

뽕나무버섯(*Armillaria mellea*)의 자실체에서 추출한 조다당류가 생쥐의 Sarcoma 180에 미치는 억제효과

김상범 · 이건우 · 김혜영 · 심미자¹ · 노현수² · 이현숙² · 이민웅³ · 이우윤 · 이태수*
인천대학교 생물학과, ¹서울시립대학교 생명과학과, ²경상대학교 미생물학과, ³동국대학교 생물학과

Inhibitive Effect of Mouse Sarcoma 180 by Crude Polysaccharide Extracted from Fruiting Body of *Armillaria mellea*

Sang Beom Kim, Gun Woo Lee, Hye Young Kim, Mi Ja Shim¹, Hyun-Su Rho²,
Hyun Sook Lee², Min Woong Lee³, U-Youn Lee 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 Microbiology, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

³Department of Biology, Dongguk University, Seoul, 100-715, Korea

(Received December 6, 2006)

ABSTRACT: *Armillaria mellea*, one of edible and medicinal mushroom belonging to Tricholomataceae of Basidiomycota, has been known to have outstanding inhibitive effects on the sarcoma 180 and Ehrlich carcinoma of mice. Neutral salt soluble (0.9% NaCl), hot water soluble and methanol soluble substances (hereinafter referred to Fr. NaCl, Fr. HW and Fr. MeOH, respectively) were extracted from the mushroom. *In vitro* cytotoxicity tests, crude polysaccharide were not cytotoxic against cancer cell lines such as NIH3T3 and Sarcoma 180 at the concentration of 1000 µg/ml. Intraperitoneal injection with crude polysaccharides exhibited life prolongation effect of 60~67.5% in mice inoculated with Sarcoma 180, respectively. Fr. NaCl improved the immunopotential activity of B lymphocyte by increasing the alkaline phosphatase activity by 1.8~3.0 folds, respectively. In case of Fr. NaCl, the numbers of peritoneal exudate cells and circulating leukocytes were increased by 10 and 2 folds, respectively.

KEYWORD: Antitumor effect, *Armillaria mellea*, Crude polysaccharides, Immuno-modulatory

뽕나무버섯(*Armillaria mellea*)은 분류학적으로 송이과(Tricholomataceae), 뽕나무버섯속(*Armillaria*)에 속하는 버섯으로서 봄부터 가을에 걸쳐 침엽수, 활엽수의 생나무 밑둥, 그루터기, 죽은 나무 위에 속생하는 버섯이다. 난과 식물인 천마와 공생하고, 구멍장이버섯과에 속하는 약용 버섯인 저령과도 공생하는 다양한 생활사를 갖고 있다. 형태적으로 살펴보면 갓은 지름 4~12 cm로 초기에는 평반구형이나 후에 편평형이 되고, 갓 표면은 담갈색~담황갈색이며, 중앙부에는 흑갈색의 섬유상 털이 나 있고, 갓 둘레에는 방사상의 선이 있다. 주름살은 내린형이며 약간 성기고, 초기에는 백색이나 후에 담갈색이 된다. 대는 4~5×0.6~2 cm로 섬유질이며, 상부는 백색~담황색이고 백색~황백색의 턱받이가 있으며, 하부는 흑갈색이고 기부에는 흑색의 균사속을 형성한다. 포자는 7~8.5×4.5~6.5 µm로 타원형이며, 표면은 평활하고, 포자문은 백색이다(Park and Lee, 2002).

뽕나무버섯은 동의보감에 의하면 영양이 풍부하고 약효가 우수한 식·약용 버섯이다. 일본과 중국의 연구자들 실험결과에 의하면 뽕나무버섯에서 추출한 단백다당류를 생쥐에 주사하거나 경구 투여할 경우 Sarcoma 180 암세포에 대해 높은 저지율과 대식세포의 수를 현저히 증가시키는 등 항암 및 면역증강 효과가 있다는 것이 보고되었다(Ying *et al.*, 1987). 또한 이 버섯의 추출물이 투여된 허혈성 중풍환자는 동맥의 혈류량이 증가하여 뇌에 산소 공급이 원활해지면서 중풍 증상이 많이 개선되고 혈압이 떨어지는 등의 치료효과가 나타나는 것은 물론 혈액내의 고지혈증도 완화되는 효과가 보고되었다. 또한 최근 중국에서는 천마 공생균인 뽕나무버섯 균사체에서 추출한 물질을 치매환자에 투여한 결과 그 개선효과가 수천년 동안 치매의 치료제로 사용해온 천마에 못지않게 높게 나타나고 있는 것이 확인되면서 뽕나무버섯을 치매의 치료제로 이용하기 위한 연구가 활성화되고 있다(Kinjo *et al.*, 1996; Park and Lee, 2002; Ying *et al.*, 1987).

따라서 본 연구에서는 식·의약용 버섯인 뽕나무버섯을

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

인공 재배하여 얻어진 자실체로부터 중성염용액(0.9%), 메탄올(80%) 및 열수를 이용하여 유효성분을 추출한 후 *in vitro*와 *in vivo*에서 생쥐의 항암능력과 면역성을 증가시키는 효과가 있는지 알아보려고 실험을 수행하였기에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 뿔나무버섯(*Armillaria mellea*)은 동국대학교 생물학과 균학연구실이 인천대학교 생물학과 야생버섯균주은행으로부터 분양 받은 균주 중 인공재배에 성공한 IUM949의 자실체를 이용하여 수행하였다. 수확한 신선한 자실체는 50°C에서 24시간 동안 건조시킨 후 분쇄하여 -70°C의 냉동고에 보관하여 실험에 사용하였다.

성분의 추출 및 분리

조 등(1995)의 방법에 따라 중성염용액(0.9% NaCl), 80% 메탄올 및 열수로 추출하였으며, 추출한 물질은 각각 수율을 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 다시 용해시켜 위의 방법으로 재투석하고 동결건조하여 중성염용액 추출물(Fr. NaCl)을 얻었다.

열수추출액은 분쇄한 자실체 500 g에 3차 증류수 5 l를 첨가하여 95°C에서 10시간 동안 추출하였다. 추출액에 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).

암세포의 세포독성

실험에 사용한 정상세포는 마우스 섬유아세포 NIH3T3, 암세포는 마우스 육종암세포 Sarcoma 180이었다. 세포독성 실험은 Denizot *et al.*(1986)의 방법에 따라 수행하였다. NIH3T3 세포는 1×10^5 cells/ml의 세포를 96 well microtiter plate에 100 μ l씩 주입한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 각 추출물의 농도가 10~1000 μ g/ml이 되도록 조정된 후 100 μ l씩 세포에 처리하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 5 fmg/ml의 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide(MTT) solution을 10 μ l를 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 microtiter 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-methoxy-4-nitro-5-sulfohenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide(XTT) solution당 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

B : Blank

수명연장 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 투

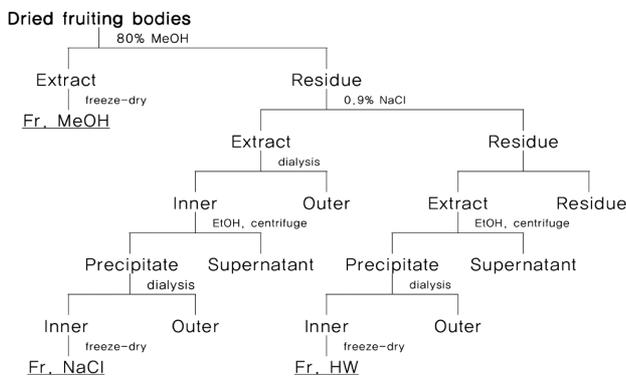


Fig. 1. The extraction procedures to obtain crude extracts from fruiting body of *Armillaria mellea*. The Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. The Fr. HW fraction was extracted with hot water. The Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol.

여하였다. 대조군에는 같은 기간, 동량의 생리식염수를 투여하였으며, 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.

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

C : 대조군의 평균 수명(일)

T : 실험군의 평균 수명(일)

마우스의 B 임파구 활성화에 미치는 영향 분석

Ohno *et al.*(1986)의 방법에 따라 분화된 B 임파구의 표면에 발현되는 alkaline phosphatase를 측정하였다. 준비된 비장세포를 1×10^6 cells/ml의 농도로 조정하여 well 당 $100 \mu\text{l}$ 씩 분주하고 50, 200, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 추출물과 양성 대조군으로 5, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 LPS(lipopolysaccharide)를 가함으로써 최종 부피가 200 μl 가 되도록 하였다. 37°C , 5% CO_2 배양기에서 48시간 배양한 후, 세포 배양액을 원심분리하고 침전물에 1 mM MgCl_2 를 포함한 50 mM sodium carbonate buffer(pH 9.0)에 1 mg/ml이 되도록 p -nitrophenyl phosphate를 첨가한 용액을 $100 \mu\text{l}$ 씩 가한 다음 37°C , 5% CO_2 배양기에서 1시간 반응시켰다. 빙방의 0.3 N NaOH 용액 50 μl 를 가하여 반응을 종결시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\begin{aligned} &\text{Alkaline phosphatase activity} (p\text{-nitrophenol } \mu\text{mol/} \\ &1 \times 10^5 \text{ lymphocytes/60 mins.}) \\ &= 1.15 \times \text{O. D. at } 405 \text{ nm} \end{aligned}$$

총 백혈구 수에 미치는 영향 분석

6주령의 ICR 웅성 마우스를 실험군과 대조군으로 나누어 3일간 연속으로 10, 20, 50 mg/kg body weight의 농도로 추출물을 복강 내에 투여하였고, 대조군은 생리 식염수를 투여하였다. 추출물 투여 최종일로부터 24시간 후 마우스를 경추탈골시켜 10 ml의 PBS buffer(pH 7.2)로 복강 내를 세척한 다음 복강 세포를 채취하여 Turk's solution으로 염색한 후 혈구계수기를 이용하여 측정하였다.

혈 중 백혈구 수와 면역 장기의 중량에 미치는 영향 분석

6주령의 ICR 웅성 마우스를 실험군과 대조군으로 나누어 10일간 연속으로 복강 내에 10, 20, 50 mg/kg body weight의 농도로 추출물을 투여하였으며, 대조군은 생리 식염수를 투여하였다. 추출물 투여 최종일로부터 2일 후 심장체혈하여 혈액을 채취하여 Turk's solution으로 염색하여 혈구계수기로 백혈구 수를 측정하였다. 또한 간, 비장 및 흉선을 적출하여 중량을 측정하였고 상대장기 중량은 장기의 중량을 부검 전 체중으로 나누어 백분율로 산

출하였다.

결과 및 고찰

성분의 추출 및 분리

추출방법에 따라 얻어진 각 추출물의 수득율을 비교하였을 때 80% 메탄올 추출물이 13%로 가장 높은 수득율을 나타내었으며, 중성염 추출물과 메탄올 추출물은 각각 2.0%와 2.4%로 비교적 낮은 수득율을 나타내었다(Table 1). 이는 심 등(2003a)이 매미눈꽃동충하초에 메탄올, 중성염 및 열수로 추출한 조다당류의 추출물인 30.6%, 2.2%, 0.9%에 비해 메탄올과 중성염에서는 조다당류가 적게 추출되었고 열수에서만 약간 많은 양이 추출되었다.

반면에 심 등(2003b)의 삼색도장버섯 실험에서는 메탄올, 중성염 및 열수로부터 추출된 다당류의 추출물은 각각 2.7%, 0.4%, 1.0%로 뽕나무버섯의 조다당류 추출율은 삼색도장버섯에 비해서는 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 자실체에서 서로 다른 용매로 추출되는 조다당류의 양은 버섯의 종류에 따라 다르다는 것을 보여준 것으로 사료된다.

Table 1. Recovery rate of crude extracts from fruiting body of *Armillaria mellea* by various extraction methods

Fraction ^a	Weight of the used mushroom (g)	Weight of extract (g)	Recovery rate ^b (%)
Fr. MeOH	400	52.0	13.0
Fr. NaCl	400	7.9	2.0
Fr. HW	400	9.4	2.4

^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.

Table 2. Effect of crude extracts from *Armillaria mellea* 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	21 \pm 0.65	-
Fr. MeOH	20	26 \pm 2.84	14.3
Fr. NaCl	20	27 \pm 2.82	28.6
Fr. HW	20	35 \pm 2.69	67.5 ^a

^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 10 mice.

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

^dILS: Increase of life span.

생명 연장 효과

뽕나무버섯 추출물이 *In vitro*에서 마우스 육종암세포인 Sarcoma 180에 미치는 효과를 분석한 결과(Table 2), 대조군의 평균 생존 일수는 21일이었으며, 열수 추출물을 투여한 실험군의 평균 생존일수가 35일로 67.5%의 높은 생명연장효과를 나타내었다. 심 등(2003b)의은 담자균류의 하나인 삼색도장버섯(*Daedaleopsis tricolor*)에서 추출한 조다당류가 Sarcoma 180를 투여한 생쥐에서 투여하지 않은 생쥐에 비해 최고 77.4%의 높은 생명연장효과를 나타낸다는 것을 밝혔고 이러한 결과는 암세포의 증식억제 효과보다는 면역활성의 증가 때문이라는 것을 보고한 바 있다. 따라서 뽕나무버섯에서 추출한 조다당류의 세포독성 실험에서 NIH3T3와 Sarcoma 180 세포주에 대해서는 독성을 나타내지 않고 67.5%의 생명연장효과를 나타낸

것은 면역활성의 증가에서 기인한 것으로 판단된다.

세포독성효과

뽕나무버섯 추출물의 정상세포와 암세포에 대한 세포독성 실험을 한 결과 정상세포주인 NIH3T3와 마우스 육종암세포 Sarcoma 180에 대하여 증성염, 메탄올, 열수 등 3 종류의 추출물 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 이들 세포주는 70% 내외의 세포생존율을 나타내었다. 매미눈꽃동충하초(심 등, 2003a), 삼색도장버섯(심 등, 2003b)의 추출물을 이용한 연구결과에서도 이와 유사한 결과가 보고되었는데 이는 뽕나무버섯 조다당류의 생쥐에 대한 생명연장효과는 암세포에 직접적인 세포독성을 주어 암세포의 증식을 저하시키기보다 생체내 면역체계를 증강시킨 것으로 사료된다.

면역 활성 효과

마우스 B 임파구 활성화에 미치는 영향: B 임파구가 분비하는 alkaline phosphatase의 양을 측정하여 B임파구의 활성을 확인하였다. alkaline phosphatase는 B cell mitogen의 직접적인 자극을 받는 경우나 T cell mitogen에 의한 lymphokine에 의하여 간접적인 자극을 받음으로써 B 임파구가 형성되는 경우에 활성화되는 것으로 알려져 있으며, 오 등(2004)은 저령(*Grifola umbellata*) 균핵의 증성염용액 추출물이 *Escherichia coli* 0111:B의 LPS 보다 6배 이상의 alkaline phosphatase 활성을 보인 것으로 보고한 바 있다.

본 실험결과 3종류의 뽕나무버섯 추출물은 대조군에 비해 전체적으로 B 임파구를 활성화시키는 효과를 나타냈

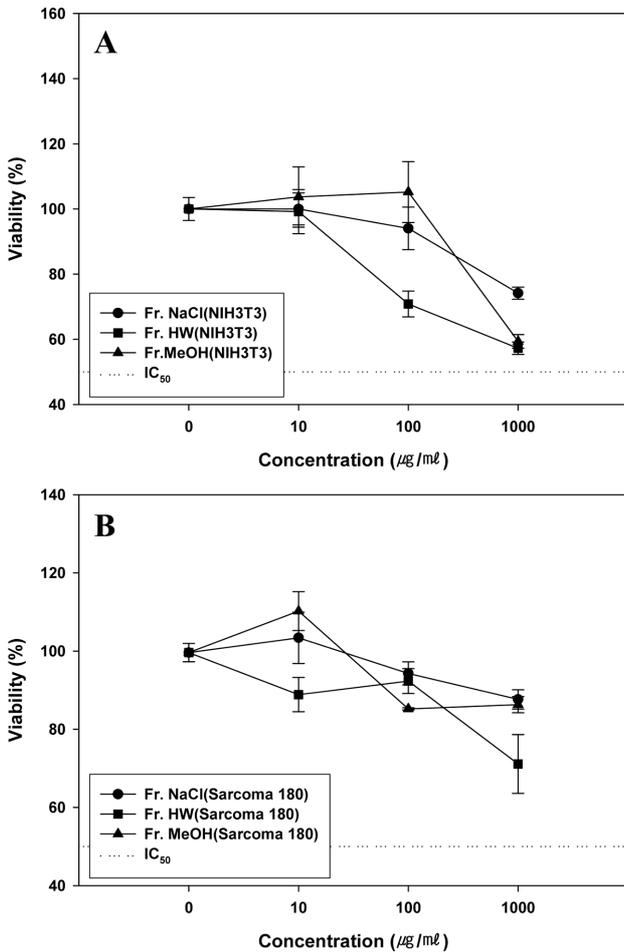


Fig. 2. *In vitro* cytotoxicity of fractions extracted from fruiting body of *Armillaria mellea*. against (A) NIH3T3, (B) Sarcoma 180, Concentration of cells was 1×10^4 cells/well. The Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. The Fr. HW fraction was extracted with hot water. The Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol. IC₅₀ means 50% inhibition concentration.

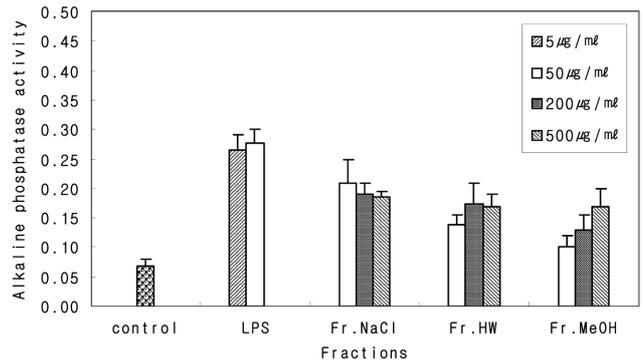


Fig. 3. Effect of fractions extracted from fruiting body *Armillaria mellea* on the alkaline phosphatase activity in the murine spleen cells. Alkaline phosphatase activity was calculated as follows : Alkaline phosphatase activity (ρ -nitrophenol $\mu\text{mol/l} \times 10^5$ lymphocytes/60 mins) = $1.15 \times$ 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 was used in positive control.

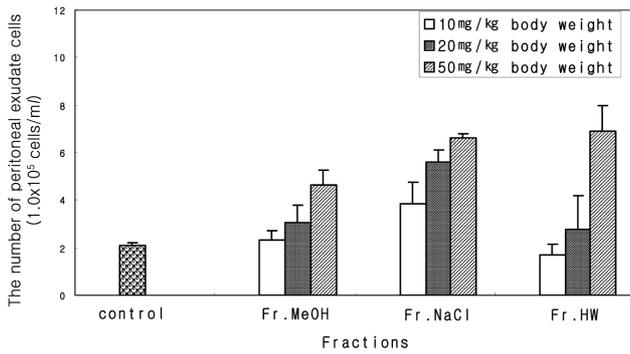


Fig. 4. Effect of Fr. NaCl extracted from fruiting body of *Armillaria mellea* on the number of peritoneal exudate cells in ICR mice. Fr. NaCl fraction was extracted with 0.9% NaCl solution. Fr. HW fraction was extracted with hot water. Fr. MeOH fraction was extracted with 80% methanol.

으며, 이때 alkaline phosphatase의 양을 측정 한 결과(Fig 3) 중성염의 각 농도별 추출물의 활성이 대조군에 비해 약 3배가량 높은 것으로 나타났다. 이런 결과는 뿔나무버섯의 중성염추출물이 비장세포의 증식뿐만 아니라 B림파구의 활성도 증기시키고 있다는 것을 보여주고 있다.

총 복강 세포 수에 미치는 영향: 3가지의 뿔나무버섯 추출물에 대한 복강 세포수의 증감은 전체적으로 각 농도에 따라 증가하는 경향을 보였다. 대조군 2.09×10^5 cells/ml에 비해 열수 추출물이 농도에 따라 1.72×10^5 cells/ml, 2.80×10^5 cells/ml, 6.89×10^5 cells/ml로 증가하는 것을 볼 수 있었고, 메탄올과 열수추출물도 유사한 양상을 보였다. 심 등(2003b)은 삼색도장버섯의 중성염 추출물을 50 mg/kg body weight으로 투여한 생쥐의 복강세포수는 대조군에 비해 10배 증가했다고 보고하였다. Gross *et al.* (1980)에 따르면 복강세포 중 polymorphonuclear leukocytes (PMN)와 macrophage 등의 면역세포들은 생체내에서 직접적인 식균작용이나 체액성 및 세포성 면역을 나타내는 역할을 하기 때문에 복강세포수의 증가는 면역체계를 강화시키는 것으로 볼 수 있다고 보고하였다.

Table 3. Effect of crude extracts from fruiting body of *Armillaria mellea* on the number of circulating leukocytes in ICR mice

Group ^a	Dose (mg/kg body weight)	No. of mice	No. of leukocytes ($\times 10^6/ml$)
Control	—	10	1.5 ± 0.12^b
Fr. MeOH	10	10	2.1 ± 0.47
Fr. MeOH	20	10	2.8 ± 0.26
Fr. MeOH	50	10	3.1 ± 0.89
Fr. NaCl	10	10	1.9 ± 0.46
Fr. NaCl	20	10	3.3 ± 0.44
Fr. NaCl	50	10	3.7 ± 0.13
Fr. HW	10	10	1.7 ± 0.68
Fr. HW	20	10	1.8 ± 0.70
Fr. HW	50	10	2.1 ± 0.97

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

^bMean \pm S.E.

혈액 중 백혈구 수에 미치는 영향: 백혈구는 외부의 감염으로부터 생체를 방어하는 면역반응에 관여하는 1차적 세포로서 중요한 기능을 한다(Arthur and Guyton, 1986). 혈액 내의 백혈구 수는 대조군 1.5 ± 0.12 에 비하여 중성염용액 추출물 50 mg/kg을 투여했을 때 3.7 ± 0.44 으로 약 2.4배 이상 증가된 결과를 나타내었다(Table 3). 메탄올 추출물과 열수 추출물은 같은 농도에서 각각 2배, 1.4배 가량의 증가율을 보였다. 버섯추출물이 생체내에서 백혈구의 수를 증가시키는 경향은 심 등(2003b)이 언급한 삼색도장버섯(*Daedaleopsis tricolor*)의 결과와 일치하였다. 따라서 뿔나무버섯의 조다당류는 생체내에서 1차적인 면역체계인 백혈구 수를 증강시키는데 효과가 있는 것으로 판단된다.

면역 장기 중량에 미치는 영향: 각 추출물을 생쥐에게 투여하고, 면역과 관련된 장기인 간, 비장 및 흉선의 체중 무게에 대한 변화를 알아보았다(Table 4). 3가지 종류의 용매중 중성염을 이용해 추출한 조다당류가 가장 높은 증가율을 보였으나 유의성 있는 결과는 나타나지 않았으며,

Table 4. Effect of Fr. NaCl extracted from *Armillaria mellea* on the body and immunoorgan weight of ICR mice.

	Treatment			
	Control	Fr. NaCl	Fr. NaCl	Fr. NaCl
Dose (mg/kg body weight)	—	10	20	50
NO. of mice	10	10	10	10
Body weight (g)	33.84 ± 3.70^b	33.21 ± 1.79	34.15 ± 0.87	33.36 ± 2.51
Liver weight (g)	2.05 ± 0.15	2.09 ± 0.11	2.35 ± 0.25	2.31 ± 0.28
Liver/Body (%)	6.11 ± 0.05	6.29 ± 0.40	6.88 ± 0.51	6.92 ± 0.21
Spleen weight (g)	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.23 ± 0.05
Spleen/Body (%)	0.41 ± 0.06	0.45 ± 0.07	0.55 ± 0.03	0.68 ± 0.07
Thymus weight (g)	0.049 ± 0.01	0.052 ± 0.01	0.056 ± 0.02	0.058 ± 0.01
Thymus/Body (%)	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.01

^aFr. NaCl; Fraction extracted with 0.9% NaCl solution.

^bMean \pm S.E.

전체적으로 체중과 장기의 무게가 증가하는 경향을 띄었다. 대조군의 간의 중량과 체중과의 비를 보면 6.11%인데 비해 중성염 추출물을 10, 20, 50 mg/kg의 비율로 투여하였을 때 각각의 중량비는 6.29, 6.88, 6.92%로 약간 증가하는 경향을 보였다. 그리고 비장과 흉선의 무게도 대조군에 비하여 처리농도에 따라 약간 증가하는 경향을 보였다. 심 등(2003b)의 실험에서도 삼색도장버섯의 중성염용액 추출물을 투여한 실험군 생쥐의 간, 비장, 흉선의 무게가 대조군에 비해 증가한 것을 확인할 수 있었다. 따라서 앞의 실험결과를 종합해보면 조다당류를 투여한 생쥐의 비장과 간의 무게 증가는 macrophage 등의 면역관련 세포들의 증식으로 인한 것이라고 판단되며 흉선 역시 내분비기관으로서 각 추출물에 의해 자극을 받은 것으로 사료된다(Gross *et al.*, 1980).

적 요

뽕나무버섯은 담자균문 송이과에 속하며 예로부터 항암 효과를 나타내는 식용버섯으로 알려져 있다. 뽕나무버섯 자실체로부터 중성염용액, 열수 및 메탄올 추출물을 분리하여 생쥐에 대한 항암 및 면역증강효과를 조사하였다. Sarcoma 180 복수암 세포를 주사하고 뽕나무버섯 조다당류를 투여한 실험군의 생쥐가 조다당류를 투여하지 않은 대조군의 생쥐에 비해 생명연장효과가 67.5%로 매우 높게 나타났다. 세포독성 실험결과, NIH3T3와 Sarcoma 180 세포주는 중성염용액, 열수 및 메탄올 추출물 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 배양하였을 때 70% 내외의 생존률을 보였으며, 각 농도 구간에서도 세포독성을 나타내지 않았다. 중성염용액 추출물을 투여한 생쥐의 B 임파구 alkaline phosphatase 활성은 대조군에 비하여 약 3.0배 내외의 증가율을 보였으며, 총 백혈구 세포수도 대조군에 비해 최고 3.5배 가량 증가하였으며, 혈액 중 백혈구의 수도 대조군에 비하여 약 2.5배 증가하였다. 그리고 면역에 관련된 장기인 간, 비장 및 흉선의 체중도 대조군에 비하여 증가한 것을 확인하였다. 따라서 뽕나무버섯의 조다당류 추출물을 투여한 생쥐는 Sarcoma 180에 대한 항암 효과는 면역활성의 증가에 의한 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 농림기술관리센터(ARPC)의 연구비지원(과제번호 204309033SB010)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

구현옥, 김인천, 박신자, 정상희, 박종명, 이재진, 유한상, 이영순. 1999. 신령버섯(*Agaricus blazei* Murill)에서 분리한 다당체의

- Staphylococcus aureus* 감염 및 마우스 Sarcoma 180 종양세포에 대한 방어효과. 한국실험동물학회지 **15**: 155-158.
- 박상신, 유국현, 민태진. 1998. 버섯추출물의 항산화 활성에 관한 연구. 한국균학회지 **26**: 69-77.
- 박완희, 이호득. 1999. 한국약용버섯도감, 교학사.
- 심성미, 임경환, 이우윤, 김정완, 심미자, 이민웅, 이태수. 2003a. 매미눈꽃동충하초(*Paecilomyces sinclairii*)에서 추출한 조다당류의 면역활성 및 항암효과에 관한 연구. 한국균학회지 **31**: 155-160.
- 심성미, 임경환, 김정완, 이우윤, 김하원, 이민웅, 이태수. 2003b. 삼색도장버섯(*Daedaleopsis tricolor*)에서 추출한 조다당류의 면역활성 및 항암효과. 한국균학회지 **31**: 161-167.
- 신혜원, 김하원, 최웅철, 도상학, 김병각. 1985. 한국산 영지의 무기 성분 및 면역증강 작용에 관한 연구. 생약학회지 **16**: 181-190.
- 오윤희, 이우윤, 이민웅, 심미자, 이태수. 2004. 저령(*Grifola umbellata*)의 균핵에서 추출한 조다당류의 면역활성 및 항암 효과. 한국균학회지 **32**: 23-30.
- 조수목, 이재훈, 한상배, 김환목, 유승헌, 유익동. 1995. *Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류(I)-중성염 용액 추출 다당류의 특성. 한국균학회지 **23**: 332-339.
- 조수목, 이재훈, 한상배, 김환목, 유승헌, 유익동. 1995. *Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류(II)-열수추출 다당류의 분리 및 특성. 한국균학회지 **23**: 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**: 246-255.
- 水野 卓, 川合正允. 1992.キノコの化学・生物学. 學會出版センタ.
- Arthur, C. and Guyton, M. D. 1986. *Textbook of Medical Physiology*. 7th Ed. W. B. Saunder company. Pp 51-59.
- Chihara, G., Hamuro, G., Meada, Y., Arai, Y. and Fukoka, F. 1970. Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (Pachman). *Nature* **225**: 973-948.
- Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F. 1969. Inhibition of mouse Sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Nature* **222**: 687-688.
- 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.
- Gross, R. L. and Newberne, P. M. 1980. Role of nutrition in immunologic function. *Physiol. Rev.* **60**: 188-302.
- 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.
- Kishida, E., Sone, Y., Shibata, S. and Misaki, A. 1981. Preparation and immunochemical characterization of antibody of branched β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan of *Volvariella volvacea* and its use in studies of antitumor actions. *Agric. Biol. Chem.* **53**: 1849-1859.
- Komatsu, N., Okubo, S., Kikumoto, S., Kimura, K. and Saito, G. 1969. Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann.* **60**: 137-44.

- 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.
- Roland, J. F., Chmielewicz, Z. F., Weiner, B. A., Gross, A. M., Boenong, O. P., Luck, J. V., Bardos, T. J., Rerlly, H. C., Sugiura, K., Stock, C. C., Lucas, E. H., Byerrum, R. U. and Stevens, J. A. 1960. Calvacine, a new antitumor agent. *Science* **132**: 1987.
- Sugihara, T., Yoshioka, Y. and Nishioka, K. 1972. Anticomplementary activity of antitumor polysaccharides. *Nature New Biology* **235**: 59-60.
- Suzuki, M., Arika, T., Amemiya, T. and Fujiwara, M. 1982. Cooperative role of T lymphocytes and macrophages in antitumor activity of mice pretreated with schizophyllan. *Jpn. J. Exp. Med.* **50**: 59-65.
- Tsugagoshi, S. and Ohashi, F. 1974. Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat ascites hepatoma AH-13 by oral use. *Gann.* **65**: 557.
- Whistler, R. L., Bushway, A. A., Singh, P. P., Nakahara, W. and Tokuzen, R. 1976. Nontoxic, antitumor polysaccharides. Pp 235-275. In: Tipson, R. S. and Horton, D. Eds. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. vol. 32. Academic Press, New York.