

표고버섯 균사체로부터 추출한 단백다당체의 항암효과

이병우 · 박기문*

백광 C&S

*성균관대학교 식품생명자원학과

Anti-tumor Activity of Protein-bound Polysaccharides Extracted from Mycelia of *Lentinus edodes*

Byung-Woo Lee and Ki-Moon Park*

Pack Kwang C&S

*Department of Food and Life Science, SungKyunKwan University

Abstract

Protein-bound polysaccharides (PBP) were extracted from the mycellia of *Lentinus edodes* SR-1, and their anti-tumor activities and immunopotentiating properties were observed. The amounts of PBP needed to extend the doubling time twofold (1 unit) were found to be 1 mg for mouse leukemic cells P₃₈₈ and L₁₂₁₀; 4.4, 3.6 and 6.6 for bowel cancer cells, HCT-48, HRT-18, HT-29 respectively; and 2.6 mg for liver cancer cell, Hep G2. When P₃₈₈ and L₁₂₁₀ were treated with 4 mg of PBP, more than 90% of the cell number were reduced in 48 hours. However, 9 mg of PBP and 72 hrs of incubation time were needed to obtain the same effect for HRT-18, HT-29, and Hep G2. The significant reduction of cell size was observed as the amount of PBP and the incubation time increased. Mice spleen weight and plaque forming cell number increased when the cancer cells were treated with PBP.

Key words: *Lentinus edodes*, protein-bound polysaccharides, anti-tumor activity, immunopotentiating property, plaque forming cell

서 론

버섯류의 생리활성작용에 관하여 많은 연구가 보고되고 있으며 그 중 *Lentinus edodes*^(1,2), *Coriolus versicolor*^(3,4), *Ganoder malucidum*⁽⁵⁾, *Lepiota procera*⁽⁶⁾, *Grifola frondosa*⁽⁷⁾, *Lyophyllum umulmarium*⁽⁸⁾, *Ganderma applanatum*⁽⁹⁾, *Pleurotus ostreatus*⁽¹⁰⁾ 등으로부터 분리한 단백다당체(protein-bound polysaccharide, PBP)가 항암효과를 보이는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 PBP는 종양세포에 직접 작용하여 항암효과를 나타내는 것보다, 면역계의 host mediated 면역반응에 관여하여 면역기능을 회복시켜 주거나, 생체내에서 감염방어 등의 면역기능을 나타내는 보체계를 활성화시킨다고 알려져있다⁽¹¹⁾. 특히 생체방어 작용중 macro phage

를 활성화시켜 이물질에 대한 탐식기능을 증진시키고, 종양세포에 대하여 독성을 나타내는 것으로 보고되어 있다⁽¹²⁾. 표고버섯에 존재하는 PBP는 인터페론생성을 촉진하는 물질이 종양에 대한 생체 고유의 방어력을 높여줌으로서 간접적으로 종양세포의 증식을 저해하거나⁽¹³⁾, 암세포나 병원성균을 직접 사멸시키는 중요한 역할을 담당하는 대식세포의 수를 증가시키는 것으로 알려져 있다⁽¹⁴⁾. 이러한 항암효과를 나타내는 고분자 PBP는 자실체 보다는 균사체(mycelium)에 다량 함유되어 있으며, 이 물질이 바이러스성 질병에 스스로 방어하고 인터페론과 같은 항체생성을 촉진하는 것으로 보고하고 있다⁽¹⁵⁾.

표고버섯으로부터 PBP를 생산하기 위한 균사체의 액체배양과 균사체로부터 PBP의 추출방법은 전보^(16,17)에 보고하였고 이 외에 표고버섯의 항암효과에 대한 연구가 국내에서도 일부 진행되어 왔다^(18,19). 그러나, 이러한 항암활성을 가지는 PBP중 한국산 표고버섯 균사체에 대한 연구가 아직은 부족하기 때문에 본 연

Corresponding author: Ki-Moon Park, Department of Dairy Science and Technology, SungKyunKwan University, 300 Chunchun-dong, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do 440-746, Korea

구에서는 한국산 표고버섯을 액체배양하여 얻어진 균사체로부터 추출, 정제한 PBP를 사용하여 *in vivo* 및 *in vitro* 방법으로 암세포에 대한 생육저해효과와 면역관련 장기의 증량변화를 통한 면역성 증가 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

PBP는 표고버섯 산련 1호(*Lentinus edodes* SR-1) 균주를 액체배양하여 균사체를 배양한 후 전보에 따라 PBP를 분리, 정제하여 사용하였다. PBP의 항암실험에 사용한 암세포는 항암제 screening에 이용하고 있는 세포중 mouse leukemic cells인 P₃₈₈과 L₁₂₁₀, 그리고 인체 장암세포인 HRT-18, HT-29 및 HCT-48, 인체의 간암세포인 Hep G2, 흰 생쥐의 육종암 세포인 sarcoma-180 (이하 S-180)세포를 사용하였으며, 실험동물은 ICR mice와 C57 BL/6J mice를 사용하였다.

암세포 배양

Mouse leukemic cells인 P₃₈₈과 L₁₂₁₀의 경우 Fischer's medium⁽²⁰⁾을 사용하여 Fischer와 Sartorelli법⁽²¹⁾에 의하여 배양하였고 인체의 암세포인 HRT-18, HCT-48 및 HT-29는 Dulbec-co's modified Eagle medium (이하 DMEM)을⁽²²⁾ 이용하여 단층으로 배양하였으며, Hep-G2는 10% fetal bovine serum이 함유된 DMEM배지로 배양하였다. 또 S-180 암세포는 ICR mice의 복강내에 1주일 간격으로 계대 이식하였으며 암세포의 배수시간 측정은 배양시간에 따라 증가된 각각의 암세포 수를 반 대수그래프에 증식곡선을 작성하여 세포수가 2배로 증식되는데 소요되는 시간, 즉, 배수시간을 산출했다⁽²³⁾.

암세포 증식 억제효과 측정

Mouse leukemic cells의 경우에는 PBP가 농도별로 함유된 Fisher's medium에 암세포를 첨가한 후 37°C에서 배양하면서 배양시간별, PBP 농도별 등 각군의 세포수를 coulter counter (ZBI, USA)로 측정하였고, 인체 암세포는 35 mm petri dish에 이식한 후 24시간 배양하여 세포수가 약 5×10^4 cells/dish로 되었을 때, 추출물 농도별로 함유된 새로운 DMEM 배양액으로 교체한 다음 CO₂ 항온기에서 배양하면서 배양시간별, PBP의 농도별에 따른 각군의 세포수를 측정하였다. 또 암세포 증식 억제효과를 비교하기 위하여 24시간 배양시 대조군에 대해 실험군의 배수시간을 2배로 연

장시키는데 소요되는 배양액 mL당 함유된 PBP의 건조중량을 생육저해단위(unit)로 하였다⁽²⁴⁾. 암세포 크기의 분포도 조사는 표준물질로 직경 9.50 μ m의 latex를 사용하여 P₃₈₈과 L₁₂₁₀ 암세포의 경우 PBP를 첨가하여 배양하면서 24시간부터 48시간까지, HCT-48과 Hep G2 암세포는 24시간부터 72시간까지 암세포의 크기 분포에 미치는 영향을 coulter counter의 부속기기인 1P-64 size distribution analyser 및 X-Y recorder를 사용하여 측정하였다⁽²⁵⁾.

면역기전 관련 장기 증량변화

면역기전에 관련된 장기증량 변화^(26,27)를 측정하고자 ICR mice 30마리를 10마리씩 3개군으로 나누고 제1군은 대조군으로서, 제2군은 S-180 실험군으로서 생리식염수를 10일간 복강내로 투여한 뒤 S-180세포를 피하에 접종하여 암을 유발시킨 후 생리식염수를 다시 10일간 복강내로 투여하였다. 제3군은 PBP 실험군으로서 PBP를 마리당 2 mg씩 복강내로 10일간 투여한 뒤 S-180을 피하에 접종하여 암을 유발시킨 다음, PBP를 10일간 같은 경로로 투여한 후 체중, liver, spleen 무게 및 thymus 무게 변화를 측정하였다.

용혈반 형성에 미치는 영향 측정

C57BL/6J mice 10마리를 5마리씩 대조군과 실험군으로 나누고 제1군(대조군)에는 무처리하고, 제2군에는 PBP를 복강내로 5일간 투여하였다. 6일째 면양적 혈구(5×10^8 cells/head)로 2개군 모두 감작시킨 다음, 5일 후 비장을 적출하여 splenocyte를 얻었다. 그리고 비장세포, 0.5% agar 용액, 면양 적혈구, ginea complement를 혼합한 dish위에 cover glass로 덮어 얇은 막을 형성시킨 후 CO₂ incubator에서 1시간 incubation하여 형성된 용혈반의 숫자를 측정하였다⁽²⁸⁾.

결과 및 고찰

Lentinus edodes SR-1에서 추출한 PBP의 암세포 성장에 미치는 영향

P₃₈₈의 성장억제: PBP를 농도별로 첨가한 배양액에서 배양한 P₃₈₈ 세포의 증식억제 효과는 Fig. 1과 같다. 출발 세포수 1.8×10^4 cells/mL에서 24시간 및 48시간 배양시, control은 7×10^4 및 2.7×10^5 cells/mL로 증식되었고, 배양액 mL당 PBP 1 mg 첨가군은 24시간, 48시간 배양시, 3.5×10^4 cell/mL과 9.2×10^4 cells/mL로 증식되어 67%와 72% 각각 억제되었으며 2 mg 첨가군은 대조군의 24시간 및 48시간 배양에 비해 세포

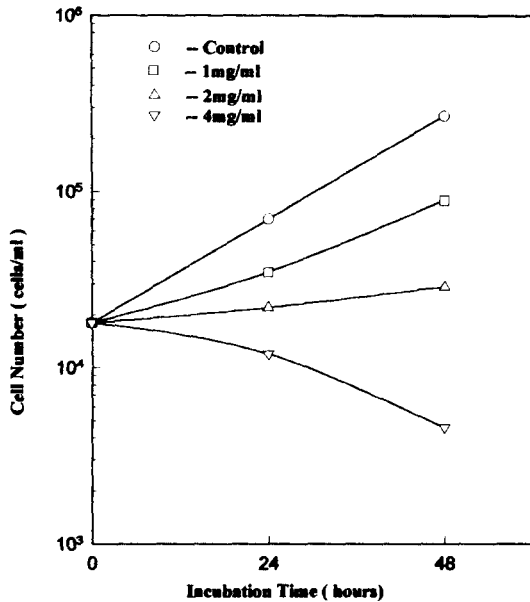


Fig. 1. Growth curves of P₃₈₈ cells in the culture medium containing different concentrations of PBP.

수가 90%, 96% 억제되었고, 4 mg 첨가군의 경우는 초기 세포수보다 감소하여 암세포가 사멸되어감을 알 수 있었다. 그리고 PBP 처리를 하지 않은 P₃₈₈의 배수 시간은 약 11~12시간이었으며 생육저해 단위는 1 mg이었다.

L₁₂₁₀의 성장억제: PBP를 농도별로 첨가한 배양액에서 배양한 L₁₂₁₀ 세포의 증식억제 효과는 Fig. 2와 같이 1 mg 첨가군의 경우 24시간과 48시간 배양시 대조군에 비해 78%와 70%로 각각 억제되었으며, 2 mg 첨가군은 24시간 및 48시간 배양시 대조군에 비해 89%와 97%로 각각 억제되었고, 4 mg의 첨가군의 경우는 초기농도보다 오히려 사멸하는 경향을 보였다. 그리고 PBP 처리를 하지 않은 L₁₂₁₀의 배수시간은 약 11~12시간이었으며 생육저해 단위는 0.8~1.3 mg이었다.

HCT-48의 성장억제: Fig. 3은 HCT-48 암세포 배양액에 PBP를 mL당 3 mg, 6 mg, 9 mg씩 첨가하여 배양했을 때의 성장 곡선이다. 출발 세포수가 3.8 × 10⁴ cells/dish에서 24, 48 및 72시간 배양시 대조군은 7.6 × 10⁴, 1.6 × 10⁵, 및 3.1 × 10⁵ cells/dish로 각각 증식하였다. 그러나, PBP 3 mg/mL 첨가군은 72시간 배양시 68% 증식이 억제되었고, 6 mg/mL, 9 mg/mL 첨가군은 각각 82%, 86% 증식이 억제됨을 알 수 있었다. 그리고 PBP 처리를 하지 않은 HCT-48의 배수시간은 약 24시간이었으며 생육저해 단위는 4.4 mg이었다.

HRT-18의 성장억제: Fig. 4는 HRT-18 암세포의 성

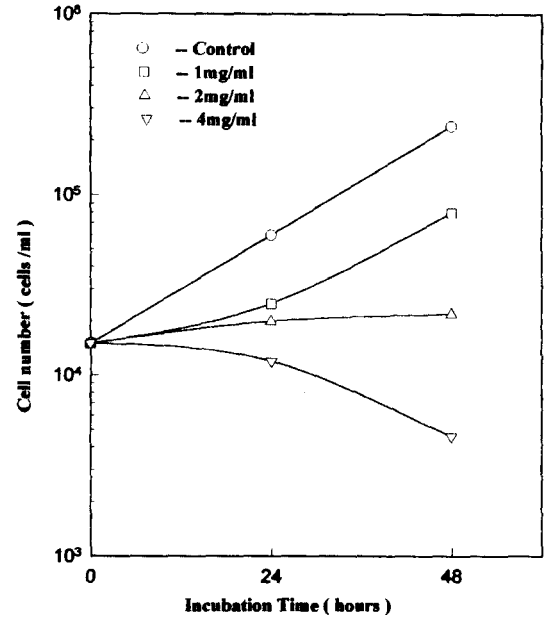


Fig. 2. Growth curves of L₁₂₁₀ cells in the culture medium containing different concentrations of PBP.

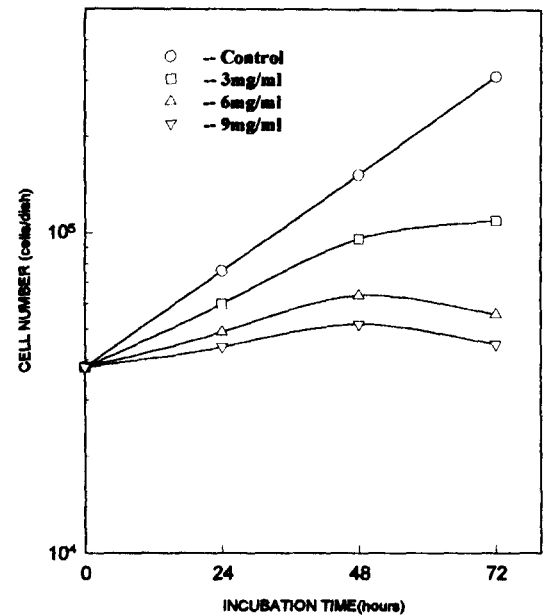


Fig. 3. Growth curves of HCT-48 cells in the culture medium containing different concentrations of PBP.

장곡선으로서 3 mg/mL 및 6 mg/mL 첨가군은 72시간 배양시 대조군에 비해 69% 및 87%로 각각 억제되었고, 9 mg/mL 첨가군은 증식이 억제되었을 뿐만 아니라 초기 세포수보다 오히려 감소하는 경향을 보였다.

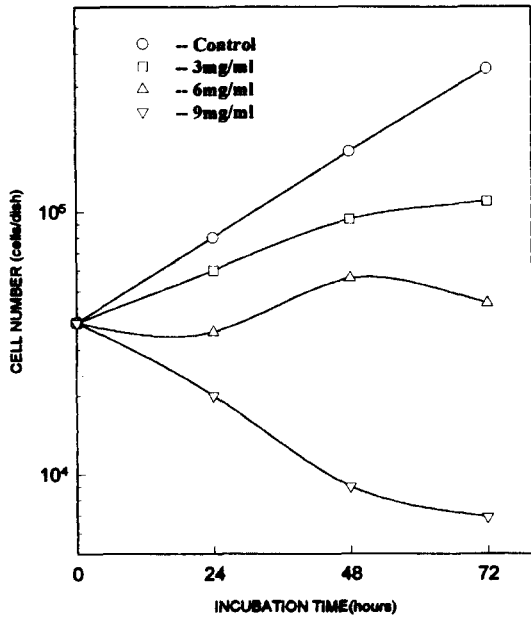


Fig. 4. Growth curves of HRT-18 cells in the culture medium containing different concentrations of PBP.

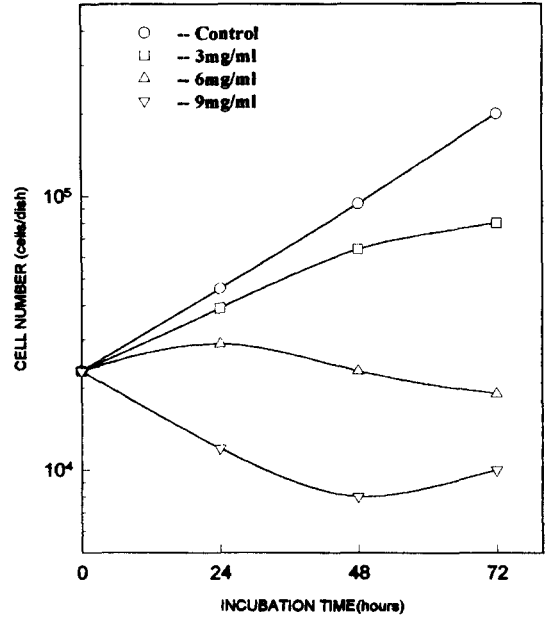


Fig. 5. Growth curves of HT-29 cells in the culture medium containing different concentrations of PBP.

그리고 PBP 처리를 하지 않은 HRT-18의 배수시간은 약 20시간이었으며 생육저해 단위는 3.6 mg이었다.

HT-29의 성장억제: Fig. 5는 HT-29 암세포의 성장곡선으로 초기 농도 2.3×10^4 cells/dish에서 대조군은 72시간 배양 후 2×10^5 cells/dish로 증식한데 비해 3 mg/mL 첨가군은 8×10^4 cells/dish로 60%가 억제되었고, 6 mg/mL 첨가군은 90.5%가 억제되었으며, 9 mg/mL 첨가군은 초기 세포수보다 크게 감소하는 경향을 보였다. 그리고 PBP 처리를 하지 않은 HT-29의 배수시간은 약 22시간이었으며 생육저해 단위는 6.6 mg이었다.

Hep G2의 성장억제: Fig. 6은 인체 간암 세포인 Hep G2에 대한 성장곡선으로 출발세포수가 7.4×10^4 cells/dish에서 대조군이 72시간 배양 후 3.8×10^5 cell/dish로 증식한데 비해, 3 mg/mL 및 6 mg/mL 첨가군은 63.2% 및 98.4% 억제되었고, 9 mg/mL 첨가군은 24시간 때부터 현저한 사멸 양상을 보였다. 따라서 PBP의 첨가량이 증가함에 따라 암세포의 증식도 억제됨을 알 수 있었다. 그리고 PBP 처리를 하지 않은 Hep G2의 배수시간은 약 27시간이었으며 생육저해 단위는 2.6 mg이었다.

Lentinus edodes SR-1에서 추출한 PBP의 암세포 크기에 미치는 영향

P₃₈₈ 세포: PBP를 첨가하여 24시간 및 48시간 배양

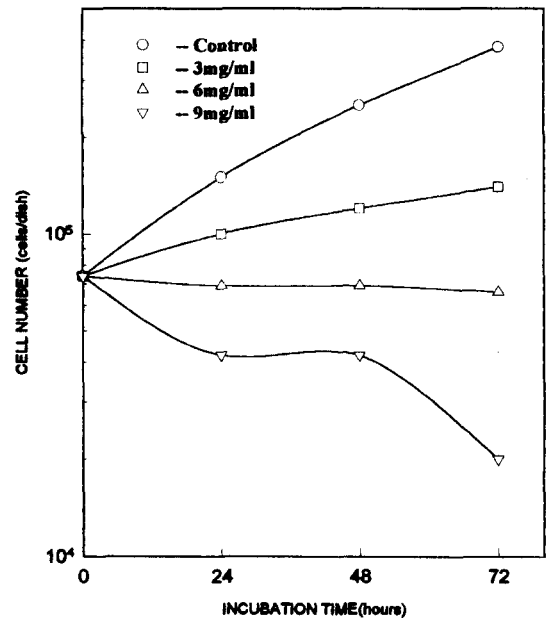


Fig. 6. Growth curves of Hep G2 cells in the culture medium containing different concentrations of PBP.

후 P₃₈₈ 암세포의 크기 변화를 측정할 결과는 Fig. 7과 같이 A는 표준물질인 직경 9.50 μm의 latex와 정상적으로 증식하고 있는 P₃₈₈ 세포의 분포도를 비교한 것으

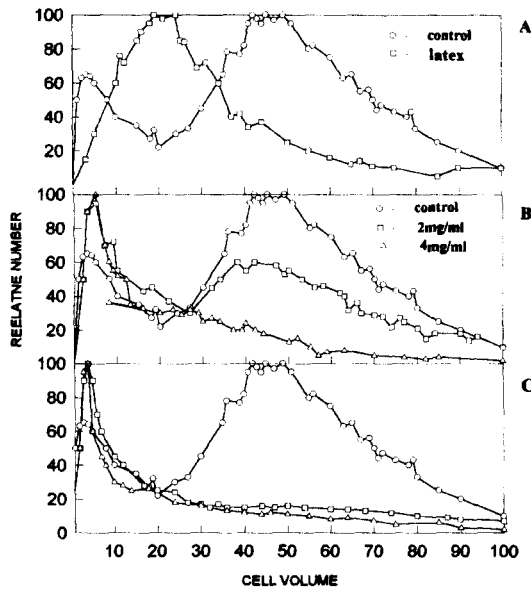


Fig. 7. Cell distribution curves for P_{388} cells containing different concentrations of PBP. A: Latex and P_{388} control cells were incubated with PBP for 0 hr, B: P_{388} control cells and P_{388} cells were incubated with PBP for 24 hrs, C: P_{388} control cells and P_{388} cells were incubated with PBP for 48 hrs.

로 latex 용액은 $10\sim 30\ \mu\text{m}^3$ 범위내에 분포되어 $20\ \mu\text{m}^3$ 에서 peak를 이루고, P_{388} 세포는 $40\sim 60\ \mu\text{m}^3$ 범위내에 분포하여 $50\ \mu\text{m}^3$ 에서 peak를 나타내었다. B는 PBP를 2 mg/mL, 4 mg/mL 농도로 첨가하여 24 hr 배양한 후 분포도를 그린 것으로 PBP첨가군은 정상범위에 속하는 암세포 크기가 줄어들면서 $0\sim 20\ \mu\text{m}^3$ 으로 옮겨감을 나타내었다. C는 PBP를 2 mg/mL, 4 mg/mL 농도로 첨가하여 48 hr 배양한 후 분포도를 그린 것으로 PBP첨가군은 대부분이 $0\sim 10\ \mu\text{m}^3$ 에 분포함을 알 수 있었다.

L_{1210} 세포: L_{1210} 세포에 PBP를 첨가 배양한 후 관찰한 세포의 크기 분포도를 측정된 결과 정상적으로 증식하고 있는 L_{1210} 세포 분포도의 경우 $40\sim 60\ \mu\text{m}^3$ 범위내에 분포하여 $50\ \mu\text{m}^3$ 에서 peak를 나타내었으나 PBP를 2 mg/mL, 4 mg/mL 농도로 첨가하여 24 hr, 48 hr 배양후 분포도는 Fig. 7의 P_{388} 과 거의 유사하였다. PBP 첨가군은 정상범위에 속하는 암세포가 줄면서 크기가 $0\sim 20\ \mu\text{m}^3$ 범위로 옮겨가고, 48 hr 이후는 대부분이 $0\sim 10\ \mu\text{m}^3$ 에 분포함을 알 수 있었다.

HCT-48 세포: Fig. 8은 HCT-48 세포의 크기 분포도를 측정된 결과로 A는 대조군과 PBP를 3 mg/mL, 6 mg/mL 및 9 mg/mL 첨가 배양군을 24시간 배양한 후 대조군이 $30\sim 40\ \mu\text{m}^3$ 에서 peak를 나타내는데 비하여

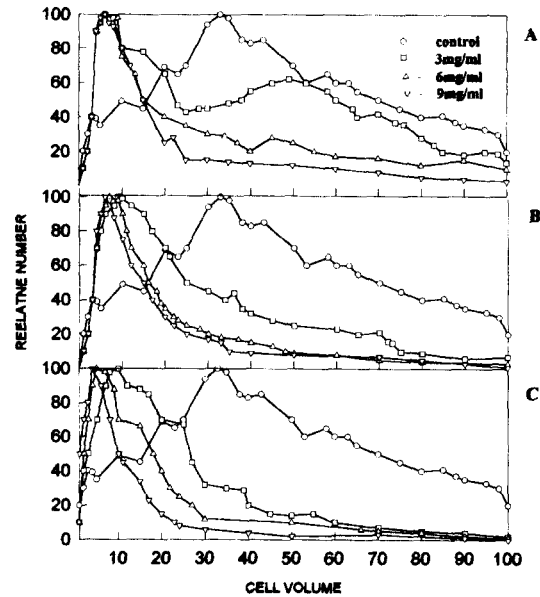


Fig. 8. Cell distribution curves for HCT-48 cells containing different concentrations of PBP. A: HCT-48 control cells and HCT-48 cells were incubated with PBP for 24 hrs, B: HCT-48 control cells and HCT-48 cells were incubated with PBP for 48 hrs, C: HCT-48 control cells and HCT-48 cells were incubated with PBP for 72 hrs.

PBP 첨가군은 $5\sim 10\ \mu\text{m}^3$ 에서 peak를 나타내고 첨가량의 증가에 따라 세포의 부피가 감소하는 경향을 나타내었다. B와 C는 각각 48 및 72시간 배양 후의 크기 분포도로서 PBP 첨가군은 시간이 지남에 따라 더욱 크기가 감소하여 72시간 후에는 대부분 $0\sim 10\ \mu\text{m}^3$ 에 분포하였다.

Hep G2 세포: Hep G2 세포의 크기 분포도는 HCT-48과 유사한 분포를 보였다. 24시간 배양 후 세포의 크기 분포도로서 대조군이 $30\sim 40\ \mu\text{m}^3$ 에서 major peak를 나타내는데 비해 PBP 첨가군은 peak가 $0\sim 10\ \mu\text{m}^3$ 범위에 분포 하였으며 48, 72시간 배양 후의 크기 분포도도 역시 시간 경과에 따라 크기 분포가 $0\sim 10\ \mu\text{m}^3$ 으로 변화되었다. 따라서 PBP는 암세포에 작용하여 세포의 크기를 줄여들도록 하며 마침내는 사멸시키는 것으로 사료되었다.

Lentinus edodes SR-10에서 추출한 PBP의 암세포 성장을 억제하는 기작

면역 기전 관련 장기 중량 변화: 20 g 내외의 암컷 ICR mice 30마리를 사용하여 실험동물의 체중 변화에 대한 각 장기중량의 평균값은 R.V.값으로 계산하여 체중당 장기가 차지하는 무게의 %로 환산하여 Fig.

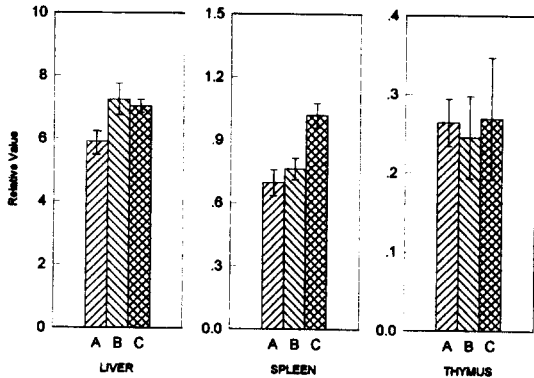


Fig. 9. The effect of PBP on the immune related organ weight of mice. A: normal group, B: S-180 group, C: S-

9에 표시하였다.

$$R.V.(\text{relative value, \%}) = \frac{\text{각 장기의 중량(g)}}{\text{체중(g)}} \times 100$$

R.V.로 각 장기중량을 비교할 때, 간의 경우 대조군보다 S-180 실험군과 PBP 실험군은 평균이 각각 22.47%, 18.58% 증가했으나 두군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 비장의 경우는 대조군보다 유의차 있게 PBP 실험군이 45.7% 증가했고, S-180 실험군과 PBP 실험군 및 대조군과 S-180 실험군 사이에는 유의한 차이가 없었고 흉선의 중량변화에서도 세군이 모두 유의한 차이가 없었다.

용혈반 형성에 미치는 영향: PBP에 의한 항체 형성 능력을 알아보기 위해, 대조군과 PBP를 5일간 투여한 군을 T 세포의존성 항원인 면양의 적혈구로 생쥐를 감염시켜 5일 후 비장세포를 얻어 용혈반 형성 세포수를 측정한다. Table 1과 같다. 대조군은 비장세포 10^6 당 42개의 용혈반 형성 세포가 관찰되었으나 PBP를 투여한 실험군은 10^6 당 92개로 2배 이상 증가하였다. 이러한 용혈현상은 자기면역, 동족면역 혹은 어떤 약제에 노출된 후 생성된 항체나 보체가 적혈구막에 결합하여 일어나는 현상으로써 용혈반 형성세포는 형질세포(plasma cell)로서⁽²⁹⁾ 이들이 생성한 항체의 분비로 인해 용혈반이 형성되기 때문에 PBP의 투여로 항

Table 1. Plaque forming cell(PFC) counts by spleens of mice where treated with PBP

Group mice No.	PFC/ 10^6 cells of spleen					Mean \pm S.E. ¹⁾
	1	2	3	4	5	
Control	46	45	29	53	40	42.6 \pm 3.98
Treated	100	70	88	90	113	92.2 \pm 7.10

¹⁾S.E.: standard error.

체형성 세포수가 증가함을 알 수 있었고 이것은 장기 중량변화 중 비장의 무게가 뚜렷하게 증가한 것과 비교해 볼 때 표고버섯 균사체로부터 추출한 PBP가 면역성을 증가시킨다는 것이 확인되었다.

요 약

한국산 표고버섯(*Lentinus edodes* SR-1) 균사체를 액체배양한 후 균사체로부터 추출, 정제한 PBP의 항암효과 및 면역학적 특성에 대하여 실험하였다. PBP의 항암효과는 *in vitro* 배양에서 암세포의 배수시간을 2배로 연장하는 활성단위 1 unit은 mouse leukemic cell인 P₃₈₈과 L₁₂₁₀의 경우 1 mg 정도였으며, 인체의 장암세포인 HCT-48, HRT-18, HT-29 및 간암세포인 Hep G2의 경우 각각 4.4, 3.6, 6.6, 2.6 mg이었다. 그리고 P₃₈₈과 L₁₂₁₀의 경우 배지 1 mL당 4 mg 정도, HRT-18 및 HT-29, Hep G2의 경우 9 mg의 PBP를 첨가했을 때 암세포를 사멸시키는 것으로 나타났다. P₃₈₈과 L₁₂₁₀, HCT-48, Hep G-2의 PBP 처리에 따른 암세포의 크기 분포도 변화는 PBP를 처리하지 않은 대조군에 비하여 시간이 경과함에 따라, 그리고 PBP의 농도가 증가함에 따라 비례적으로 적은 쪽으로 이동하였다. *In vivo* 실험에서 대조군보다 PBP를 첨가한 군에서 비장의 무게가 증가하였으며, 용혈반 형성실험에서 PBP를 투여한 군이 대조군에 비하여 항체 형성세포가 2배로 증가하였다.

문 헌

- Ikekawa, T., Uehara, N., Maeda, Y., Nakanishi, M. and Fukuoka, F.: Antitumor activities of aqueous extracts of some edible mushrooms. *Cancer Res.*, **29**, 734-735 (1969)
- Takuma, S. and Nobuo, T.: Further study of the structure of lentinan, antitumor polysaccharides from *Lentinus edodes*. *Carbohydrate Res.*, **47**, 99-104 (1976)
- 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)
- Ito, H., Fulii, K. and Terada, Y.: Studies on anti-tumor activity of basidiomycetes polysaccharides (3). oral administration of polysaccharide from cultured *Coriolus versicolor* fries. *Mie. Med. J.*, **23**, 67-72 (1973)
- Takash, M., Namoni, K., Atsushi, T. and Msako, S.: Fractionation, structural features and antitumor activity of water soluble polysaccharide from reishi the fruit body of *Ganoderma lucidum* (in Japanese). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*, **58**(9), 871-880 (1984)
- Kim, B.K., Shim, M.J., Kim, O.N., Kim, H.W. and Choi, E.C.: Antitumor components of the cultured mycelia of

- Lepiota procera* (in Korean). *Kor. J. Food Hygiene*, **4**(2), 109-118 (1989)
7. Ohno, N., Sato, K. and Yadomae, T.: Antitumor activity and structural characterization of glucan extracted from cultured fruit bodies of *Grifola frondosa*. *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 1142-1149 (1984)
 8. Chieko, K., Hiroshi, M. and Ikuzo, K.: Structural examination of water insoluble alkaline-soluble polysaccharide from fruit body of *Lyophyllum ulmarium*. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*, **38**(2), 107-115 (1991)
 9. Taichih, U., Yoshio, I. and Takashi, M.: Isolation and characterization of two kinds of heterogalactan from the fruit bodies of *Ganoderma applanatum* by employing a column of concanavalin a sepharos-4B. *Carbohydrate Research*, **92**, 103-114 (1981)
 10. Yuko, Y., Ryoko, T., Hazime, S., Nobukaki, U. and Funoko, F.: Antitumor polysaccharide from *p. ostreatus* (fr), qual; isolation and structure of a β -glucan. *Carbohydrate research*, **140**, 93-100 (1985)
 11. Dennert, G. and Tucker, D.: Antitumor polysaccharide lentinan a T cell adjuvant. *J. Natl. Cancer Inst.*, **51**, 1727-1735 (1973)
 12. Hamuro, G. and Wagner, H.: β -1,3 glucan mediated augmentation of alloreactive murine cytotoxic T lymphocytes *in vivo*. *Cancer Res.*, **38**, 3080-3088 (1978)
 13. Chihara, G.: Immune modulation agents and their mechanisms(lentinan, a T-cell oriented immunopotentiator). *NY and Basel*, **19**, 409-436 (1985)
 14. Takehara, M.: Antiviral activity of virus-like particles from *Lentinus edodes* (Shiitake). *Arch Virol.*, **59**, 269-280 (1979)
 15. Tsunoda, A.: A mushroom extract as an interferon inducer. *Ann NY Acad. Sci.*, **173**, 719-725 (1969)
 16. Lee, B.W., Im, G.H., Kim, D.W., Park, K.M., Son, S.H. and Shon, T.H.: Cultural characteristics and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture *Lentinus edodes* (in Korean). *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **21**(6), 609-614 (1993)
 17. Park, K.M. and Lee, B.W.: Extraction and purification of antitumor protein bound polysaccharides from mycelia of *Lentinus edodes* (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, in press (1998)
 18. Park, D.W. and Kim, B.K.: Studies on the constituents of the higher fungi of korea (XVII); production of antineoplastic components by the submerged culture of *Lentinus edodes* (in Korean). *Seoul University J. Pharmaceutical Sci.*, **4**, 19-30 (1979)
 19. Chung, K.S.: Studies on constituents of the higher fungi of korea (XLI): an antitumor fraction from the culture filtrate of *Lentinus edodes* DMC-7 (in Korean). *Kor. J. Mycol.*, **12**(4), 129-132 (1984)
 20. Hwang, W.I., Lee, S.D., Son, H.S., Baik, N.G. and Ji, R.H.: Effect of fresh garlic extract on the tumor cell growth and immunopotentiating activity (in Korean). *J. Kor. Society of Food and Nutrition*, **19**(5), 494-508 (1990)
 21. Fisher, G.A. and Sartorelli, A.G.: Development maintenance assay of drug resistance. *Meth. in Med. Res.*, **10**, 247-253 (1964)
 22. Hwang, W.I.: A study on the cytotoxic activity of extract of panax ginseng root against some cancer cells (in Korean). *Korea J. Biochem*, **8**, 1-12 (1976)
 23. Isove, N.N. and McCulloch, E.A.: Colony formation by normal and leukemic human marrow cells in culture, effect of conditional medium from human leucocytes. *Blood*, **37**, 1-10 (1971)
 24. Kim, K.S., Paik, J.M. and Hwang, W.I.: Determination of anti-tumor effect of extract from Korean medicinal plant on cancer cells (in Korean). *Korea Univ., Medical J.*, **25**, 759-766 (1988)
 25. Clark, G.: Staining procedures. 4th ed. Williams & Wilkins (1981)
 26. Schmildt, M. and Good, R.: Transplantation of human cancer to nude mice and effect of thymus grafts. *J. Nat. Cancer Inst.*, **55**, 81-90 (1975)
 27. Davide, B. and Van, W.: Humoral immunity in experimental hyposplenism. *Surger.*, **84**, 134-142 (1978)
 28. Weir, D.M.: Assays for immunoglobulin-secreting cells. In *Handbook of experimental immunology*, 3rd ed., Blackwell Scientific Publications, p.28.1-28.25 (1979)
 29. Medical college, Seoul Univ.: Pathophysiology of lymphocytes and macrophages. In *Haematology(in Korean)*. Seoul Univ., p.175-182 (1990)

(1997년 10월 20일 접수)