

## 능이버섯의 면역 조절능

김종봉\* · 정자인

대구가톨릭대학교 의생명과학과

### Immunomodulating activities of *Sarcodon aspratus*

Jong-Bong Kim\* and Ja In Jeong

Department of Biomedical science, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702. Korea

(Received May 1, 2013. Accepted June 20, 2013)

**ABSTRACT** – This study was carried out to evaluate the immunomodulatory capacity of edible mushrooms, including *Sarcodon aspratus*, *Letinus edodes* and *Grifola frondosa* in mice. BALB/c mice were administered 50, 500, and 1000 mg/kg body weight of various mushrooms five times a week over 4 weeks through oral administration. The control mice were administered distilled water. No significant changes in body weight were observed. IL-4 and IFN $\gamma$  production was evaluated with splenic T lymphocytes stimulated *in vitro* with phytohemagglutinins for 48 hr. The mice group administered *Sarcodon aspratus*, *Grifola frondosa* tend to higher ratio of IFN $\gamma$  versus IL-4 than the other groups. In addition, the ratio of plasma IgG2a versus IgG1 was also elevated in mice treated with *Sarcodon aspratus*. These results indicated that *Sarcodon aspratus* can enhance type-1 helper T cell-mediated cellular immunity. And also, *S. aspratus* seems to be one of the most useful mushrooms for immunomedicine.

**KEYWORDS** – Anticancer, IL-4, immunomodulator, mushroom, IFN $\gamma$

## 서 론

버섯은 수 천년 전부터 인류가 식용 혹은 약용으로 널리 이용해온 생물자원이다. 버섯의 중요한 약리적 가치는 polysaccharide 및 polysaccharide-peptide 복합체, protein, triterpenoid 등의 버섯 대사산물들이 다양한 생리반응 조절능을 갖고 있다는 점이다 (Chang, R, 1996; Moradali *et al.*, 2007). Polysaccharide를 포함하여 버섯에 함유되어 있는 대사산물들은 면역조절을 통하여 항암 및 항균, 면역과민 반응, 자가 면역 억제 등의 질환치료에 효과를 보이는 것으로 밝혀졌다 (Manzi *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2003). 특히 polysaccharide류가 가장 큰 효과를 나타내고 있으며, 270여 버섯 중에서 효능이 있는 polysaccharide들이 확인되었다 (이, 2007; Leung, 2000). 약용가치가 있는 대부분의 버섯 추출물과 대사산물 등은 부작용이 없어 암등 면역관련 질환을 치료하기 위한 주요 자원으로 평가하고 있다 (Moradali *et al.*, 2007; Lull *et al.*, 2005). 그러나 버섯 추출물이나 대사산물등에 존재하는 면역조절물질들은 비특이적 또는 특이적 면역체계의 여러 요소 즉 조절촉진 기능, 면역관련 세

포의 활성화, 사이토카인 등의 분비에 영향을 줌으로써 이루어진다. 버섯 대사산물의 면역조절은 버섯의 종류 및 대사산물의 물리, 화학적 특성에 따라 다르며 추출과 투여 방법, 투여량과 시기 등의 요인들도 약리효과에 영향을 미치기 때문이다 (Wakshull *et al.*, 1999; Borchner *et al.*, 1999).

능이버섯 (*Sarcodon aspratus*) 및 표고버섯 (*Letinus edodes*), 잎새버섯 (*Grifola frondosa*) 등은 우리나라, 일본, 중국 등에서 식용 및 약용으로 널리 이용해온 버섯들이다. 우리나라의 경우 과거 민가에서는 제 1 능이, 제 2 표고라고 평가 할 정도로 능이의 맛과 약리적 가치를 높이 평가 해 왔다 (이 등, 1989; Eun *et al.*, 1989).

표고버섯과 잎새버섯의 항암 및 면역조절 기능에 대해서는 광범위 하게 많은 연구가 이루어 졌으며 표고버섯의 lentinan 및 grifolan, D-fraction은 화학적으로 모두 1,6-monocosyl-brabched 1,3-D glucose 들로 분자량은 각각 500~1000 kDa 으로 밝혀졌다. 이들은 대식세포의 사이토카인 분비를 촉진시켜 Th1 반응을 활성화시킨다고 밝혀졌다 (Kodama *et al.*, 2003; Yokoyama *et al.*, 2004). 특히, lentinan은 위암 및 직

\*Corresponding author: jbkim@cu.ac.kr

장암, 유방암 등의 치료와 면역력 회복에 효과적이며 (윤, 2004; 박 등, 2011; Shao *et al.*, 2004), D-fraction과 griforan은 간암, 폐암, 백혈병, 등의 치료와 암전이 억제 및 HIV 증식 억제에 효과가 보고되었다(Liu *et al.*, 2003).

능이버섯에 대해서는 우리나라에서 주로 능이의 성분 특히 protease 들에 관하여 많은 연구가 이루어졌다(이 등, 1989; Eun *et al.*, 1989). 그러나 항암 및 면역조절과 관련하여 능이 추출물의 배양 암세포 증식억제 효과(Marayuma *et al.*, 1989)와, 유사분열을 촉진하고, frocogalactan 이라는 glycan이 표고버섯의 lentinan에 비해 대식세포의 TNF- $\alpha$ 와 NO등의 분비 촉진효능이 월등히 뛰어나다고 보고한 정도이다(Mizuno *et al.*, 1999). 그러나 능이버섯에 관하여 면역조절 관련 연구들이 극히 제한적이기는 하나 이와 같은 효능과 전통적으로 약용 목적으로 널리 이용해 왔다는 점들로 보아 능이 성분들은 강력한 면역활성 특성이 있을 것으로 추정된다.

일반적으로 한 종의 버섯에도 다양한 종류의 polysaccharide가 존재하며 잎새버섯 자실체의 경우 29종의 polysaccharide가 알려져 있다(Lull *et al.*, 2005). 또한 다양한 버섯들의 열수추출물이 암세포 성장을 억제 시킨다는 많은 보고가 있다(Moradali *et al.*, 2007). 이와 관련하여 특히 우리나라에서는 버섯을 조리할 때 끓이는 경우가 많기 때문에 조리방법에 따라 면역 조절 효과에 영향을 미칠 것으로 사료된다. 따라서 이들 버섯류의 면역조절 효과를 분석하기 위해서는 열수 추출물의 효과를 분석할 필요성이 있다.

이러한 관점에서 본 연구에서는 오래전부터 식용 및 약용으로 널리 이용해온 능이 및 표고, 잎새버섯의 열수 추출물들이 면역 조절에 미치는 영향을 분석하여 식습관에 따른 이들의 효과를 고찰 해보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에서 사용된 능이버섯(*Sarcodon aspratus*) 및 잎새버섯(*Grifola frondosa*)은 각각 경북 영주, 대구시 달성군 에서 자생하는 자실체를 수집하여 사용하였으며, 표고버섯(*Lentinula edodes*)은 경기도 양평군에서 재배된 것을 구입하여 각각 동결 건조시켜 분말 형태로 한 다음 추출 시료로 사용하였다.

### 버섯 추출물 제조

능이버섯 및 잎새버섯, 표고버섯의 추출은 다음과

같은 방법으로 실시하였다. 각각의 자실체 분말 100 g 에 증류수(1 : 20)를 가한 후 80°C water bath에서 3 시간씩 3회 반복 추출한 후 Whatman NO.2 로 여과하고, 감압농축 후 동결건조한 것을 분쇄하여 시료로 사용하였다.

### 실험동물 및 투여방법

본 연구에서 사용된 동물은 7주령의 암컷 BALB/c mouse를 (주)코아텍(Koatech, Pyeongtaek, Korea) 으로부터 분양받아 일반식이(fat 4 kcal%, Rodent NIH-31 Open Formula Auto, Zeigler Bros, inc, Gardners, PA, USA)로 1주간 적응시켰다. 실험 동물실의 온도는 20°C, 습도는 55~60%로 유지하였으며, 명암주기는 12-hour light-dark cycle로 조정하였다. 능이버섯 및 잎새버섯, 표고버섯 실험물질 투여군의 경우 실험군당 9마리로 하였으며, 투여방법은 각각 3종의 버섯 분말을 체중 kg당 50, 500, 1000 mg이 되도록 멸균 증류수에 희석하여 위내 투여하였다. 투여 횟수는 격일로 4주 동안 투여하였으며 매회 투여량은 200  $\mu$ l로 하였다. 대조군(control)은 희석용매인 증류수를 투여하였으며 투여기간 내 매주 1회씩 체중을 측정하였다.

### 혈장 내 IgE 수준 측정

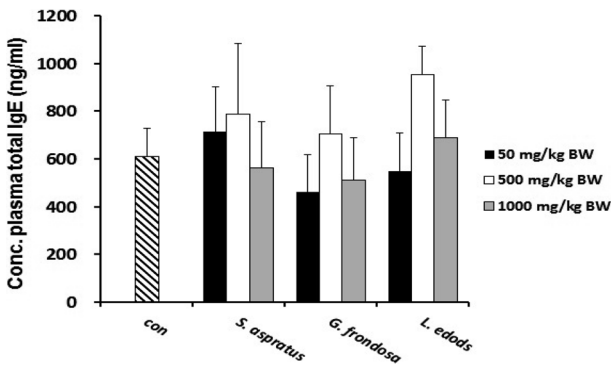
생쥐의 실험물질 최종 투여가 끝나고 3일 후 심장 채혈한 혈액을 원심분리하여 얻은 혈장에서의 IgE 수준을 sandwich ELISA 방법으로 측정하였다. Rat anti mouse IgE capture antibody (PharMingen)와 biotin-conjugated rat anti-mouse IgE detection antibody (PharMingen)를 사용하였다.

### 세포배양액 내 cytokine 정량

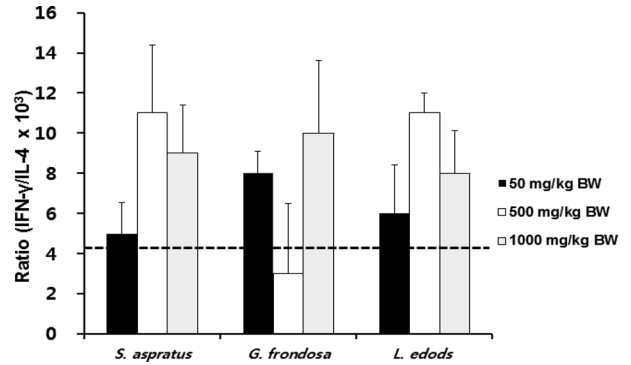
IgG1의 isotype switching을 유도하는 IL-4를 중심으로 한 type-2 사이토카인과 이 사이토카인들의 역할에 길항작용을 미치는 IgG2a로의 isotype switching 을 유도하는 IFN $\gamma$  등 type-1 사이토카인들의 생산능력을 비교 분석하는 것은 기본적인 세포면역능을 평가하는 방법으로 고려되고 있다. 이를 위해 각 생쥐의 비장에서 분리한 비장세포를 24 well- culture plate에 분주한 후 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48시간 배양하였다. 이 때 *in vitro* 활성화를 위해 polyclonal stimulator 로 phytohemagglutinin (PHA, 5  $\mu$ g/1 $\times$ 10<sup>6</sup> cells, Sigma) 을 첨가하였고, 세포배양액 내 사이토카인 수준 정량은 sandwich ELISA 방법을 사용하였다. 각 사이토카인 별 lower detection limit는 IL-4의 경우 4 pg/ml, 그리고 IFN $\gamma$ 는 100 pg/ml이었다.

**Table 1.** Body weight change in mice administered with various mushroom

Treatment groups (mg/kg body weight)	Treatment time (day)				
	Day 0	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
Control (D.W)	16.34±0.53	18.3±0.98	18.59±0.79	18.85±0.74	19.11±0.60
<i>S. aspratus</i> (50)	16.50±0.68	18.65±0.85	18.51±0.94	19.01±0.58	19.11±0.49
<i>S. aspratus</i> (500)	16.47±0.86	18.39±1.14	18.98±1.17	19.28±0.76	19.32±0.77
<i>S. aspratus</i> (1000)	16.20±1.03	18.22±1.07	18.66±1.02	18.90±0.64	19.03±0.62
<i>G. frondosa</i> (50)	16.27±0.46	18.74±0.52	18.85±0.77	19.14±0.67	19.38±0.84
<i>G. frondosa</i> (500)	16.56±1.07	18.42±0.81	18.85±0.95	18.89±0.74	19.14±0.83
<i>G. frondosa</i> (1000)	16.33±0.68	18.42±1.57	18.59±0.78	18.80±0.48	19.06±0.71
<i>L. edods</i> (50)	16.90±0.55	18.74±0.71	19.35±0.87	19.36±0.68	19.54±0.79
<i>L. edods</i> (500)	16.49±0.75	18.35±0.73	19.19±1.21	19.46±0.88	19.69±0.78
<i>L. edods</i> (1000)	16.13±0.75	17.95±0.50	18.40±0.57	18.71±0.48	18.84±0.53



**Fig. 1.** Total IgE circulation levels in the plasma. IgE level was determined by sandwich ELISA from each individual mouse (con;control, n=9; *S. asparatus*, n=9; *G. frondosa*, n=9; *L. edods*, n=9, dose per treatment).



**Fig. 2.** Ratio of cytokine levels in the splenocyte culture supernatants (Dotted line indicates that ratio of control group, n=9). Splenic T cells were stimulated with phytohemagglutinin for 48 hr. The ratio of IFN $\gamma$  vs. IL-4 production levels was calculated by dividing the amount of IFN $\gamma$  by the amount of IL-4 in the each individual mice supernatants followed by multiplication of  $10^{-3}$  (*S. asparatus*, n=9; *G. frondosa*, n=9; *L. edods*, n=9, dose per treatment).

**혈장 내 IgG isotype 수준 측정**

최종 투여가 끝나고 3일 후 심장 채혈한 혈액을 원심분리하여 얻은 혈장에서 IgG1 및 IgG2a 수준을 sandwich ELISA 방법으로 측정하였다. Goat-anti mouse IgG1 및 IgG2a(Serotec, Raleigh, NC) capture antibody와 peroxidase conjugated anti-mouse IgG detection antibody를 사용하였다.

**결과 및 고찰**

**버섯 추출물 투여에 따른 체중 변화**

버섯 추출물 투여에 따른 체중 증가율 변화는 해당 물질의 노출에 따른 안정성을 평가하기 위한 일 반적이면서 기초적인 지표로 사용된다. 버섯 추출물 투여에 따른 생쥐 체중 증가율을 비교한 결과 처리 군 간 또한 control 군과는 유의한 차이가 없었다 (Table 1).

**버섯별 IgE 생성 반응**

능이버섯 및 잎새버섯, 표고버섯 추출물을 투여한 그룹에서의 IgE생성수준은 대조군과 비교한 결과 대조군이  $614.5 \pm 189.1$  ng/ml 인데 비해 잎새버섯 추출물 50, 1000 mg/kg Body weight(BW) 투여군에서 각각  $461.24 \pm 157.9$  ng/ml,  $511.59 \pm 178.9$  ng/m으로 유의적이지는 않지만 감소되는 경향을 보였다(Fig 1). 아토피와 같은 면역과민 반응에서 높은 농도로 관찰되는 IgE항체는 이들 증상의 핵심지표로써 알려져 있으며, 또한 증가된 IgE항체를 매개로한 반응이 이러한 질환을 악화시키는 것으로 알려져 있다(Peat et al., 2008).

몇몇 연구에 의하면 버섯의 특정 성분이 알러지성

**Table 2.** Level of total IL-4 and IFN $\gamma$  production in spenocyte culture supernatnats

Treatment groups (mg/kg body weight)	IL-4 pg/ml	IFN $\gamma$ ng/ml
Control (D.W)	25.14±6.31	19.8±2.8
<i>S. aspratus</i> (50)	34.23±8.14	23.5±4.1
<i>S. aspratus</i> (500)	22.54±10.26	25.2±1.0
<i>S. aspratus</i> (1000)	23.43±11.4	21.8±3.2
<i>G. frondosa</i> (50)	29.38±5.39	22.1±3.7
<i>G. frondosa</i> (500)	33.41±9.43	14.4±5.0
<i>G. frondosa</i> (1000)	24.33±7.25	24.1±3.2
<i>L. edods</i> (50)	41.24±14.12	30.6±3.4
<i>L. edods</i> (500)	18.30±8.31	19.4±2.1
<i>L. edods</i> (1000)	24.45±9.52	18.6±7.0

천식 및 아토피 등의 면역과민 반응을 완화시키는 결과를 보고하였다(Liu *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2003). 특히 상황버섯(*Phellinus linteus*) 추출액을 생쥐에 투여한 결과 대조군에 비하여 IgE항체가 감소함을 보고하였고, 또한 버섯을 첨가한 식품가공품에서도 IgE 항체를 감소시켜 IgE 매개 과민면역 반응을 완화시키는 것으로 나타났다(전, 2004; 윤, 2004). 이는 본 연구에서 대조군과 비교했을 때 잎새버섯 열수 추출물에서 IgE 항체 감소 경향은 버섯 추출물이 면역과민 반응의 조절에 긍정적인 영향을 준 것으로 사료된다.

**버섯별 IFN $\gamma$ 와 interlukin-4 생성수준**

IFN $\gamma$ 와 IL-4는 각각 Th1과 Th2에서 분비되는 대표적인 사이토카인으로서 어느 한쪽의 사이토카인이 우세할 때 다른 사이토카인의 합성, 분비가 저해되는 상호 길항작용을 가지고 있어 체내 type-1 response 와 type-2 response간 세포면역의 항상성 유지여부를 판단하는 주요한 척도로 이용되고 있다. 비장세포 배양액 내 IL-4생성 수준이 대조군의 경우 20.14±6.31 pg/ml인데 비해 능이버섯 추출물 50 mg/kgBW 투여군과 잎새버섯 추출물 50, 500 mg/kgBW 그리고 표고버섯 추출물 50 mg/kgBW 투여한 군의 mouse에서 각각 34.23±8.14 pg/ml, 29.38±5.39 pg/ml, 33.41±9.43 pg/ml, 41.24±14.12 pg/ml로 대조군에 비해 생성수준이 높은 경향을 보였다. 또한 IFN $\gamma$ 의 생성 수준을 측정된 결과는 대조군이 19245.25±2841.2 pg/ml이었으며, 이에 비해 능이버섯 추출물 50, 500 mg/kgBW 투여군에서 각각 23566.24±4512.8 pg/ml, 25687±1247.66 pg/ml과 표고버섯 추출물 50 mg/kgBW 투여군의 경우 30017±3261.5 pg/ml로 대조군에 비

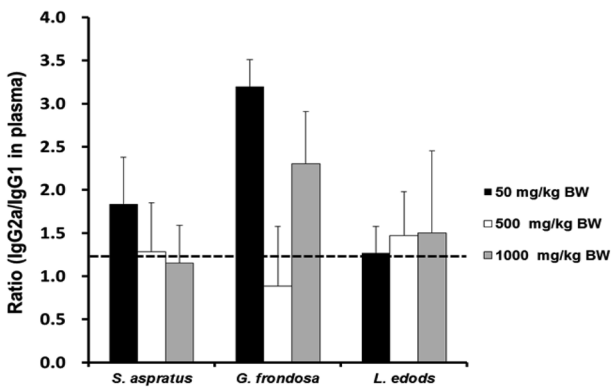
**Table 3.** Level of total IgG1 and IgG2a production in the plasma

Treatment groups (mg/kg body weight)	IgG1 mg/ml	IgG2a mg/ml
Control (D.W)	0.87±0.24	1.11v0.36
<i>S. aspratus</i> (50)	0.75±0.54	1.38±0.21
<i>S. aspratus</i> (500)	1.61±0.33	2.07±0.19
<i>S. aspratus</i> (1000)	1.25±0.35	1.44±0.22
<i>G. frondosa</i> (50)	0.89±0.24	1.47±0.17
<i>G. frondosa</i> (500)	0.97±0.11	0.86±0.21
<i>G. frondosa</i> (1000)	1.2±0.12	1.91±0.36
<i>L. edods</i> (50)	0.75±0.31	0.95±0.43
<i>L. edods</i> (500)	0.96±0.24	1.41±0.54
<i>L. edods</i> (1000)	0.91±0.26	1.37±0.16

해 향진되는 경향을 나타냈다(Table 2). 이 결과를 type-1과 type-2반응의 상대적인 비율로 평가하여 어느 쪽의 반응이 우세한지 확인하기 위해 동일 배양액 내 생성된 IFN $\gamma$ 수준을 IL-4 수준으로 나눈 ratio [배양액 내 IFN $\gamma$ 수준/(배양액 내 IL-4 수준x10<sup>3</sup>)]을 계산하였다. 즉, 능이버섯 추출물 500 mg/kgBW 및 표고버섯 추출물 500 mg/kgBW 투여군의 Ratio가 대조군과 비교하여 높은 경향을 나타냈다. 따라서 IFN $\gamma$ 를 중심으로 한 type-1의 반응을 촉진시키고, type-2의 반응을 억제하는 면역조절능이 제시되었다. 이는 몇몇 연구에서 버섯에 의한 면역반응 조절 중 하나인 IFN $\gamma$ 의 우세로 type-1의 반응이 향진되는 면역 기전이 제시된 것 과 유사한 결과라 할 수 있다(박 등, 2011; Shao *et al.*, 2004).

**버섯별 혈장 내 IgG1, IgG2a 생성수준**

IgG1은 Th2에서 분비되는 IL-4에 의하여 유도되는 항체로서 호흡기 과민반응 등 알레르기성 과민반응 발생시 증가되는 항체이며, IgG2a는 Th1에서 분비되는 IFN $\gamma$ 에 의해서 유도되는 항체로서 IL-4의 생성수준이 향진되면 감소되는 것으로 알려져 있다. 이러한 IgG1과 IgG2a의 상대적 수준의 변화는 체내 체액 면역능의 변화를 예측해볼 수 있는 주요 지표로 여겨지고 있다. 혈장의 IgG1과 IgG2a를 측정하여 그 생성비를 분석한 결과, IgG1의 수준은 대조군의 0.87±0.24 mg/ml에 비해 능이버섯 추출물 500, 1000 mg/kg BW 투여군에서 1.61±0.33 mg/ml, 1.25±0.35 mg/ml로 가장 증가하였으며, 표고버섯 추출물 50 mg/kg BW 투여군의 0.75±0.31 mg/ml 를 제외한 나머지 대체로 소폭 증가하였거나 비슷한 수준을 보였다. 또



**Fig. 3.** Ratio of IgG2a vs. IgG1 levels in the plasma (Dotted line indicates that ratio of control group, n=9). Mice administered with various times hot water extracted mushroom of 50, 500, 1000 mg/kg body weight dose or control (D,W) for 4 weeks, 5 times. The ratios were calculated through dividing the amount of IgG2a by the amount of IgG1 in each individual plasma (*S. asparatus*, n=9; *G. frondosa*, n=9; *L. edods*, n=9, dose per treatment).

한 IgG2a의 수준은 대조군의 경우  $1.11 \pm 0.36$  mg/ml 인데 비해 잎새버섯 추출물 500 mg/kg BW 투여군에서  $0.86 \pm 0.21$  mg/ml과 표고버섯 추출물 50 mg/kg BW 투여군의  $0.95 \pm 0.43$  mg/ml을 제외하고 모든 군에서 대조군에 비하여 증가하는 경향이 나타났다 (Table 3). 이에 따라 type-2반응에 관여된 IgG1과 이에 길항작용을 하는 IgG2a 두 가지 모두가 대조군 보다 높게 측정되어 동일 개체 내 IgG2a 대비 IgG1 수준을 상대적인 비로 나타내었다(Fig 3). 능이버섯 추출물 50 mg/kg BW와 잎새버섯 추출물 50, 1000 mg/kg-BW 투여군에서 대조군에 비해 IgG2a 수준의 비가 가장 높게 나타났다. 이는 type-2반응이 억제되면서 역시 type-1 반응이 항진되는 면역기능 조절능이 관찰되었다.

본 연구에서 능이버섯 및 잎새버섯, 표고버섯의 열수 추출물을 생쥐들에게 투여한 결과 능이버섯과 잎새버섯에서 상대적으로  $IFN\gamma$ 가 증가되는 경향을 비장배양액 세포에서 관찰하였고, 혈장 내 IgG2a/G1의 비율에서 IgG2a의 농도가 상대적으로 높은 경향을 나타내었다. 이는 능이버섯과 잎새버섯 추출물이 이전 연구에서 표고버섯을 경구 투여한 생쥐의 비장배양액의 상대적  $IFN\gamma$ 의 생성의 증가, IgG1과 IgG2a 수준의 측정을 통한 type-1 면역반응이 type-2 면역반응보다 항진된 것과 유사한 양상을 나타내었다(Shao *et al.*, 2004).

버섯에 의한 면역조절의 주요 경로는 대식세포나 NK (natural killer)세포, DCs (dendritic cell)과 같은 APC (antigen presenting cell)가 버섯의 polysaccharide를

항원으로 인식하고, 버섯에 따른 polysaccharide의 화학적 구조의 차이는 이들 APC에서 분비되는 사이토카인의 양상에 따라 전분화 단계의  $Th_0$ 세포를  $Th_1$ ,  $Th_2$ 분화로 유도한다. 이 때 이들의  $Th_1$ ,  $Th_2$ 의 분화에 따라 각각 세포독성, 염증반응의 주요 경로인 type-1 반응과 체액성 면역활성을 담당하는 type-2 반응으로 나뉘어 면역 조절능에 기여한다. 또한 정상적인 면역상태에서 type-1, type-2반응이 적절히 균형을 이루고 있으며, 균형적인 측면에서 한쪽의 지나친 우세는 면역능에 부정적인 영향을 줄 수 있다(Furue and Kitoh, 1981; Han *et al.*, 2010).

많은 연구에서 버섯의 polysaccharide 들이 type-1 반응에 의해 면역조절능을 강화하는 것으로 보고되었다. 특히 표고버섯의 polysaccharide인 lentinan은 DCs의 MHC II, Toll-like receptors의 발현을 증대시켜 민감성을 높이고, DCs에서 IL-12의 증가는 Type-1 반응을 항진, 이에 활성화된  $Th_1$ 세포는  $IFN\gamma$ 의 증가로 이어지는 일련의 면역조절 강화로 이어진다(Murata *et al.*, 2002). 또한 잎새버섯의 대표적 polysaccharide인 D-fraction은 대식세포와 DCs에서 IL-12를 증가시키고 이는 NK 세포 활성화와  $IFN\gamma$ 의 증가로 이어져 이 역시 type-1 반응을 항진시키고  $Th_1$ 에 의한 세포성 면역 반응을 강화시키게 된다(Kodama *et al.*, 2003; Kodama *et al.*, 2002).

본 연구 결과 잎새버섯 열수 추출물을 투여한 생쥐와 이전 연구의 표고버섯을 투여한 생쥐에서 상대적  $IFN\gamma$  증가, IgG2a의 우세에 의한 type-1 항진의 결과는 이들 버섯의 polysaccharide인 lentinan과 D-fraction의 type-1 반응에 의한 면역 조절능 강화가 반영된 것으로 판단된다. 또한 능이버섯 열수추출물을 먹인 생쥐에서 상대적  $IFN\gamma$ 의 증가와 IgG2a 분비 우세로 type-1반응 항진에 의한 면역 조절능 역할 역시 기여 하는 것으로 나타났다. 비록 본 연구 결과는 능이버섯의 특정화합물을 대상으로 얻어진 결과가 아니지만 능이버섯 특정 성분이 표고버섯의 lentinan, 잎새버섯의 D-fraction과 같이 대식세포 및 NK, DCs와 같은 antigen presenting cell (APC)의 활성을 높여 type-1반응 경로를 통해 면역활성능을 강화시키는 가능성을 제시 할 수 있다. 그러나 전체적으로 볼 때 능이버섯 열수추출물이 type-1와 type-2 반응 면역조절의 전체 균형적인 측면에서 큰 차이가 없어, 한쪽 면역반응만의 지나친 우세가 아닌 이 두 면역반응을 적절히 조절 시킨 것으로 추정된다.

최근에 분획된 능이버섯의 polysaccharide 인 HBP와 HCP는 polysaccharide의 주요 당 골격이 각각

(1→6)-β-d-glucopyranosyl, (1→6)-α-d-glucopyranosyl residue를 가지고 있으며, 때때로 주요 당 골격을 제외하고, (1→3)-β-d-glucopyranosyl, (1→4)-β-d-glucopyranosyl 잔기의 당을 함께 구성하고 있음이 밝혀졌다(Han *et al.*, 2011). 이는 각각의 polysaccharide인 표고버섯의 lentinan, 잎새버섯의 grifolan, D-fraction과 같이 type-1반응을 항진시킬 수 있게 APC를 자극하는 polysaccharide들의 당 골격과 비슷한 형태를 띠고 있어, 본 연구에서 능이버섯 열수추출물이 type-1 반응을 항진 시키는 면역 조절능을 가지고 있는 것으로 사료된다.

한편 버섯 추출물이나 정제된 polysaccharide들은 비장에서 림프구분열을 촉진하고 그 결과 항암 효과 등 면역기능을 강화시키며 이와 관련하여 능이버섯 열수추출물의 분열 촉진능에 대한 분석결과 능이버섯의 경우 열수추출물에서 유사분열 촉진능이 다른 버섯보다 뛰어난 것으로 보고되어 있다. 이러한 능이버섯의 특성은 능이버섯이 강력한 면역조절 기능이 있는 것으로 생각된다. 또한 능이버섯 물추출 분획에서 추출한 polysaccharide 인 fucogalactan은 *in vitro* 실험에서 대식세포의 TNF-α와 NO생성이 증가함을 보였으며, TNF-α 분비의 경우 표고버섯의 lentinan 보다 약 4.3배 높게 유도됨으로써 면역기능을 증진시키는 상당한 효과를 미치는 것으로 볼 수 있다(Mizuno *et al.*, 2000).

이와 같이 앞선 연구에서의 능이버섯 면역 조절능과 본 연구에서 나타난 능이버섯 열수추출물의 type-1반응 항진 기능은 면역기능 강화 측면에서 그 효과가 이미 입증된 표고버섯이나 잎새버섯과 비교했을 때 대등하거나 우수한 것으로 판단된다.

이상의 연구결과는 버섯의 분획된 특정 화합물들을 투여하여 얻어진 결과가 아니기 때문에 능이버섯의 면역활성에 대한 정확한 결론을 도출하기 위해서 버섯의 주요 구성성분에 대한 분리투여와 분석이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 특히 버섯을 물에 끓여 조리하는 기호의 선호성이 다른 조리법 보다 높아(정 등, 2003), 능이버섯이 식용버섯의 가치로 기능성식품 및 식의약품으로 개발 될 수 있는 가능성을 확인 해주었다.

## 요 약

본 연구는 식용버섯, 특히 능이버섯이 면역조절기능체로서의 가치 여부를 평가하기 위하여 수행되었다. 본 연구를 위해 능이버섯 및 잎새버섯, 표고버섯

이 사용되었다. 버섯 추출물을 투여한 생쥐의 혈장 내 IgG1 및 IgG2a 수준을 측정하였고, 비장 단일 세포군을 이용하여 T 림프구 및 B 림프구의 *in vitro* 활성화 결과 생성된 IFNγ와 IL-4 수준을 각각 분석하였다. 실험 결과 능이버섯 추출물 500 mg/kg BW 투여군과 잎새버섯 추출물 500 mg/kg BW을 투여한 군에서 각각 IFNγ/IL-4의 비가 다른 군에 비해 높은 경향을 보였다. 또한 혈장 내 IgG2a/IgG1의 비가 능이버섯 추출물 투여군의 경우에 다른 군보다 높았다. 이는 능이버섯이 항암작용 및 항바이러스 작용과 같은 type-1 반응을 촉진할 가능성이 있으며, 그 효과가 이미 입증된 표고버섯이나 잎새버섯과 비교하여 식용버섯으로써 면역조절 기능 강화 측면에서 우수한 버섯이라 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 2011년 대구가톨릭대학교 지원에 의하여 수행되었습니다. 아울러 본 연구를 위하여 시료를 제공해주신 박은주 선생님께 감사를 드립니다.

## 참고문헌

- 김정숙, 한재숙, 이재성. 1995. 조리방법에 따른 버섯의 기계적관능적 특성에 관한 연구. 한국식품조리과학회. **11** : 44-50.
- 김종봉, 이용호. 2011. 버섯첨가 두부의 면역활성에 미치는 영향. 한국식품저장유통학회지. **18** : 961-966.
- 박현지, 허용, 김종봉. 2011. 식용버섯의 면역조절에 미치는 영향. 한국생명과학회. **21** : 515-520.
- 이연희. 2007. 발아현미상황버섯이 아토피피부염에 미치는 영향. 한국미용학회지. **13** : 514-519.
- 은재순, 양재현, 이태규, 최동성. 1989. 한국산 고등균류에 관한 연구(제 5보) 능이 중 단백질분해효소의 특성과 N-말단 아미노산배열. 대한약학회지 **33** : 339-344.
- 이태규, 은재순, 양재현, 조덕이, 양희천. 1989. 한국산 고등균류에 관한 연구(제3보)능이 중의 단백질 가수분해효소의 정제 및 안정성. 한국약제학회. **19** : 81-86.
- Borchers, A. T, Stern, J. S, Hackman, R. M, Keen, C. L, Gershwin, M. E. 1999. Mushrooms, tumors, and immunity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **221** : 281-293.
- Chang, R. 1996. Functional properties of edible mushrooms. Nutr. Rev. **54** : 91-93.
- Furue, H, and Kitoh, I. 1981. Phase 111-study on Lentinan. Jp. J. Cancer Chemother, **8** : 944-960.
- Han, X. Q, Chai, X. Y, Jia, Y. M, Han, C. X, Tu, P. F. 2010. Structure elucidation and immunological activity of a novel polysaccharide from the fruit bodies of an edible mushroom, (Berk.)S.It. Int. J Biol. Macromol. **47** : 420-424.
- Han X. Q, Wu X. M, Cha I. X. Y, Chen, D, Dai, H, Dong, H. L, Ma, Z. Z, Gao, X. M, Tu P, F. 2011. Isolation,

- characterization and immunological activity of a polysaccharide from the fruit bodies of an edible mushroom, *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. *Food Res Int*, **44** : 489-493.
- Jeon, T. E. 2004. Bioactivities of *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice. Konkuk university. Thesis.
- Kodama N, Komuta K, Nanba H. 2003. Effect of Maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the activation of NK cells in cancer patients. *J Med Food*, **6** : 371-377
- Kodama N, Komuta K, Sakai N, Nanba H. 2002. Effects of D-fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa* on tumor growth involve activation of NK cells. *Biol Pharm Bull*, **25** : 1647-1650
- Leung, D. Y. M. 2000. Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. *J Allergy Clin Immunol*. **105** : 860-876.
- Liu, Y. H, Kao, M. C, Lai, Y. L, Tsai, J. J. 2003. Efficacy of local nasal immunotherapy for Dp2-induced airway inflammation in mice: using Dp2 peptide and fungal immunomodulatory peptide. *J Allergy Clin Immunol*. **112** : 301-310.
- Liu, Y. H, Tsai, C. F, Kao, M. C, Lai, Y. L, Tsai, J. J. 2003. Effectiveness of Dp2 nasal therapy for Dp2- induced airway inflammation in mice: using oral *Ganoderma lucidum* as an immunomodulator. *J Microbiol Immunol Infect*. **36** : 236-242.
- Lull, C. Wichers, H. J, Savelkoul, H. F. J. 2005. Antiinflammatory and Immunomodulating Properties of Fungal Metabolites. *Mediators of Inflammation*. **2** : 63-80.
- Manzi P, Gambelli L, Marconi S, Vivanti V, Pizzoferrato L. 1999. Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. *Food Chem*. **65** : 477-482.
- Marayuma, H. F, Yamazaki, K, Murofushi, S, Konda, C, Ikekawa, T. 1989. Antitumor activating of *sarcodon asparatus* (BERK)S. ITO and *Ganoderma lucidum* (FR). *J Pharmacobio Dyn*. **12** : 118-123.
- Mizuno, M, Shiomi, Y, Minato, K, Kawakami, S, Ashida, H, Tsuchida, H. 2000. Fucogalactan isolated from *Sarcodon aspratus* elicits release of tumor necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide from murine macrophages. *Immunopharmacology*. **46** : 113-121.
- Moradali, M. F, Mostafavi, H, Ghods, S, Hedjaroude, G. A. 2007. immunomodulating and anticancer agents in realm of macromycetes fungi(macrofungi). *Int, immunopharmacol*, **7** : 701-724
- Murata, Y, Shimamura, T, Tagami, T, Takatsuki, F, Hamuro, J. 2002. The skewing to Th1 induced by lentinan is directed through the distinctive cytokine production by macrophages with elevated intracellular glutathione content. *Int Immunopharmacol*. **2** : 673-689.
- Peat, J. K, Toeile, B. G, Dermand, J, van den Berg R, Britton, W. J, Woicoock, A. J. 2008. Serum IgE levels, atopy, and asthma in young adults: results from a longitudinal cohort study. *Allergy*. **51** : 804-810.
- Shao, B. M, Dai, H, Xu, W, Lin, Z. B, Gao, X. M. 2004. Immune receptors for polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Biochem Biophys Res Commun*. **323** : 133-141.
- Taguchi, T, Furue, H, Kimura, T, Kondo, T, Hattori, T, Itoh, T, Ogawa, N. 1985. End point results of phase III study of lentinan. *Jp. J. Cancer Chemother*. **12** : 366-380.
- Wakshull, E, Brunke-Reese, D, Linderemuth, J, Fisetete, L, Nathans, R. S. 1999. PGG-glucan, a soluble beta-(1,3)-glucan, enhances the oxidative burst response, microbicidal activity, and activates an NF-kappa B-like factor in human PMN: evidence for a glycosphingolipid beta-(1,3)-glucan receptor. *Immunopharmacology*. **41** : 89-107
- Yokoyama, W. M, Kim, S, French, A. R. 2004. The dynamic life of natural killer cells. *Annu Rev Immunol*, **22** : 405-429.
- Yoon, Y. H. 2004. Effect of oral administration of *phellinus linteus* on the productions of the Th-1 and Th-2 type cytokines in mice. Won Kwang Univ, Thesis.