

## 나일 틸라피아에 대한 질병예방제 및 면역보조제로서의 PS-K 효과 분석

박경현 · 하재이 · 허민도 · 허성희\* · 정현도

부경대학교 수산과학대학 어병학과  
\*부경대학교 해양과학대학 해양학부

단백질 결합 다당류인 PS-K가 *Edwardsiella tarda*의 감염에 대한 나일 틸라피아(*Oreochromis niloticus*)의 저항력 증강 효과에 대한 능력분석을 실시하였다. PS-K를 0.1 mg/g 어체중의 농도로 처리한 나일 틸라피아에 대하여 여러 농도의 *E. tarda*로 공격 실험을 하였다. 저농도( $1.2 \times 10^7$  그리고  $1.2 \times 10^8$  cfu/틸라피아)의 공격에 대하여 PS-K 처리구는 100% 생존율을 나타내었고 대조구는 각각 50%와 100%의 폐사율을 보여 주었다. 그러나 고농도의 *E. tarda*( $1.2 \times 10^9$  그리고  $1.2 \times 10^{10}$  cfu/틸라피아) 공격에 대해서는 약간의 수명 연장효과만 있었을뿐 대조구와 같이 100%의 폐사율을 보여 주었다. *E. tarda*( $1.2 \times 10^7$  cfu/틸라피아) 공격 1주일 후 PS-K를 복강 투여한 나일 틸라피아는 100%의 생존율을 나타내었으나 대조구는 50% 생존율을 나타내어 PS-K가 가지고 있는 치료제로서의 잠재력을 보여 주었다. 그리고 PS-K 투여 1주일 후 주사된 *E. tarda* FKC에 대하여 보여준 나일 틸라피아의 높은 항체 반응은 PS-K가 어류의 특이 액성 면역반응에 관여하여 어류가 세균 감염시 높은 저항성을 갖게 하여 주는 것으로 나타났다.

Key words : Protein-bound polysaccharide, PS-K, *E. tarda*, Prophylactic agent, Humoral immunity, Resistance

생체의 면역 능력을 촉진하는 물질들이 각종의 동식물로 부터 분리되어 있고 이들의 효과나 생리적 영향에 대해서도 많은 연구가 되어 있다. 이 중에서 BCG(Bacillus Calmette-Guerin)는 현재 비특이적인 면역 증강 작용이 있는 것으로 확인되어서 직접 임상에 응용하여 직접적 접촉에 의한 종양 증식 억제 효과 및 생체 방어력 증강에 의한 항암 효과등을 그 기작으로 보고하고 있다(Mathe et al., 1969). 또 미생물의 세포벽 구성 성분으로서  $\beta$ -1, 3과  $\beta$ -1, 6 linkage로 연결된 불용성 다당류인 glucan에 대한 연구도 많이 되어 있다. 이 물질은 Dufus 등(1982)의 보고에 의하면 *Saccharomyces cerevisiae*라는 효모의 세포벽 구성 성분으로서 고등

동물의 방어 기작을 자극하며 동시에 항암 효과 및 anti-bacterial activity 그리고 antifungal activity 등의 기작을 가진다. 이와 유사한 물질들은 균류(Ikekawa et al., 1968), 지의류(Shibata et al., 1968), 효모(Bradner et al., 1958), 식물(Tanaka et al., 1965) 등에서 수 없이 많이 분리되었는데 그 중 많은 부분을 비특이적 생체 방어력 증강 효과를 가지고 있는 다당류 계열의 고분자 물질이 차지하고 있다.

다당류 계열의 고분자 물질들 중의 하나인 PS-K는 Basidiomycetes 계열의 *Coriolus versicolor*로부터 열탕으로 추출된 protein-bound polysaccharide로서 특이한 것은 여러 종의 mouse에 대해서 각기 특이한

정도의 항암 효과를 나타내며 투여 방법에 따라서 효과가 다르게 나타나는 흥미있는 물질이다(Tsukagoshi & Ohashi, 1974). Yoshikumi 등(1975)에 의하면 이러한 항종양 효과는 숙주의 방어 기작, 특히 면역 반응 증강에 의해서 일어나는 것으로 보여 지는데 그 이유는 PS-K 자체가 종양 세포 등에 직접적인 cytotoxic effect를 나타내지 않았고 종양 세포의 주입 전에 투여하여도 그 효과가 있었기 때문이다. 또한 ICR mice에서 종양 세포들의 증식에 의하여 heterologous erythrocytes 또는 hapten-erythrocyte conjugate와 같은 용선 의존 항원에 대한 항체 생성 능력이 억제되었을 때 PS-K를 투여하면 억제된 항체 생성 능력이 회복 되었을 뿐만 아니라 sarcoma-180와 같은 종양 세포의 증식도 억제되는 효과를 보고하였다(Tsukagoshi et al., 1974). 또 Nomoto 등(1975)도 Ehrlich 종양 세포의 증식을 억제한다고 보고하였고, Nakano 등(1973)은 종양 세포의 증식에 의해 억제된 지연형 과민 반응 또한 PS-K 투여에 의하여 정상 수준으로 회복되는 것으로 보고하였다. 이러한 *in vivo* 실험과 함께 Ohno 등(1976)은 사람의 림프구와 PS-K를 24 well plate에서 혼합하였을 때  $^3\text{H}$ -thymidine이 5일후 최고로 많이 이용되는 것으로 나타나 PS-K의 mitogenic 효과를 *in vitro* 실험으로서도 확인하였다. 이와 같이 PS-K는 포유류의 면역 반응 체계에 대해서는 상당히 탁월한 증강 효과를 나타내는 것이 확인되어 있으나 생리적 특성 및 물이라는 주위 환경 그리고 진화 과정이 포유류와는 상당한 차이가 있는 어류에 대한 효과는 전혀 보고되어 있지 않다. 그러므로 본 연구에서는 muramyl dipeptide, glucan 등과 함께 좋은 면역 증강제로 알려져 있는 PS-K가 포유류를 대상으로 하여 항암 효과만을 분석한 연구 결과에서 벗어나 수질이라는 특수환경에서 생활하고 포유류에 비하여 그 환경적 조건 및 생리적 특성이 매우 다른 어류에 대하여 어떠한 면역 증강 효과가 있는지를 밝히기 위하여 담수 및 해산어 모두에서 매우 보편적으로 병원성을 보이고 있는 *E. tarda* 감염에

대한 방어력의 증강유무와 정도 그리고 기작을 체계적으로 밝혀내어 포유류에서 방어 기작 증강 효과를 보이는 물질이 어류질병의 예방과 치료에 효율적으로 사용하기 위한 연구를 실시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험어

부경대학교 부속 양어장에서 평균 체중이 10~50 g인 병력이 없는 임상적으로 건강한 암수 나일 틸라피아(*Oreochromis niloticus*)를 분양받아 수온을 25°C로 유지한 300 L 들이 순환 여과식 수조에서 매일 약 1% 어체중의 사료를 투여하고 사육하면서 실험에 사용하였다.

### 실험균주

동해안의 넙치 양식장에서 분리한 세 종류의 *Edwardsiella tarda* C-1, H-4, S-1를 BHI 배지에서 배양한 후 평균 체중 50 g의 나일 틸라피아를 각각 6마리씩 한 실험구로 하여 각 균주를  $1.2 \times 10^7$ ,  $1.2 \times 10^8$ ,  $1.2 \times 10^9$  cfu/fish 의 농도별로 공격 실험하여 6일간 누적 폐사율을 관찰한 후 가장 독성이 강한 균주를 실험 균주로 선택하였다. 선택된 *Edwardsiella tarda* H-4를 BHI 배지에서 25°C, 18시간 배양한 후 50 g의 나일 틸라피아에서 3번 통과시켜 독성을 극대화 시킨 후 다시 BHI broth에서 배양하고 원심분리하여 그 습중량을 측정하였다. 본 균주는 API 20E kit를 사용하여 그 생화학적 특성을 구명한 후 1만 균주 이상의 특성이 수록되어 비교 검색 할 수 있는 ATCC의 API identification program을 사용하여 조사하였을 때 identification possibility로서는 98% 이상, T-test 에서는 0.96 이상으로 *E. tarda*임을 확인하였다. 확인된 본 균주는 broth 배양 후 여러개의 microtube에 옮긴 후 30% glycerol을 가하고 -70°C에서 보관하면서 필요할 때마다 한개씩 꺼내서 사용하였다.

### 실험 균주의 병원성

동해안의 넙치 양식장에서 분리한 세 종류의 *E. tarda* 균주들의 병원성을 비교하기 위하여  $1.2 \times 10^7$  cfu/fish 농도로 각각의 균주를 복강주사 하였을 때 C-1과 H-4 균주는 5일만에 100%의 폐사율을 보이고 S-1 균주는 17%의 폐사율만을 나타내었으므로 본 연구에서는 다른 균주들에 비해 병원성이 강한 H-4를 실험균주로 선택하였다(Table 1).

Table 1. Pathogenicity of *E. tarda* isolated from different farms of flounder against Nile tilapia

<i>E. tarda</i> isolates	Injected dose(cfu/fish)	Cumulative mortality during 5 days after challenge(%)*
C-1	$1.2 \times 10^8$	100
H-4	$1.2 \times 10^8$	100
S-1	$1.2 \times 10^8$	17

\*Six fish were challenged for each experimental group.

### PS-K의 조제

현재 일본 등에서 임상적으로 사용되고 있는 PS-K (중외제약 주식회사)를 구입하여 적정량의 멸균 증류수에 녹인 후 냉장고에 보관하면서 적당 농도씩 희석하여 사용하였다.

### 항원의 조제

BHI 배지에서 25°C, 18시간동안 배양된 *E. tarda* H-4를 10,000 g에서 원심분리하고 2번 생리식염수로 세척하였다. Pellet을 다시 생리식염수에 재현탁한 후 0.6% formalin(v/v)을 24시간 처리하여 항원화 시켰다. 이렇게 처리된 FKC(Formalin Killed Cell)는 생리식염수로 세척한 후 그 습중량을 측정하여 20 mg/ml 생리식염수의 농도로 사용하였다.

어류의 세균성 감염에 대한 PS-K의 투여효과 분석

평균 체중 30~50 g의 나일틸라피아를 실험어로 사용하고 수조에 유지 보관하면서 사용하였다. 먼저 실험어 6마리씩을 한 실험구로 하여 준비된 PS-K를 복강으로 0.1 ml씩 주입하며 대조구로서 식염수 0.1 ml를 주입하였다. 이때 PS-K는 0.1 mg/g당 어체중의 농도를 사용하였고 1주일 후에 BHI 배지에서 25°C, 18시간 배양한 *E. tarda* H-4를  $1.2 \times 10^7 \sim 1.2 \times 10^{10}$  cfu/fish 농도로 공격 실험을 행하여서 6일 동안의 누적 폐사율을 관찰 하였다. PS-K를 투여하거나 *E. tarda* H-4로 공격 실험을 하기 위해 복강 주사를 행할 경우에는 실험어를 200 ppm의 리도카인으로 마취시킨 후 사용하였다.

### PS-K의 치료 효과 분석

*E. tarda*를  $1.2 \times 10^7$  cfu/fish의 농도로서 나일틸라피아에 복강주사로 인위적으로 감염시킨 후 24시간 후에 PS-K를 각각 0.1, 및 0.2 mg/g 어체중의 농도로 복강 주사한 두 종류의 실험구와 식염수를 0.1 ml 복강 주사한 대조구에 대해 9일 동안의 폐사를 관찰하고 누적 폐사율을 비교하였다. 각 실험구별 실험어는 각각 8마리씩으로 하여 실시하였다.

### PS-K의 항체 생성 효과 분석

나일틸라피아를 9마리씩 한 실험구로 하여 0.1 mg/g 당 어체중 농도의 PS-K를 복강 주사로서 투여하고 1주일이 경과하면 첫번째 실험구는 10 mg/kg당 어체중 농도의 비율로 *E. tarda* FKC 0.1 ml과 Freund's complete adjuvant 0.1 ml를 혼합하여 복강에 주사하고 두번째 실험구는 *E. tarda* FKC 0.1 ml만을 복강 주사하였다. 투여 7일, 14일, 28일후 각각 3마리씩 채집하여 실험어의 미부 혈관으로 부터 혈액을 취하여 4°C에서 하루밤 정치시킨후 혈청 분리하였다. 분리된 혈청은 -70°C에서 보관하다가 꺼내어 5 mg/ml 생리식염수의 *E. tarda* FKC로 응집 시험을 행하여 혈청내 항체량을 측정하였다.

## 결 과

어류의 세균성 감염에 대한 PS-K의 방어력 증강 효과

어체의 방어력 증강 효과를 유도하기 위하여 0.1 mg/g당 어체중의 PS-K를 복강 주사로 투여한 뒤 7일간의 방어력 증강 효과 유도 기간을 둔 후 *E. tarda* H-4를  $1.2 \times 10^7$ ,  $1.2 \times 10^8$ ,  $1.2 \times 10^9$ ,  $1.2 \times 10^{10}$  cfu/fish 농도로 공격 실험하여 6일 동안의 누적 폐사율을 관찰하였다.  $1.2 \times 10^7$ 과  $1.2 \times 10^8$  cfu/fish의 농도로 공격 실험한 결과(Table 2), PS-K를 투여한 실험구에서는 폐사가 전혀 일어나지 않았지만 대조구에서는 각각 6일후에 50%, 5일만에 100%의 누적 폐사율을 보여 주어서 PS-K는 방어력 증강에 좋은 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 그러나  $1.2 \times 10^{10}$  cfu/fish 의 농도일 경우에는 대조구와 마찬가지로 24시간만에 모두 폐사하여 초기에 고농도의 세균 감염시에는 효과를 나타내지 못하였다.  $1.2 \times 10^9$  CFU/fish 의 농도에서는 PS-K 투여구가 비록 5일만에 모두 폐사하였지만 3일만에 모두 폐사한 대조구에 비해 어느 정도의 수명 연장 효과는 있지만 *E. tarda* 감염에 대한 완전한 저항성은 보여주지 못하였다.

## PS-K의 치료 효과

*E. tarda* H-4를  $1.2 \times 10^7$  cfu/fish 의 농도로 인위적으로 감염시킨 후 치료제로서의 PS-K를 0.1 그리고 0.2 mg/g당 어체중의 농도로 투여한 실험구에서는 전혀 폐사가 일어나지 않아 PS-K가 감염 직후의 어류에 대하여 치료 효과가 있음을 알 수 있었다(Table 3). 대조구는 공격 실험후 3 일째부터 폐사가 일어나기 시작하고 9일째에 누적 폐사율이 50%에 도달하였다. 실험구가 100% 폐사하는 농도인  $1.2 \times 10^8$  cfu/fish 의 *E. tarda* H-4로 감염시킨 경우에는 공격 실험후 3일째까지는 PS-K 투여구와 대조구 모두 3마리씩 폐사하였다. 이후 0.1 그리고 0.2 mg/g당 어체중의 PS-K 투여구는 6일째 각각 1마리씩의 폐사만이 일어났지만 대조구에서는 계속 폐사가 발생하여 9일째 모두 폐사하였다(Table 3). 그러므로 초기에 고농도의 *E. tarda* 감염시 PS-K를 투여하면 어류가 감염에 의하여 어느 정도 약해지기는 하지만 역시 치료 효과를 나타내는 것으로 분석되었다.

PS-K가 나일 틸라피아의 체액성 면역에 미치는 영향

*E. tarda* H-4 FKC로 면역시킨 어류의 항체 생

Table 2. Effect of PS-K administration on nile tilapia on the protection of different dosage of *E. tarda* H-4 challenge, expressed as cumulative mortality

Injected dose(cfu/fish)	Experimental group (mg/g body weight)	Days after challenge*					
		1	2	3	4	5	6
$1.2 \times 10^{10}$	PS-K(0.1)	100	—	—	—	—	—
	Saline	100	—	—	—	—	—
$1.2 \times 10^9$	PS-K(0.1)	0	17	33	67	100	—
	Saline	50	87	100	—	—	—
$1.2 \times 10^8$	PS-K(0.1)	0	0	0	0	0	0
	Saline	17	33	67	87	100	—
$1.2 \times 10^7$	PS-K(0.1)	0	0	0	0	0	0
	Saline	0	17	17	33	50	50

\*Six fish were challenged for each experimental group.

Table 3. Therapeutic effect of PS-K administration on Nile tilapia challenged with  $1.2 \times 10^7$  *E. tarda*, expressed as cumulative mortality

Experimental group*	Injected dose (cfu/fish)	Days after treatment with PS-K								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Saline	$1.2 \times 10^7$	0	0	13	13	25	38	38	38	50
	$1.2 \times 10^8$	25	38	38	50	50	75	75	75	100
PS-K(0.1)	$1.2 \times 10^7$	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$1.2 \times 10^8$	25	38	38	38	38	50	50	50	50
PS-K(0.2)	$1.2 \times 10^7$	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$1.2 \times 10^8$	25	38	38	38	38	50	50	50	50

\**E. tarda* H-4 ( $1.2 \times 10^7$  or  $10^8$ ) was 1 day prior to injection of 0.1 or 0.2 mg PS-K/g body weight.

성에 미치는 PS-K의 투여 효과를 기간별 응집 항체가를 분석하여 조사하였다. PS-K를 복강투여하고 1주 후에 FKc만을 복강주사한 실험구에서는 항체가가 256, 그리고 FKc에 adjuvant로서 FCA를 혼합하여 복강 주사한 실험구에서는 1024의 항체가를 보여주어 PS-K 비투여구로서 128의 항체가를 보인 대조구에 비하여 PS-K 투여 실험구는 초기 항체 생성 반응에 좋은 영향을 주는 것을 알 수 있었다. 3주 후에는 PS-K 투여 실험구는 각각 2048, 1024의 응집 항체가를 보인 반면 대조구는 256의 응집 항체가를 보여주어 PS-K가 어류의 총 항체 생성에도 좋은 영향을 미치고 있다는 것을 알 수 있었다(Table 4).

Table 4. Effect of PS-K as an adjuvant on humoral immunity of Nile tilapia

Experimental group*	Weeks after immunization of FKc		
	1	2	3
PS-K+FKc+FCA	1024**	2048	2048
PS-K+FKc	256	1024	1024
Saline+FKc	128	128	256

\*Fish received PS-K 0.1 mg/g body weight one week prior to intraperitoneal injection of 10 mg/kg body weight *E. tarda* H-4 FKc antigen. \*\*agglutination titer with 5 mg/ml of *E. tarda* H-4 FKc cells in 96 well plate.

## 고 찰

*Coriolus versicolor*로 부터 열탕 추출한 protein-bound polysaccharide(PS-K)는 기존의 여러 물질로부터 분리한 polysaccharide들과 유사한 면역 증강 효과 특히 항암 효과가 있다는 것이 포유류를 대상으로 하여서 실시한 여러 실험을 통하여 입증되고 있다. 그러나 이러한 작용에 대한 정확한 기작은 아직 완전히 이해되지 못하고 있으며 특히 어류에 적용한 보고는 전혀 없으므로 어류의 세균성 감염에 대한 PS-K의 효과를 분석한다는 것은 PS-K 뿐만 아니라 유사한 종류의 생리 활성 물질들의 효과를 추정하고 응용 범위를 확대하는 데도 중요한 정보를 제공할 수 있을 것이다.

나일 틸라피아에 있어서 *E. tarda*의 감염에 대하여 PS-K가 최대의 방어력 증강 효과를 나타내는 것을 0.1 mg/g당 어체중의 농도의 PS-K를 복강 주사로 투여한 뒤 7일이 지난 후 임을 알 수 있었고(data not shown) 이러한 결과는 glucan 등을 연어에 대해서 실험했을 때 3 ~ 8일 후 최대의 방어력 증강 효과가 있다는 보고(Robertsen *et al.*, 1990)와 유사하였으므로 본 연구에서는 이 농도를 최적농도로 하였다. 이때 고농도의 PS-K를 복강 주사한 경우 그다지 뛰어난 방어력 증강 효과를 보여주지 못하는 것은 다량의 PS-K 입자들로 인하여 물리적 스트레스를 받았거나 또는 생리적으로 어체의 식세포

들이 포화 상태가 되어버려 그 기간 동안 균이 침입하게 되면 정상적인 방어 기작이 이루어지지 못하는 것이 한 원인이 될 수도 있다. 그러므로 고농도의 PS-K 투여 후 최대의 방어력 증강 효과가 나타나기 위해서는 상당 기간이 경과하여 PS-K가 분해되면 나타날 수 있을 것이며 Glucan에서도 이와 유사한 결과가 보고되어 있다(Robertsen *et al.*, 1990).

최적량의 PS-K와 최적의 면역증강 기간인 1주일 경과 후 각기 다른 양의 *E. tarda*로 인위 공격실험을 하였을 때  $1.2 \times 10^8$  cfu/fish 농도까지 PS-K가 투여된 틸라피아가 방어효과를 나타내어 이 농도보다 낮은 농도에서 발생하는 자연 감염에 대하여서는 충분한 방어력을 나타낼 수 있을 것으로 생각 된다. 그러나 증강된 방어력의 유지기간이 영구적이지는 않을 것이므로 이에 대한 깊이있는 연구가 있어야 할 것이다. 그리고 본 연구에서는 결과를 나타내지는 않았지만 PS-K의 반복 투여 효과를 알아보기 위하여 0.1 mg/g당 어체중의 PS-K를 복강으로 투여하고 3일후, 7일후, 14일후 각각에 다시 PS-K 동량을 재투여하고 1주일을 기다린 후 고농도의 *E. tarda* ( $1.2 \times 10^8$  cfu/fish)로 공격 실험하였다. 그러나 boosting을 1번 한 것, 2번 한 것 그리고 3번 한 것 모두 약간의 수명 연장 효과 외에는 뚜렷한 효과를 보여주지 않았다. 아마 계속되는 복강 주사로 인하여 어류에 축적된 스트레스가 크게 작용했으리라 생각되어진다.

본 연구에서는 어류의 세균성 감염에 대한 예방 효과와는 다른 관점에서 PS-K의 치료 효과를 조사하였는데 그것은 현재 대부분의 어류 양식 산업 현장에서는 질병의 예방보다는 질병의 치료가 보다 중요하게 되어 있으므로 PS-K의 치료 효과 역시 간과할 수 없기 때문이다. 그 결과 LD<sub>50</sub>에 가까운 농도의 인위감염 후 치료제로서의 PS-K를 투여하면 폐사가 일어나지 않는 상당히 좋은 치료 효과를 볼 수 있었다(Table 3). 그러므로 충분히 감염을 유도할 수 있는 농도의 세균 공격에 대하여 좋은

치료 효과를 가지고 있는 PS-K는 어류 양식 산업에 있어서 치료제로서도 광범위하게 이용될 수 있는 잠재력을 가지고 있다 할 수 있을 것이다. 그러나 본 실험에서 사용한 것보다 고농도의 세균으로 공격한 후 상당히 많이 쇠약해진 어류에 치료제로서의 PS-K를 투여하면 방어력 증강효과가 충분히 나타나지 않아 치료효과 또한 나타나지 않을 수 있으며, 또 PS-K의 면역 증강효과가 충분히 나타나는데 시일이 걸린다면 이 효과가 나타나기 전에 어류가 폐사할 수도 있을 것이다.

PS-K의 면역반응 증강효과에 대한 기작연구는 충분히 되어 있지 않지만 정상 mice에 PS-K를 투여하고 양 적혈구로 면역시키면 대조군에 비해 보다 많은 hemolytic plaque-forming cells과 함께 혈청 내의 증가한 hemoagglutinin양 그리고 비장에서 T세포가 있는 부위의 증생 등을 보이고(Nomoto *et al.*, 1975), 면역 억제된 mice에서는 항체 생성 능력, 지연형 과민 반응 등을 정상 mice 수준으로 상승시켜 준다는 것은 보고되어 있다(Nakano *et al.*, 1973). 그러므로 어류에서도 PS-K는 면역 반응에 관여하는 여러 림프구에 영향을 미쳐 중요한 면역 세포인 B세포의 활성화에 직접적 또는 간접적으로 관여하게 될 것이다. 본 연구에서는 이러한 여러 영향으로 나타나는 최종 B세포의 생리적 변화 즉 항원에 대한 항체 생성 능력을 분석한 결과 PS-K 투여 1주 후에 *E. tarda* FK로 면역시킨 실험구는 1주째 만에 식염수와 FK만으로 면역시킨 대조구보다 2~4배의 응집 항체가 나타나 PS-K가 B세포의 활성화에 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 4). 특히 항원 투여 1주째 부터 높은 응집 항체가를 보여준 PS-K 투여는 숙주의 B세포를 활성화 된 반응 준비 단계에 있게 하여 항원에 보다 빠르게 반응하게 하는 효과도 있음을 추정하게 해 준다.

결론적으로 어류의 질병에 대하여 상당한 방어력 증강 효과와 치료효과를 가지고 있는 것으로 분석된 PS-K는 포유류에서 항종양성의 형태로 나타나는

생리 활성이 어류에서도 거의 유사하게 나타 난다고 할 수 있으므로 이러한 PS-K를 새로운 사료 첨가제나 백신 투여시 adjuvant 등으로서 여러 종류의 세균성, 바이러스성 그리고 원인 불명의 감염성 질병 예방과 치료에 폭넓게 활용할 수 있을 것이다.

## 사 사

이 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공모과제연구비(자유공모과제)에 의하여 연구되었습니다.

## 참 고 문 헌

- Bradner, W. J., Clarke, D. A. and Stosk, C. C. : Stimulation of Host defenses against experimental cancer. I. Zymosan and Sarcoma 180 in mice. *Cancer Res.*, 18 : 347-351, 1958.
- Duffus, J. H., Levi, C. and Manners, D. J. : Yeast cell-wall glucans. *Advances in microbial physiology*, 23 : 151-181, 1982.
- Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G., and Fukuoka, F. : Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus Linteus*. *Gann.*, 59 : 155-157, 1968.
- Mathe, G., Pouillart, P. and Lapeyrzue, R. : Active immunotherapy of L1210 leukemia applied after the graft of tumor cells. *Br. J. Cancer*, 23 : 814, 1969.
- Nakano, Y., Taguchi, T., Shiba, S. and Arakawa, Y. : Influence of protein polysaccharide(PS-K) isolated from *Basidiomyces* on delayed hypersensitivity in sarcoma-180 bearing mice. *Proc. Jpn. Cancer Assoc.*, 32 : 282, 1973.
- Nomoto, K., Yoshikumi, C., Matsunaga, K., Fujii, T. and Takeya, K. : Restoration of antibody-forming capacities by PS-K in tumor-bearing mice. *Gann.*, 66 : 365-374, 1975.
- Ohno, R., Yokomaku, S., Wakayama, K., Sugiura, S., and Yomada, K. : Blastoid transformation of human lymphocytes cultured with protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, *in vitro*. *Gann.*, 67 : 713-716, 1976.
- Robertsen, B., Rorstad, G., Engstad, R. and Raa, J. : Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cells walls. *J. Fish Diseases*, 13 : 391-400, 1990.
- Shibata, S., Nishikawa, Y., Tanaka, M., Fukuoka, F. and Nakanishi, M. : Antitumor activities of Lichen polysaccharides. *Z.f. Krebsforsch.*, 71 : 102-104, 1968.
- Tanaka, T., Fukuoka, F. and Nakahara, W. : Mechanism of antitumor action of some plant polysaccharides. *Gann.*, 56 : 529-536, 1965.
- Tsukagoshi, S. and Ohashi, F. : Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat ascites hepatoma AH-13 by oral use. *Gann.*, 65 : 557, 1974.
- Yoshikumi, C., Nomoto, K., Matsunaga, K., Fujii, T. and Takeya, K. : Mouse strain difference in expression of antitumor activity of PS-K. *Gann.*, 66 : 649-654, 1975.

## Effect of PS-K on nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, as an adjuvant and prophylactic agent

Kyun Hyun Park, Jai Yi Ha, Sung-Hoi Huh\*, Min-Do Huh  
and Hyun Do Jeong

*Department of fish pathology, College of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Pusan 608-737*

*\*Division of Oceanography, College of Marine Sciences and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737*

A protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, isolated from *Coriolus versicolor* was evaluated for its ability to enhance resistance against *Edwardsiella tarda*, causal agent of classical edwardsiellosis in tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish treated with a dose rate of 0.1 mg PS-K g<sup>-1</sup> body weight were challenged by intraperitoneal injection of *E. tarda* with different concentrations. Against low burdens of injections ( $1.2 \times 10^7$  and  $1.2 \times 10^8$  cfu/fish), PS-K treated fish did not show any mortality compared to 50% and 100% mortality of control groups, respectively. However there was no increase of resistance against challenge with high concentrations of *E. tarda* ( $1.2 \times 10^9$  and  $1.2 \times 10^{10}$  /fish) except few days delaying of death. Tilapia injected with PS-K one day after intraperitoneal inoculation of *E. tarda* ( $1.2 \times 10^7$  cfu/fish) showed 100% survival rate compared to control group of 50% survival rate. The result indicates the potential of PS-K as a prophylactic agent in aquaculture. The increased antibody response in fish received PS-K one week prior to FKC administration suggested the influence of PS-K on the specific humoral immunity and increased resistance against bacterial infection.

---

Key words : Protein-bound polysaccharide, PS-K, *E. tarda*, Prophylactic agent, Humoral immunity, Resistance