

매미눈꽃동충하초(*Paecilomyces sinclairii*)로부터 추출한 조다당류의 면역 활성화와 항암 효과에 관한 연구

심성미 · 임경환 · 이우윤 · 김정완 · 심미자¹ · 이민웅² · 이태수*

인천대학교 생물학과, ¹서울시립대학교 생명과학과, ²동국대학교 응용생물학과

Studies on Immuno-Modulatory and Antitumor Effects of Crude Polysaccharides Extracted from *Paecilomyces sinclairii*

Sung-Mi Shim, Kyung-Hoan Im, Jung-Wan Kim, U-Youn Lee, Mi-Ja Shim¹, Min-Woong Lee² and Tae-Soo Lee*

Department of Biology, University of Incheon, Incheon 402-749, Korea

¹Department of Life Science, University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

²Department of Applied Biology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

(Received October 25, 2003)

ABSTRACT: Neutral salt soluble [0.9% NaCl (Fr. NaCl)], hot water soluble (Fr. HW) and methanol soluble (Fr. MeOH) materials were extracted from *Paecilomyces sinclairii*. *In vitro* cytotoxicity tests, Fr. HW was not cytotoxic against NIH3T3, Sarcoma 180 and HepG2 cancer cell lines at the concentration of 0~2,000 µg/ml, while HT-29 cell line was cytotoxic at the concentration of 100 µg/ml. Fr. NaCl and Fr. MeOH were slightly cytotoxic to the cell lines. Intraperitoneal injection with Fr. NaCl and Fr. MeOH exhibited antitumor activity with life prolongation effect of 32.3% in mice inoculated with Sarcoma 180. Fr. NaCl improved proliferation of spleen cells and the immunopotential activity of B lymphocyte by increasing spleen cell numbers and the alkaline phosphatase activity by 2.4~2.6 and 2.7~3.9 folds, respectively. Fr. NaCl generated 89 µM of nitric oxide (NO) when cultured with RAW 264.7, a mouse macrophage cell line, at the concentration of 50 µg/ml, while lipopolysaccharide, a positive control, produced 79 µM. The Fr. NaCl showed the highest antitumor effect and activation of B lymphocytes and macrophage. From these results, antitumor effect of *P. sinclairii* was likely due to immunopotential activity.

KEYWORDS: Antitumor, Crude polysaccharides, Immuno-modulatory effect, *Paecilomyces sinclairii*

버섯은 면역기능 부활작용, 생체 항상성(homeostasis) 유지 및 성인병에 대한 예방 효과 등의 약리 효과가 있으며, 최근의 연구 결과에 따르면 콜레스테롤 저하, 항 혈전 작용, 혈압 및 혈당 강하에 대해서도 효과가 있음이 증명되었다. 또한 여러 종류의 버섯들에서 항암 효능이 밝혀졌으며, 항암 효능을 나타내는 주된 물질은 버섯 속에 함유되어 있는 다당체라는 것이 밝혀지고 있다(우 등, 1983; 이 등, 1992).

한국산 버섯의 항암 성분에 대한 연구는 Kim 등(1979)에 의해 구름버섯(*Coriolus vesicolor*), 표고(*Lentinus edodes*) 및 느타리(*Pleurotus ostreatus*)의 열수 추출물이 Sarcoma 180에 대해 강력한 항암 작용을 나타내며, 이 성분이 다당류와 단백질로 구성된 고분자 추출물임을 보고함으로써 시작되었다. 한국산 야생버섯 중 영지(*Ganoderma lucidum*)의 항암 성분에 대한 연구가 활발히 진행되었으며, 영지의 자실체는 물론 배양 균사체로부터 항암 성분이 분리되었다(Kang et al., 1980; Kim et al., 1980). 영

지 유래 추출물은 마우스의 복강 내 면역세포 수의 증가, 대식세포의 활성화 및 용혈반 형성 세포 수의 증가에도 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Hyun et al., 1990, Shin et al., 1985). 이외에도 잣빛만가닥버섯(*Lyophyllum decastes*)으로부터 분리한 단백다당체인 항암 성분 lycophyllan이 Sarcoma 180 세포에 대한 직접적인 세포독성은 나타내지 않았으나 양 적혈구에 대한 용혈반 형성 세포수 및 지연형 과민 반응을 증가시켰으며, 이 성분의 항암 효과 기전이 NK 세포 작용 및 활성화된 세포독성능, 대식세포의 유도 및 항원 특이성 T 림파구의 축적 등 대식세포를 경유한 세포 중개성 면역 반응에 의한 것이라 보고하였다(Lee et al., 1987).

이와 같이 한국산 버섯으로부터 분리한 많은 추출물들이 항암 및 면역 증강에 대해 효과가 있음이 보고되면서 이들 버섯의 성분 및 항암에 대한 효능을 밝히기 위한 실험이 활발히 진행되고 있다. 따라서 본 연구에서는 한국의 야생버섯 중 매미눈꽃동충하초에서 중성염(0.9% NaCl), 열수 및 메탄올 용액을 이용하여 추출하고 분리한 물질들의 항암 및 면역 활성화에 대한 효과를 알아보고자 실험을

*Corresponding author <E-mail: tslee@incheon.ac.kr>

수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 매미눈꽃동충하초(*Paecilomyces sinclairii*, IUM00362)는 2001년 7월에 전라남도 백양사에서 채집하였으며 인공배양하여 실험에 사용하였다(심 등, 2003).

성분의 추출 및 분리

조 등(1995)의 방법에 따라 중성염용액(0.9% NaCl), 80% 메탄올 및 열수로 추출하였으며, 추출한 물질은 각각 수득율을 조사하였다.

분쇄한 자실체 500 g을 80% 메탄올 용액에 침지하여 48시간 동안 상온에서 추출한 후, 메탄올 추출물을 여과한 다음 감압 농축하고 동결건조하여 메탄올 추출물(Fr. MeOH)을 얻었다. 메탄올 추출물을 제거하고 남은 자실체에 0.9% NaCl 용액을 2 l 첨가하여 24시간 동안 침지시켜 2회 반복 추출하였다. 이 추출물을 여과한 다음 동결건조하고 300 ml의 3차 증류수를 가하여 용해시킨 후 투석막을 사용하여 4°C에서 48시간 동안 투석하였다. 투석막 내 액에 4배 용량의 에탄올을 가한 뒤 4°C에서 24시간 동안 정치시킨 후 원심 분리하여 침전물을 얻었고 이 침전물은 증류수 300 ml로 용해시켜 위의 방법으로 재투석하고 동결건조하여 중성염용액 추출물(Fr. NaCl)을 얻었다. 중성염용액으로 추출한 후 회수한 자실체에 3차 증류수 5 l를 첨가하여 95°C에서 10시간 동안 추출하였다. 추

출액에 4배의 에탄올을 첨가하여 4°C에서 24시간 동안 정치시킨 후 원심 분리하였다. 침전물은 3차 증류수 500 ml에 용해시켜 4°C에서 48시간 동안 투석한 후 투석막 내 액을 동결건조하여 실험에 사용한 열수 추출물(Fr. HW)을 얻었다(Fig. 1).

항암 효과

암세포에 대한 세포독성: 실험에 사용한 세포주는 정상세포로 마우스 섬유아세포인 NIH3T3, 암세포로는 인간 간암세포인 HepG2, 인간 대장암세포인 HT-29 및 마우스 육종암세포인 Sarcoma 180을 사용하였으며, 세포독성 실험은 Denizot 등(1986)의 방법에 따라 수행하였다. HepG2, HT-29와 NIH3T3 세포는 1×10^5 cells/ml의 세포를 96 well plate에 100 μ l씩 주입한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 각 추출물의 농도가 10~2000 μ g/ml이 되도록 조정된 후 100 μ l씩 세포에 처리하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하고 5 mg/ml의 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide(MTT) solution을 10 μ l씩 각 well에 첨가한 후 4시간 동안 암 상태로 배양하였다. 푸른색의 MTT formazan이 생성되면 dimethylsulfoxide(DMSO) 100 μ l로 용해시켜 ELISA plate reader를 이용하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

Sarcoma 180은 2×10^5 cells/ml의 세포를 96 well plate에 50 μ l씩 주입하고 각 추출물의 최종 농도를 10~2000 μ g/ml이 되도록 암세포에 처리하여 최종 용적이 100 μ l가 되도록 하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 1 mg/ml 2,3-bis(2-methoxyl-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide(XTT) solution 당 25 μ M phenazine methosulfate가 포함된 용액을 well 당 30 μ l씩 처리하여 암 조건에서 2시간 배양한 후 ELISA plate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 실험군의 흡광도를 대조군의 흡광도와 비교하여 생존율을 구하였고, 50% inhibition concentration(IC₅₀)은 실험군이 대조군에 비해 생존율이 50% 감소하는 값을 의미한다.

$$\text{Viability (\%)} = (T - B) / (C - B) \times 100$$

T : 실험군의 평균 흡광도

C : 대조군의 평균 흡광도

Sarcoma 180에 대한 항암 실험: Sarcoma 180을 5×10^6 cells/ml이 되도록 부유시켜 0.2 ml씩(1×10^6 cells/mouse) ICR 마우스의 복강에 이식하여 복수암을 유발시키고 Sarcoma 180을 이식한 24시간 후부터 20 mg/kg body weight 농도의 추출물을 생리식염수에 용해시켜 0.22 μ m의 membrane filter로 여과시킨 후 각각의 추출물을 매일 1회 10일간 복강 내에 0.2 ml씩 투여하였다. 대조군에는 같은 기간, 동량의 생리식염수를 투여하였으며,

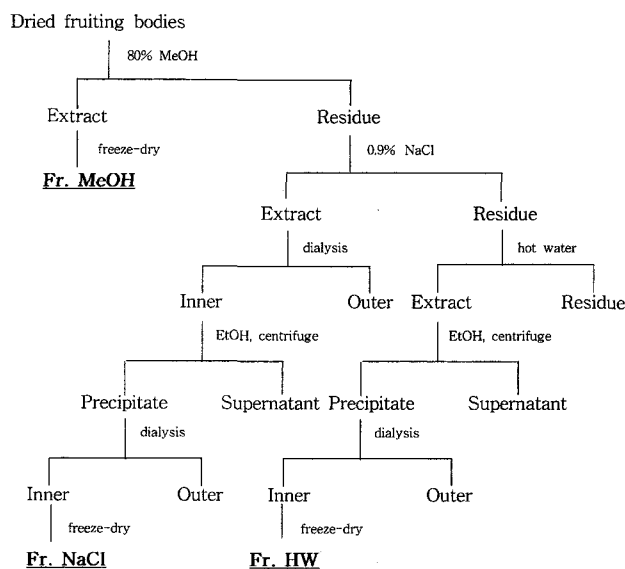


Fig. 1. The extraction procedures to obtain crude extracts from *Paecilomyces sinclairii*. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol.

Sarcoma 180 최종 투여 후 32일까지 관찰하여 평균 수명 일수를 계산하고 다음 식으로 increase of life span(ILS)을 계산하여 암세포의 성장 억제 효과를 평가하였다.

$$ILS = (T - C/C) \times 100$$

T : 실험군의 평균 수명 (일)

C : 대조군의 평균 수명 (일)

면역 활성화 효과

비장세포의 증식능: 20~25 g의 ICR 계열 웅성 마우스로부터 무균적으로 비장을 적출하여 100 mesh 망 위에서 분쇄하고 이 세포 부유액에 2배 부피의 lymphocyte separation medium을 첨가하여 원심분리하였다. 단핵 세포층만 조심스럽게 취하여 3회 세척한 후 세포수가 2×10^5 cells/ml이 되도록 조정하여 96 well plate에 100 μ l씩 분주하였다. 50, 200, 500 μ g/ml 농도로 희석한 각각 추출물과 양성 대조군으로 5, 50 μ g/ml 농도의 lipopolysaccharide(LPS)를 100 μ l씩 처리한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양한 다음 위의 MTT법과 동일한 방법으로 처리한 후 흡광도를 측정하였다(Mossman, 1983).

마우스의 B 임파구 활성화에 미치는 영향: Ohno 등 (1986)의 방법을 수정하여 실시하였다. 준비된 비장세포를 1×10^6 cells/ml의 농도로 조정하여 well 당 100 μ l씩 분주하고 50, 200, 500 μ g/ml의 추출물과 양성 대조군으로 5, 50 μ g/ml의 LPS를 가함으로써 최종 부피가 200 μ l가 되도록 하였다. 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양한 후, 세포 배양액을 원심분리하고 침전물에 1 mM MgCl₂를 포함한 50 mM sodium carbonate buffer(pH 9.0)에 1 mg/ml이 되도록 p-nitrophenyl phosphate를 첨가한 용액을 100 μ l씩 가한 다음 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 1시간 반응시켰다. 빙냉의 0.3 N NaOH 용액 50 μ l를 가하여 반응을 종결시킨 후 ELISA plate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며 다음 식에 따라 계산하였다.

Alkaline phosphatase activity

$$(\rho - \text{nitrophenol } \mu\text{mol}/1 \times 10^5 \text{ lymphocytes}/60 \text{ mins}) = 1.15 \times \text{optical density at } 405 \text{ nm}$$

대식세포의 활성화에 미치는 영향: 마우스 대식세포주인 RAW 264.7을 96 well plate에 1×10^5 cells/well로 분주하고 추출물의 최종 농도가 50, 100, 200 μ g/ml이 되도록 세포주에 첨가하였으며, 양성 대조군으로 LPS를 1, 10, 50 μ g/ml 첨가하였다. 각 농도의 추출물을 첨가한 실험군과 양성 대조군은 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 동안 배양한 후, 10%가 되도록 FBS를 첨가하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 상등액 100 μ l에 100 μ l의 Griess reagent(50 μ l of 1% sulfan-

ilamide in 5% phosphoric acid, 50 μ l of 0.2% N-naphthylethylenediamine 2HCl)를 첨가하고 10분간 실온에서 방치한 후 ELISA plate reader를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitric oxide(NO)의 대사체인 nitrite의 농도는 sodium nitrite의 검량선으로부터 계산하였다(Choi et al., 1993).

결과 및 고찰

성분의 추출 및 분리

매미눈꽃동충하초의 추출 방법에 따른 각 추출물의 수득율을 비교하였을 때 중성염용액 추출물과 열수 추출물은 각각 2.22%와 0.94%의 수득율을 나타냈으며 메탄올 추출물은 30.56%로 가장 높은 수득율을 나타내었다 (Table 1).

항암효과

암세포에 대한 세포독성: 시험관에서의 실험에 사용된 암세포주에 대한 버섯 추출물의 직접적인 독성을 확인한 결과(Fig. 2), 열수 추출물은 100 μ g/ml 농도에서 HT-29 세포에 대해 약간의 세포독성을 나타내었으나 정상세포와 다른 암세포에 대해서는 직접적인 독성을 나타내지 않았다. 중성염용액 추출물과 메탄올 추출물은 NIH3T3와 HT-29에 대해 100 μ g/ml의 농도에서 독성을 나타내었다. 마우스 육종암세포인 Sarcoma 180에 대해서 메탄올 추출물만이 100 μ g/ml 이상의 농도에서 세포독성을 나타내었다.

생명 연장 효과: 각 버섯 추출물이 생체에서 마우스 육종암세포인 Sarcoma 180에 미치는 효과를 분석한 결과 (Table 2), 대조군의 평균 생존 일수는 15.5일이었으며 중성염용액 추출물과 메탄올 추출물을 투여한 실험군의 평균 생존 일수는 20.5일로 32.3%의 생명 연장 효과를 나타내었다.

Sarcoma 180 복수암에 대해 락토버섯(*Daedalea dickinsii*)의 열수 추출물이 30.88%의 생명 연장 효과를 나타냄을 보고하였고(양 등, 1997), 잣버섯(*Lentinus lepideus*)

Table 1. Recovery rate of crude extracts from *Paecilomyces sinclairii* by various extraction methods

Fraction ^a	Weight of the used mushroom (g)	Weight of extract (g)	Recovery rate ^b (%)
Fr. NaCl	250	5.54	2.22
Fr. HW	250	2.36	0.94
Fr. MeOH	250	76.39	30.56

^aFr. NaCl; Fraction extracted with 0.9% NaCl solution, Fr. HW; Fraction extracted with hot water, Fr. MeOH; Fraction extracted with 80% methanol.

^bRecovery rate (%) = [Weight of extract (g)/Weight of the used mushroom (g)] \times 100.

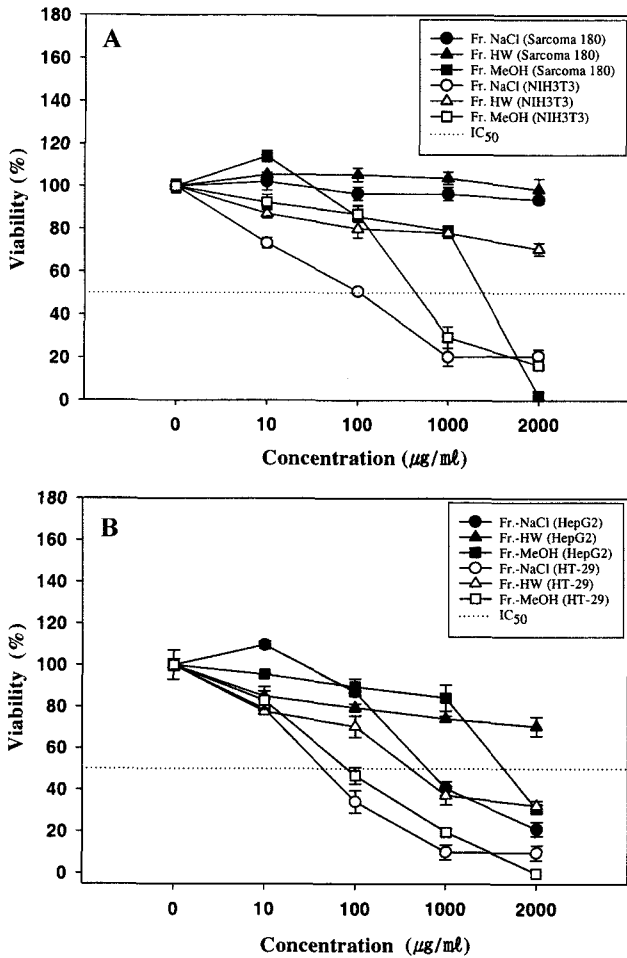


Fig. 2. *In vitro* cytotoxicity of fractions extracted from *Paecilomyces sinclairii* against (A) Sarcoma 180 and NIH3T3, (B) HepG2 and HT-29. Cytotoxicity was measured after 48 hours of incubation. Concentration of cells was 1×10^4 cells/well. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol. IC₅₀ means 50% inhibition concentration.

의 균사체로부터 추출한 단백질당체인 lepidan은 100%의 생명 연장 효과가 있음을 보고한 바 있다(진, 1996). 이는 버섯 추출물이 Sarcoma 180 복수암에 대해 항암 효과를 나타낸 것으로 사료되며 매미눈꽃동충하초의 증성염 추출물과 메탄올 추출물 또한 Sarcoma 180 복수암에 대해 항암 효과가 있는 것으로 판단된다.

면역 활성화 효과

비장 세포의 증식능: 각각의 버섯 추출물에 의한 비장 세포의 증식에 대한 영향은 증성염용액 추출물이 50~500 µg/ml의 농도에서 대조군보다 약 2.4~2.6 배의 높은 증식능을 나타내었고 양성 대조군으로 사용된 LPS는 5~50 µg/ml의 농도에서 대조군에 비해 3.7배의 증식능을 나타내었다(Fig. 3).

Table 2. Effect of crude extracts from *Paecilomyces sinclairii* on the life span of ICR mice inoculated with Sarcoma 180 (i.p. injection^a)

Group ^b	Dose (mg/kg body weight)	Survival days ^c	ILS (%) ^d
Control	0	15.5±0.00	-
Fr. NaCl	20	20.5±3.01	32.3
Fr. HW	20	17.0±4.40	9.7
Fr. MeOH	20	20.5±6.25	32.3

^ai.p. injection; intraperitoneal injection.

^bFr. NaCl; Fraction extracted with 0.9% NaCl solution, Fr. HW; Fraction extracted with hot water, Fr. MeOH; Fraction extracted with 80% methanol.

Each experimental group consisted of 8 mice.

^cSurvival days of each animal in experimental group were counted individually and the mean survival days (M±S.E.: mean±standard error) of each group were calculated.

^dILS; Increase of life span.

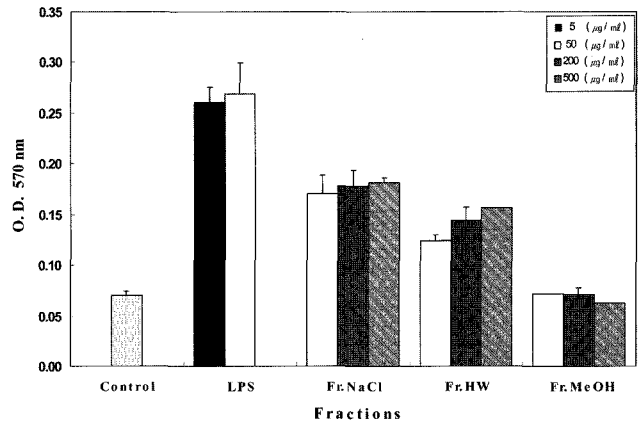


Fig. 3. Effect of fractions extracted from *Paecilomyces sinclairii* on proliferation of murine spleen cells. Concentration of spleen cells was 2×10^5 cells/ml. Proliferation of murine spleen cells was measured after 48 hours of incubation by MTT method. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol. LPS (lipopolysaccharide) was purified from *Escherichia coli* 0111:B and is used in positive control.

갯버섯 균사체로부터 추출한 lepidan이 비장 세포에 작용하여 핵이 커진 임파아구(lymphoblast)를 형성시키고 세포 응집과 빠른 증식을 나타내었고 대조군에 비해 10배 이상의 비장 세포를 증식시켰으며, 특히 비장 세포 내에서 B 임파구의 증식을 촉진하였다고 보고하였다(진, 1996). 따라서 생체의 면역 반응에 관여하는 백혈구, B, T 임파구 및 각종 면역세포와 항체를 생산하는 비장의 세포 증식은 이러한 면역 담당 세포들의 증식을 의미하는 것으로 사료된다.

마우스 B 임파구 활성화에 미치는 영향: B 임파구 활성 시 분비되는 alkaline phosphatase의 양을 측정된 결과

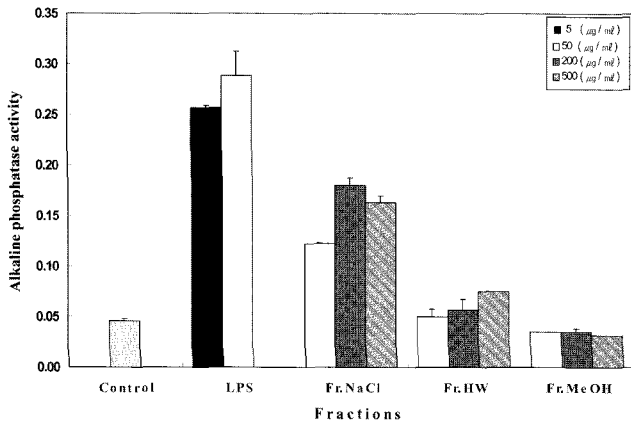


Fig. 4. Effect of fractions extracted from *Paecilomyces sinclairii* on the alkaline phosphatase activity in the murine spleen cells. Alkaline phosphatase activity was calculated as follows : Alkaline phosphatase activity (ρ -nitrophenol $\mu\text{mol}/1 \times 10^5$ lymphocytes/60 mins) = $1.15 \times$ optical density at 405 nm. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol. LPS (lipopolysaccharide) was purified from *Escherichia coli* 0111:B and is used in positive control.

(Fig. 4), 중성염용액 추출물이 50~500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 각 농도에서 대조군의 alkaline phosphatase에 비해 2.7~3.9배 높은 활성을 나타내었다.

밀버섯(*Collybia confluens*)에서 분리한 항암 성분인 collyban을 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 비장 세포에 처리하였을 때 대조군에 비해 1.8배 증가된 alkaline phosphatase 활성을 보였고(김 등, 1993), 표고와 영지의 원형질 융합체 P22를 배양한 균사체로부터 열수 추출하여 얻은 분획이 대조군과 비교하였을 때 alkaline phosphatase의 활성을 1.6배 촉진시켰다고 보고하였다(김 등, 1996).

B 임파구가 분비하는 alkaline phosphatase는 B 임파구가 B cell mitogen에 의해 직접 자극을 받거나, T cell mitogen에 의한 임포카인(lymphokine)에 의해 간접적으로 자극 받음으로써 B 임파구가 형성되는 경우에 활성화된다(Ohno *et al.*, 1986). 따라서 매미눈꽃동충하초의 중성염용액 추출물은 B cell 또는 T cell의 mitogen으로서의 역할을 함으로써 B 임파구를 활성화시키는 것으로 판단된다.

대식세포의 활성화에 미치는 영향: 위 실험에서 가장 높은 효과를 나타낸 추출물인 중성염용액 추출물의 대식세포의 활성화에 미치는 영향을 조사한 결과(Fig. 5), 대조군의 RAW 264.7에 의해 발생된 nitric oxide(NO) 농도가 2 μM 인 것에 비해 중성염용액 추출물을 50~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였을 때 대식세포주는 86~98 μM 의 NO를 발생시켰다. 특히, 중성염용액 추출물은 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 양성대조군인 LPS에 의해 생성된 79 μM 의

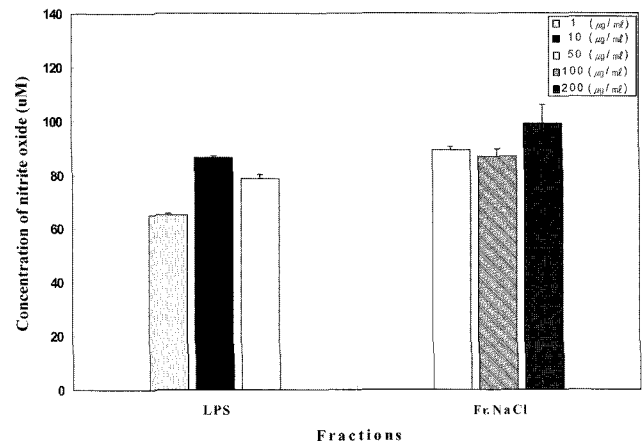


Fig. 5. Effect of fractions extracted from *Paecilomyces sinclairii* on nitrite oxide production in RAW 264.7. Concentration of RAW 264.7 cell was 1×10^6 cells/ml. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. LPS (lipopolysaccharide) was purified from *Escherichia coli* 0111:B and was used in positive control.

nitric oxide 농도에 비해 다소 높은 89 μM 농도의 NO를 생성하였다.

영지의 균사체성 β -glucan(GAN)에 의해서 Raw 264.7의 nitric oxide 생성이 대조군에 비해 촉진되었고, LPS 및 IFN- γ 와 GAN을 혼합하여 사용하였을 때 nitric oxide 생성이 증폭되었으며(한 등, 1998), 표고와 영지의 원형질 융합체 P22를 배양한 균사체의 열수 추출물이 IFN- γ 와 LPS를 RAW 264.7에 처리한 경우보다 IFN- γ 와 LPS에 열수 추출물을 함께 처리하였을 때 nitric oxide(NO) 생성이 증가하였다고 보고하였다(김 등, 1996).

대식세포는 IFN- γ 와 LPS 등의 물질들에 의해 활성화됨으로써 배지 내에 NO₂를 생성하며(Chen *et al.*, 1993), nitric oxide는 산소 중간 물질 등에 내성을 보이는 기생체와 미생물에 대한 유효한 작용을 나타내며, 종양세포의 대사기능을 상실하게 하거나 2차적인 사이토카인을 분비하게 하는 전달체로 작용하여 암세포의 증식을 억제한다(Jan *et al.*, 1992). 담자균류의 β -glucan성 다당류도 대식세포를 활성화시켜 nitric oxide 생성을 촉진한다는 보고가 있다(한 등, 1998).

따라서 매미눈꽃동충하초 중성염용액 추출물은 후천성 면역을 담당하는 B 임파구의 활성 및 선천성 면역에 중추적인 역할을 하는 대식세포의 활성을 증가시킴으로써 숙주의 면역을 증강시켜 항암 효과를 나타내는 것으로 판단된다.

적 요

매미눈꽃동충하초로부터 중성염용액, 열수 및 메탄올 추출물을 분리하였다. 세포독성 실험 결과, 열수 추출물은

100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 HT-29에 대해서 세포독성을 나타냈으나, NIH3T3, HepG2, Sarcoma 180에 대해서는 0~2,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 세포독성을 나타내지 않았다. 중성염용액 추출물과 메탄올 추출물에서는 약간의 독성을 나타내었다. Sarcoma 180 복수암에 대한 항암 효과는 중성염용액 추출물과 메탄올 추출물을 투여한 실험군에서 32.3%의 생명 연장 효과를 나타내었다. 매미눈꽃동충하초의 중성염용액 추출물은 대조군에 비해 비장세포를 2.4~2.6배 증가시켰고, B 임파구의 alkaline phosphatase 활성을 2.7~3.9배 증가시켰으므로 비장세포의 증식과 B 임파구의 면역 활성화 효과를 증가시켰다. 대식세포주 RAW 264.7에 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 중성염용액 추출물을 처리하였을 경우, 양성 대조군이 79 μM 의 nitric oxide(NO)를 발생시킨 것에 비해 다소 높은 89 μM 의 NO가 발생되었다. 매미눈꽃동충하초의 중성염용액 추출물이 가장 높은 항암 효과와 B 임파구와 대식세포 활성을 나타내었으며, 따라서 매미눈꽃동충하초 중성염용액 추출물의 항암 효과는 숙주의 면역 기능을 활성화 시킨 것에 기인된 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학재단이 지원하는 특수소재은행인 인천대학교 “야생버섯균주은행”을 통해 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- 김병각, 문철, 김채균, 윤종명, 심미자, 김하원, 최웅철. 1996. 원형질체 융합 및 핵전이에 의한 새로운 담자균류의 개발에 관한 연구(II)-융합균사체의 항암성분이 생쥐의 면역세포에 미치는 영향. *생약학회지* **27**(3): 231-237.
- 김숙희, 김진숙, 진미림, 김하원, 최웅철, 김병각. 1993. 밀버섯의 항암성분에 관한 연구. *생약학회지* **24**(4): 267-281.
- 심성미, 이경림, 임경환, 이우윤, 이민웅, 이태수. 2003. 매미눈꽃동충하초의 균사 성장과 자실체 형성 조건의 특성. *한국균학회지* **31**(1): 8-13.
- 양규호, 양정희, 류병호. 1997. 락토버섯 추출물의 항암효과. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**(2): 178-182.
- 우명식. 1983. 팽나무버섯의 항암성분에 관한 연구. *한국균학회지* **9**(2): 40-60.
- 이병우, 이명섭, 박기문, 김창한, 안평옥, 최춘언. 1992. 운지버섯 균사체 추출물의 항암효과에 관한 연구. *한국산업미생물학회지* **20**(3): 311.
- 이영경, 한명주, 박순영, 김동현. 2000. 상황버섯 자실체의 *in vitro* 및 *in vivo* 항암활성. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**(2): 477-480.
- 조수목, 이재훈, 한상배, 김환목, 유승현, 유익동. 1995. *Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류(I)-중성염 용액 추출 다당류의 특성. *한국균학회지* **23**(4): 332-339.
- _____, _____, _____, _____, _____, _____. 1995. *Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류(II)-열수추출 다당류의 분리 및 특성. *한국균학회지* **23**(4): 340-347.
- 진미림. 1996. 잣버섯 성분의 면역세포 및 전사인자의 활성화 작용에 관한 연구. 서울대학교 대학원 논문집 Pp. 1-121.
- 한만덕, 이은숙, 김영권, 이종우, 정훈, 윤경하. 1998. 영지의 균사체성 β -glucan에 의한 Raw 264.7 대식세포의 Nitric Oxide 생성. *한국균학회지* **26**(2): 246-255.
- Choi, S. H., Jun, C. D., Lee, B., S., Park, S. D., Oh, J. S. and Chung, H. T. 1993. Effect of various extrinsic and intrinsic factors on the nitric oxide production of murine macrophage. *Kor. J. BRM* **3**: 15-22.
- Denizot, F. and Lang, R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods.* **89**: 271-277.
- Hyun, J. W., Choi, E. C. and Kim B. K. 1990. Studies on constituents of higher fungi of Korea (LXVII), antitumor components of the basidiocarp of *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Mycol.* **18**: 58-69.
- Jan, A. M., Marielle, E. B., Peter, H. N., Pieter, S. H. and Ralph, V. F. 1992. INF- γ induced l-arginine-dependent toxoplasma activity in murine peritoneal macrophages is mediated by endogenous tumor necrosis factor- α . *J. Immunol.* **148**: 568-571.
- Kang, C. Y., Shim, M. J., Choi, E. C., Lee, Y. N. and Kim, B. K. 1981. Mycelial culture and antineoplastic component of *Ganoderma lucidum*. *Kor. Biochem. J.* **14**: 101-112.
- Kim, B. K., Chung, H. S., Chung, K. S. and Yang, M. S. 1980. Studies on the antineoplastic components Korean Basidiomycetes. *Kor. J. Mycol.* **8**(2): 107-113.
- _____, Park, E. K. and Shim, M. J. 1979. Studies on constituents of higher fungi of Korea (XXIV), antineoplastic activities of *Coriolus vesicolor* (Fr.) Quél, *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer and *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Arch. Pharm. Res.* **2**: 145-149.
- Lee, C. O., Choi, E. C. and Kim, B. K. 1987. Immunological studies on the antitumor component of *Lyophyllum decastes* (II). *J. Kor. Cancer Assoc.* **19**(2): 57-62.
- Mossman, B. T. 1983. *In vitro* approaches for determining mechanisms of toxicity and carcinogenicity by asbestos in the gastrointestinal and respiratory tracts. *Environ. Health Perspect.* **53**: 155-161.
- Ohno, N., Arai, Y., Suzuki, I. and Yadomae, T. 1986. Induction of alkaline phosphatase activity in murine spleen cells treated with various mitogens. *J. Pharmacobio-Dyn.* **9**: 593-599.
- Shin, H. W., Kim, H. W., Choi, E. C., Toh, S. H. and Kim, B. K. 1985. Studies on inorganic composition and immunopotentiating activity of *Ganoderma lucidum* in Korea (XLVI). *Kor. J. Pharmacogn.* **16**: 181-190.
- Wallace, P. K. and Morahan, P. S. 1994. Role of macrophages in the immunotherapy of lewis lung peritoneal carcinomatosis. *J. Leukoc. Biol.* **56**: 41-51.