

靈芝抽出物 및 *Escherichia coli* 培養液이 白血球의 Chemotaxis 에 미치는 影響

李美淑 · 鄭奎善

淑明女子大學校 藥學大學 製藥學科

The Effects of *Ganoderma lucidum* Extracts and Filtrate of *Escherichia coli* Culture on Leukocyte Chemotaxis

Mi Sook Lee, Kyu-Sun Chung

Department of Manufacturing Pharmacy, College of Pharmacy, Sookmyung
Women's University, Seoul 140, Korea

ABSTRACT: The purpose of this experiment is to examine if *G. lucidum* extracts could have an effect on leukocyte migration and to select the best chemotactic factor for leukocyte migration.

When chemotactic factors such as TC-199 medium, filtrate of *E. coli* culture, N-fMLP, and *G. lucidum* extracts were used, N-fMLP, *G. lucidum* extracts and filtrate of *E. coli* were positive effect, but TC-199 medium was less than others.

The various concentrations of the chemotactic factors such as *G. lucidum* extracts(1.00%, 0.10% and 0.01%) were stimulated for the leukocytes migration in the modified Boyden chambers, however, the lowest concentration such as 0.01% was more effective than others for the chemoattractant of the leukocyte migration

When the leukocyte was treated with *G. lucidum* extracts(1.00%, 0.10%, and 0.01%) at room temperature for 120 minutes, the chemotactic activities had a good effect at 0.01%.

Therefore, leukocyte was affected by *G. lucidum* extracts.

KEYWORDS: *G. lucidum*, Leukocytes, Chemotatic activities.

白血球의 遊走能을 최초로 研究한 학자는 Leber (1888)이었다. 그후 Metchnikoff 에 의해서 말초혈액세포가 異物質을 탐식하는 현상을 발견하게 되었다. 이 방향의 연구에 많은 관심을 갖게 되었다. 그중白血球의 化學走性能에 대하여 과학적인 평가 방법은 Boyden(1962)에 의해서 기초를 확립하게 되었고 생체내 백혈구의 화학주성능은 보체 및 각종의 화학물질을 매개로 다형핵백혈구 또는 대식세포 등의 유주가 촉진된다는 사실이 보고되었다(Wilkinson, 1974).

호중구는 보체인자 및 각종 세균의 대사산물 또는 Casein 및 기타의 단백질 성분을 향하여 유주하는 현상이 보고되었고 이와 같이 생체의 면역반응에 기여하는 세포들은 주로 과립구, 임파구, 및 대식세포

와 일련의 면역작용세포들이 생체의 각종 면역반응에 중대한 위치를 차지하고 있음을 알게 되었다 (Wilkinson, 1974 ; Gallin 등, 1978).

따라서 각종 미생물들의 감염에 대한 저항성의 감소는 세포들의 면역능이 저하되어 여러형태의 면역결핍증후군을 초래한다는 사실을 알게 되었다(Bjorksten 등, 1977).

특히 백혈구와 같은 세포들의 화학주성능이 감소하게 되면 중증을 초래하여 사망하게 된다고 하였다 (Cates 등, 1978 ; Gallin, 1980). 그러므로 백혈구를 포함한 모든 면역작용 세포들의 면역능을 활성화시킨다는 것은 생체방어기전에 중대한 일이라고 말할 수 있다.

한편 靈芝는 一名 「不老草」 또는 「만년버섯」이라

부르는 多孔菌科에 속하는 버섯 *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karsten 으로 「神農本草經」에 「赤芝, 黑芝, 黃芝, 白芝, 紫芝, 青芝」의 6 種으로 분류되어 있으며 고혈압, 동맥경화증, 간장질환, 신경쇠약, 만성기관기염, 협심증, 신우신염, 종양 등에 유효하다고 기재되었다(菊池千代治, 1980; 劉波, 1978; 有地滋, 1985).

藥効는 그 시대의 경험적 결과를 근거로 하였을 뿐 1970년대에 이르러 과학적인 實驗結果가 발표되기 시작하면서 많은 학자들에 의해서 생화학적 성분(심 등, 1978) 생리 및 약리학적 기전(有地滋 등, 1979; 上原清史 등, 1979; 久保道德 등, 1983; 木材善行 등, 1984)면역학적 효과(木材善行 등, 1984; 김 등, 1980; Miyuki 등, 1981; 강 등, 1981) 그리고 독성에 관하여 널리 연구되기 시작했다(杉浦衛 등, 1977).

따라서 본 著者는 靈芝추출액을 화학주성인자로 사용하였을 때와 백혈구를 靈芝추출액으로 처리했을 때 과연 백혈구의 유주능에 영향을 주는지의 여부를 확인하고자 本 實驗을 실시하였던바 몇가지 의견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

材 料

본 실험에 사용한 靈芝 *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karsten(Polyporaceae)는 한국에서 재배된 赤芝를 시중에서 구입하여 사용 하였다.

動 物

단국대학교 미생물학교실에서 사육하고 있는 20~25g 된 순종 ICR 마우스를 자웅 구별없이 실험에 사용하였으며 실험 기간 동안 고품사료와 물을 충분히 공급하였다.

試藥 및 器機

○ Dulbecco's phosphate buffered saline(PBS)

3 차증류수에 KCl 0.20g, $K_2H_2PO_4$ 0.20g, NaCl 8.00g, $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 2.16g, Phenol red solution 20.0 ml 를 용해시켜 총용량이 1 l 가 되게 한 다음 pH 를 7.2로 맞춰 고압증기 멸균한 후 4°C에서 보존하여 사용하였다.

○ Hanks's balanced salt solution(HBSS)

3 차증류수에 $CaCl_2$ (anhyd.) 0.14g, KCl 0.40g, KH_2PO_4 0.06g, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.10g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.10g, NaCl 8.00g, $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 0.09g

Table I. Differential counts of peripheral blood in healthy donors

No. of donors	Segmented					
	Neutrophil	Neutrophil	Lymphocyte	Mono-cyte	Eosinophil	Basophil
1	1	68	30	1	0	0
2	2	71	27	0	0	0
3	2	64	34	0	0	0
4	0	63	37	0	0	0
5	0	64	36	0	0	0
6	0	62	35	3	0	0
7	2	61	36	1	0	0
8	0	68	32	0	0	0
9	0	59	39	0	2	0
10	0	65	34	1	0	0
11	1	62	37	0	0	0
12	1	65	34	0	0	0
13	0	61	38	1	0	0
14	0	55	45	0	0	0
15	1	64	33	2	0	0

Mean± SD 0.7±0.8 63.5±3.8 35.1±4.0 0.6±0.9 0.1±0.5 0±0

Maxwell. M. Wintrobe. 1974. Clinical Hematology, 7th edition, p.1794, Henry Kimpton Publisher, London.

을 용해시켜 총용량이 1 l 가 되게 한후 $NaHCO_3$ 를 가하여 pH 를 7.4로 맞춘 후 고압증기 멸균하여 4°C에서 보존하여 사용하였다.

○ Mayer's hematoxylin staining solution

Hematoxylin crystal 1.0g, Sodium iodate 0.2 g, Potassium alum 50.0g, Citric acid 1.0g, Chloral hydrate 50.0g을 3 차 증류수에 용해시켜 총용량이 1 l 가 되게한 후 여과하여 사용하였다.

○ Centrifuge: Kuboda KN-70(Japan)

○ Levy hemocytometer chamber: Division of Becton, Dickinson and Company(U.S.A)

○ Boyden chamber: Neuro Probe Int. for Biological Research(U.S.A)

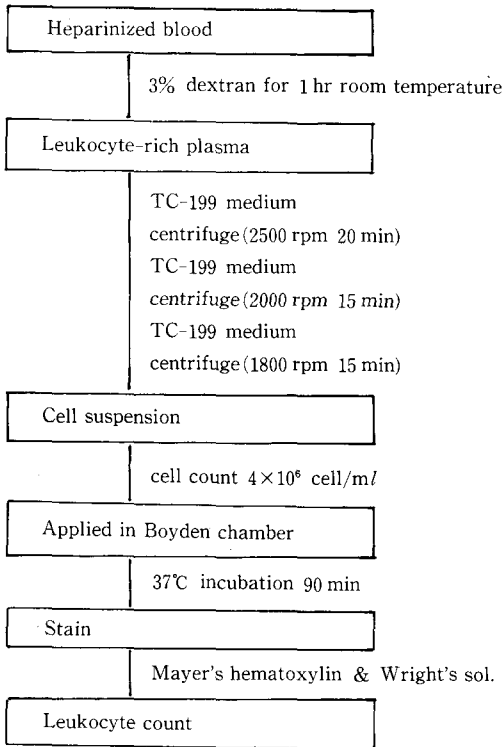
○ Camera: Wild MPS 51(Swiss)

○ Microscope: Leitz Dialux 20 EB(Swiss)

方 法

1) 靈芝의 抽出

靈芝 20g을 細切한 후 증류수를 가해 수욕상에서 2 시간씩 3 회 抽出한 여액을 감압 농축하여 軟調 액



Scheme I. Leukocyte chemotaxis.

기스를 얻었다. 이때 얻은 액기스는 -20°C에 보관하여 사용하였다.

2) 白血球의 分離

정상 성인 및 사육 마우스의 혈액(Heparine 10 units/ml) 20 ml를 각각 무균적으로 채혈하여 혈액의 일부를 2 개의 micro-slide 위에 도말하여 건조시킨 다음 Wright solution으로 염색하여 백혈구의 수를 측정한다. Table I와 같이 정상 범위내에 있음을 확인하였다.

한편 50 ml 용 대형 시험관에 미리 가한 20 ml의 dextran 위에 채혈된 혈액을 관벽을 통하여 서서히 중층시켰다(Blood: Dextran=1:1).

그후 실온에서 1 시간 방치하여 상등액 즉 백혈구 함유 혈장층을 회수한 다음 TC-199 medium 30 ml를 가하고 2,500 rpm에서 20분간 원심 분리하였다.

상등액을 버리고 TC-199 medium(pH 7.4) 40 ml를 가하여 2,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상정을 完全히 버리고 침사 白血球에 3 차 중류수 5 ml를 가한 후 30초안에 1.8% NaCl 5 ml를 넣어 赤血球를 파괴시키고 TC-199 medium 50 ml를 가하여 白血球를 부유시킨 다음 1,800 rpm에서 15분

간 원심하여 상등액을 버리고 침사 백혈구에 TC-199 medium을 가하여 백혈구 부유액을 만들었다.

이 부유액을 Hemocytometer로 4×10^6 cell/ml이 되도록 조정하여 실험에 사용하였다(Scheme I).

3) 化學走性因子

① 細菌培養 濾過液

본 실험에 사용한 화학주성인자(Chemotactic factor)는 TC-199 medium에 MacConkey agar에서 배양한 대장균 *Escherichia coli*(E. coli ATCC 517) 2 loops를 식균하여 incubator에서 48시간 배양한 후 5,000 rpm에서 30분간 원심하여 상등액을 분리하고 pH 7.4로 하여 -20°C에 보관하였다가 실험할 때마다 TC-199 medium을 가해 1:4로 희석하여 사용하였다.

② N-formyl-n-Methionyl-n-Phenylalanine(N-fMLP)

Chemotactic Peptide인 N-fMLP 10^{-5} M을 TC-199 medium 10 ml를 가하여 10^{-6} M로 만들어 화학주성인자로 사용하였다.

③ 靈芝 抽出液

靈芝 抽出 농후액을 HBSS로 희석하여 10.00% 영지용액을 조제한 다음 -20°C에 보관하여 실험할 때마다 1.00%, 0.10%, 0.01%로 희석하여 사용하였다.

4) 白血球의 處理

-20°C에서 보관한 10.00%의 영지용액을 HBSS로 희석하여 1.00%, 0.10%, 0.01%로 한 다음 정상인으로부터 분리한 백혈구에 각각 넣고 실온에서 120분 동안 처리하고 1,500 rpm에서 15분간 원심하여 상등액을 제거하고 회수 백혈구에 TC-199 medium을 넣어 백혈구 부유액이 4×10^6 cell/ml 되도록 하여 실험에 사용하였다.

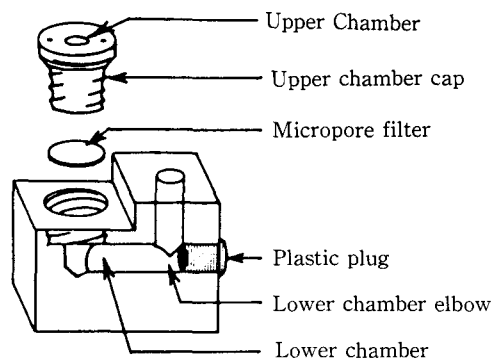


Fig.1. Modified Boyden chemotaxis chamber.

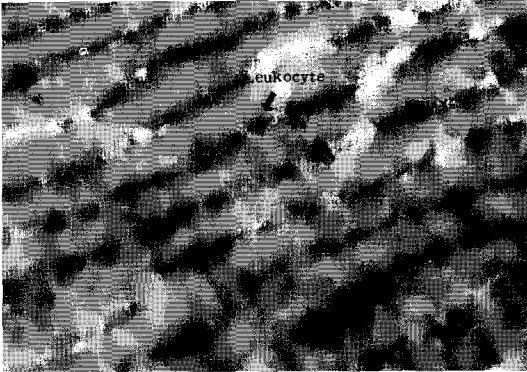


Fig.2a. Leukocytes at the upper surface of the nuclepore membrane filter after chemotaxis assay.

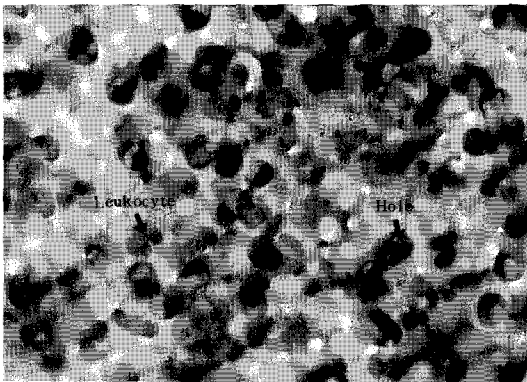


Fig.2b. Migration of leukocytes at the lower surface of the nuclepore membrane filter after chemotaxis assay.

5) 化學走性能 分析

① Boyden chamber

본 실험에 사용한 chamber 는 Boyden(1962)의 것을 변형개조한 Fig.1의 modified Boyden chamber(B-312)를 구입하여 백혈구 유주능을 측정하였다.

② 白血球의 遊走性能 測定

白血球의 화학주성능을 실험하기 위하여 Snyderman & Pike 가 개량한 modified Boyden chamber 와 Nuclepore membrane filter(Pore size $3\mu\text{m}$, diameter 13 mm 인 polycarbonate filter)를 사용하였다. 각 화학주성인자에 대해서도 2 개조의 Bodyen chamber 를 써서 백혈구의 유주능 실험을 실시하였다.

Modified Boyden chamber 의 하단(Low compartment)에 여러종류의 화학주성인자 즉 *E. coli*

배양여액(1:4), N-fMLP(10^{-6}M) 및 영지 추출액(1.00% 0.10%, 0.01%)의 각 회석액 0.7 ml 씩을 Nuclepore membrane filter 에 기포가 생기지 않도록 완전히 접촉시키고 곧이어 chamber 의 상단(Upper compartment)에 0.5 ml 의 백혈구 부유액을 가한다.

Chamber 들을 90분간 incubation 시킨 후 filter 를 forcep 으로 꺼내어 PBS 에 2~3초간 담근 후 99% ethanol 에서 15초 고정하고 염색하였다.

한편 영지 추출 회석액에 각각 백혈구를 넣어 120 분 처리한 후 TC-199 medium 을 가해서 4×10^6 cell/ml 이 함유한 백혈구 부유액을 만들어 chamber 의 상단에 가하고 하단에는 다양한 화학주성인자를 가하여 백혈구의 유주성능을 측정하였다(이 등, 1980).

③ 染色 및 觀察

Nuclepore membrane filter 의 염색은 Rose 들(1986)의 방법으로 filter 를 chamber 에서 꺼낸 후 2~3초간 PBS 에 담그고 99% ethanol 에서 15초씩 2 회 고정한 후 Mayer's hematoxylin solution 에서 6 분간 염색하고 3 차증류수로 2~3초 세척한 후 Wright solution 에서 8 분간 염색하였다. 염색한 filter 를 1,000배로 확대하여 유주한 백혈구 수를 20 시야에서 세어 평균치를 정적으로 하였다.

結 果

化學走性因子에 對한 白血球의 反應

化學走性因子를 선택하기 위하여 건강성인의 혈액 으로부터 분리한 백혈구에 TC-199 medium, 대장균 배양여액 및 합성 peptide 인 N-fMLP 를 화학주성

Table II. Migration of human leukocytes toward various chemotactic factors

	Factors		
	TC-199*	N-fMLP	Filtrate
No. of	17.13±0.85	20.03±0.47	19.07±0.23**
migrated	18.04±0.02	23.67±0.56	20.15±0.75
leukocyte	16.34±1.03	23.45±0.78	20.37±1.42
	17.08±0.48	25.23±0.03***	24.68±0.98***
	16.25±0.35	24.78±0.54	22.32±0.85

Mean±SD * TC-199 medium(control) ** $p < 0.01$
*** $p < 0.001$

Table III. Migration of the mouse leukocyte fed with *G. lucidum* extracts toward various chemotactic factors

	Factors		
	TC-199	N-fMLP	Filtrate
No. of migrated leukocyte	16.12±0.12	20.56±0.45	19.97±0.55
	15.09±0.34	25.34±0.57*	20.38±0.43*
	16.81±0.56	23.12±0.08	18.05±0.52

Mean±SD * $p < 0.001$

인자로 사용하여 백혈구의 화학주성능을 測定한 결과 Table II와 같았다.

즉, 대조군으로 사용한 TC-199 medium 보다 대장균 배양액과 N-fMLP 에 백혈구의 유주능이 높았으며 ($p < 0.001$, $p < 0.001$) 합성 peptide 한 N-fMLP 가 대장균 배양액보다 유주능은 우수하였지만 단가가 비싼 N-fMLP 에 비해 화학주성능이 뒤떨어지지 않음을 알았다.

靈芝 抽出液을 50 mg/kg 씩 10일간 투여한 마우스의 혈액으로부터 분리한 백혈구에 화학주성자인 TC-199 medium, 대장균 배양액 및 합성 Polypeptide 인 N-fMLP 를 사용하였을때 백혈구의 화학주성능을 측정하니 Table III와 같다.

대조로 사용한 TC-199 medium 에서 유주한 백혈

Table IV. Migration of control mouse leukocytes toward chemotactic factors

	Factors		
	TC-199	N-fMLP	Filtrate
No. of migrated leukocytes	14.12±0.35	16.14±0.79	15.61±0.58
	13.39±0.48	17.38±0.36*	16.38±0.43*
	14.08±0.52	15.95±0.28	15.47±0.28

Mean±SD * $p < 0.001$

구수는 15.09±0.34인데 비해 N-fMLP 에서는 25.34±0.57이고 ($p < 0.001$) 대장균 배양액에서는 20.38±0.43이었다 ($p < 0.001$). 그러므로 N-fMLP 와 대장균 배양액을 화학주성인자로 사용했을때 유주한 백혈구수가 더 많았음을 알 수 있었다.

대조군 마우스의 혈액으로부터 분리한 백혈구에 화학주성인자를 선택하기 위하여 TC-199 medium, N-fMLP 및 대장균 배양액을 사용하였을때 유주한 백혈구수는 Table IV와 같았다.

대조군 마우스에서도 TC-199 medium 보다는 N-fMLP, 대장균 배양액을 화학주성인자로 사용하였을때 많은 백혈구가 유주하였음을 보았다. 따라서, 대장균 배양액도 우수한 화학주성인자임을 알 수 있었다.

Table V. Migration of leukocytes toward chemotactic factors, *G. lucidum* extracts

Group	<i>G. lucidum</i> extracts			Control
	1.00%	0.10%	0.01%	
Human	17.01±0.82	20.60±0.94***	23.00±1.63***	16.01±1.41
G. mouse ^{oo}	15.60±1.95	18.70±1.21**	22.50±1.50***	15.10±0.75
Control	14.00±2.34	17.80±2.59*	19.17±0.47***	13.67±0.47

Mean±SD * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ G. mouse(the mouse fed with *G. lucidum* extracts)**Table VI.** Migration of human leukocytes treated with various dilution of *G. lucidum* extracts

Factors	<i>G. lucidum</i> extracts*			Control
	1.00%	0.10%	0.01%	
N-fMLP	19.00±0.75	22.00±1.50	25.21±1.75	17.60±2.87
Filtrate	17.50±1.52	20.01±1.41	22.07±0.40	16.20±0.32

Mean±SD * Leukocytes treated with various dilution of *G. lucidum* extracts.

靈芝抽出液의 化學走性能

영지 추출액을 화학주성인자로 사용한 경우 백혈구의 유주능에 미치는 효과를 알아보기로 영지 추출액을 HBSS로 1.00%, 0.10%, 0.01%가 되도록 하여 백혈구의 유주능을 실험한 결과 Table V와 같았다.

사람의 백혈구에 영지추출 회석액 1.00%, 0.10%, 0.01%를 화학주성인자로 사용하였을 때 대조군과 비교하여 보면 0.10%에서 20.60 ± 0.94 ($p < 0.001$)이고 0.01%에서 23.00 ± 1.63 ($p < 0.001$)이었다.

靈芝를 50 mg/kg 씩 10일간 투여한 마우스의 백혈구에 영지추출 회석액 1.00%, 0.10%, 0.01%를 화학주성인자로 사용하였을 때 대조군과 비교하여 보면 0.10%에서 유주한 백혈구수는 18.70 ± 1.21 ($p < 0.01$)이고 0.01%로 회석한 영지 추출액에서는 22.50 ± 1.50 ($p < 0.001$)이었다.

대조군 마우스의 백혈구에 다양한 농도의 영지 추출액을 화학주성인자로 사용하였을 때 대조군과 비교하여 보면 0.10%의 회석액에서 17.80 ± 2.59 ($p < 0.05$)이며 0.01%에서는 19.17 ± 0.47 ($p < 0.001$)로 있었다.

따라서 영지 추출액이 백혈구 遊走能에 영향을 주었으며 영지추출 농도중 0.01%에서 백혈구의 화학주성능이 높았음을 알 수 있었다.

靈芝抽出液으로 處理한 白血球의 反應

靈芝抽出液으로 처리한 백혈구의 유주능을 알아보기로 화학주성인자로 대장균 배양액과 N-fMLP를 사용하여 Table VI와 같은 결과를 얻었다.

靈芝抽出液으로 처리한 백혈구의 유주능은 대조군에 비해 많았으며, 특히 영지 추출액중 0.01%로 처리한 백혈구가 1.00%, 0.10%로 처리한 백혈구에서 보다 유주능이 우수하였다.

따라서, 백혈구를 靈芝抽出液(1.00%, 0.10%, 0.01%)으로 처리하는 동안 백혈구가 활성화 되었다고 볼 수 있었다.

考 察

백혈구는 혈관계를 순환하면서 체내에 침입한 異物質을 탐식하여 처리하는 食細胞의 일종이다.

이러한 食細胞는 혈관계를 순환하는 食細胞(Polymorphonuclear neutrophils, eosinophils, basophils, monocytes)와 組織內에 固着된 食細胞

(간의 Kuffer cells, 중추신경의 microglial cells, 비장 및 Lymphnode의 Macrophages)가 있으며,

食細胞는 生体内에 존재하면서 직접, 간접으로 각종 형태의 免疫反應에 참여하여 生体를 보호하는 기전이 확인되었다(Bjorksten 등, 1977).

특히 백혈구의 chemotaxis에 관한 연구는 실험수기의 발달로 시험관내에서 정확히 평가할 수 있는 방법이 Boyden(1962)에 의해서 처음으로 개발되어 이 방향의 연구가 활발히 추구되어 왔다. 뒤이어 Wilkinson(1974)은 Boyden chamber를 변형 개조하여 백혈구의 유주능을 평가한 바 있고 또 많은 종류의 화학주성인자에 대한 백혈구의 유주능이 보고된 바 있다. 그후 Cates 등(1978) Snyderman과 Pike(1978) Ward와 Maderazo 등(1980)의해서 백혈구 및 대식세포의 유주능 측정법이 보편되었다.

이와같은 계속된 연구 결과로 세균, 진균 및 Virus와 같은 병원 미생물의 감염에 의해서 백혈구 및 대식세포의 유주능이 억제됨으로써 생체 방어 기전이 와해되어 숙주가 피해를 받는 경우가 많았다(Snyderman 등, 1978; Quie 등, 1973).

따라서 백혈구 및 대식세포의 유주능의 기능장애를 일으키는 질환으로 알려진 증후군은 Lazy leukocyte syndrome(Miller 등, 1971), Chediak Higashi Syndrome(Clark 등, 1971), New born infant disease(Miller, 1969), Rheumatoid arthritis(Mowat 등, 1971), acute bacterial infection(McCall 등, 1971) 등이다.

이와같은 환자들의 화학주성능이 현저하게 감소되는 것은 세포성 인자(intrinsic abnormality) 및 체액성 인자(extrinsic defects of abnormality of humoral factors)에 기인한다고 하였다(Bjorksten 등, 1977).

따라서 이러한 기전을 파악하여 보강하는 것은 이런 유형의 질환 진단과 예후판정에 크게 도움이 된다고 생각한다. Boyden(1962)은 chemotactic factor에 의해서 백혈구 유주능이 현저한 차이가 있다고 하였다.

한편, Keller & Sorkin(1967)은 *Staphylococcus albus*와 *E. coli* 배양 여과액을 화학주성인자로 사용한 경우 neutrophil의 유주성능의 효과가 있었다고 하였다. Ward 등(1968)도 *Staphylococcus albus*, α -hemolytic *Streptococcus*, *E. coli*와 *Proteus mirabilis* 등의 배양 여과액이 neutrophil의 화학주성능에 미치는 영향을 관찰하였다. 그후 Wilkinson

(1974)은 많은 종류의 aminoacid 및 단백질류가 백혈구 유주능에 뚜렷한 영향을 미친다고 하였고 Schiffman 등(1978) 및 Aswanikumar 등(1976)은 합성 Peptide 인 N-formylmethionylpeptide chemotacticfactor, 보체성분(C₅a) 및 세균배양액과 액을 화학주성인자로 사용하여 백혈구 및 대식세포의 유주능을 조사한 바 peptide 계가 가장 우수한 유주능을 나타낸다고 하였으며 이외에도 보체 C₃a, C₅a 성분, 그리고 Zymosan 도 백혈구와 대식세포의 유주능을 촉진한다고 보고되었다(Venge 등, 1975; Wright 등, 1975).

오 등(1985)은 인삼 녹용유출물 및 대장균 배양액으로 사람의 白血球 遊走能을 조사한 바 이들 抽出液이 白血球 遊走能에 영향을 준다고 하였고 본 연구에서도 *E. coli* 배양액과 N-fMLP 가 백혈구 유주능에 뚜렷한 효과를 주고 있음을 보았다.

한편 靈芝가 生体에 미치는 여러가지 효능으로는 영지의 혈압조절 작용(有地滋 등, 1979) 靈芝의 減糖作用(久保道德, 1983) 영지의 allergy 억제작용(木村善行, 1984) 靈芝의 안전성 실험(杉浦衛 등, 1977) 靈芝의 면역증강作用 등의 다양한 연구보고가 있으며 靈芝가 癌細胞나 病菌을 공격하는 역할을 담당하는 대식세포의 수를 현저히 증가시킨다는 것이 관찰되었다(신 등, 1985). 이러한 연구 결과로 보면 靈芝가 生体の 방어능력, 즉 면역능력을 높여 줌으로써 각종 病菌에 대한 방어작용이 증강됨을 알 수 있다. 그러나 이와같이 생체에 다양하게 반응하는 靈芝가 백혈구 유주능에 어떤 효과를 주는지에 대해 보고된 바 없으나 본 實驗에서 백혈구 유주능을 측정할 결과 뚜렷한 효과가 있음을 보았고 또한 영지추출액으로 처리한 백혈구도 유주능이 뛰어난 것을 보았다.

따라서 靈芝가 生体에서 백혈구 유주능을 자극 또는 활성화 시킴을 알 수 있었다.

摘 要

화학주성인자를 선택하기 위하여 chemotactic factor 로 靈芝抽出液, 대장균 배양액, N-fMLP 및 TC-199 medium 을 사용하였으며 modified Boyden chamber 와 Nuclepore membrane filter 를 이용하여 백혈구의 유주능을 측정할 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 화학주성인자로 TC-199 medium 과 N-fMLP 그리고 대장균 배양액을 사용하였을 때, N-fMLP 에서 백혈구의 유주능이 우수하였으나 대장균 배양액도 그에 못지않게 우수하였다.

2. 靈芝抽出液을 PBS 로 1.00%, 0.10%, 0.01% 로 희석 조제하여 화학주성인자로 사용하였을 때 비교적 저농도인 0.01%에서 우수하였다.

3. 靈芝抽出液의 각 희석액(1.00%, 0.10%, 0.01%)로 백혈구를 처리한 후 유주능을 實驗한 결과 0.01%에서 매우 우수하였다.

따라서 靈芝 抽出液은 0.01%에서 우수한 유주능을 나타낸다는 사실을 알았다.

謝 辭

이 실험에 아낌없는 도움을 주신 단국대학교 미생물학교실의 李淵台 교수님께 진심으로 깊은 감사를 드립니다.

參考文獻

- Aswanikumar, S., Schiffman, E., Corcoran, B.A., Wahl, S.M.(1976) : Role of a peptidase in phagocyte chemotaxis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **73** : 2439-2442.
- Bjorksten, B., Quie, P.G.(1977) : Abnormalities of circulating phagocyte function; recent advances in clinical immunology. edited by Thompson, R.A., Churchill Livingstone & New York pp.181-202.
- Boyden, S.V.(1962) : The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.* **115** : 453.
- Cates, K.L., Ray, C.E., Quie, P.G.(1978) : Modified Boyden chamber method of measuring PMNs Chemotaxis; leukocyte chemotaxis. edited by John I. Gallin & Quie, Raven Press, New York pp.67-71.
- Clark, R.A., and Kimball, H.R.(1971) : Defective granulocyte chemotaxis in Chediak-Higashi syndrome. *J. Clin. Invest* **50** : 2645.
- Gallin, J.I., Quie, P.G.(1978) : Leukocyte chemotaxis; method, physiology and clinical implications. Raven Press New York, 429.
- Gallin, J.I.(1980) : Disorders of phagocyte

- chemotaxis. *Annals of Int. Med.* **92** : 520-538.
- Keller, H.U., Sorkin, E.(1967) : Studies on Chemotaxis V, on the chemotactic effect of bacteria. *Int. Arch. Allergy* **31** : 505,
- Leber, T.(1888) : Uber die Entstehung der Entzündung und die Wirkung der entzuneugenden Schaldlichkeiten. *Fortschritte der die Medizin* **4** : 460.
- McCall, C.E., Caves, J., Cooper, R., de Catelet, L.(1971) : Functional Characteristics of human toxic neutrophils. *J. of Infect. Disease* **124** : 68.
- Miller, M.E., Oski, F.A., Harris, M.P.(1971) : Lazy leukocyte syndrome a new disorder of neutrophil function. *Lancet* **1** : 665.
- Miller, M.E.(1969) : Phagocytosis in the newborn infant, humoral and cellular factors. *J. of Pediatrics* **74** : 255.
- Miyazaki, T., and Nishijima, M.(1981) : Studies on Fungal Polysaccharides(XXVII), Structural Examination of a Water-soluble, Antitumor Polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* **29** : 3611-3616.
- Mowat, A.G., Baum, J.(1971) : Chemotaxis of Polymorphonuclear leukocytes from patients with rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.* **50** : 2541.
- Quie, P.G., Davis, T.A.(1973) : Phagocytic and granulocytic disorders. pp.273-288.
- Rose, N.R., Friedeman, H., Fahey, J.L.(1986) : Manual of clinical laboratory immunology 3rd. pp.290-294.
- Schiffmann, E., Corcoran, B.A., Aswanikumar, S.(1978) : Molecul events in the response of neutrophils to Synthetic N-fMET chemotactic peptides. Raven press, New York pp.97-112.
- Snyderman, R., Pike, M.C.(1978) : Methodology for monocyte and macrophage chemotaxis; Cited form leukocyte chemotaxis; methods, physiology and clinical implications. edited by Gallin, J.I. and Quie, P.G., Raven press pp. 73-78.
- Venge, P., Olsson, I.(1975) : Cationic proteins of human granulocytes. *J. Immunol.* **115** : 1505-1508.
- Ward, P.A., Eufiring G, Maderazo(1980) : Leukocyte chemotaxis; Manual of clinical Immunology pp.261-266.
- Ward, P.A., Lepow, I.H., Newman, L.J.(1968) : Bacterial factors chemotactic for polymorphonuclear leukocytes, *American J. of pathol.* **52** : 725.
- Wilkinson, P.C.(1974) : Chemotaxis and inflammation. Churchill Livingston, Edinburgh and London **4** : 168.
- Wright, D.G., Gallin, J.I.(1975) : Modulation of the inflammatory response by products released from Luman polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis: Generation and inactivation of the chemotactic factor C_{5a} . inflammation. **1** : 23.
- 木村善行, 典田拓導, 有地滋(1984) : 基礎와 臨床 **18** : 833.
- 菊池千代治(1981) : マンネンタ の栽培と薬効. pp. 190-201, 菊研出版部.
- 久保道徳, 有地滋 等(1983) : 靈地の研究(第 5 報) 靈芝の糖代謝に及なす影響. 「基礎と臨床」 **17** : 17.
- 有地滋, 谿忠人, 久保道徳, 松田秀秋, 吉村成平, 桐ヶ谷紀昌(1979) : 靈芝の研究(第 1 報) 靈芝子實體の研究, マンネンタク熱水抽出 エキマの 血壓降下作用「基礎と臨床」 **13** (12) : 4239.
- 有地滋, 上原清史, 上野隆, 河井洋, 谷勳, 長谷初忠, 仕垣勝治, 谿忠人, 久保道徳, 桐ヶ谷紀昌(1979) : 靈芝の研究(第 2 報) マンネンタ 熱水抽出 コキスの臨床應用「基礎と臨床」 **13**(12) : 4245.
- 杉浦衛, 伊藤均(1977) : 靈芝의 毒性에 관한 연구 東京藥大研究年報 **27** : 722.
- 有地滋(1985) : 東洋醫學健康讀本 I pp.22-36 東洋醫學會.
- 김병각, 정희수, 정경수, 양문식(1980) : 한국산 담자균류의 항암성분에 관한 연구. 한국균학회지, **8**(2) : 107-113.
- 강창울, 심미자, 최응철, 이영남, 김병각(1981) : 한국산 담자균류의 항암성분에 관한 연구. 한국생화학회지, **14**(2) : 101-112.
- 신혜원, 김하원, 최응철, 도상학, 김병각(1985) : 한국산 영지의 무기성분 및 면역증강작용에 관한 연구. 생약학회지, **16**(4) : 181-190.
- 심미자, 이수임, 김병각(1978) : 한국산 고등균류의 성분연구(XIV), 불노초의 스테롤. 서울대학교 약학논문집, **3** : 65.
- 오재세, 이연태, 오석훈(1985) : 고려인삼, 녹용유출물 및 대장균배양액이 백혈구의 Chemotaxis 에 미치는 영향. 대한미생물학회지, **20**(2) : 247-255.
- 이종훈, 이연태(1980) : 세균 및 virus 處理後 백혈구의 Chemotaxis 에 관한 연구. 대한 바이러스학회지, **10**(1) : 77.
- 劉波(1978) : 中國藥用眞菌, pp.93-98, 山西人民出版社.