

## 개불(*Urechis unicinctus*)에서 추출한 당단백질의 항암효과 및 면역활성

이종열 · 류홍수<sup>†</sup> · 문정혜 · 서재수\*

부경대학교 식품생명과학과

\*고신대학교 식품영양학과

### Antitumor Effect and Immunological Activity of Glycoprotein from *Urechis unicinctus*

Jong-Yeoul Lee, Hong-Soo Ryu<sup>†</sup>, Jung-Hye Moon and Jae-Soo Suh\*

Dept. of Food and Life Science, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Kosin University, Pusan 606-701, Korea

#### Abstract

To confirm therapeutic functionality of *Urechis unicinctus* which have been favored as a special seafood in Korea, the antitumor and immunological effect of those glycoprotein were studied. 4mg/kg dose of glycoprotein from *Urechis unicinctus* was most effective in solid tumor growth inhibition (43.63%) of sarcoma 180 cells. However, in case of mice injected with more than dose of 20mg/kg, tumor growth was not inhibited. The higher prolongation ratios were achieved at levels of 2mg/kg with 31.2% and 4mg/kg with 28.9%. The cytotoxic effect of glycoprotein on sarcoma 180 cells was increased slightly as administering level was increased. Number of total peritoneal exudate cells in all the glycoprotein administered groups increased remarkably meaning that *Urechis unicinctus* gly-coprotein could help to improve immunity. Notable body weight change was not resulted in the glycoprotein treated mice compared with control group, but the ratios of both liver or spleen to body weight were increased in mice injected with 20mg/kg and 40mg/kg. These results suggest that the glycoprotein from *Urechis unicinctus* could stimulate immunity of the mouse bearing tumor cells. Furthermore, the number of leucocytes was also increased by 38.78% at the dose of 20mg/kg and by 46.30% of control at 40mg/kg, while the lower level of 2mg/kg or 4mg/kg showed no effect in increasing leucocyte number. The biochemical values such as GOT and GPT in serum were not changed in mice injected with glycoprotein in comparison with control group.

**Key words:** *Urechis unicinctus*, glycoprotein, antitumor effect, immunology activity

#### 서 론

현대 의학의 발달에도 불구하고 암은 여전히 치료가 어려운 질병의 하나로 여겨지고 있으며, 우리나라의 경우에도 전체 사망원인 중의 제1위를 차지하고 있다. 이러한 암의 치료 방법은 크게 수술요법, 방사선치료, 항암 화학요법 등으로 나눌 수 있는데, 알킬화제, 대사길항물 질이나 항생제와 같이 임상에 이용되고 있는 항암 화학요법제는 암세포 뿐만 아니라 생체내의 정상세포 특히, 임파구와 골수세포 등을 빠른 속도로 파괴하므로 면역계의 기능에 치명적인 부작용을 초래한다. 따라서 이러한 부작용과 독성이 없는 물질을 천연물에서 개발하려는 시도가 많이 이루어져 왔으며, 이를 위하여 천연물에 다량

분포하는 당단백질과 다당류 분획의 항암효과에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 천연물 당단백질의 항암 메카니즘은 대부분의 합성화학물의 항암작용에서 확인되는 암세포에 대한 직접적인 세포독성효과와는 달리 당단백질의 투여에 따른 면역활성의 증진과 면역자극의 효과라고 알려져 있다(1-5).

최근에는 육상생물에 비해 연구가 많이 이루어지지 않던 해양생물에 대한 관심이 높아지면서 해양동물(1,6,7), 해조류(2-4,8,9) 그리고 해양미생물(10-18) 등에서의 생리 활성물질에 관한 연구가 당단백질과 다당류를 중심으로 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 항암효과와 같은 생리활성에 관한 연구가 거의 되고 있지 않은 해양 연체동물 중 우리나라 남해

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

안에서 독특한 수산식품으로 이용되는 개불을 대상으로 하여 당단백질을 추출하고, 이의 항암효과에 미치는 영향 등을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

개불(*Urechis unicinctus*)은 1997년 12월부터 1998년 2월 사이에 경남 남해군 지죽면에서 구입하여, 산소가스를 충전하여 포장한 후 산채로 실험실에 신속히 운반한 뒤 내장을 제거하고 세척하여 진공 동결건조하여 분말로 만들어  $-24^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하면서 시료로 사용하였다. 실험에 사용된 개불의 중량은  $30.30 \pm 5.76\text{g}$ 이었고, 가식비율은  $40.45 \pm 2.50\%$ 였다.

### 당단백질의 분획

Bayliss 등(19)의 방법에 따라 동결건조한 개불 분말을 20mM 인산완충용액(pH 7.0)으로 현탁시킨( $4^{\circ}\text{C}$ , 24hr) 다음, 원심분리(12,000rpm, 30min)하여 취한 상층액에 황산암모늄 결정을 가하여 포화 농도 80%까지 단계적으로 염색시켜, 원심분리(12,000rpm, 30min)하여 침전물을 취하였다. 침전물을 같은 완충액으로 투석하여 염을 제거한 후, 미리 완충용액으로 평형화한 DEAE-cellulose ion exchange column( $3.5 \times 12\text{cm}$ )에 NaCl을 함유한 완충용액으로 단계적으로 용해하여, 280nm에서 활성이 있는 분획만 모아, 다시 투석한 후 당단백질 실험에 사용하였다.

### 실험동물 및 종양세포

본 실험에 사용한 마우스는 대한 실험동물 연구소에서 사육한 체중 25g 내외의 웅성 Balb/c 마우스이고, 시료는 삼양유지 사료사의 항생제 무첨가 마우스용을 사용하였다. 사육시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였으며, 사육실은 12시간 간격의 light-dark cycle을 유지하였으며, 온도  $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도 50~60%로 조절하였다.

Sarcoma 180 세포는 고신대학교 의학부 미생물학교실에서 분양받아 Balb/c 마우스의 복강내에 세포수가  $1 \times 10^6$  cells/ml로 접종하여 1주일 간격으로 계대배양하면서 복수암 유발 및 암조직 형성 세포로 사용하였다. 즉, 증식이 왕성한 sarcoma 180세포를 복수와 함께 수거하여 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 현탁하고 원심분리(1,200rpm, 10min,  $4^{\circ}\text{C}$ )하여 종양세포를 분리하였다. 분리된 세포를 다시 PBS에 부유시켜 재차 원심분리하여 상층액을 제거한 후 sarcoma 180세포( $1 \times 10^6$  cells/ml)가 되도록 종양세포 부유액을 만들어 1ml씩을 복강주사하여 이식보존하면서 실험에 사용하였다.

### *In vitro* 세포독성 실험

Sarcoma 180세포는 Balb/c 마우스의 복강에 주사하여 10일 된 마우스 복강으로부터 sarcoma 180세포를 채취하여  $2.5 \times 10^6$  cells/ml의 농도가 되도록 세포수를 조정하였다. EMEM이 5ml씩 들어있는 6 well plate에 sarcoma 180 세포( $2.5 \times 10^6$  cells/ml)를 각각 0.1ml씩 분주한 후 제조된 개불 당단백질 용액(0.25mg/ml, 0.5mg/ml, 2.5mg/ml, 5mg/ml)을 10 $\mu$ l씩 가하여  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  incubator에서 배양하였다. 이 세포와 시료가 포함되어 있지 않은 배지에서 배양된 세포의 생존율(viability)을 비교하기 위하여 24시간이 경과한 후 각 세포를 trypan blue로 염색하여, 살아있는 세포수와 죽은 세포수를 계산하여 세포의 증식과 사멸의 정도를 대조군과 비교 검토하였다. 여기에는 hemocytometer에서 염색된 세포(non-viable cell)와 염색되지 않은 세포(viable cell)를 세어서 생존율을 정하였다(20).

### *In vivo* 실험용 당단백질 시료의 조제

개불 당단백질은 멸균된 PBS를 사용하여 조제하여 마우스 1kg당 2mg, 4mg, 20mg 및 40mg 수준으로 나누어 투여하였고, 대조군은 멸균된 PBS만 투여하였다. 투여하지 않을 때는 냉장고( $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )에 보관하면서 사용하였고, 3일이 지난 시료용액은 사용하지 않았다.

### *In vivo* 항암효과

#### 수명연장 실험

수명연장 실험은 Maeda와 Chihara(21)의 방법에 따라 다음과 실험하였는데, 계대한지 7일이 경과된 sarcoma 180세포( $1 \times 10^6$  cells/ml)를 마우스의 복강내에 접종하고, 24시간 후부터 마우스의 복강내로 시료를 매일 1회씩 10회를 투여하였다. 생존기간은 시료를 투여하지 않은 대조군과 비교하여 각 군별 마우스의 평균수명을 비교하였으며, 시험군과 대조군은 각각 10마리로 하였다.

#### 고형암 성장저지 실험

고형암 성장저지 실험은 Suga 등(22)의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다. 마우스 복강내에 계대 접종한 후 7일이 경과된 sarcoma 180세포( $1 \times 10^6$  cells/ml) 0.2 ml를 마우스의 왼쪽 서혜부에 피하 이식한 후 24시간 후부터 10일간 매일 1회씩 시료용액을 복강으로 투여하였다. 종양세포를 접종한지 36일째 되는 날 마우스 군들을 희생시켰으며 서혜부의 암조직을 분리한 다음 그 무게를 측정하였다. 시료가 투여되었던 마우스의 암조직 무게는 시료를 투여시키지 않은 대조군 마우스와 비교하여 종양 억제비(%)로서 구하였다. 각 실험군과 대조군의 마우스는 각각 10마리씩으로 하였다.

면역성 실험

혈중 백혈구수 측정은 Mitruka(23)의 방법에 따라 10 일간 연속으로 당단백질 시료를 마우스의 복강내에 투여 하였으며 대조군은 멸균생리식염수(PBS)를 투여하였다. 시료투여 최종일로부터 1일, 4일 및 7일째 되는 날 각 실험 동물의 심장에서 혈액을 취하여 항응고제인 heparin과 잘 섞은 후 citrate saline에 잘 용혈시켜 섞은 다음 Turk's solution으로 염색하여 hemocytometer를 이용하여 실험하였다. 각 실험군과 대조군의 마우스는 각각 9마리씩 하였다.

총 복강세포수 측정은 백혈구 측정 실험 방법과 같이 하여 PBS로 복강내를 잘 세척한 다음 복수액과 함께 취하여 Turk's solution으로 염색한 후 hemacytometer를 이용하여 복강세포수를 측정하였다.

또한, 면역관련 장기의 무게 측정은 실험동물을 시료 투여군과 대조군으로 나누어 당단백질 시료와 PBS를 10 일간 연속으로 복강내 투여하고 시료투여 최종일로부터 1일, 4일 및 7일째 되는 날 실험동물을 치사시켜 체중을 측정한 후 비장 및 간을 적출하여 각각 장기 무게를 측정하였다.

혈액의 생화학적 성분 분석

실험동물을 시료투여군과 대조군으로 나누어 각각 시료와 PBS를 10일간 연속으로 복강내 투여하고 시료투여 최종일로부터 1일, 4일 및 7일째 되는 날 각 실험동물을 ether로 마취시킨 뒤 주사기를 이용하여 심장채혈법에 의하여 혈액을 취하였다. 분리된 혈액을 실온에서 약 30 분간 방치한 후 원심분리(3,000rpm, 10min)하여 얻은 혈청을 냉동실에 보관하면서 혈액생화학 분석치를 측정하였다. 혈액생화학적 성분인 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)를 아산제약의 키트시약으로 측정하였다.

분석 결과의 처리

통계 처리 프로그램인 sigma plot version 4.0(Jandel Co.)을 이용하여 student's t-test를 실시하여 결과들의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

항암효과

추출한 당단백질의 종양세포에 대한 직접적인 세포살

해 효과를 보기 위하여 당단백질의 농도별로 배지에 각각 배양하여 24시간 후에 종양세포의 생존율을 관찰하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 대조군(80.74%)에 비해 저농도인 A군(2mg/kg)과 B군(4mg/kg)에서는 72~75%, 고농도인 C(20mg/kg)와 D군(40mg/kg)에서는 68%로 유의적인 종양세포 독성효과는 나타나지 않았으며, 해삼에서 추출한 당단백질과 비교하여 그 효과가 상당히 미미한 정도였다(7).

또한, 개불에서 추출한 당단백질이 sarcoma 180 고형암에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 2에 나타내었다. 당단백질이 저농도로 투여된 A군(2mg/kg)과 B군(4mg/kg)에서는 투여량에 따른 고형암의 성장 저해효과가 나타났다. 그러나 고농도로 투여된 C군(20mg/kg)과 D군(40mg/kg)에서는 대조군에 비해 고형암의 성장이 거의 비슷하거나 오히려 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 실험 동물에 고농도의 당단백질을 복강투여함으로써 유발된 부작용으로 인한 종양세포의 증식 또는 host tumor immunity에 손상을 미친 결과로 추정된다. 그러나 4mg/kg의 투여군에는 40% 이상의 저지율을 보임으로서 저농도로 투여될 경우에는 마우스의 종양면역에 증진효과가 보였다. 또한 저농도의 투여량 범위에서 최고의 고형암 성장저지율을 보이는 최적의 농도를 확인할 필요가 있으리라 생각된다.

추출한 당단백질의 마우스 sarcoma 180 cell 복수형암에 대한 항암효과를 실험하여 수명연장 정도를 살펴본 결과를 Fig. 1과 Table 3에 나타내었다. 일반적으로 sarcoma 180 세포를 이식한 후 35일까지의 수명을 관찰하지만 본 실험에서는 대조군의 평균수명이 29.3일로 해삼 당단백질(7) 투여시의 대조군보다 10일 가량 오래 살았으므로 45일까지의 수명을 관찰하였다. 이렇게 대조군이 다른 보고(12,24)에서보다 오래산 것은 sarcoma 180 cell의 상태에 기인하는 것으로 보인다. 수명 연장 실험에서도 고형암 성장저지에서와 비슷한 경향을 나타내었는데, 저농도인 A군(2mg/kg)과 B군(4 mg/kg)에서는 상당한 수명연장효과를 가져왔으나, 고농도인 C군(20mg/kg)은 대조군과 비교하여 유의적인 효과를 보였으나 A와 B군보다는 낮은 수준이었으며, D군(40mg/kg)은 대조군보다 오히려 짧은 수명효과를 나타내었다.

면역기능에 미치는 영향

개불 당단백질 시료를 10일간 연속으로 투여한 후 1일,

Table 1. Viability of sarcoma 180 cells in a culture medium containing glycoprotein from *Urechis unicinctus*

Group	Dose(mg/kg)	Number of pertri dish	Total cells( $\times 10^4$ )	Average viability of tumor cells(%)
Control	-	2	23.01	80.74
A	2	2	20.06	72.38
B	4	2	17.44	75.97
C	20	2	17.13	68.24
D	40	2	16.62	68.43

**Table 2. Effect of glycoprotein extracted from *Urechis unicinctus* on solid tumor growth in Balb/c mice**

Group	Dose(mg/kg)	Tumor weight(g/mouse)	Inhibition ratio(%)	Complete regression <sup>2,3)</sup>
Control	-	3.16±0.93 <sup>1)</sup>	-	0/10
A	2	2.36±0.98	25.36	0/10
B	4	1.78±1.11*	43.63	0/10
C	20	3.25±1.63	-2.78	0/10
D	40	3.38±1.57	-6.73	0/10

<sup>1)</sup>Mean±S.D.

<sup>2)</sup>The number of mice in which the tumor was completely regressed.

<sup>3)</sup>The number of mice used

\*p<0.01 versus the control group

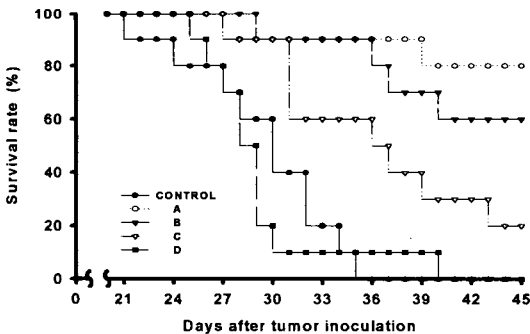
**Table 3. Effect of glycoprotein from *Urechis unicinctus* on survival of Balb/c mice transplanted i.p. with sarcoma 180 ascites tumor<sup>1)</sup>**

Group	Dose (mg/kg)	Average survival days	Prolongation ratio(%)
Control	-	29.3±4.40 <sup>2)</sup>	
A	2	42.6±5.80**	31.2
B	4	41.2±5.50**	28.9
C	20	36.5±6.45*	19.7
D	40	29.1±4.12	-0.7

<sup>1)</sup>Balb/c mice were i.p. transplanted with  $1 \times 10^6$  cells/ml of sarcoma 180 and administered with samples 24hrs after tumor inoculation.

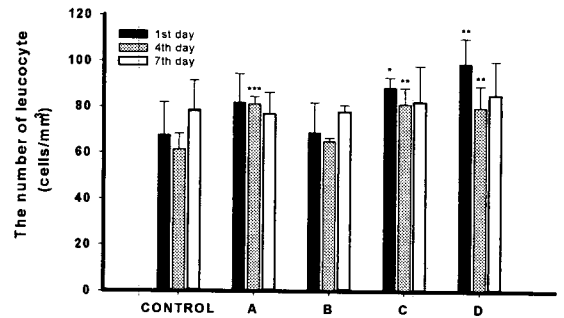
<sup>2)</sup>Mean±SD

\*p<0.01, \*\*p<0.001 versus the control group



**Fig. 1. Effect of glycoprotein from *Urechis unicinctus* on the survival in mice bearing sarcoma 180 tumor. A, B, C and D were same as Table 1.**

4일 및 7일째의 혈중 백혈구 수는 대조군에 비하여 C군(20mg/kg)과 D군(40mg/kg)의 고농도 투여시에 30.78~46.30%의 증가율을 보였다(Fig. 2). 백혈구는 체내 혈액을 구성하는 주요 성분으로 호중구, 호산구, 호염기구, 임파구, 단핵구 등으로 구성되어져 있으며, 체내에서 ameba 운동으로 체내에 들어오는 세균들을 식작용(phagocytosis)에 의하여 생체를 보호해 주는 역할을 하고, 또한 호중구는 생체의 염증 반응 즉 leuko-cytosis에도 관여하며, 면역체의 형성 등으로 생체를 감염으로부터 방어하여 면역 반응에 관여하는 1차적 작동세포로서 중요한 기능을 수행하고 있다(25). 그러므로 이러한 백혈구 수의 증가현상



**Fig. 2. Effect of glycoprotein extracted from *Urechis unicinctus* on the number of circulating leucocytes in Balb/c mice. \*p<0.05, \*\*p<0.01 and \*\*\*p<0.001 versus the control group each day. A, B, C and D were same as Table 1.**

은 시료를 투여함으로써 초래된 면역능의 증가와 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다.

한편, 총 복강세포수에 미치는 영향을 실험한 결과 시료 투여군은 투여 후 1일째에 복강세포수가 대조군( $2.94 \times 10^6$  cells/ml)에 비하여  $4.63 \times 10^6$  cells/ml~ $5.09 \times 10^6$  cells/ml이므로서 59~73%의 증가율을 보이고 있으나 당단백질의 투여량에 따른 차이는 보이지 않았다(Fig. 3). 복강세포에는 대식세포, 다형핵 세포 및 단형핵 세포들이 포함되어 있어 이러한 복강세포의 증가는 면역능 증가의 지표가 될 수 있다고 생각된다.

Table 4에서는 면역관련 장기인 간과 비장의 체중에 대한 중량 변화를 나타내었다. 간의 중량비는 대조군의 5.28%에 비해 저농도인 A군(2mg/kg)과 B군(4mg/kg)은 5.26%와 5.21%로서 차이가 나타나지 않았으나, 고농도의 C군(20mg/kg)과 D군(40mg/kg)에서는 6.63%와 5.48%로서 약간의 증가를 보였다. 비장의 중량비는 대조군의 0.59%에 비해 저농도인 A와 B군은 0.62%와 0.57%로서 차이가 나타나지 않았으나, 고농도의 C와 D군에서는 0.88%와 0.80%로서 유의적인 증가를 보였다. 간과 비장의 무게증가는 간에는 Kuffer cell을 비장에는 splenic macrophage를 함유하고 있으며, 이들에 의하여 체내의 이물질에 대한 방어작용을 담당하고 있다는 사실을 감안할 때 이들의 증가는 macrophage수의 증가 뿐만 아니라 macrophage기능의 증가에 기인한 것이라 생각되어진다.

**Table 4. Effect of glycoprotein extracted from *Urechis unicinctus* on the body weight, and ratio of immunoorgan and body weight of Balb/c mice**

Group <sup>1)</sup>	Body (g)			Liver/Body (%)			Spleen/Body (%)		
	1st day	4th day	7th day	1st day	4th day	7th day	1st day	4th day	7th day
Ctrl	21.67±1.72 <sup>2)</sup>	25.03±0.68	24.87±0.15	5.28±0.19	5.33±1.06	5.77±0.87	0.59±0.12	0.49±0.04	0.43±0.08
A	22.77±1.12	23.57±1.12	24.63±1.67	5.27±0.33	4.94±0.09	6.06±0.30	0.62±0.10	0.54±0.16	0.44±0.11
B	24.93±0.46	25.63±0.50	25.00±2.12	5.21±0.28	5.40±1.01	5.86±0.39	0.57±0.04	0.64±0.12	0.55±0.08
C	20.57±1.01	23.17±1.37	23.47±1.74	6.63±0.66*	5.94±0.56	5.93±0.25	0.88±0.08*	0.79±0.04***	0.79±0.09**
D	21.77±1.83	24.50±0.89	23.85±0.92	5.48±0.27	5.78±0.40	5.98±0.38	0.80±0.06*	0.79±0.05**	0.63±0.08

<sup>1)</sup>A, B, C and D were same as Table 1.

<sup>2)</sup>Mean±SD

\*p<0.05, \*\*p<0.01 and \*\*\*p<0.001 versus the control group each day

**Table 5. Transminase activities in serum of the Balb/c mice administered glycoprotein from *Urechis unicinctus* (Karmen unit)**

Group <sup>1)</sup>	GOT <sup>2)</sup>			GPT <sup>3)</sup>		
	1st day	4th day	7th day	1st day	4th day	7th day
Control	43.69±1.83 <sup>4)</sup>	42.96±9.84	34.25±5.32	22.82±0.65	20.90±1.87	22.92±1.49
A	42.81±4.13	42.78±0.47	34.37±1.02	33.29±7.41	21.13±2.63	22.63±1.43
B	34.89±2.03**	36.88±9.83	31.91±3.15	23.77±1.14	18.92±1.42	21.43±3.10
C	44.09±3.77	36.72±3.97	39.66±6.14	28.29±5.02	26.20±5.66	23.18±3.76
D	38.74±5.44	27.38±3.08*	36.73±2.08	22.21±3.76	21.74±4.45	20.80±1.08

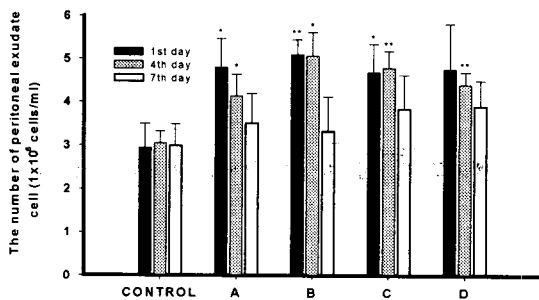
<sup>1)</sup>A, B, C and D were same as Table 1.

<sup>2)</sup>Glutamic oxaloacetic transminase

<sup>3)</sup>Glutamic pyruvic transminase

<sup>4)</sup>Mean±SD

\*p<0.01 and \*\*p<0.001 versus the control group each day



**Fig. 3. Effect of glycoprotein extracted from *Urechis unicinctus* on the peritoneal exudate cells in Balb/c mice.**

\*p<0.05 and \*\*p<0.01 versus the control group each day. A, B, C and D were same as Table 1.

이러한 면역관련 장기의 증량증가 또한 중요한 면역활성의 지표가 되어진다고 볼 수 있다.

**혈액의 생화학적 성분 변화**

추출정제된 당단백질이 마우스 혈액 중 효소활성에 미치는 영향을 나타낸 결과는 Table 5에 나타내었다. 투여한 당단백질의 간독성을 알아보기 위하여 GOT와 GPT의 효소활성을 측정해 본 결과 대조군과 시료투여군에 별차이를 보이지 않았는데, 투여한 당단백질이 마우스의

간에 어떤 손상을 주지 않았다는 것을 알 수 있었다. 또한 제시되지 않았지만 혈중 glucose, cholesterol, blood urea nitrogen(BUN), uric acid, total protein 및 albumin의 양을 측정된 결과에서도 개불 당단백질의 투여에 따른 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 즉, 투여한 당단백질이 정상적인 마우스의 체내에서는 생체의 항상성 유지 기능을 변화시키거나 어떤 이상반응도 보이지 않으므로, 일반적으로 사용되어지고 있는 화학요법제 등의 독성과 비교해 볼 때 비교적 안전한 항암제로서 개발 가능성이 있다고 생각되어진다.

이상의 결과에서 보면 개불에서 추출한 당단백질의 항암효과는 면역활성의 증진과 면역자극의 효과라고 볼 수 있었으나, 전반적인 면역활성의 증가에도 불구하고, sarcoma 180 cell에 대한 고형암성장 저지실험과 수명연장 실험에서 고농도로 투여시에는 오히려 활성이 나타나지 않았다. 이는 더 높은 농도의 시료 투여시 마우스의 면역반응이 더욱 증가하였으나, 부작용 또한 심한 것으로 생각된다.

**요 약**

개불 당단백질의 sarcom 180 cell 고형암 성장 저지능은 4mg/kg에서 43.63%로 나타났으나, 20mg/kg이상의

농도에서는 고행압 성장 저지능을 보이지 않았다. Sarcom 180 cell에 대한 수명 연장 실험에서도 2mg/kg와 4mg/kg의 저농도에서는 상당한 수명연장 효과를 보였으나, 20mg/kg 이상의 고농도 투여군에서는 수명연장 효과를 나타내지 않았다. 개불 당단백질의 sarcoma 180 cell에 대한 직접적인 세포 독성 효과는 농도의 증가에 따라 약간의 종양세포 살해효과를 보였으나, 그 효과는 미약하였다. 개불 당단백질의 면역능 증진효과는 체중에 대한 간과 비장의 중량비 증가, 총 복강세포수의 증가 그리고, 당단백질을 고농도 투여시 30.78%~46.30%정도의 백혈구 수 증가 등으로 확인되었다. 이러한 결과로서 개불에서 추출한 당단백질의 항암효과는 면역활성의 증진과 면역자극의 효과라고 볼 수 있었으나, 전반적인 면역활성의 증가에도 불구하고, sarcoma 180 cell에 대한 고행압 성장 저지실험과 수명연장실험에서 고농도로 투여시에는 오히려 활성이 나타나지 않았다. 따라서 개불 당단백질의 최적투여 농도와 고농도 투여시의 부작용에 관한 더 많은 연구가 필요하였다. 이상의 결과에서 개불에서 추출한 당단백질의 면역자극에 의한 항종양 활성을 확인되므로, 일반적으로 사용되어지는 항암 화학요법제와 더불어 병행될 수 있는 면역증진제로서의 개발 가능성이 있다고 보여진다.

### 감사의 글

이 연구는 1997년도 교육부 해양/수산과학분야 학술연구조성비의 연구비지원에 의한 결과의 일부이며 이를 감사드린다.

### 문헌

- Kamiya, H., Muramoto, K., Goto, R. and Yamazaki, M. : Characterization of the antibacterial and antineoplastic glycoproteins in a sea hare *aplysia juliana*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 773-777(1988)
- Cho, K. J., Lee, Y. S. and Ryu, B. H. : Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **23**, 345-352(1990)
- Tanaka, K., Konishi, F., Himeno, K., Taniguchi, K. and Nomoto, K. : Augmentation of antitumor resistance by a strain of unicellular green algae, *Chlorella vulgaris*. *Cancer Immunol. Immunother.*, **17**, 90-94(1984)
- Konishi, F., Mitsuyama, M., Okuda, M., Kuniaki, T., Hasegawa, T. and Nomoto, K. : Protective effect of an acidic glycoprotein obtained from culture of *Chlorella vulgaris* against myelosuppression by 5-fluorouracil. *Cancer Immunol. Immunother.*, **42**, 268-274(1996)
- Jeong, J. Y., Chung, Y. B., Lee, C. C., Park, S. W. and Lee, C. K. : Studies on immunopotentiating activities of antitumor polysaccharide from aerial parts of *taraxacum platycarpum*. *Arch. Pharm. Res.*, **14**, 68-72(1991)
- Ryu, H. S., Moon, J. H. and Suh, J. S. : Chemical compositions of glycoprotein and chondroitin sulfates from sea cucumber(*Stichopus japonicus*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 72-80(1997)
- Moon, J. H., Ryu, H. S., Yang, H. S. and Suh, J. S. : Antimutagenic and anticancer effects of glycoprotein and chondroitin sulfate from sea cucumber(*Stichopus japonicus*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 350-358(1998)
- Okai, Y., Okai, K. H. and Nakamura, S. : Identification of heterogenous antimutagenic activities in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica*(Mak-onbu) and *Undaria pinnatifida*(Wakame) by the *umu* gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA1535/pSK1002). *Mutation Research*, **303**, 63-70(1993)
- Lee, Y. S., Kim, D. S., Ryu, B. H. and Lee, S. H. : Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward sarcoma-180 cell. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 544-550(1992)
- Okutani, K. : A viscous antitumor substance obtained from a marine bacterium No. 9-12. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **43**, 323-326(1977)
- Okutani, K. : Further investigation of the antitumor activity of the squid internal shell. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 421-424(1982)
- Okutani, K. : Antitumor and immunostimulant activities of polysaccharide produced by a marine bacterium of the genus *Vibrio*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **50**, 1035-1037(1984)
- Okutani, K. and Kobayashi, H. : Isolation and fractionation of extracellular polysaccharide from marine *vibrio*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 493-496(1985)
- Okutani, K. : The structure of an extracellular polysaccharide from a marine strain of *enterobacter*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 1949-1956(1991)
- Okutani, K. and Tandavanitj, S. : Isolation and characterization of a fucosamine-containing polysaccharide from a marine strain of *pseudomonas*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 2151-2156 (1991)
- Tandavanitj, S. and Okutani, K. : The structural investigation of a sulfated polysaccharide produced by a strain of marine *Pseudomonas*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1845-1849(1989)
- Tandavanitj, S. and Okutani, K. : Partial structure of an extracellular mucopolysaccharide produced by a marine bacterium. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 2103-2107(1990)
- Tandavanitj, S., Ishida, S. and Okutani, K. : Isolation and characterization of extracellular mucopolysaccharide produced by a marine strain of *pseudomonas*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 2015-2019(1989)
- Bayliss, M. T., Venn, M. M. and Ali, S. Y. : Structure of proteoglycan structure of proteoglycan from different layers of human articular cartilage. *Biochemical J.*, **209**, 387-400(1983)
- Kim, K. H., Chang, M. W., Park, K. Y., Lee, S. H., Rhew, T. H. and Sunwoo, Y. : Antitumor activity of phytol identified from *Perilla* leaf and its augmentative effect on cellular immune response. *Korean J. Nutrition*, **26**, 379-389(1993)
- Maeda, Y. Y. and Chihara, G. : The effect of neonatal thymectomy on the antitumor activity of lentinan, carboxymethylpachymaran and zymosan, and their effects on various immune response. *Int. J. Cancer*, **11**, 153-161(1973)

22. Suga, T., Shio, T., Maeda, Y. Y. and Chihara, G. : Antitumor activity of lentinan in murine syngeneic and autochthonous hosts and its suppressive effect on 3-methylcholanthrene-induced carcinogenesis. *Cancer Res.*, **44**, 5132-5137(1984)
23. Mitruka, B. M. : *Clinical biochemical and hematological reference values in experimental animals and humans.* Massion., New York, pp.31-61(1981)
24. 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**, 595-600(1989)
25. Arthur, C. and Guyton, M. D. : *Textbook of medical physiology.* 7th ed., W. B. Saunder Co., p.51(1986)

(1999년 1월 23일 접수)