

## Acetobacter pasteurianus IFO 13751-5 변이주가 생산하는 다당류의 항암효과

김동석 · 류병호

경성대학교 공과대학 식품공학과

### Antitumor Effect of Polysaccharide Produced from a Mutant of *Acetobacter pasteurianus* IFO 13751-5

Dong-Seuk Kim and Beung-Ho Ryu

Department of Food Science and Technology, Kyungsoong University

#### Abstract

The polysaccharide was predominantly composed of glucose (79.60%), galactose (9.68%), mannose (8.67%), fructose (1.96%) and xylose (0.09%). Major amino acid in protein was consisted of cystein, aspartic acid, valine and glutamic acid. The tumor growth inhibition ratio of the polysaccharide against Sarcoma 180 was at highest level of 64.96% when administered at the concentration of 50 mg/kg and life prolongation ratio showed 28.91% at the concentration of 50 mg/kg. The direct cytotoxic effect of polysaccharide was not observed in the tumor bearing mice with Sarcoma 180 *in vitro*.

Key words: tumor growth inhibition ratio, life prolongation, direct cytotoxic effect

#### 서 론

다당류의 항종양 작용이 주목된 배경은 옛부터 암환자에 단독이 합병되었을 때에 암의 퇴축이 일어난다는 임상경험으로부터 암의 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 종양 억제효과를 가진 성분을 분리하려는 연구는 물론이고 그 종양 억제작용의 기전을 규명하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 다당류의 항암효과에 대한 연구는 버섯류<sup>(1-5)</sup>, 생약제<sup>(6-9)</sup>, 해양 동물<sup>(10-14)</sup> 및 해조류<sup>(15,16)</sup> 등에서 많이 보고되어 마우스의 Ehrlich carcinoma 및 Sarcoma 180 등의 이식 종양에 대하여 종래의 세포독성을 나타내는 항암제와는 달리, 숙주 매개성 항종양 기전을 갖는다는 것이 주목되어 현재에 이르고 있다.

특히, Chilhara 등<sup>(1)</sup>은 *Lentinus edodes*로부터 추출 정제한 다당류인 lentinan, 류 등<sup>(15)</sup>이 해조류에서 추출한 다당류와 Ikekawa 등<sup>(12)</sup>의 squalene들은 Sarcoma 180에 대하여 강한 항암효과를 밝힌 바 있으나, 이들은 주로 동식물의 다당류이며 다당류 생산이 우수한 미생물들에 대한 항암효과의 보고<sup>(17-19)</sup>는 거의 없는 실정이다. 이들 미생물 중 세균이 다당류를 많이 분비하며, 특히 초산균은 초산 발효 중 당을 이용하여 다당류를 많이 생성하는데 이들은 주로 heteropolysaccharide로 구성되어져 있으며 생리활성이 높고 독성이 없는 것이 특징이다.

따라서 전보<sup>(20)</sup>에서 얻은 *Acetobacter pasteurianus* IFO 13751-5가 생산하는 다당류의 화학적인 조성을 규명하고 마우스의 육종암인 Sarcoma-180을 이용하여 *in vivo*와 *in vitro*에서의 항암효과를 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 시료

본 실험에 사용한 시료는 전보<sup>(20)</sup>에서 얻은 정제된 건조분말 다당류를 사용하였다.

##### 실험동물 및 종양세포

본 실험에 사용한 동물은 경성대학교 동물 사육장에서 사육한 웅성 ICR 마우스로 체중이 18~22g에 속하는 것을 사용하였으며, 사료는 삼양유지 사료사의 항생제 무첨가 마우스용 pellet를 사용하였다. 사육시 물과 시료는 충분한 양을 공급하였고, 동물실은 12시간 간격의 light-dark cycle을 유지하였으며, 실험동물의 circadian rhythm을 고려하여 시료의 투여와 실험은 오전 9시부터 오전 11시 사이에 행하였다.

종양세포는 본 실험실에서 ICR 마우스의 복강내에 1주일 간격으로 계대 배양하여 보존하고 있는 Sarcoma 180 세포를 사용하였다. 즉, 실험동물의 복강내에서 1주일간 배양된 Sarcoma 180 세포를 복수와 함께 취하고 0.83% NH<sub>4</sub>Cl을 가하여 잘 섞어 주면서 2분간 방치하고 원심분리(400×g, 3 min)하여 종양세포 침전물을 분리한 후, 다시 병냉의 멸균 생리식염수에 부유시켜 재차 원

심분리하여 상등액을 제거한 후 동일한 방법으로 2회 세척하고 세포수가  $1.0 \times 10^7$  cells/ml가 되도록 종양세포 부유액을 만들어 0.1 ml ( $10^6$  cells/mouse)씩을 복강주사하여 이식 보존하면서 실험에 사용하였다.

#### 다당류의 화학성분 분석

다당류의 함량은 Herbert 등의 방법<sup>(21)</sup>에 따라 anthrone test로 측정하였고, 단당류의 분석은 Mitruka의 방법<sup>(22)</sup>에 따라 분석하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 대조로 하여 Lowry의 방법<sup>(23)</sup>에 따라 실시하였으며, 아미노산 분석은 Spackman 등의 방법<sup>(24)</sup>에 따라 아미노산 자동분석기(Hitachi KL P-89)로 분석하였다. 시료의 IR spectrum은 상법에 따라 KBr disc법으로 동정하였다.

#### 고형암 성장저지 실험

계대 보관 중인 종양세포 부유액 0.1 ml ( $1.0 \times 10^6$  cells/mouse)씩을 실험동물의 왼쪽 서혜부(left groin)에 피하 이식한 후 24시간 후부터 10일간 연속으로 시료 용액을 복강으로 투여하고 종양세포 이식 26일째 되는 날 치사시켜 생성된 고형암을 적출하여 그 무게를 측정하고 후 종양 성장저지 백분율(tumor growth inhibition ratio, %)을 계산하였다<sup>(25)</sup>.

#### 수명 연장 실험

종양세포 부유액 0.1 ml ( $1.0 \times 10^6$  cells/mouse)씩을 실험동물의 복강내에 이식한 뒤 24시간 후부터 10일간 연속으로 시료를 복강으로 투여하고 35일까지의 생존여부를 관찰하여 평균 수명 일수를 계산하여 수명 연장 백분율(prolongation ratio, %)을 구하였다<sup>(26)</sup>.

#### 고형암 발생 빈도 실험

종양세포 부유액을  $5 \times 10^5$  cells/ml로 조절한 다음 각 실험동물에 0.1 ml ( $5.0 \times 10^4$  cells/mouse)씩을 왼쪽 서혜부에 피하 이식하였다. 이식 24시간 후부터 시료를 10일간 연속으로 복강 투여하고 종양 이식 26일째 되는 날 치사시킨 후 고형암의 발생여부를 관찰하였다.

#### Viability test

시료의 직접적인 세포독성 작용(direct cytotoxic effect)의 유무를 알아보기 위해서 dye exclusion method를 이용하여 *in vitro*에서 행하였다<sup>(26-28)</sup>. 즉, 멸균한 시험관에 종양세포 부유액 0.2 ml ( $2.0 \times 10^5$  cells)와 Heat inactivated Foetal Calf Serum(HFCS) 0.5 ml씩과 시료 용액 1.0, 2.0, 3.0 및 4.0 mg/ml씩을 가한 다음 Eagle's Minimal Essential Medium(EMEM)으로 전체를 5 ml가 되도록 하고 HFCS의 최종 농도가 10%가 되게 하여 5% CO<sub>2</sub>의 조건으로 CO<sub>2</sub>-incubator에서 37°C, 24시간 배양하였다. 배양된 종양세포를 가볍게 흔들어 준 후 원심 분리(600×g, 5 min)하여 침전한 세포만을 Hank's bala-

**Table 1. Polysaccharide content and monosaccharide composition of polysaccharides produced from *Acetobacter pasteurianus* IFO 13751-5**

Items	Content(%)
Polysaccharide	85.82
Fructose	1.96
Xylose	0.09
Mannose	8.67
Galactose	9.68
Glucose	79.60

nced solution(HBSS)으로 1회 세척한 다음 얻어진 세포 침전물에 다시 HBSS 5 ml를 가하여 종양세포 부유액을 조제하였다. 이 종양세포 부유액 0.9 ml를 취하여 0.4% trypan blue 용액 0.1 ml와 잘 섞어 상온에서 2~3분간 방치시킨 후 hemacytometer를 사용하여 전체의 세포수와 염색되어진 세포(non-viable cell) 및 염색되지 않은 세포(viable cell)의 수를 측정하였다.

#### 통계처리

모든 실험 data는 mean standard error로 나타내었으며, 유의성 검정은 student's t-test로 하였다.

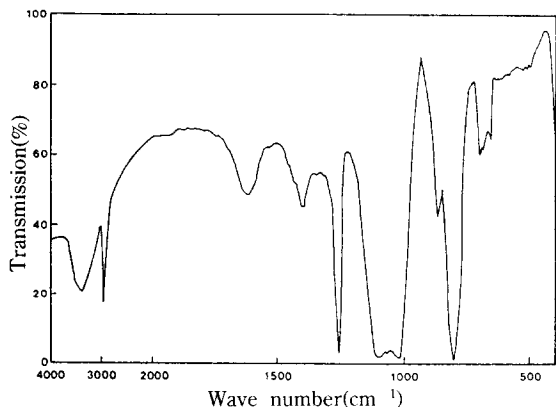
## 결과 및 고찰

#### 다당류의 화학성분 분석

*Acetobacter pasteurianus* IFO 13751-5로부터 얻은 정제된 건조분말 다당류의 다당류 함량 및 단당류의 조성은 Table 1과 같다. 다당류 함량은 85.82%로 나타났으며, 구성 단당류는 glucose가 79.60%로 가장 많았고, galactose 및 mannose가 9.68% 및 8.67%로 나타났으며, fructose 및 xylose는 1.96% 및 0.09%로 아주 적은 함량을 나타내고 있었다. 분리 정제된 다당류 중의 단백질 함량과 아미노산의 조성은 Table 2과 같이 단백질 함량은 2.07%로 아주 낮게 나타났으며, 이는 정제 과정에서 알코올 침가에 의하여 당알코올 침전 형성과정에서 많은 양이 제거된 것으로 생각되나, 미량의 단백질이 다당류와 구조적인 결합 형태로서 잔존하였다. 아미노산의 조성은 cystein, aspartic acid, valine 및 glutamic acid가 각각 16.15, 13.85, 13.08 및 10.00%로 주요 아미노산이었고, 다당류와 직접 결합에 관여하고 있는 threonin과 serine 등도 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 항암효과의 본태가 다당류이긴 하지만 다당류 단독일 때 보다 다당류와 단백질이 결합한 당단백질의 경우에 있어서 그 항암효과가 더 강하다는 보고<sup>(29)</sup>와 비교해 볼 때 좋은 결과라고 생각되어진다. 분리정제된 다당류의 IR spectrum은 Fig. 1과 같다. 일반적으로 다당류에서 확인되는 3,400 cm<sup>-1</sup> 부근의 O-H 신축진동, 2,900 cm<sup>-1</sup> 부근의 C-H 결합의 신축진동, 1,650 cm<sup>-1</sup> 부근의 C=O 결합의 신축진동, 1,400 cm<sup>-1</sup> 부근의 CH<sub>2</sub> 결합의 변각진동, 1,200 cm<sup>-1</sup>

**Table 2. Protein content and amino acids composition (%) of polysaccharides produced by Acetobacter pasteurianus IFO 13751-5**

Items	Content(%)
Protein	2.07
Aspartic acid	13.85
Threonine	6.92
Serine	6.15
Glutamic acid	10.00
Alanine	9.23
Cysteine	16.15
Valine	13.08
Methionine	—
Isoleucine	6.92
Leucine	8.47
Tyrosine	—
Glycine	3.85
Lysine	5.38
Histidine	—
Arginine	—
Proline	—



**Fig. 1. Infrared spectrum of the polysaccharide produced by Acetobacter pasteurianus IFO 13751-5**

부근의 N-acetyl기의 신축진동을 관찰할 수 있으며, 또한 1,000~1,100 cm<sup>-1</sup>의 glycoside 결합의 ester형 산소 및 각 OH기에 귀속하는 C-O의 신축진동에 의한 것이라고 생각된다. 그리고, 860 cm<sup>-1</sup> 부근의 흡수는 β-glycoside 결합 등을 시사하는 것으로 생각되어 진다.<sup>(36)</sup>

**고형암 성장저지 효과**

초산균에서 분리한 다당류가 Sarcoma 180 고형암에 미치는 영향의 결과는 Table 3과 같다. 대조군의 평균 종양 무게는 8.99g이었고, 약물 투여군의 경우는 50 mg/kg 투여시 종양 무게는 3.15g으로 64.96%의 가장 우수한 저지효과를 나타내었고, 이 보다 저농도인 25 mg/kg, 고농도인 75 mg/kg과 100 mg/kg을 투여했을 때는 가장 우수한 저지효과를 나타낸 50 mg/kg 투여시보다 오히려

**Table 3. Antitumor activities of polysaccharide produced by Acetobacter pasteurianus IFO 13751-5 in Sarcoma 180 tumor bearing ICR mice**

Dose (mg/kg)	Number of mice	Tumor weight (g, mean± S.E.)	Inhibition ratio (%)
0	7	8.99± 1.54	—
25	7	7.74± 1.26 <sup>a</sup>	13.90
50	7	3.15± 0.92 <sup>b</sup>	64.96
75	7	5.73± 0.85 <sup>c</sup>	36.26
100	7	6.29± 1.17 <sup>c</sup>	30.03

<sup>a</sup>non significance, <sup>b</sup>p<0.01, <sup>c</sup>p<0.05

**Table 4. Effect of polysaccharide produced by Acetobacter pasteurianus IFO 13751-5 on life span of Sarcoma 180 bearing ICR mice**

Dose (mg/kg)	Number of mice	Survival days	Prolongation ratio (%)
0	7	16.29	—
50	7	21.00± 0.57 <sup>a</sup>	28.91
50	7	19.86± 0.23 <sup>a</sup>	21.92

<sup>a</sup>p<0.05

항암 효과가 저하되었다. 이러한 결과는 시료를 일정농도 이상 투여하여도 높은 항암효과는 기대할 수 없고 오히려 고농도에서는 항암효과 보다 다소의 독성을 나타내는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 류 등<sup>(31)</sup>의 *Vibrio anguillarum*에서 추출한 당단백질의 항암효과(20.9~43.9%)보다는 다소 높은 값을 나타내었고, Sasaki 등<sup>(32)</sup>의 *Aspergillus* 세포벽의 항암효과(55.6~98.5%)와 Kamiya 등<sup>(33)</sup>의 *Didemnum varians*의 항암효과(58.7~100%)보다도 다소 낮은 값들을 나타내었다.

**수명 연장 효과**

약물투여 농도는 고형암 성장저지 실험의 결과에서 높은 항암효과를 나타낸 50 mg/kg과 75 mg/kg으로 정하여 실험하였다. 실험결과 대조군의 평균 수명에 비해 약물 투여군에서 다소의 수명 연장 효과는 있었지만, 28.91%와 21.92%로 수명 연장 백분율이 그다지 높지는 않았다(Table 4). 이러한 결과는 고형암 성장 저지 실험결과와 비교해 볼 때 *in vivo*에서의 높은 고형암 성장저지 효과는 숙주 매개형 반응에 의한 것으로 생각되며, 복수형암에 대해서 별 영향을 미치지 않은 것은 종양세포에 대한 직접적인 작용은 거의 없을 것으로 생각되어진다. 이러한 결과들은 류 등<sup>(15)</sup>의 해조류에서 추출한 다당류의 보고와 Kanayama 등<sup>(8)</sup>이 보고한 *Poria cocos*의 수명 연장 백분율(29%)과 거의 비슷한 수치를 나타내었고, 문 등<sup>(34)</sup>이 보고한 생약제들의 수명 연장 백분율(0.6~18.5%)보다 다소 높은 수치를 나타내고 있다.

**Table 5. Effect of polysaccharide produced by *Acetobacter pasteurianus* IFO 13751-5 on viability test of Sarcoma 180 by dye exclusion method**

Dose (mg/5 ml)	Viability (%)
0	76.12
5	74.67 <sup>a</sup>
10	74.42 <sup>a</sup>
15	80.25 <sup>a</sup>
20	75.34 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>p<0.05, <sup>b</sup>non significance

#### 고형암 발생 빈도

고형암 발생 여부를 관찰한 결과는 각 농도에서 모두 고형암이 발생하였으므로 고형암의 발생빈도는 100%를 나타내었다.

#### Viability test

추출한 다당류의 *in vivo*에서의 항암효과를 근거로 하여 viability test를 실시한 결과는 Table 5와 같이 대조군과 약물 투여군에서의 viability의 뚜렷한 차이는 없었으며, 고형암 성장저지 효과와 비교해 볼 때 *in vivo*에서는 50 mg/kg의 투여 농도에서 64.96%의 항암효과를 나타내었으나, *in vitro*에서는 항암효과를 보이지 않음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 다당류의 일반적인 항암작용으로 Maeda와 Chihara의 보고<sup>(35)</sup>와 같이 투여한 다당류가 sarcoma 180에 대한 직접적 독성작용보다는 체내의 면역반응을 증강시켜 줌으로서 간접적으로 종양세포의 성장을 억제하는 것으로 생각되어진다.

## 요 약

다당류의 화학적인 조성은 다당류의 함량이 85.82%이며, 이를 구성하는 단당류는 glucose의 함량이 79.60%로 가장 많고, 단백질의 함량은 2.07%이며, 구성 아미노산의 조성은 cystein, aspartic acid, valine, glutamic acid가 주요 아미노산이었다. 초산균에서 생산된 다당류가 Sarcoma 180에 대한 고형암 성장 저지율은 50 mg/kg의 투여시 64.96%의 가장 우수한 저지효과를 나타내었다. 수명 연장 효과는 50 mg/kg의 투여시 28.91%이었으며, 복수형암에 대해서는 별 높은 효과를 보이지 않았다. *In vivo*에서의 항암효과를 근거로 하여 *in vitro*에서는 Sarcoma 180에 대한 직접적 세포독성 작용은 거의 없었다.

## 감사의 말

본 연구는 1989년도 한국과학재단의 연구비지원에 의하여 수행된 연구 결과의 일부로 이에 깊은 감사를 드립니다.

## 문 헌

- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. and Fukuoku, F.: Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk) Sing. (an Edible Mushroom). *Cancer Res.*, **30**, 2776(1970)
- 박완희: 야생 비늘버섯의 항암성분에 관한 연구. 약학회지, **26**, 185(1982)
- 정경수, 김병각: 노랑치마 아재비버섯의 항암성분에 관한 연구. 서울대학교 약학논문집, **10**, 1(1985)
- 이연옥, 최응철, 김병각: *Lyophyllum decastes*의 항암성분의 면역학적 연구(I). 약학회지, **31**, 70(1987)
- 문창규, 이수환, 목명수, 김대욱: 구름버섯의 항암성 다당류 분획(Copolang)이 마우스의 면역기능에 미치는 영향에 관한 연구. 약학회지, **31**, 126(1987)
- Kosuge, T., Yokota, M., Sugiyama, K., Yamamoto, T., Ni, M.Y. and Yan, S.C.: Studies on antitumor principles of Chinese herbs. I. Antitumor activities of Chinese herbs. *Yakugaku Zasshi.* **105**, 791(1985)
- Chang, I.M. and Woo, W.S.: Screening of Korean medicinal plants for antitumor activity. *Arch. Pharm. Res.*, **3**, 75(1980)
- Kanayama, H., Togami, M., Adachi, N., Fukai, Y. and Okumoto, T.: Studies on the antitumor active polysaccharides from the mycelia of *Poria cocos*. Wolf. III. Antitumor activity against mouse tumors. *Yakugaku Zasshi*, **106**, 307(1986)
- Moon, C.K., Sim, K.S., Lee, S.H., Park, K.S., Yun, Y.P., Ha, B.J. and Lee, C.C.: Antitumor activity of some phytobased polysaccharides and their effect on the immune function. *Arch. Pharm. Res.*, **6**, 123(1983)
- Okutani, K. and Morikawa, N.: Purification and characterization of the polysaccharide obtained from squid internal shell. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **44**, 749 (1978)
- Okutani, K. and Morikawa, N.: Gel-filtration and sugar constituent of the polysaccharide extracted from the internal shell of squid. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **44**, 369(1978)
- Ikekawa, T., Umeji, M., Manabe, T., Yanoma, S., Irinoda, K., Mizunuma, H. and Ikekawa, N.: Studies on antitumor of squalene and its related compounds. *Yakugaku Zasshi*, **106**, 578(1986)
- Salati, F., Ikeda, Y. and Kusuda, R.: Effect of *Edwardsiella tarda* lipopolysaccharide immunization on phagocytosis in the eel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 201 (1987)
- 山崎止利: アメフラシ由來の抗腫瘍蛋白質-Aplysianin. *化學と生物*, **23**, 621(1983)
- Ryu, B.H., Kim, D.S., Cho, K.J. and Sin, D.B.: Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**, 595(1989)
- Yananoto, I. and Nagumo, S.: Tumor-inhibiting effect of tangle and sargassum against sarcoma-180 solid tumor. Annual meeting of Jap. Soc. of Cancer. *Abstracts*. p.1225(1973)
- Shioda, A., Kaneko, Y. and Doi, S.: Studies on the production of polysaccharides by microorganisms. *J.*

- Ferment. Technol.*, 47, 623(1969)
18. Harada, T. and Yoshimura, T.: Production of cells and polysaccharide from ethyleneglycol by a non-spore-forming soil bacterium. *Hakkokogaku*, 42, 615(1964)
  19. Inoue, K., Korenaga, H., Tanaka, N.G., Sakamoto, N. and Kadoya, S.: The sulfated polysaccharide-peptidoglycan complex potently inhibits embryonic angiogenesis and tumor growth in the presence of cortisone acetate. *Carbohydr. Res.*, 181, 135(1988)
  20. 김동석, 류병호 : *Acetobacter pasteurianus* IFO 13751의 돌연변이주에 의한 다당류 생산성. 한국식품과학회지, 23, 291(1991)
  21. Herbert, D., Phipps, P.J. and Strange, R.E.: Chemicals analysis of microbial cells. In *Methods in Microbiology* (Ed. Norris, J.R. and Ribbans, D.W.) Vol. 5B, Academic Press, p.265(1971)
  22. Mitruka, B.M.: *Gas chromatographic application in microbiology and medicine*. Joh Willey & Sons, p.158(1971)
  23. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
  24. Spackman, D.H., Stein, W.H. and Moore, S.: Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, 30, 1190(1958)
  25. Goldin, A., Kline, I., Sofina, Z.P. and Syrkin, A.B.: *Experimental Evaluation of Antitumor Drugs in the USA and USSR and Clinical Correlations*. NIH, p.33(1980)
  26. Priest, J.H.: *Medical Cytogenetics and Cell Culture*. Lea & Febiger, p.263(1977)
  27. Nuzzolo, L. and Vellucci, A.: *Tissue Culture Techniques*. Green, W.H., Inc. p.74(1978)
  28. Jakoby, W.B. and Pastan, I.H.: *Methods in Enzymology, Cell Culture*. Academic Press. N.Y. Vol. 56, p.119(1979)
  29. 심미자: 한국산 고등 균종의 성분 및 배양에 관한 연구 (XXV). 한국균학회지, 8, 115(1980)
  30. Nakayama, S., Shirakawa, T. and Ohnishi, T.: Production and some properties of slimy polysaccharide produced by acetic acid bacteria. *Hakkokogaku*, 57, 31 (1979)
  31. Ryu, B.H., Chi, B.H., Kim, D.S., Jang, M.K., Kim, H.S. and Chung, S. J.: Antitumor activity of protein polysaccharides produced from *Vibrio anguillarum*. *Kor. J. Food Hygiene*, 3, 111(1988)
  32. Sasaki, S., Kodama, K. Uchida, K. and Yoshino, H.: Antitumor activity of *Aspergillus* cell walls. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 1219(1985)
  33. Kamiya, H., Endo, Y., Muramoto, K., Uchida, H., Sasaki, T., Uchida, N.Y. and Raj, U.: Antitumor activity of the macromolecular fraction from a Fijian tunicate *Didemnum variosum*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, 493 (1987)
  34. Moon, C.K., Park, K.S., Lee, S.H. and Yoon, Y.P.: Antitumor activities of several phytopolysaccharides. *Arch. Pharm. Res.*, 8, 42(1985)
  35. Maeda, Y.Y. and Chihara, G.: The effects of neonatal thymectomy on the antitumor activity of lentinan, carboxy-methylpachymaran and zymosan, and their effects on various immune responses. *Int. J. Cancer*, 11, 153(1973)

(1991년 1월 18일 접수)