

키틴·키토산 및 그 올리고당의 생리기능성

— 항균작용, 고혈압 조절작용, 콜레스테롤

개선작용 및 항암작용 —

김 세 권 / 부경대학교 교수(한국키틴·키토산연구회 간사장)

머리말

키틴·키토산은 천연에 존재하는 다당류로서 최근에 특히 주목을 받고 있는 신기능성 소재이다. 키틴은 N-아세틸-글루코사민이 β -1,4-글리코시드 결합한 뮤코다당류의 일종으로서 셀룰로오스의 글루코오스 잔기 중 C-2의 수산기가 아세틸아미노기로 치환된 화학구조식을 가지고 있다. 키토산은 키틴에 존재하는 아세틸기가 제거된 구조식을 갖고 있다.

키틴은 게, 새우 등의 갑각류 및 연체류의 껍질과 근육에, 그리고 곤충류, 버섯류 및 사상균의 세포벽 등에 함유되어 있으며, 연간 1,000억톤 정도로 지구상에서 셀룰로오스 다음으로 많이 생산되고 있다¹⁾. 따라서 키틴은 지구상에서 미이용자원으로서 현존하는 최후의 생물질(biomass)이라고 할 수 있다.

키틴은 보통 용매에 불용성이기 때문에 그 용도가 매우 제한되어, 대부분 키토산의 원료로 사용되고 있다. 키토산은 키틴을 강알칼리로 탈아세틸화함으로써 제조되며, 아세트산, 젖산 및 포름산 등과 같은 유기산 그리고 약한 염산 및 질산 등과 같은 무기산에 용해된다. 키토산은 다양이온(polycation)의 성질을

갖고 있으며 물처리용 금속흡착체로서 옛부터 실용화되어 왔지만, 최근 이온교환체, 효소고정화 담체, 의약품 등 많은 분야에서 응용되고 있다²⁾. 그러나 최근 10년전부터 키틴·키토산 및 그 유도체가 항종양(면역능 증강 및 부활작용)³⁾, 항균 및 항곰팡이활성⁴⁾, 콜레스테롤 개선⁵⁾ 및 고혈압 억제작용⁶⁾ 등 여러 가지 생리활성을 가지고 있음이 밝혀짐으로써 현재 생리기능성 신소재로서 연구개발이 진행되고 있다.

본 고에서는 최근에 연구되어진 키틴·키토산 및 그 올리고당의 항균작용, 콜레스테롤 조절작용, 고혈압 조절작용 및 항암작용 등의 생리기능성에 대하여 기술하고자 한다.

1. 키틴·키토산의 항균활성

키토산 및 그 염산 가수분해물이 식물병원성 곰팡이에 대하여 생육저지효과를 나타내는 것이 1979년 Allan과 Hadwiger⁷⁾에 의해서 처음으로 보고된 이래로 1984년 Kendra과 Hadwiger⁸⁾에 의해 더욱 명확하게 밝혀졌다. 丙田⁹⁾은 키토산의 농도변화에 따른 대장균(*Escherichia coli*)의 증식에 미치는 영향을 육즙배지(육즙 1%, 펩톤 1% 및 염화나트륨 0.5%; pH 6.0)에서 검토한 결과,

그림 1에 나타난 바와 같이 키토산을 0.02% 이상 첨가하였을 때 대장균의 생육을 완전히 저지하였다고 보고하였다.

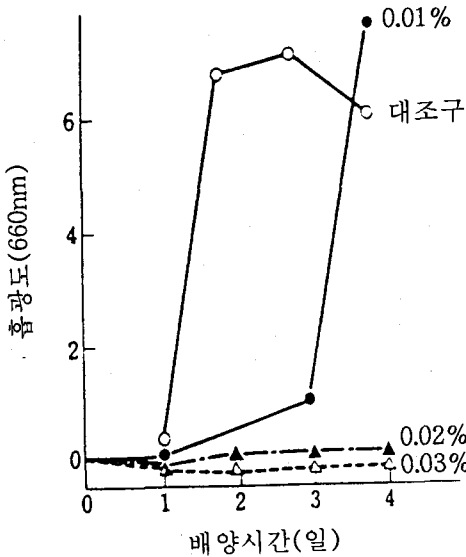


그림 1. *E. coli*의 성장에 대한 키토산의 효과

한편, Sössel과 Leuba⁸⁾는 키토산, 키틴 및 다른 종류의 아미노당의 식물병원성 진균의 증식에 대한 영향을 검토한 결과, 키틴은 곰팡이의 생육저해작용을 가지고 있지 않았다고 하였으나 内田⁹⁾은 키토산의 농도에 따른 항곰팡이 활성에 관하여 검토한 결과, 표 1에서와 같이 키토산이 0.1% 첨가하였을 때 식물병원성 곰팡이인 *Fusarium solani*의 생육은 완전히 저지되었고, 6일 동안 증식이 완전히 억제되었다고 보고한 바 있다.

표 1. *Fusarium solani*의 성장에 대한 키토산¹⁾ 농도의 효과

키토산의 농도 (%)	성장률(%)		
	3일째	4일째	6일째
대조구	100	100	100
0.025	84	87	92
0.050	17	35	54
0.100	0	0	0

*1, 키토산의 탈아세틸화도 : 99%

이와 같이 키토산의 항균작용 메카니즘은 양전하를 가진 키토산의 아미노기가 세균 세포벽의 음전하와 이온결합을 형성하여 세포분열을 저해함으로써 세균의 성장을 억제하는 것으로 추정된다. 이에 대한 간접적인 증거로서 키토산의 탈아세틸화도에 따른 항균활성의 검토이다. 일반적으로 키토산이라는 것은 키틴의 N-아세틸기를 100% 제거한 것이 가장 이상적인 것이라 할 수 있지만 실제로는 그렇지 못하다. 따라서 키토산에는 어느 정도의 N-아세틸 아미노기가 존재하며 제조조건에 따라 그 아세틸기 함량이 서로 다르게 된다. 그러므로 키토산의 탈아세틸화도의 차이에 따라서 키토산 분해효소의 활성, 효소의 고정화, 금속이온의 흡착력 등이 달라지게 된다. 内田⁹⁾은 키토산의 탈아세틸화도의 차이에 따라서 *Fusarium solani*에 대한 항곰팡이 활성을 검토한 결과, 표 2와 같이, 탈아세틸화도가 높을수록 즉, 유리 아미노기가 많을수록 항곰팡이 활성이 강하다는 것을 보여주었다. 이것은 양전하를 가진 키토산의 아미노기가 특이적인 화학구조를 가진 곰팡이의 세포벽과 결합하여 생육을 저해시키는 것으로 판단된다.

표 2. 키토산¹⁾의 탈아세틸화와 항곰팡이²⁾ 활성과의 관계

키토산의 탈아세틸화 (%)	성장률(%)		
	3일째	5일째	8일째
대조구	100	100	100
66	82	88	93
79	63	76	85
90	50	70	81

*1, 키토산의 농도 : 0.05%

*2, 곰팡이 : *Fusarium solani*

그런데 장내 세균중에서 유산균은 칼슘이나 단백질의 흡수를 촉진하고, 비타민을 합성하며, 장내부패물질을 분해하는 유용균으로 분류되어 있는데, 키토산이 유산균에는 어떠한 영향을 미치는지에 대해서 内田⁹⁾은 MRT배지(글루코오스 1%, 초산나트륨 1%, 폴리펩티드 1%, 효모추출물 0.5%, 육즙 0.1%, CaCl₂ · 2H₂O 0.05%, NaCl 0.1%, MgSO₄ · 7H₂O 0.02%, MnSO₄ · nH₂O 0.001%,

FeSO₄ · 7H₂O 0.0001%; pH 6.0)를 이용하여 최소저지농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 구하여 검토한 결과, 키토산은 대장균이나 *S. aureus*에 대하여 MIC 값은 0.025~0.05%인데 비하여 유산균의 *Lactobacillus bulgaricus*나 *Streptococcus faecium*에 대한 MIC는 0.35% 및 0.33%로 높았다고 보고하였다. 이러한 결과를 보면, 키토산을 유산균 증식을 억제시키지 않을 정도의 농도로 첨가함으로써 일반세균의 생육을 저지할 수 있다. 이러한 이유는 유산균에는 키토산이 영양원으로서 작용하기 때문인 것으로 추측된다.

한편, 키토산은 대부분의 종류의 세균과 곰팡이의 증식을 억제하는 것으로 알려져 있어 서로 다른 중합도를 가진 키토산 가수

분해물의 항균성을 조사함으로써 키토산의 항균성 메카니즘을 추정할 수 있다고 생각된다. 따라서 키토산을 키토산분해효소로 가수분해하여 그 가수분해물에 의한 세균 및 곰팡이의 증식에 미치는 효과를 검토하는 것은 중요하다. 井爪¹⁰⁾은 키토산분해물의 대장균에 대한 작용과 식물성 병원균인 *Fusarium solani* 및 *F. oxysporum* 곰팡이에 대한 작용을 검토한 결과, 그림 2와 그림 3에서 처럼 분자량이 낮은 키토산분해물 A와 B에서보다 C와 D에서 항균효과가 더 강하게 나타났으며, 그 활성은 키토산 자체보다도 더 우수하였고, 거의 분해되지 않은 키토산 가수분해물 E는 키토산과 거의 같은 증식억제효과를 보였다고 보고하였다.

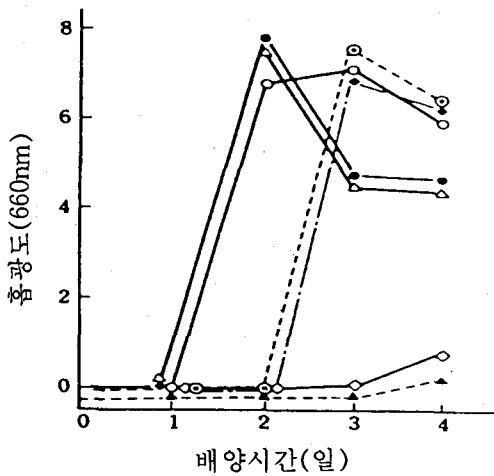


그림 2. *E. coli*의 성장에 대한 키토산 가수분해물의 효과

- 키토산
- 키토산 가수분해물 A (540mg/g 키토산)
- ▲ 키토산 가수분해물 B (260mg/g 키토산)
- △ 키토산 가수분해물 C (40mg/g 키토산)
- ◆ 키토산 가수분해물 D (8mg/g 키토산)
- ◇ 키토산 가수분해물 E (6mg/g 키토산)
- ◊ 대조구

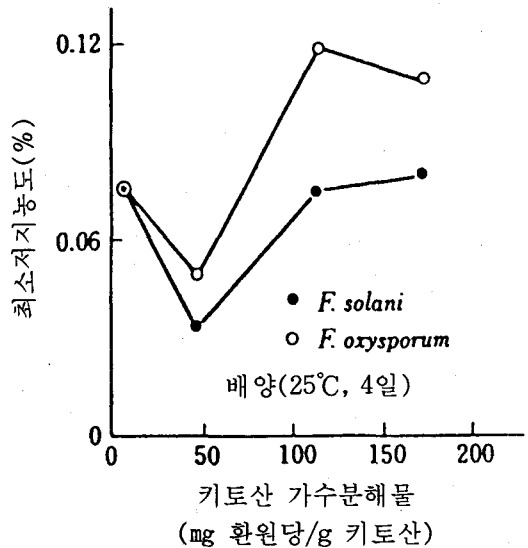


그림 3. 곰팡이에 대한 키토산 가수분해물의 최소저지농도 효과

이와 같은 결과는 키토산의 항균성은 그 분자량에 영향을 받는다고 생각될 수 있다. 즉, 키토산이 40~50mg 환원당/g 키토산 정도의 적당하게 분해되었을 때 가장 강력한 항균력을 나타내었으며, 그 이상 분해가 진행되었을 때는 오히려 항균력이 급격하게 감소된다는 사실을 알 수 있었다.

조¹¹⁾는 분자량 크기에 따른 키토산의 항균력을 검토한 결과, 분자량 2,800,000의 고분자 키토산은 2,000ppm의 농도로 대장균의 증식을 억제시킬 수 있었으며, 토양에서 분리한 *Aspergillus* CHS와 *Penicillium* CHS2 균주가 생산하는 키토산분해효소로 가수분해시킨 분자량 40,000~10,000의 키토산 올리고당에서는 약 20배가량 항균력이 증가되었다고 보고한 바 있다. 또한 Kendra와 Hadwiger⁹⁾는 식물성 병원균 곰팡이인 *F. solani*의 항곰팡이 활성발현을 위해서는 중

합도가 7이상인 올리고당이 필요하다고 보고한 바 있다.

한편, 키틴·키토산의 유효이용에 관한 연구가 여러분야에서 활발하게 진행되고 있다. 馬場 등¹²⁾은 키토산이 분자내 반응성이 높은 일급 아미노기를 가지고 있다는 것에 착상하여 이 아미노기를 이용하여 키토산의 화학수식으로 키토산 유도체를 제조하고, 이들 유도체들이 항곰팡이 활성을 검토함으로써 키토산을 고도로 유용하게 이용하려고 시도하였다.

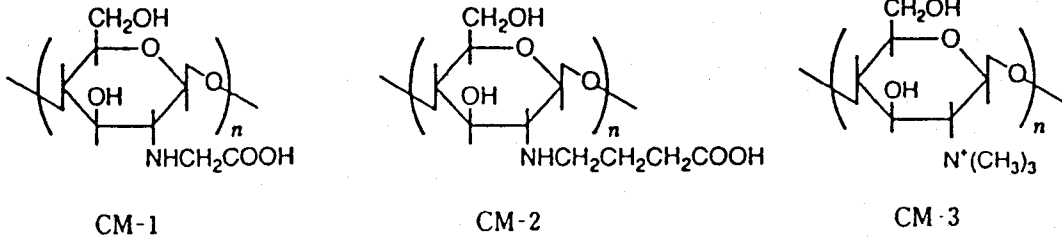


그림 4. 수용성 키토산 유도체의 화학구조

먼저, 그림 4와 같은 키토산 유도체인 *N*-카르복시메틸 키토산(*N*-carboxymethyl chitosan, CM-1; 순도 84%), *N*-카르복시프로필 키토산(*N*-carboxypropyl chitosan, CM-2; 순도 87%) 및 *N*-트리메틸 키토산(trimethyl chitosan, CM-3; 순도 65%)을 각각 제조하여(그림 4) *F. solani*의 증식에 미치는 키토산 유도체의 첨가량에서, 각

키토산 유도체는 현저하게 곰팡이 증식을 억제하였으며, 모든 키토산 유도체들이 0.0333wt% 농도로 첨가하였을 때 약 8일 동안 완전히 곰팡이의 증식을 억제시켰다(표 3). 또한 CM-3는 첨가량이 증가할수록 곰팡이의 증식을 억제되었으며, 첨가량인 0.0333wt%에서는 곰팡이의 생육을 완전히 저해하는 것으로 나타났다.

표 3. *F. solani*¹⁾의 성장에 대한 키토산 유도체농도의 효과

키토산 유도체의 농도(%)	성 장 륜(%)								
	CM-1			CM-2			CM-3		
	3일째	4일째	6일째	3일째	4일째	6일째	3일째	4일째	6일째
대조구	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.0125	88	95	98	86	91	94	88	96	100
0.0250	69	76	80	61	67	72	30	43	60
0.0333	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*1, 8일 동안 25°C에서 배양

이상과 같이 키토산의 항균작용에 대한 연구들에서, 키토산은 분자내 양이온의 아미노기를 함유하고 있어 이것이 세균 세포벽의 성분중 음이온과 특이적으로 결합하여

세균의 증식을 억제할 수 있었으며, 또한 키토산이 적당한 크기의 분자량을 가지고 있을 때 그 활성은 보다 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

2. 키토산의 고혈압 조절작용

식염을 지나치게 많이 섭취하게 되면 체내의 혈압이 상승한다는 사실은 이미 잘 알려져 있다.

혈압만 상승하고 신장(腎臟)이나 부신(副腎)등에 장애가 없는 본태성 고혈압환자에 대해서 식염을 제한하게 되면 약 60% 정도의 혈압을 저하시킬 수 있다고 한다. 식사중에 식염이 장에 흡입되면 Na^+ 와 Cl^- 로 해리되고 각각 독자적으로 경로에 따라 조절되고 있다. 따라서 식염이 혈압상승에 관여하고 있어도 Na^+ 나 Cl^- 중 어느 것이 혈압을 상승시키는지는 지금까지 많은 논쟁이 되어 왔다. 1954년 Dahl과 Love¹³⁾는 현재 널리 알려져 있는 Na^+ 에 의한 혈압상승설을 제창하였다. 즉, 식염을 제한하여 혈압을 저하시킨 후 염화암모늄(NH_4Cl)을 투여하여도 혈압은 상승하지 않는다는 실험을 근간으로 하여 이와 같은 주장을 할 수 있었다. 그러나 염화나트륨 대신에 염화암모늄을 섭취하게 되면 체내에서 NH_4^+ 로 해리되고, 따라서 양성자(proton, H^+)를 방출하여($\text{NH}_3 + \text{H}^+$) 세포내를 산성으로 만든다. 그러면 세포내 pH의 저하에 의하여 당대사를 중심으로 하는 세포내 대사 전체가 저해를 받아서 체중이나 혈압이 저하될 가능성이 있게 된다. 결국, 염소가 혈압상승물질이라도 NH_4^+ 의 독성 때문에 그 효과가 발현되지 않을 가능성이 있다.

실제로 탄산나트륨이나 구연산나트륨을 투여하여도 혈압 상승이 없었다든가¹⁴⁾, 염화칼슘, 염화콜린, 리신염산염, 염화칼륨 등의 투여에서도 혈압이 상승한다고 하는 보고¹⁵⁾가 이를 뒷받침하고 있다. 그러면 과연 어느 성분이 혈압의 상승에 가장 뚜렷하게 작용하는가 하는 의문은 여전히 남아 있게 된다. 따라서 Na^+ 나 Cl^- 를 특이적으로 결합하여 변(便) 중에 배출시킬 수 있는 식이섬유가 있으면 좀 더 명확한 결론에 도달할 수 있으리라는 기대를 하면서 그림 5에서와 같이 Na^+ 는 알긴산(alginic acid)의 카르복실음이온에 이온결합을 형성할 수 있고, Cl^- 는 키토산의 유리 아미노 양이온에 특이적으로 이온결합을 할 수 있다는 사실을 토대로 奥田⁹⁾은 다음과 같은 실험들을 수행하였다.

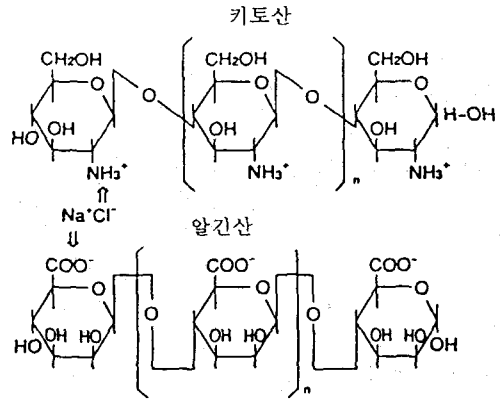


그림 5. 키토산 및 알긴산에 NaCl 의 결합

키토산과 알긴산의 두 식이섬유를 높은 함량의 식염과 함께 마우스(rat)에 투여한 결과, 예상대로 알긴산과 키토산에 각각 Na^+ 와 Cl^- 가 특이적으로 결합하여 체외로 배출되는 것을 확인할 수 있었다(표 4).

표 4. 마우스의 분비물 중의 Na^+ 와 Cl^- 의 함량

	함량(mg/일/마우스)	
	Na^+	Cl^-
알긴산	7.00 ± 1.38	1.20 ± 0.40
키토산	1.38 ± 0.18	9.60 ± 2.08
	$P < 0.01$	$P < 0.02$

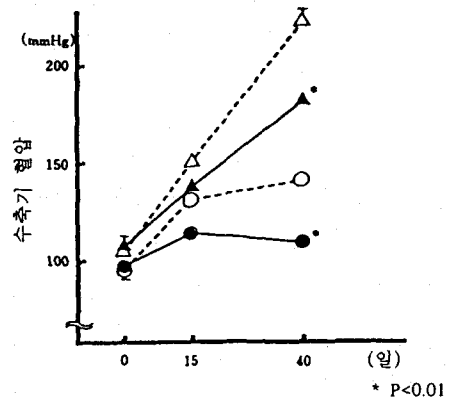


그림 6. 식이섬유와 고농도의 염을 섭취한 마우스의 혈압의 변화

○, ● : 정상혈압의 마우스 ○, △ : 알긴산 섭취
△, ▲ : 고혈압 마우스 ●, ▲ : 키토산 섭취

그리고 이와 같은 식이섭유를 함유한 고농도의 식염을 장상혈압을 가진 마우스와 고혈압 마우스에 40일 동안 투여하여 혈압변화를 관찰한 결과, 그림 9에 나타난 바와 같이 두 종류의 혈압을 가진 마우스 모두 알긴산 섭취보다 키토산을 섭취한 마우스에서 혈압이 더 낮았다. 따라서 알긴산에 의해 체외로 배출된 Na^+ 보다는 체내에 흡수된 Cl^- 에 의해 혈압이 상승한다는 결과를 얻을 수가 있었다.

그러면 왜 키토산을 섭취하였을 때 혈압이 떨어지는 것일까? Cl^- 가 혈압에 어떻게 관여하는 것일까 하는 의문은 본태성 고혈압에 직접적으로 관여하는 효소인 안지오펜신 전환효소(angiotensin converting enzyme; ACE)를 통하여 알 수 있다. 즉, ACE는 안지오펜신 I에 작용하여 혈압상승물질인 안지오펜신 II를 생성하는 효소로서, 생성되어진 안지오펜신 II는 혈관을 수축하기도 하고, 동시에 혈관수축작용을 가진 아드레날린(adrenaline)을 부신수질(副腎髓質)로부터의 분비를 촉진시키며, 신장에서 Na^+ 의 배출을 억제하는 알도스테론(aldosterone)의 합성을 촉진함으로써 혈압을 상승시키는 것으로 알려져 있다. 결국, ACE의 활성을 저하시킴으로써 혈압을 낮출 수가 있다. 만약, Cl^- 에 의해서 ACE활성이 증가하게 되면 혈압이 상승하는 것인데, 이에 관련된 연

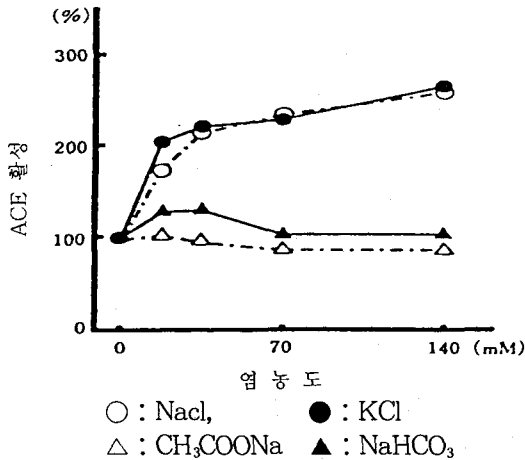


그림 7. 여러 종류의 염에 의한 안지오펜신 전환효소(ACE)의 활성

구결과를 加藤¹⁶⁾이 보고한 결과에 의해서 보면, Na^+ 를 함유한 초산나트륨이나 탄산수소나트륨은 농도의 증가에 따라 ACE의 활성에 변화가 없는 반면에 Cl^- 가 함유되어 있는 염화나트륨이나 염화칼륨은 농도의 증가에 따라 계속적으로 ACE활성이 증가하는 것으로 알 수 있다(그림 7).

이상의 결과를 종합해 보면, 키토산의 혈압상승에 관여하는 Cl^- 를 체외로 배출시킴으로서 혈압저하작용을 나타낸다는 사실이 밝혀졌다. 따라서, 키토산을 섭취함으로써 고혈압을 어느 정도 개선시킬 수 있다는 것을 알 수 있다.

3. 키토산의 콜레스테롤 개선작용

일반적으로 지방을 섭취하게 되면 지방은 그대로 흡수되는 것이 아니라 췌장에서 분비되는 지방산 가수분해효소(lipase)에 의해서 분해된 후, 그 분해산물이 장에서 흡수하게 된다. 그러나 지방은 수용액에서 용해되지 않기 때문에 대부분의 지방분자들이 회합하여 기름방울 형의 미셀(micell)을 형성한다.

한편 지방산 가수분해효소는 수용성이기 때문에 기름방울의 계면에서 효소작용을 수행한다.

따라서 지방의 기름방울이 작을 수록 효소가 작용할 수 있는 계면이 넓어져 그 만큼 지방이 분해되기 쉽다. 이러한 생체내 계면활성제로서 작용하는 것이 십이지장(十二指腸)에서 분비되는 담즙에 함유되어 있는 담즙산(bile acid)이다. 담즙산은 분자내에 음이온의 전하를 가지고 있는 카르복실기를 함유하고 있기 때문에 여기에 키토산의 유리 아미노기가 이온결합을 형성하여 체외로 배출하게 되면 체내의 담즙산이 부족하여 지방산 가수분해효소의 활성을 저하시키는 원인으로 작용한다.

Sugano 등¹⁷⁾은 마우스를 이용하여 키토산에 의한 혈액 및 간장 중의 콜레스테롤 개선작용에 대하여 검토한 결과, 고농도의 콜레스테롤을 함유한 키토산을 2~5% 첨가하여 마우스를 20일간 사육하면 사료 섭취량이나 발육에는 전혀 영향을 미치지 않고

혈중 및 간장중의 콜레스테롤 값이 현저하게 저하하였다고 보고하였다.

Maezaki 등¹⁸⁾은 사람을 대상으로 키토산에 의한 혈중 콜레스테롤 개선작용을 알아보기 위하여 시험전 대조기 1일 동안은 키토산 무첨가 비스킷을 3개/일, 시험기 전반부의 1주일에는 키토산 0.5g 첨가한 비스킷을 3개/일(1.5g/일), 후반부 1주일에는 6개/일(3g/일) 그리고 시험종료 후 대조기 1주일에는 다시 키토산 무첨가 비스킷을 3개/일 섭취하도록 하였으며, 키토산 섭취 전후의 혈중지질과 변에서 담즙산 배출량을 조사한 결과, 표 5에 나타난 바와 같이 키토산 섭취에 의해서 혈중의 총콜레스테롤값은 유의적으로 감소하였으며, HDL-콜레스테롤은 유의적으로 상승하였고, 키토산 섭취를 중지하면 다시 원래대로 되돌아 가는 경향을 보였다. 또한 키토산 섭취에 의해서 1차 담즙산의 코르산(choric acid)과 케이테옥시코르산(chenodeoxycholic acid)의 변에 배출량이 유의적으로 증가하였으며 섭취를 중지하면 감소하였다고 보고한 바 있다.

표 5. 키토산의 섭취에 의한 사람 혈청 콜레스테롤의 효과

혈청중의 지질	합 량		
	대조구 I ¹⁾	키토산 섭취 ²⁾	대조구 II ¹⁾
총 콜레스테롤 (mg/d l)	189±3 ³⁾	177±4	182±6
HDL-콜레스테롤 (mg/d l)	51±3	56±3	54±4
트리글리세리드 (mg/d l)	127±13	128±11	131±12
인지질 (mg/d l)	229±7	235±5	231±5
유리 지방산 (μEq/l)	394±61	451±42	539±78
동맥경화지수 ⁴⁾	2.78±0.20	2.18±0.13	2.48±0.25

- 1) 일주일간 하루 3회 키토산 무첨가 비스킷 섭취
- 2) 일주일간 하루 3회 그리고 다음 일주일간 하루 6회 키토산 첨가 비스킷 섭취
- 3) 8회 평균
- 4) (총 콜레스테롤-HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤

키토산은 고분자로서 이용될 때 체내에 흡수되지 않고 체외로 배출되는 하나의 식이섬유로서 작용을 하며, 이 때 키토산 자체에 함유되어 있는 양이온의 유리 아미노기 때문에 지방의 체내 흡수를 방지할 수 있어 건강식품으로서의 이용을 기대할 수 있다.

4. 키틴 유도체의 면역 활성화와 항종양 활성화

키틴 및 키틴 유도체는 성형가공이 용이하여 라이소자임(lysozyme)에 의해 가수분해되는 생체 적합성 고분자로서 근년에 와서 주목을 받고 있다. 東 등¹⁹⁾은 키틴 유도체를 면역증강제 및 의료용 재료로서 개발 목적으로 여러 가지 키틴 유도체의 면역증강 활성화, 항종양 활성화, 감염 저항성 증강 및 약물담체로서의 가능성에 대하여 검토한 바 있다.

1) 키틴 유도체의 면역 응답 증강능

東 등¹⁹⁾은 지금까지 세균 유래 및 관련 합성 면역 증강제에 대하여 상세하게 면역 활성을 검토하여 이들 면역 증강제가 마우스 복강 대식세포(macrophage)의 종양세포 장해 활성이 현저하게 증강시키는 것을 발견하여 유력한 면역증강제 후보 그룹의 하나로써 대식세포 활성화 시험을 행하여 왔다. 이들은 합성 키틴 유도체를 사용하여 대식세포 활성화 시험을 한 결과, 표 6에 나타난 바와 같이 30% 탈아세틸 키틴(DAC-30), 70% 탈아세틸 키틴(DAC-70), 키토산 및 카르복시메틸(CM)-키틴(치환도 0.8)에서 강한 대식세포 활성화능이 발현되었다고 하였다. 그 중에서도 DAC-70에서 강력한 대식세포 활성화능이 나타났으며, CM-키틴 보다 활성화능의 지속성이나 낮은 투여량에도 높은 효율성 등에서 효과적인 것으로 밝혀졌다. DAC-70의 C₂위치의 아미노기(pKa 6.4~6.8)를 트리메틸화하여 염기성을 강하게 한다거나, C₂위치의 아미노기에 펩티드 결합으로 아미노산 1분자를 도입한 유도체의 대식세포 활성화능은 DAC-70과 거의 같았지만, DAC-70

의 C₂위치를 CM화, 숙시닐화 또는 트리메틸화함으로써 대식세포의 활성화능은 현저히 떨어졌다. 이 결과로부터 DAC-70의 대식세포 활성화능 발현에 그 염기성이 중요한 것으로 시사되었다.

대식세포 활성화 시험에서 가장 유효한 면역증강제로서 선발된 DAC-70은 분자량이 약 20만, 고유점도는 10.0이며, 라이소자임(lysozyme; 세균 세포벽의 당펩티드층에 존재하는 다당의 가수분해를 촉매하는 효소)으로 9일간 분해시켰을 때 8잔기 이하가 90%, 5잔기 이하가 74%의 올리고당으로 분해되는 것으로 밝혀졌다. DAC-70은 마

우스 복강 대식세포 활성화능 외에도 몰모트(guinea pig)에 있어서 혈중항체 생산, 지연형 과민증의 유도, 마우스에 있어서 내츄럴 킬러(natural killer) 세포 활성화, 헬퍼-T(helper-T)세포 및 동종 세포장해성 T세포(CTL)에 대하여 면역증강활성(adjutant 활성)을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 그렇지만 시험관내에서 DAC-70은 대식세포 및 CTL을 활성화하지 않았고, 또한 마우스의 비세포(脾細胞) 증식을 촉진하지 않는 등, 세균유래 리포다당(lipopolysaccharide, LPS) 및 BCG 세포벽 골격과는 다른 기작으로 면역증강 활성을 발현하는 것으로 알려져 있다²⁰.

표 6. 키틴 유도체의 대식세포 활성화능

활성화 물질	치 환 기	화 합 물 질	활성화능
R ₁ =COOH ₃ =COCH ₃ : 0.7	R ₂ =H	키틴	-
=H : 0.3	=H	30% 탈아세틸키틴(DAC-30)	+++
=COCH ₃ : 0.3	=H	70% 탈아세틸키틴(DAC-70)	++++
=H : 0.7	=H	키토산	+++
=H	=COCH ₃	아세틸키틴	-
=COCH ₃	=CH ₂ CH ₂ OH	히드록시에틸키틴	+
=COCH ₃	=CH ₂ CHCH ₂ OH OH	디히드록시프로필키틴 (DHP-키틴)	+
=COCH ₃	H : 0.75	카르복시메틸키틴(0.25)	-
=COCH ₃	= CH ₂ COOH : 0.25	CM-키틴(0.25)	-
=COCH ₃	H : 0.44	CM-키틴(0.56)	+
=COCH ₃	= CH ₂ COOH : 0.56	CM-키틴(0.8)	++
=COCH ₃	C : 0.2	CM-키틴(0.8)	++
=COCH ₃	= CH ₂ COOH : 0.8	인산화키틴	-
=COCH ₃	=PO ₃ H ₂	황산화키틴	-
=COCH ₃	=SO ₃ H		

CH_2OR_2 CH_2OR_2
 NHR_1 NHR_1

2) DAC-70 사이토카인 유발활성

DAC-70의 면역증강 활성발현의 메카니즘을 밝히기 위해 면역응답 조절인자(cytokine : 혈구세포에서 방출된 생리활성 단백질)생산에 대한 DAC-70의 효과를 본 결과, DAC-70을 마우스 복강 내에 투여하면 6~12시간 후 혈청 중의 콜로니(colony)형성 자극인자(CSF)의 활성이, 24시간 후에는 인터페론(interferon, IFN) 활성이 현저하게 상승하였다²¹⁾. 한편, 시험관내에서 DAC-70은 마우스 복강 대식세포에 의한 인터로이킨-1(IL-1) 및 CSF생산을 증강하였지만, 마우스의 지라(脾)세포에 의한 CSF, 인터로이킨-2(IL-2), IFN, 대식세포 활성화인자(MAF)생산 및 대식세포에 의한 IFN생산은 증강하지 않았다. 또 DAC-70은 중앙피사 인자 생산계에 있어서 프라이밍(응답성 면역세포가 활성화되도록 동물에 항원을 투여하는 것)이나 엘리사이팅(eliciting)의 어느 효과도 나타나지 않았다.

이상의 결과로부터 DAC-70은 대식세포 유래인자(monokine; 단구(monocyte)로부터 방출된 생리활성 단백질) 생산증강을 특징으로 하는 면역증강체이며, 직접 임파구 유래인자(lymphokine, 임파구로부터 방출된 생리활성 단백질)의 생산은 증강하지 않고, 모노카인을 개입하여 림포카인에 의한 면역응답증강이 유도되는 것으로 밝혀졌다²²⁾.

3) DAC-70의 항종양 활성 및 숙주의 감염 저항성 증강능

DAC-70은 BALB/c마우스에 있어서 Meth-A섬유 육종의 생착을 현저히 억제하였으며, 물모트에 이식한 같은 계의 line-10간암의 퇴축 및 인과질 전이억제에 대해 유효성을 나타냈지만, C57BL/6마우스에서 루이스 폐암 전이제 및 FBL-3백혈병 마우스의 연명(延命)효과는 나타나지 않았다. 한편, DAC-70은 마우스의 대장균 및 센다이 비루스 감염에 대한 숙주의 비특이적 저항성을 현저히 증강시키는 것으로 밝혀졌다.

4) 키틴 유도체 유래의 다공성 입자의 면역활성

키틴 유도체의 특징인 생체내 소화성 및 성형가공의 용이성 때문에 각종 의료용 재료로서의 응용이 시도되고 있다. Nishimura 등²³⁾은 키틴 유도체의 서방성 약물담체로서의 가능성을 밝히기 위해 약물의 침투·봉입이 가능한 부분 탈아세틸 키틴(DAC-80)으로 조제한 다공성 입자의 면역활성을 검토한 결과, 입자직경이 0.2~0.7mm의 DAC-구슬은 그대로 현탁액으로서 마우스 복강 내에 투여하여도 복강 대식세포를 활성화하지 않았지만, 저농도(0.5~4%)의 초산으로 전처리함으로써 초산 농도에 따라 대식세포의 활성을 증강시켰다. 또, DAC-구슬 표면만을 다시 아세틸화시키면 초산 처리의 유무에 관계없이 대식세포 활성화능을 나타내지 않게 되기 때문에 입자 표면의 아미노기가 산과 염을 형성하여 용액중에 해리상태로 있는 것이 활성발현에 중요한 것으로 밝혀졌다. 이것은 시험관 내의 대식세포에 의한 IL-1생산의 계에서도 마찬가지였으며, 대식세포와 접촉하는 입자표면의 성상이 중요하다는 것을 재인식시킨 것이었다.

또, 입자직경이 작은 다공성 DAC-소중심체(2.5 μ m)를 사용하여 대식세포 활성화 시험을 행한 경우, 초산 처리하여 DAC-70과 거의 같은 투여량, 투여시기로 활성화능을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 또, 모노카인 생산에 대하여도 DAC-소중심체는 DAC-70과 같은 정도의 증강능을 나타내었다. 한편, 같은 입자직경의 키틴 유래 소중심체는 대식세포에 의해 탐식되지 않은 구슬과 탐식된 소중심체가 어떤 기작으로 면역증강 활성을 발현하는 것인가에 대해서는 앞으로 좀더 상세한 연구검토가 필요하다고 본다.

5) 황산화 카르복시메틸(SCM) 키틴에 의한 암전이 억제효과

암전이는 암세포의 최초 발생지로부터 서서히 유리화 주변조직으로 침투하기 시작하여 어떤 특정부위까지 증식하게 되는 복잡한 과정을 거치게 되며, 그러한 과정중 세포외 매트릭스나 기저막 등과의 상호작용을 포함한 일련의 현상들이 일어난다²⁴⁾. 암의 침투과정에서 세포외 매트릭스나 기저막의 주요 구성성분인 헤파란 황산은 암전이성

흑색종 세포에서 생산되는 헤파란분해효소에 의해 분해되며, 반면에 그 효소적 분해는 헤파린에 의해 저해되는 것으로 보고되었다²⁵⁾.

헤파린은 결합조직중의 비만세포에서 주로 생산되며, 구조상은 불균일한 황산화 글리코사미노글리칸이며, 구성당으로서 N-아세틸 글루코사민과 우론산(glucuronic acid와 iduronic acid)의 반복 단위로 되어 있다. 그 생물활성은 상당히 다양하며, 항의혈 작용(antithrombin III로의 결합에 의한), 혈관신생의 촉진, 섬유아세포 증식인자(FGF)와의 상호작용, 지연형 과민증의 억제, 세포증식에 미치는 작용 등이 알려져 있다.

이미 헤파린 및 그 관련물질을 사용하여 암전이를 저지하려는 시도가 이루어졌다. Tsubura 등²⁶⁾은 헤파린이 암세포의 폐전이 억제에 유효하였으며, 그 억제기작으로서 응고계 캐스케이드(cascade)의 활성화를 수반하는 혈소판 응집에 의해 형성된 중앙혈전의 저해를 설명한 바 있다.

또 Irimura 등²⁷⁾은 항의혈 작용이 없는 헤파린 유도체가 흑색종 세포의 헤파린분해효소 활성을 저해하여 흑색종 세포의 실험적 폐전이를 억제하는 것을 밝혔다.

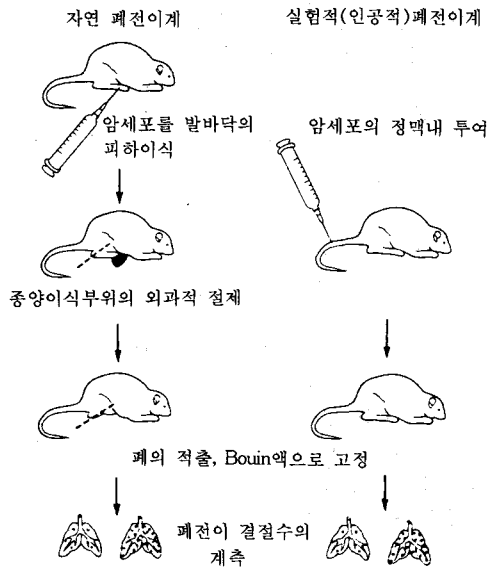


그림 8. 암전이 실험모델

Saiki 등²⁸⁾은 황산화한 키틴유도체(키틴헤파리노이드 유도체)의 전이성 암세포에 의한 폐전이에 미치는 효과를 검토한 결과, 마우스 실험 중앙계에 의한 폐전이 실험 모델로서는 그림 8에 나타난 바와 같이 주로 2가지 방법으로 수행하였다. 암세포를 마우스의 꼬리 정맥에 주사하여 일정기간 후 폐의 전이 결절수를 계측하는 실험적(인공적) 폐전이계와 암세포를 마우스의 발바닥에 피하이식하여 최초 이식부위가 일정한 크기로 성장한 시기(이미 전이가 시작되고 있음)에 외과적으로 잘라내고 일정기간 경과한 후에 폐의 전이결절수를 계측하는 자연 폐전이계였다.

한편, 사용한 황산화 키틴 유도체의 화학구조는 그림 9에 나타내었으며, 그 분자량 및 분석값(황산화도와 카르복시메틸화도)은 표 7에 나타내었다. 이들 키틴헤파리노이드 유도체는 헤파린에 비하여 혈소판 응집 저해작용, 항의혈 작용이 상당히 약하였으며(헤파린의 1/1000~1/10000 이하), 시험관에서 암세포 증식에 대한 직접적인 효과도 거의 보이지 않았다.

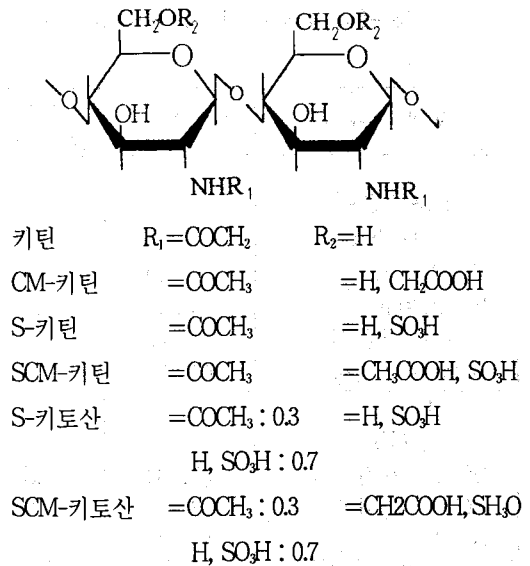


그림 9. 키틴 및 그 유도체(키틴레파리노이드)의 화학구조

표 7. 키틴헤파리노이드의 분석값

표 품	S(%) ^{*1}	-SO ₃ ^{-*2}	-COO ^{-*2}	분자량(×10 ⁴) ^{*3}
황산화키틴				
S-키틴II	8.54	0.73	—	1.3
S-키틴III	10.22	0.87	—	2.4
황산화 CM-키틴				
SCM-키틴 I	1.43	0.12	0.8	1.8
SCM-키틴 II	6.70	0.57	0.4	1.0
SCM-키틴 III	7.66	0.65	0.56	2.4
황산화 탈아세틸키틴		NHAc ^{*2}		
S-키토산	11.89	1.32(0.30)	0.6	4.2
SCM-키토산	5.90	0.68(0.30)	0.6	4.7
CM-키틴	0	0	0.8	6.3

(주) *1 황산화도(%)

*2 반응기의 수/N-아세틸 글루코사민 잔기

*3 평균분자량(헤파린에 의한 점도방정식으로 계산)

최초로 여러 가지 키틴유도체를 사용하여 마우스의 실험적 전이계에 미치는 효과를 검토한 결과, B 16-BL 6 흑색종 세포와 함께 여러 가지 황산화 키틴 유도체를 마우스의 꼬리 정맥내에 투여하여 14일 후에 폐

전이 결절수를 측정한 결과, 표 8에 나타난 바와 같이 S-키틴 및 SCM-키틴은 헤파린과 마찬가지로 현저한 폐전이의 억제효과를 나타내었다. 또 그 전이억제는 도입된 황산화도에 비례하여 강한 효과를 나타내었다.

표 8. B 16-BL 6 세포의 정맥내 주사에 의한 실험적 폐전이에 미치는 키틴헤파리노이드의 효과

정맥내 투여	황산화도 ^{*1}	투여량 (μ g/마우스)	폐전이 결절수(14일째)	P ^{*2}
			평균값 \pm SD(분포범위)	
실험 I				
대조군(PBS)		—	124 \pm 34(92~165)	
헤파린-Na		250	8 \pm 4(4~12)	<0.001
S-키틴II	(8.54)	250	52 \pm 7(47~65)	<0.005
S-키틴III	(10.22)	250	15 \pm 7(7~24)	<0.001
SDM-키토산	(11.89)	250	103 \pm 9(89~111)	
SCM-키토산	(5.90)	250	134 \pm 23(96~156)	
실험 II				
대조군(PBS)		—	62 \pm 14(44~78)	
SCM-키틴 I	(1.43)	250	58 \pm 18(40~90)	
SCM-키틴 II	(6.70)	250	30 \pm 10(20~42)	<0.005
SCM-키틴 III	(7.66)	250	8 \pm 2(4~12)	<0.001

(주) C57BL/6마우스 (5마리/군)에 B 16-BL 6 세포(5×10⁴)와 함께 키틴헤파리노이드를 정맥내에 주사하였다. 2주간 후에 폐의 전이 결절수를 측정하였다.

*1 황산화도(%)

*2 Student's two-tailed t-test로 대조군과 비교

그렇지만, 그 탈아세틸화한 유도체인 S-키토산 및 SCM-키토산에서는 충분히 황산화되어 있는데도 불구하고 저지활성은 나타나지 않았다. 이들 결과로부터 글루코사민 잔기중의 C₆위치의 황산화 및 C₂위치의 N-아세틸화가 실험적 폐전이제에서 키틴헤파리노이드의 높은 전이효과 발현에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 밝혀졌다.

사용된 키틴 유도체중에서 황산화도가 높은 SCM-키틴Ⅲ은 거의 항의혈 작용은 나타나지 않았지만 용량에 의존하여(50~500 µg/마우스) 강한 전이 억제활성을 나타내었다. 그러나, 이미 기술한 바와 같이 황산화되지 않은 CM-키틴에서는 전혀 효과가 나타나지 않았다(표 9).

표 9. B 16-BL 6 흑색종 세포의 정맥내 주사에 의한 실험적 폐전이에 미치는 SCM-키틴 Ⅲ의 효과

정맥내 투여	투여량 (µg/마우스)	폐전이결절수(14일째)	P*
		평균값±SD(분포범위)	
대조군(PBS)	—	109±16(87~130)	
CM-키틴	250	100±12(96~126)	
SCM-키틴Ⅲ	500	35±3(29~42)	<0.001
	250	44±7(48~64)	<0.001
	100	77±3(74~81)	<0.005
	50	80±6(74~87)	<0.01
	10	95±7(86~101)	

(주) C57 BL/6마우스 (5마리/군)에 B16-BL6세포(5×10⁴)와 함께 키틴헤파리노이드를 정맥내로 주사하였다. 2주간 후에 마우스의 폐전이결절수를 측정

* Student's two-tailed t-test로 대조군과 비교

이어서 강한 활성을 나타낸 SCM-키틴 Ⅲ를 사용하여 마우스의 자연 폐전이에 미치는 효과에 대하여 검토하였다. 표 10에 나타난 바와 같이, 마우스의 발에 B 16-BL 6 흑색종을 이식한 후 키틴헤파리노이드를 중앙이식 국소에 투여한 다음, 중앙이식 후 21일째에 중앙 이식부위를 외과적으로 잘라내고, 그후 14일째에 폐 전이 결절수를 조사한 결과, SCM-키틴Ⅲ을 3일마다 3회 투여한 경우에 뚜렷한 전이억제 효과가 나타났지만, 1회 투여에서는 거의 억제활성

을 나타내지 않았다. 또 CM-키틴에서는 거의 저지 효과를 나타내지 않았다. 본 실험에 있어서 어떤 유도체를 투여하여도 외과적으로 제거할 때, 최초로 이식된 부위의 종양의 크기에는 차이가 없었다. 이것은 in vitro에서 키틴헤파리노이드가 암세포의 증식이나 생존율에 전혀 영향을 받지 않은 결과를 고려하면, 전이억제효과는 암세포에 대한 직접적인 작용에 의한다고 생각되지 않는다.

표 10. B 16-BL 6 세포의 피하이식에 의한 자연폐전이에 미치는 키틴헤파리노이드의 종양 내 투여 효과

종양내 투여	투여일	투여량 (μg /마우스)	이식종양 직경 (21일째)	폐전이 결절수 (35일째)	P*
			평균값 \pm SD(mm)	평균값 \pm SD (분포범위)	
대조군(PBS)		—	9 \pm 4	42 \pm 13(31~64)	
SCM-키틴III	7	200	10 \pm 3	30 \pm 8(19~41)	<0.001
	7, 10	200	10 \pm 2	13 \pm 10(1~25)	
	7, 10, 13	200	9 \pm 3	5 \pm 3(1~8)	
CM-키틴	7, 10, 13	200	10 \pm 2	30 \pm 22(10~64)	
헤파린-Na	7, 10, 13	200	10 \pm 2	18 \pm 5(12~26)	<0.001

(주) C57BL/6마우스 (5마리/군)에 암세포를 이식한 후 표에 나타낸 시기에 따라서 키틴헤파리노이드를 종양 이식부위에 투여하였다. 이식 후 21일째에 이식부위를 외과적으로 제거하였으며, 다음 2주간째에 마우스를 희생시켰다.

* Student's two-tailed t-test로 대조군과 비교

또, SCM-키틴III의 정맥내 투여에 의한 폐전이의 치료효과에 대해서도 조사하였다. 표 11에 나타난 바와 같이 종양이식 후 21일째 외과적으로 절제하기 전에 키틴헤파리노이드를 투여한 결과, SCM-키틴III의 7회의 정맥내 투여에 의해 용량의존적으로 폐전이의 억제효과가 인정되었다. S-키틴II

도 헤파린에 비해 강한 활성을 나타냈지만, CM-키틴에서는 효과가 나타나지 않았다. 또, 원발소의 외과적 절제후에 키틴헤파리노이드를 정맥내 투여한 경우의 결과를 표 12에 나타내었다. SCM-키틴III의 7회 투여로 황산화도에 비례하여 현저한 폐전이의 저지효과를 나타내었다.

표 11. B16-BL6세포의 피하이식에 의한 자연 폐전이에 미치는 키틴헤파리노이드의 치료효과

정맥내 투여	투여일	투여량 (μg /마우스)	폐전이 결절수(35일째)	P*
			평균값 \pm SD(분포범위)	
실험 I				
*대조군(PBS)		—	62 \pm 22(35~84)	
SCM-키틴III	7, 9, 16, 13, 15, 17, 19	200	4 \pm 3(0~8)	<0.001
		100	11 \pm 8(4~22)	
		50	36 \pm 26(16~71)	
S-키틴II		200	11 \pm 8(6~23)	<0.005
CM-키틴		200	41 \pm 18(25~72)	
헤파린-Na		200	19 \pm 16(8~43)	<0.01
실험 II				
대조군(PBS)		—	43 \pm 5(38~49)	
SCM-키틴III	7, 9, 11, 13, 15, 17, 19	200	9 \pm 8(0~21)	<0.001
	7, 19, 13, 16, 19	200	48 \pm 6(41~54)	
	7, 11, 15, 19	200	41 \pm 14(25~58)	

(주) C57 BL/6마우스 (5마리/군)에 암세포를 이식 후 표에 나타낸 시기에 따라서 키틴헤파리노이드를 정맥내에 투여하였다. 종양 이식 후 21일째에 이식부위를 외과적으로 제거하여 다시 2주간 후에 마우스를 희생시켰다.

* Student's two-tailed t-test로 대조군과 비교

표 12. B 16-BL 6 세포의 피하이식에 의한 자연 폐전이에 미치는 키틴헤파리노이드의 치료 효과

정맥내 투여	투여일	투여량 (μg /마우스)	폐전이 결절수(35일째)		P*
			평균값 \pm SD(분포범위)		
대조군(PBS)		-	52 \pm 10(39~65)		
SCM-키틴 I		200	62 \pm 18(14~80)		
SCM-키틴 II	22, 24, 26, 28, 30 32, 34	200	14 \pm 7(7~24)		<0.001
SCM-키틴 III		200	9 \pm 6(1~17)		<0.001
S-키틴 II		200	14 \pm 8(7~26)		<0.001
CM-키틴		200	54 \pm 22(34~88)		
SCM-키토산		200	74 \pm 7(68~83)		
헤파린-Na		200	24 \pm 7(17~34)		<0.001

(주) C57BL/6 마우스(5마리/군)에 암세포를 이식한 후 표에 표시된 시기에 따라서 키틴헤파리노이드를 정맥내에 투여하였다. 종양 이식 후, 21일째에 이식부위는 외과적으로 제거하였으며, 다시 2주간 후에 마우스를 희생시켰다.

* Student's two-tailed t-test로 대조군과 비교

6) SCM-키틴III의 암전이 억제 작용 기구

대부분의 암세포는 맥관내로 침입하여 혈소판의 응집을 유도하며, 그 결과 표적 장기(폐)의 미소관내로 암세포의 착상을 보다 안정하게 증강시키지만, SCM-키틴III의 투여는 헤파린만큼 강하지는 않았지만 확실히 폐로의 착상을 억제시켰다. 또 SCM-키틴III의 전이 억제기구는 면역계 세포(대식세포와 NK세포)의 활성화 또는 종양세포 과사인자의 유도도 기인되는 것은 아닌 것으로 밝혀졌다.

암세포는 기저막에 접촉하여 IV형 콜라겐 분해효소 등의 금속 프로테아제(metal protease)와 헤파란 가수분해효소 등의 여러 가지 매트릭스 분해효소를 생산하여 이것을 분해하고 파괴하여 다른 조직으로 이동하여 전이시킨다. SCM-키틴III은 헤파린에 비해 기저막 재구성 기질로의 암세포 침윤(intravation 혹은 extravation)을 그 황산화도에 의존하여 강하게 저해하였지만, 항전이 효과를 나타내지 않은 CM-키틴 및 N-SCM-키토산에서는 침윤의 저해효과는 없었다.

헤파린이 헤파란 분해효소의 특이적인 저해 물질인 것으로 알려졌지만, SCM-키틴III은 헤파린에 필적할만큼 강한 저해활성을 나타내었다.

한편, 기저막에 국한하여 존재하는 IV형 콜라겐의 분해활성은 SCM-키틴III에 의해 강하게 저해되었지만, 헤파린은 그 효과가 거의 나타나지 않았다. SCM-키틴III의 호소저해기구의 보다 상세한 검토가 이루어져야 할 필요가 있다. 그림 10에 SCM-키틴III의 암전이 저지활성의 작용기구에 대하여 폴리(poly, RGD)와의 비교로 나타냈지만 기저막의 주요성분인 라미닌(laminin)으로의 암세포 접촉 및 라미닌상에서의 이동능은 SCM-키틴III 및 헤파린의 존재하에서 현저하게 저해되어 확실히 침윤저지효과와 서로 밀접한 관계가 있었다. 그 억제기구는 SCM-키틴III 및 헤파린이 라미닌 분자로 가역적으로 결합하는 것에 기초를 두고 있으며, 그 결합부위는 라미닌 분자내에 존재하는 헤파린 결합 도메인(domain)일 가능성이 시사되었다.

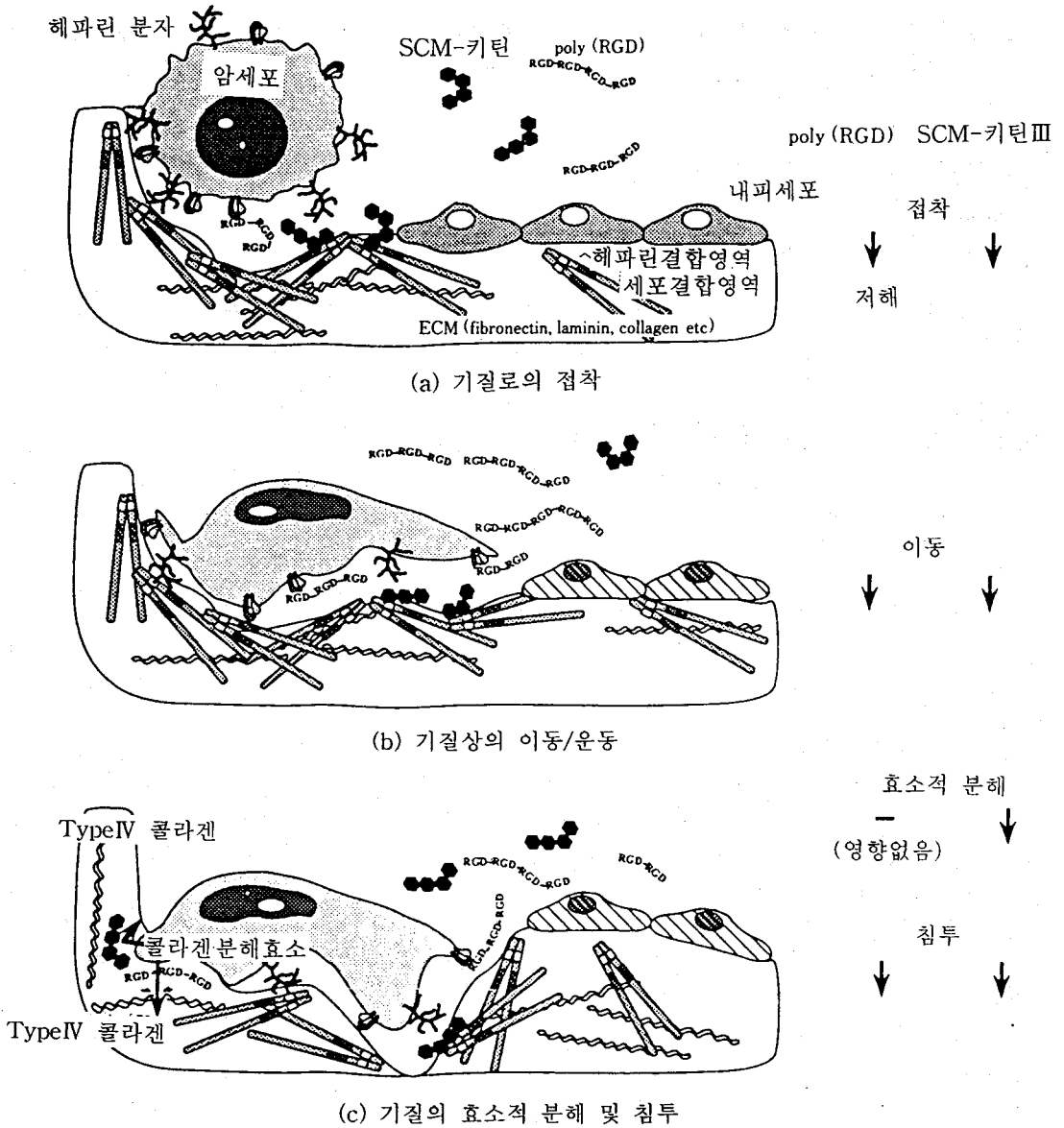


그림 10. SCM-키틴에 의한 암세포의 기저막 침투의 제어기구의 요약

종양혈관 신생은 종양 이식부위 및 전이 부위의 암세포로의 효소·영양공급 혈관으로서 작용 뿐만 아니라, 그 형성된 혈관을 통하여 당연히 전이형성으로 이어지는 것이라 생각된다. 때문에 혈관 신생의 제어는 혈행성 전이억제와 밀접하게 관계하는 것이라 생각된다. SCM-키틴III은 종양이식과 동시에 또는 이식 후 초기에 투여한 경우에

현저한 혈관 신생 억제를 나타내었다. 한편, CM-키틴 및 헤파린에서는 효과가 나타나지 않았다. 혈관 신생의 과정은 종양괴(腫瘍塊)로부터 유리한 혈관 신생인자의 자극을 받아 주변조직의 모세혈관에서 출아한 혈관 내피세포가 기저막을 파괴, 침윤하여 종양괴로의 이동과 내피세포의 증식·분화에 의한 관강형성(管腔形成) 등의 단계로

성립되어 있다. SCM-키틴Ⅲ에 의한 혈관 신생의 억제 기구는 혈관 신생시에 있어서 혈관 내피세포의 기적막으로의 침윤과 중앙 피로의 내피세포의 이동(접착주화성)을 저지하는 것으로 밝혀졌다.

이상의 결과로부터, SCM-키틴Ⅲ은 폐파란의 생리활성인 혈소판 응집, 응고계의 저해작용은 거의 나타나지 않은데도 불구하고 현저한 전이 억제효과 및 중앙 혈관 신생의 저해효과가 얻어진 점에서 그 치료 응용이 상당히 유망하다고 생각한다. 그 억제기구는 전이과정의 여러 가지 단계에서 전이성 암세포와 숙주와의 상호작용을 저해한다. 즉 접착성, 이동성, 침윤능 등의 암세포기능을 억제함으로써 전이억제로 이끌어지는 것이라 생각된다. 암세포 침윤과정에 있어서 주변조직(세포외 매트릭스 단백질)의 효소적 분해를 저해한다. 특히 IV형 콜라겐분해효소(metalloprotease계)의 효소 저해제로서 작용하는 것은 흥미로운 일이다.

7) 카르복시메틸(CM) 키틴 겔의 약물 수송계(drug delivery system)

최근 각종 재조합형 사이토카인을 유전자 공학적 기법을 이용하여 생산하여 공급할 수 있게 되었다. 이들 사이토카인과 어떤 종의 항암제 등이 생체에 투여되었을 때 투여 후의 혈중 반감기가 상당히 짧기 때문에 충분한 치료효과를 나타내기 위한 활성 발현에는 고용량을 자주 투여 할 필요가 있다고 생각한다. 그러나 이렇게 할 경우 부작용이 일어나 치료에 문제가 되고 있다.

이 문제점의 해결 방법으로서, 약물 수송계(DDS)의 개발이 요구되고 있다. 목적으로 하는 약리 활성이 증강되든가 또는 특별한 영향을 받지 않지만 부작용의 발현만을 대폭적으로 경감, 회피시키는 것이 바람직하다. 그 때문에 키틴유도체의 생체 라이소자임에 의한 생체내 분해성, 비항원성, 면역증강 활성 등의 특성에 착안하여 서방성 약물 담체로서 6-O-카르복시메틸 키틴 겔(CM-키틴 겔)의 개발과 그 유효성에 대하여 검토한 연구보고가 있다²⁹⁾.

독성이 낮은 수용성 CM-키틴은 3가 철이온의 첨가에 의해 높은 수율로 겔을 형성

하여 음과 파쇄와 교반에 의해 여러 가지의 입자경 겔이 얻어진다. 겔 형성시에 소혈청 알부민(BSA)과 항암제(adriamycin ACM과 neocarzinostatin NCS)를 철 및 칼슘이온과 공존시킴으로써 비교적 고율로 쉽게 겔내로 삼입시킬 수 있다. 이 NCS삼입 겔은 라이소자임 분해에 의해 농도 의존적으로 또는 경시적으로 붕괴되어 시험관에서 배지중에 있는 NCS를 유리시킨다. 또 NCS는 마우스의 피하에 투여한 후 1시간내에 일과성의 피크를 나타낼 정도로 빠른 소실 패턴을 나타내었으며, 24시간 후에는 검출되지 않았다. 한편, NCS삼입 키틴 겔의 경우는 수시간 후를 피크로 하는 패턴을 나타내며, 48시간 후에도 NCS가 현저하게 검출되었다.

마우스의 폐 전이성 B 16-BL 6 또는 간 전이성 L 5178 Y-ML 25세포에 의한 전이는 NCS삼입 겔을 2일마다 3회 피하 투여함으로써 현저한 억제효과를 나타내었는데, NCS 단독으로 격일로 6회 투여한 경우와 같을 정도의 효과를 나타내었다. 또 고용량의 NCS 또는 NCS삼입 겔을 사용한 치료실험에서 NCS의 투여기간 중에 부작용에 의한 사망 예가 다수 관찰되었지만 NCS삼입 겔의 경우는 발견되지 않았다.

이상의 결과는 항암제를 겔내로 삼입시킴으로써 투여회수와 투여량이 적은데도 불구하고 보다 강하고 지속적인 전이 억제효과와 부작용이 감소될 것으로 기대되었다. 또 CM-키틴 겔은 용이하게 조제할 수 있고, 생체내에서 쉽게 분해된다는 점에서 서방성 약물 담체로서 유용한 것으로 나타났다.

5. 키틴·키토산 올리고당의 면역 활성과 항종양 활성

키틴·키토산의 생리활성 중 면역능을 증강시켜 항종양활성을 검토하려는 연구가 초기에는 다당류를 그대로 마우스 복강내 투여하여 그 효과를 관찰하였지만, 키틴 및 키토산은 모두 물에 불용성이기 때문에 재현성이 있는 결과를 얻기 힘들어서 그 효과를 평가하는데 많은 어려움이 있었다. 따라서 수용성 키틴·키토산 올리고당을 제조하여 그 활성을 검토하게 되었다. 일반적으로

항암성 다당류는 산분해 등에 의해서 분자량이 감소될 경우, 예외없이 활성을 잃어버리기 때문에 이들 키틴 키토산 올리고당도

다른 대부분의 다당류와 같은 현상이 일어날 것으로 예상 되어 면역활성의 발현을 기대하지 못하였다.

표 13. NACOS와 COS의 성장 저해효과

시 료	투 여 량 (mg/kg)	종양세포 무게(g)	저해율 (%)	P ^e
실험 1 ^a				
대조구	—	3.51 ± 1.00 ^d	0	
렌티난	10 × 1	0.98 ± 0.44	72	<0.05
NACOS-6	100 × 3	0.53 ± 0.30	85	<0.01
	100 × 5	0.00 ± 0.00	100	<0.01
COS-6	100 × 3	0.23 ± 0.18	93	<0.01
	100 × 5	0.00 ± 0.00	100	<0.01
실험 2 ^b				
대조구	—	3.96 ± 0.53	0	—
렌티난	10 × 1	1.65 ± 0.35	58	<0.05
NACOS-6	100 × 3	0.68 ± 0.17	83	<0.01
COS-6	100 × 5	1.80 ± 0.40	55	<0.05
실험 3 ^c				
대조구		9.5 ± 0.4		
NACOS-6	10	5.3 ± 0.8	44	<0.01
NACOS-5	10	8.3 ± 0.4	12	—
COS-6	10	5.6 ± 1.0	41	<0.01
COS-5	10	9.6 ± 0.3	—	—

a 육종 180 고행종양을 ddY 마우스에 정맥주입

b MM 46 고행종양을 C3H/He 마우스에 정맥주입

c Meth A 고행종양을 BALB/c 마우스에 정맥주입

d 평균 ± 표준편차

e 대조구와의 비교

그러나 Suzuki 등³⁰⁾은 키틴 및 키토산을 저분자화하여 이형적(allogeneic) 마우스에 이식한 육종 180 고행 종양계를 이용하여 항암성을 검토한 결과, 표 13에서와 같이 NACOS-6과 COS-6에서 상당히 강력한 종양증식 억제효과를 볼 수 있었는데, 이것은 렌티난(lentinan)이 10mg/kg/day의 투여로 약 72%의 저해효과를 나타낸 것에 비해, NACOS-6은 100mg/kg/day로 3회 투여하여 약 85%의 효과를, 그리고 COS-6은 같은 양의 투여로 약 93%의 효과를 얻었다.

그리고 이들 두 올리고당의 투여횟수를

5번으로 늘리면 모든 마우스에서 종양은 완전히 억제되었고, 또한 동계간(syngeneic) 종양계로서 C3H/He계 마우스에 이식한 MM 46 고행종양에서는 NACOS-6만이 강력한 항종양 활성을 나타낸다고 하였다. Tokoro 등³⁾은 또 다른 동계간(syngeneic) 마우스 종양계로서 BALB/c 마우스에 이식한 Meth-A 고행종양에서 NACOS-6과 COS-6에서 각각 44% 및 41%의 효과적인 항종양 활성을 나타내었으나, 이들보다 분자량이 조금 더 낮은 NACOS-5와 COS-5에서는 종양 억제활성은 거의 없는 것으로 보고하였다(표 14).

Tsukada 등³¹⁾은 NACOS-6이 C57BL/6 마우스에 이식한 Lewis lung carcinoma(LLC)에 대하여 전이 억제효과 뿐만 아니라 폐암의 증식을 저해하는 효과가 있는 것으로 보고하였다. 즉, 종양을 이식한 후 6일째에 NACOS-6(1mg/kg)을 생체내로 1회 주입하였을 때 폐전이 억제효과가 약 50%로 렌티난(2.5mg/kg)보다 높은 활성을 보였고, 또한 LLC종양에 대하여 NACOS를 0.1~

10mg/kg 범위로 1회 주입하였을 때 항종양 활성은 약 14~22%로서 2.5mg/kg을 주입한 렌티난보다 다소 약한 활성을 보였다(표 14). 그러나 NACOS-6은 암의 치료에 있어서 가장 문제가 되고 있는 다른 조직으로의 암전이를 억제함과 동시에 암의 증식도 억제하는 효과가 있어 암치료에 활용이 기대되고 있다.

표 14. C57BL/6 마우스에서 루이스 폐 칼시노마 종양의 폐전이와 성장에 대한 NACOS-6의 효과

시 료 ^b	투 여 량 (/kg)	종양의 전이억제 효과		항종양 효과	
		폐암 소결체의 개수 ^c	저 해 율 (%)	종양세포 무게 ^e (g)	저해율 (%)
대조구		131.8±20.9 ^d		8.22±0.39 ^d	
NACOS-6	100mg	94.1±5.1	28.6	7.05±0.62	14.3
	10mg	92.0±9.3	30.2	6.80±0.34	17.3
	1mg	61.3±5.1	53.5	6.42±0.51	22.0
렌티난	2.5mg	97.9±7.6	25.7	6.18±0.34	24.8

a 마우스에 5×10^5 의 루이스 폐 칼시노마 세포 주입

b 종양 이식 후 6일째에 NACOS-6와 렌티난을 정맥 주입

c 폐암 소결체의 개수는 종양 이식 후 21일째에 측정

d 평균±표준편차

e 종양 무게는 종양 이식 후 21일째에 측정

한편, NACOS-6는 종양세포에 대하여 직접적으로 살균작용이나 항종양작용을 나타내는 것이 아니기 때문에 NACOS-6은 마우스의 면역계에 의한 면역부활 혹은 면역증강작용으로 인하여 그 효과가 발현되는 것으로 볼 수 있다. Suzuki³²⁾와 Tokoro 등³³⁾은 대식세포, 림프구 및 사이토카인이 상호 관련하고 있는 면역계에서의 종양억제 반응에 관하여 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

① IL-1 및 IL-2의 활성화에 미치는 효과

BALB/c 마우스의 복강내에 카제인을 투여하여 얻은 대식세포에 NACOS와 COS를

첨가하였을 때, NACOS-6이 흉선세포로의 ^3H -TdR 용합을 가장 높게 촉진하였다. 그러나 이들 올리고당은 직접 흉선세포에 대하여 ^3H -TdR의 용합에 영향을 미치지 않기 때문에 마이토젠 활성을 보이지 않았고, 대식세포에 작용하여 IL-1생산을 통하여 임파구를 활성화하는 것으로 생각된다.

한편, Meth-A 종양이식 마우스에서의 IL-2에 대해서는 NACOS-6 및 COS-6 투여로 마우스의 IL-2 생산량은 미처리 대조군과 비교하여 매우 유의적으로 높게 나타났으므로(표 15), 이들 올리고당에 의해서 활성화된 IL-1 및 IL-2의 관여가 시사되고 있다.

표 15. 인터루킨 1 및 2의 활성화에 대한 NACOS와 COS의 효과

시 료	투여량 (mg/ml)	3H-TdR 결합 ^a	비 율	P ^b
실험 I				
대조구		2125.9 ± 122.6	1.0	
NACOS-6	0.01	2210.3 ± 167.4	1.0	NS
	0.1	8339.6 ± 234.0	3.9	<0.001
	1.0	9403.9 ± 415.6	4.4	<0.001
NACOS-5	1.0	4822.9 ± 237.2	2.3	<0.001
COS-6	1.0	6069.8 ± 134.9	2.9	<0.001
COS-5	1.0	2395.7 ± 257.5	1.1	NS
실험 II				
대조구		292.7 ± 81.9	1.0	
NACOS-6	10.0	794.5 ± 110.7	2.7	<0.05
NACOS-5	10.0	279.9 ± 66.1	0.9	NS
COS-6	10.0	487.5 ± 81.7	1.7	<0.05

a M평균 ± 표준편차; b 대조구와의 비교

② 종양세포 장해성(障害性)에 대한 효과

NACOS-6 및 COS-6 투여한 Meth-A 종양 이식 마우스의 비장 T 세포를 이용하여 in vitro로 종양세포에 대한 장해활성을 조사한 결과, 표 16에서와 같이 이들 율리 고당은 대조군에 비하여 비장 T 세포에 약 2.5~3배의 장해성을 종양세포에 미치는 것으로 나타났다.

표 16. 종양 마우스에서 비장 T 림포사이트의 종양괴사 활성화에 대한 NACOS-6의 효과

시 료	투여량 (mg/ml)	세포 괴사비율 (%) ^a	P ^b
대조구		12.2 ± 2.1	
NACOS-6	10	29.9 ± 2.4	<0.05

a 평균 ± 표준편차; b 대조구와의 비교

③ 대식세포의 활성화인자가 활성화에 미치는 영향

NACOS-6를 투여한 마우스 비장 T 임파구의 배양상층액을 대식세포에 첨가하여 대식세포 활성화능을 검토한 결과, 그림 10에 나타난 바와 같이 NACOS-6 상층액을 첨가한 대식세포는 정상 마우스 비장 T 임

파구의 배양상층액보다도 약 1.6배 H₂O₂ 생산량의 증가를 보여, NACOS-6의 투여로 얻어진 T 임파구의 배양상층액 중에는 MAF가 함유되어 있다는 사실을 보여주는 것이다.

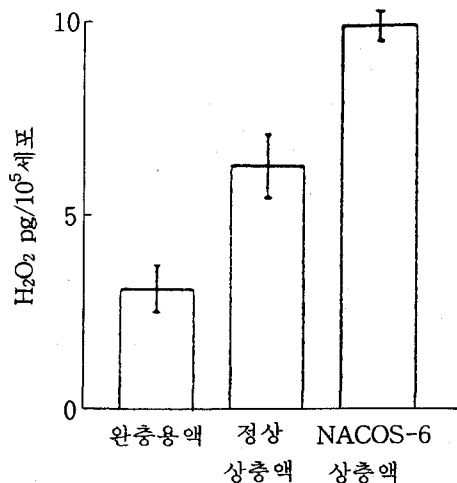


그림 11. 대식세포 활성화 인자에 대한 NACOS-6의 효과

④ 지연형 과민증 반응에 미치는 효과
DTH 반응은 Meth-A 종양세포, 양적혈구(sheep red blood cells : SRBC)를 항원으로 마우스의 foot-pad test로 측정한 결과, 그림 11에 나타난바와 같이 모두 대조군에 비하여 foot-pad swelling이 현저하게 저하하였으며, NACOS-6 및 COS-6는 미처리

대조군에 비하여 약 2배 가량 강한 활성을 보였다. 그러나 NACOS-5는 전혀 활성이 나타나지 않았다. NACOS-6 및 COS-6가 투여된 종양 마우스에 나타난 DTH 반응은 정상 마우스보다도 훨씬 더 높기 때문에 이들 올리고당이 DHT 반응을 증가시킬 수 있다는 것이 증명된 것이다.

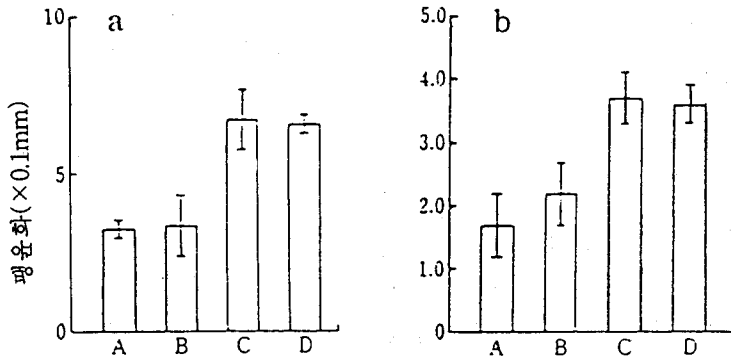


그림 12. 종양 마우스에서 Meth-A 및 SRBC에 대한 지연형 과민증반응에 대한 NACOS와 COS의 효과

이상과 같은 결과에 의하면, NACOS-6은 IL-1과 IL-2를 유발하여 림프구의 응답성을 높여서 세포장해성 T 세포와 대식세포의 종양세포 장해성을 활성화함으로써

면역작용을 증강하여 체내에서의 종양세포의 증식과 전이를 억제할 수 있는 것으로 보이며, 이에 대한 종합적인 면역계에서의 작용들을 그림 12에 나타내었다.

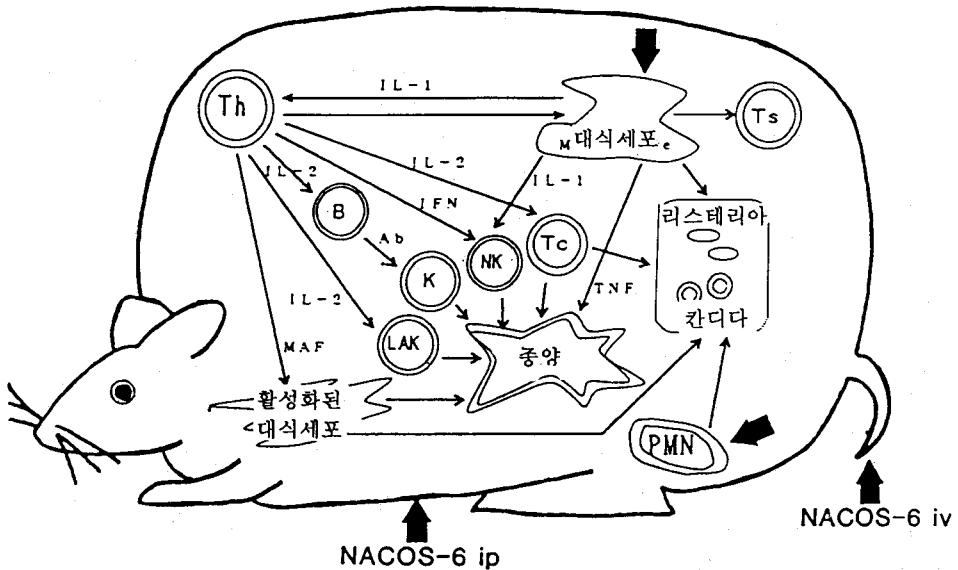


그림 13. NACOS-6의 면역증강작용에 대한 반응 메카니즘

6. 고분자 키틴질의 약물수송으로의 응용

여기서는 Sujuki 등³⁰⁾의 키틴, 키토산의 약물수송에서의 응용가능성을 탐색하기 위해 시도하였던 기초연구의 결과를 소개한다.

1) 고분자 약물 전구체(Prodrug)의 담체로서의 이용

키틴, 키토산 및 6-카르복시메틸(CM)-키틴은 반응성 관능기로서 각각 분자내에

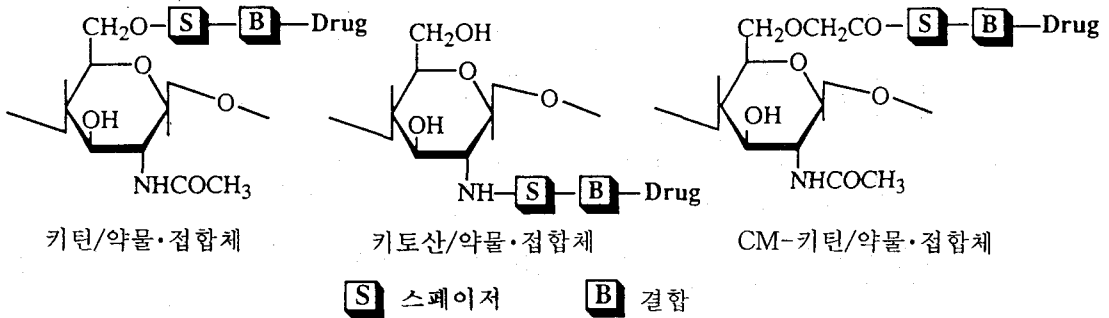


그림 14. 키틴, 키토산 또는 CM-키틴/약물·접합체의 구조

생분해성 다당인 키틴, 키토산을 담체로 한 접합체(conjugate)로부터의 약물의 방출 패턴으로서는 ① 먼저 주사슬이 개열하여 올리고당/약물·접합체를 생성하여 그것으로부터 친약물이 방출되는 경우와, ② 최초로 접합체로부터 약물 그것을 방출시켜 그 후에 주사슬의 다당이 분해되는 경우로 분류할 수 있다. CM-키틴이 라이소자임(lysozyme) 감수성이 강한 것을 이용하여 戶倉 등은 전자의 패턴에 의한 약물방출을 의도한 CM-키틴/디펩티드/모델약물·접합체를 분자설계하여 약물의 2단계 방출이 가능한 결과를 얻었다. 후자의 패턴에 의한 약물방출은 생분해성 고분자를 담체로 한 접합체에 있어서 일반적으로 고려된 것이며, 약물을 방출한 후 담체는 천천히 분해되어 체내에 축적되지 않는 것을 특징으로 한 것이다. 후자에 속하는 접합체 연구로서는 기초수준의 것이 많이 보고되어 있지만^{35~37)} Ohya 등³⁰⁾에 의해 최근 보고된 내용을 중심으로 아래에 간단히 소개한다.

메티롤기, 아미노기, 카르복실기를 갖고 있기 때문에 이들을 이용하여 고분자반응을 행하여 키틴, 키토산 또는 CM-키틴/약물·접합체를 얻을 수 있다. 이것을 고분자 약물전구체로서 약효를 발현시키기 위해서는 투여 후 반드시 접합체(conjugate)로부터 친약물 형으로 방출시키도록 분자설계를 해야 한다. 그를 위해서는 스페이저(spacer)의 종류와 결합양식의 선택이 필요하다(그림 14).

강한 부작용이 임상실험에서 문제가 되고 있는 5-플루오로우라실(5FU)과 아드리아마이신(adriamycin; ADR)을 Ouchi 등³⁰⁾은 키틴, 키토산, CM-키틴 등에 결합시킨 접합체를 합성하여 P388 종양세포를 복강내(i.p.)에 이식한 암 마우스에 이들 접합체를 복강내에 투여하여 무처리군에 대한 처리군의 생존일수의 비를 구하여 생명연장 비율로서 평가하였다. 동결의 5FU의 경우에는 투여량이 일정값을 초월하면 그 독성 때문에 연명효과가 급속히 저하하는 것에 대해 키틴/우레탄/C₆/요소/5FU, 키토산/요소/C₆/요소/5FU, CM-키틴/아미드/C₅/에스테르/C₁/5FU·접합체의 경우에는 높은 투여량에도 생명연장 비율이 상승하였고, 또 마우스의 급격한 체중감소도 일어나지 않았지만, 접합체화라는 수단으로 5FU의 서방효과가 나타나 부작용이 경감하는 것으로 밝혀졌다. 또 CM-키틴을 담체로 하는 접합체는 미반응 CM이 잔존하기 때문에 수용성이 상당히 높아 주사용 접합체재로서 임상적으

로 응용될 가능성이 높다.

MH 134 Y-종양세포 또는 Meth-A 종양 세포를 피하 이식한 암 마우스에 대해 접합체를 정맥 투여하여 이들 고형 종양에 대한 증식 억제효과를 조사했지만 키토산 또는 올리고키토산/요소/C₆/요소/5FU·접합체는 5FU, 키토산 및 이들 혼합물보다도 높은 증식 억제효과를 나타내는 것이 발견되었다. Sujuki 등³⁸도 N-아세틸키토 올리고당(NACOS)/마이토마이신·접합체에 의한 암 마우스의 제암효과에 대하여 검토하여 이 접합체가 MH 134 Y에 대하여 높은 종양 증식 억제효과를 나타내는 것을 발견하였다. 그 이유로서 종양세포에 대한 NACOS의 높은 특이적 친화성을 들 수 있다.

고분자 약물전구체로부터 약물이 방출되어 표적세포내로 도달하는 경로에는 세포외에서 가수분해를 받아 약물을 방출시킨 후 확산에 의해 세포내로 진입하는 패턴과 접합체의 형태로 세포내 이입(endocytosis)에 의해 세포내로 흡수된 후 라이소좀내에서 가수분해를 받아서 약물이 세포질 중으로 방출시키는 패턴이 있다. Ohya 등³⁹은 후자의 라이소좀의 작용에 착안하여 이 라이소좀 중에 존재하는 효소에 의해 선택적으로 개열을 받도록 스페이저를 사용하여 CM-키틴에 ADR를 결합한 라이소좀 지향성 고분자 약물전구체의 분자설계에 대하여 검토를 하고 있다. 즉 라이소좀 효소감수성의 테트라펩티드 Gly-Phe-Leu-Gly를 스페이저로서 사용한 CM-키틴/Gly-Phe-Leu-Gly/ADR·접합체를 합성하여 in vitro에서의 ADR 방출거동과 in vivo에 있어서 제암활성을 조사한 경우, 이 접합체는 라이소좀 효소 감수성의 약물방출형이며 종양 마우스에 대해 높은 연명효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다.

2) 매립형 DDS용 담체로서의 이용

매립형 DDS로서는 침, 환약(pellet), 정제 등 여러 가지 형태가 설계되고 있지만, 보통은 약물과 고분자 물질과의 복합체 형성

물로서 사용되어 약물의 장기 서방화(徐放化)를 목표로 하여 만들어진다.

Tsubura 등²⁰은 CM-키틴을 Fe(III)이온으로 가교시킴으로써 하이드로겔을 형성하여 이 겔에 매립시켜 제암제의 서방화를 달성하였다. 또 최근 Kyotani 등³⁹은 제암활성은 높지만 또 동시에 부작용이 특히 강한 것으로 알려진 항암제인 시스플라틴(CDDP)에 착안하여 부분 탈아세틸화 키틴과 CDDP와의 결합체(플라키틴)를 성형물로서 암 동물에 매립시켜 서방효과와 제암활성에 대하여 검토한 결과, 3개월 이상에 걸쳐 장기 서방화가 달성되어 현독성(賢毒性)을 중심으로 한 부작용이 경감하여 CDDP가 갖는 제암활성을 유지시키는 것으로 밝혀졌다.

또 이 플라키틴은 부분 탈아세틸화 키틴의 아미노기와 CDDP중의 크롤기와 반응하여 공유결합으로 결합되어 있지만, 그 구조와 상세함은 확실히 밝혀지지 않았다.

3) 약물수송용 담체로서의 키토산·미크로스퀘어(microspher)의 이용

키토산·미크로스퀘어를 DDS용 담체로서 사용하려는 시도는 많이 행해져 왔지만, 여기서는 최근 Ohya 등⁴⁰에 의해 검토된 약물수송용 미크로스퀘어의 중심부로서의 키토산·겔·미크로스퀘어의 이용에 대하여 간단히 기술한다.

W/O에 멸존법과 초음파법을 병용함으로써 키토산을 글루타르알데히드로 가교한 입자지름이 0.3 μ m인 키토산·겔·미크로스퀘어(MS(CM))를 조제하여 이것을 중심부 물질로서 5FU와 5FU의 아미노 유도체를 함유 또는 공유결합으로 고정시켜 다당 또는 지질로 피복한 미크로스퀘어의 형태로 설계를 검토할 경우, 지질의 상전이 현상을 이용하는 데 약물 방출의 on-off제어가 가능하게 되어 피복다당 또는 당지질의 종류를 선택함으로써 MS(CM)에 세포인식능을 부여할 수 있는 시험관 실험에 의해 알 수 있었다.

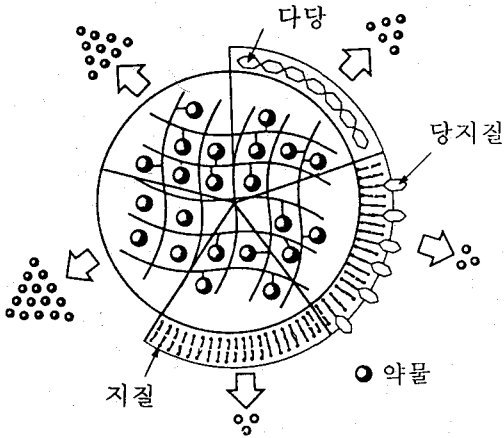


그림 15. MS(CM)을 중심부 물질로 한 각종 마이크로 웨어로부터 동결 5FU의 방출

맺음말

이상과 같이 키틴·키토산 및 그 올리고당의 여러 가지 생리활성 중 항균작용, 고혈압 조절작용, 콜레스테롤 개선작용 및 항암작용에 대해서 살펴보았다. 키토산은 항균효과가 우수하며, 탈아세틸화도가 높을수록 그 활성도가 증가하는 것으로 보아 키토산에 함유되어 있는 유리 아미노기가 작용기로서의 역할을 수행하고 있음을 알 수 있었다. 그러나 키토산의 항균력은 그 자체의 고분자일 때보다 적당한 크기의 분자량으로 되었을 때 높은 활성을 보였다.

또한, 키토산은 고분자로서 이용될 때에는 체내에 흡수되지 않고 배출되는식이섬유로서 작용한다. 이러한 성질에 의해서 식염중고혈압을 일으키는 Cl^- 가 혈압에 직접적으로 관여하고 있는 물질이라는 사실을 알 수 있었으며, 따라서 키토산을 이용함으로써 고혈압을 조절하는 것이 가능하였고, 또한 체내의 콜레스테롤값도 개선할 수 있다.

항종양 활성은 면역작용을 부활 내지는 증강시킴으로써 활성화되어 발현되는 메카니즘을 따르고 있다. 키틴을 탈아세틸화함

으로써 항종양 활성이 증가되는 것으로 보아 유리 아미노기가 항종양 활성 발현에 중요한 작용기로서 역할을 담당하고 있는 것으로 시사되었다. 그리고 황산화된 CM-키틴은 황산화가 높을수록 폐암의 증식과 전이를 억제시키는 것으로 보아 암전이 예방을 위한 물질로서의 이용이 기대된다. 한편, 다른 다당류와는 달리 키틴 키토산의 올리고당이 렌티난과 거의 유사한 항종양 활성을 유지하였으므로 체내흡수가 유리해 효과적으로 작용할 수 있을 것이다. 그러나 이들 키틴 키토산 및 그 유도체와 올리고당의 항종양 활성에도 불구하고 대부분 실험적인 증거들이 정맥내 주사에 의한 것이어서 의약품으로서 이용하기 위해서는 반드시 인체의 유해성 여부를 검증할 필요가 있다.

키틴 키토산 및 그 올리고당은 현재까지 여러 분야에서 이용되고 있으며, 최근에는 생리활성 물질로서 이용하기 위한 기초연구들이 크게 증가하고 있는 실정이다. 특히, 현재까지도 불치의 병으로 남아 있는 암을 화학요법이 아닌 면역요법으로서 극복할 수 있는 기능성들이 이들 물질에서 기대되므로 다가오는 21세기에는 의약품 분야에서도 활용될 것으로 기대된다.

참고 문헌

1. 平野茂博, 纖維學會誌, 42, 226(1986).
2. 内田, 月刊フードケミカル, No.2, 22 (1988).
3. Tokoro, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T., Suzuki, S. and Suzuki, M., Chem. Pharm. Bull., 36, 784(1988).
4. Kendra, D. F. and Hadwiger, L. A., Exp. Mycol., 8, 276(1984).
5. Maezaki, Y. Tsuji, K., Nakagawa, Y., Kawai, Y., Akimoto, M., Tsugita, T., Takekawa, W., Terada, A., Hara, H. and Mitsuoka, T., Biosci. Biotech. Biochem., 57, 1439(1993).
6. 奥田拓道, 月刊フードケミカル, No.2, 33 (1995).
7. Allan, C. R. and Hadwiger, L. A., Exp. Mycol., 3, 285(1979).

8. St ssel, P. and Leuba, J. L., *Phytopath. Z.*, 111, 82(1984).
 9. 内田 泰, キチン・キトサンハンドブック, p. 302, 技報堂出版(1995).
 10. 井爪正人, キチン・キトサンハンドブック, p. 307, 技報堂出版(1995).
 11. 조학래, 동의공업전문대학 논문집 제19집, 12, 133(1993).
 12. 馬場由成, 山下 勉, 内田 泰, 4級化キトサン誘導 の真菌類對する抗衛特性, p. 35, 化學工學會第58年會(1993).
 13. Dahl, L. K. and Love, R. A., *Arch. Int. Med.*, 94, 525(1954).
 14. Kurtz, T. W., Al-Bander, H. A. and Morris, R. C. Jr., *N. E. J. Med.*, 317, 1043 (1987).
 15. Kaup, M. S., Greger, L. J., Marcus, S. K. M. and Lewis, M. N., *J. Nutr.*, 121, 330 (1991).
 16. 加藤秀夫, キチン・キトサン健康讀本1, No. 2, 46(1995).
 17. Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsujii, Y., Nakashima, K., Fukuda, N. and Hasegawa, Y., *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 787 (1980).
 18. Maezaki, Y., Tsuji, K., Nakagawa, W., Terada, Y., Akimoto, M., Tsugita, T., Takekawa, W., Terada, A., Hara, H. and Mitsuoka, T., *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 1439(1993).
 19. 東 市郎: 學細 學, 第3卷, p.271, 葉根出版(1988)
 20. Nishimura, K., S. Tokura, I. Azuma : *Vaccine*, 3, 379(1985)
 21. Nishimura, K., C. Ishihara, S. Ukei : *Vaccine*, 4, 151(1986)
 22. Iida, J., T. Une, C. Ishihara : *Vaccine*, 5, 270(1987)
 23. Nishimura, K., S. Nishimura, H. Seo, N. Nishi : *Vaccine*, 5, 136(1987)
 24. Terranova, V. P., J.E. Williams, G. R. Martin : *Science*, 226, 982(1984)
 25. Nakajima, M., T. Irimura, G. L. Nicolson : *J. Biol. Chem.*, 59, 2283(1984)
 26. Tsubura, E., Y. Yamashita, M. Kobayashi, J. Isobe : *GANN Monogr. Cancer Res.*, 20, 147(1977)
 27. Irimura, T., M. Nakajima, G. L. Nicolson : *Biochem*, 25, 5322(1986)
 28. Saiki, I., J. Murata, M. Nakajima, I. Azuma : *Cancer Res.*, 50, 3631(1990)
 29. Watanabe, K., I. Saiki, Y. Matsumoto, I. Azuma : *Carbohydrate polymer*, 17, 29 (1992)
 30. Suzuki, K., T. Mikami, Y. Okawa, A. Tokoro : *Carbohydr. Res.*, 151, 403(1986)
 31. Tsukada, K., Matsumoto, T. Aizawa, K. Tokoro, A. Naruse : *Jpn. J. Cancer Res.*, 81, 259~265(1990)
 32. Suzuki, S., : *Fragrance, J.*, 15, 61(1996)
 33. Tokoro, A., Kobayashi, M. Tatewaki, N. Suzuki : *Microbiol. Immunol.*, 33, 357 (1989)
 34. Sujuki. S., T. Ouchi., T. Matsumoto : *J. Macromol. Sci. Chem.*, A82, 959(1991)
 35. Song. Y., H. Onishi, T. Nagai : *Biol. Pharm. Bull.*, 16, 48(1993)
 36. Ohya., Y., K.Inosaka., J. Ouchi : *Chem. Pharm Bull.*, 40, 599(1992)
 37. Ohya, Y., K. Nonomura., K., Hirai, T. Ouchi : *Macromol. Chem. Phy.*, 195, 2839 (1994)
 38. 紺野由起子, 三上健, 松本達二, 鈴木茂生 : 第6回キチン キトサン シンポジウム講演要旨集 p.25(1992).
 39. Kyotani, S., Nishioka, M. Okamura, M. Miyazaki : *Chem. Pharm. Bull.*, 40, 2814 (1992)
 40. Ohya, Y., T. Takei, H. Kobayashi, T. Ouchi : *J. Microencap.*, 10, 1(1993)
- (한국키티킨토산연구회 가입을 원하는 분은 전화 (051)620-6375(김세권)로 연락주시시오)