rat of rubescenslysin from *Amanita rubescens*. *Toxicon* **19**: 409-417.

Seitz, J., Adler, G., Stofft, E. and Faulstich, H. 1981. The mechanism of cytolysis of erythrocytes by the mushroom toxin phallolysin. Morphological and biochemical evidence for sodium influx and swelling. *Eur. J. Cell. Biol.* **25**: 46-53.

Suzuki, K., Une, T., Yamazaki, M. and Takeda, T. 1990. Purification and some properties of a hemolysin from the poisonous mushroom *Rhodophyllus rhodopolius*. *Toxicon* **28**: 1019-1028.

Wieland, T. and Faulstich, H. 1978. Amatoxins, phallolysin, and antamanide. The biologically active components of poisonous *Amanita mushrooms*. *CRC. Crit. Rev. Biochem.* **5**: 185-260.