

상황버섯(*Phellinus linteus*) 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성 효과

지정환 · 김미남 · 정차권* · 함승시[†]

강원대학교 식품생명공학부

*한림대학교 생명과학부

Antimutagenic and Cytotoxicity Effects of *Phellinus linteus* Extracts

Jeong-Hwan Ji, Mi-Nam Kim, Cha-Kwon Chung* and Seung-Shi Ham[†]

Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

*School of Life Science, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

Abstract

This study was performed to determine the antimutagenic and cytotoxic effect of the *Phellinus linteus* methanol extract on *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and human cancer cell lines. In the Ames test, methanol extract of *P. linteus* alone did not exhibit any mutagenicity but showed substantial inhibitory effects against mutation induced by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG), 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyridol[4,3-*b*]indol (Trp-P-1) and benzo(α)pyrene (B(α)P). The methanol extracts of *P. linteus* (200 μ g/plate) showed approximately 78.3%, 78.7% and 88.1% inhibitory effect on the mutagenesis induced by 4NQO, Trp-P-1 and B(α)P, respectively against TA98 strain, whereas 92.3%, 90.5%, 89.6% and 78.9% inhibitions were observed on the mutagenesis induced by MNNG, 4NQO, Trp-P-1 and B(α)P against TA100 strain. The organic solvent fractions of methanol extracts from *P. linteus* showed high antimutagenic effects against MNNG, 4NQO, Trp-P-1 and B(α)P. The anticancer effects of *P. linteus* extract against human breast adenocarcinoma (MCF7), human lung carcinoma (A549), human fibrosarcoma (HT1080), human hepatocellular carcinoma (Hep3B) and human epitheloid carcinoma (HeLa) were investigated. The treatment of 1mg/mL *P. linteus* extracts had the highest cytotoxicity against MCF7 (92.0%), followed by Hep3B (84.9%), A549 (84.2%) and HT1080 (82.9%). In contrast 1mg/mL treatment of *P. linteus* extracts had only 10~40% cytotoxicity on normal human liver cell (WRL68).

Key words: *Phellinus linteus*, Ames test, antimutagenic effect, cytotoxicity

서 론

식품 및 영양물질이 암을 유발시키는 가장 큰 요인이라는 보고와 유전물질 손상에 의한 발암에 관심이 높아지고 있으며 암의 치료제 개발과 예방요법 등의 창출에 많은 연구가 진행되고 있다. 그러나 이미 개발된 합성 의약품들은 사용량이나 사용빈도에 따라 체내에서 부작용이나 독성이 밝혀지고 있다(1). 따라서 우리가 일상 생활에서 섭취하고 있는 식품성분으로서 그 자체로는 유전독성이 없는 성분들은 기존 항암제와는 달리 세포독성 및 유전독성이 거의 없기 때문에 인체에 안전하게 사용될 가능성이 높다고 생각하여 우수한 치료제를 천연물로부터 개발하고자 하는 노력이 전세계적으로 이루어지고 있는 실

정이다. 최근 국내 연구 활동이 여러 분야에서 활발하게 이루어지고 있으나, 특히 천연물과 전통 식품 및 한약제제를 대상으로 유용한 기능을 검색하려는 노력은 상당히 괄목할 만한 성과를 보이고 있다. 따라서 암을 비롯한 만성질환(chronic disease)에 대한 국민의 관심이 고조되고 있는 현 시점에서 식이 성분 또는 그 합성 유도체들에 의한 화학적 암예방 연구가 상당히 활성화 될 것으로 기대된다(2).

버섯은 진균류에 속하는 담자균과 자낭균 중 자실체를 형성하는 고등균류로서 탄수화물, 단백질, 지질, 무기질 및 비타민 등의 영양소를 골고루 함유하고 있을 뿐만 아니라 독특한 맛과 향기를 지니고 있어 예로부터 식용 및 약용으로 널리 이용되어 왔으며 자연식품, 저칼로리식품

[†]To whom all correspondence should be addressed

및 무공해식품으로도 진가가 인정되는 식품이다. 특히 버섯의 항암작용, 생체기능조절 및 뇌졸중, 심장병 등 성인병에 대한 관심은 더욱 높아지게 되었다(3). 또한 본초학에서는 버섯을 약으로 취급했기 때문에 한방에서는 버섯을 많이 이용하고 있다. 페니실린, 스트렙토마이신 등의 항생 물질이 약품화되고부터 버섯의 특수 성분을 약품화하려는 연구가 활발하게 진행되어, 구름버섯으로부터 크레스틴(PSK)이 정제되어 항암제로 사용되고 있다. 표로부터는 렌티난(lentinan)이 추출되어 각종 임상실험이 진행되고 있다. 요즘은 한약방에서 판매되고 있는 버섯에는 북령(*Poria cocos*), 저령(*Grifola umbellata*), 영지(*Ganoderma lucidum*) 등이 있으며, 동충하초균(*Cordyceps sp.*)을 채집하여 자실체를 형성하는 방법 등이 개발되고, 생리활성물질에 대한 연구도 진행 중에 있다(4).

본 실험에 사용된 상황(일명 : 목질진흙버섯)은 상목(*Morus alba* L.), 양(楊, *Populus spp.*), 유(柳, *Salix spp.*), 백화(白樺, *Betula Platyphylla suk.*), 락(絡, *Quercus spp.*), 거수(*Zelkova schneideriana Hano-Mazz.*), 두견(杜鵑, *Rhododendron Simsii Planch.*), 사조화(*Cornus Kousa HANE Var. chinensis Osborn*) 등의 광엽수(廣葉樹)의 수간(樹幹)에 자생하는 *Phellinus linteus*는 *Phellinus igniarius*와는 달리 상목에 자생하고, 이 버섯의 사각의 표면을 제외하고는 모두 황색이므로 한명(漢名)으로는 간황(幹黃)이라고 한다(5). 분류학적으로 소나무비늘버섯과(*Hymenochaetaceae*), 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하는 백색부후균으로 이와 유사한 종류로는 마른진흙버섯(*Phellinus gilvus*), 말뚝진흙버섯(*Phellinus igniarius*), 찰진흙버섯(*Phellinus robustus*), 검은진흙버섯(*Phellinus nigricans*), 낙엽송층버섯(*Phellinus pini*)과 *Phellinus conchatus*, *Phellinus densus*, *Phellinus hartigii*, *Phellinus torulosus* 등이 있으나, 이 중에서 목질진흙버섯은 항암력이 매우 우수한 버섯으로 관심의 대상이 되고 있다(6). 약리작용으로는 소화기계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암을 비롯한 간암수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 항진시키며, 자궁출혈 및 대하, 월경불순, 장출혈, 오장기능을 활성화시키고 해독작용을 한다. 이와같이 상황버섯은 약초로서 항암효과는 물론 술, 담배, 스트레스로 지친 현대인의 위장, 소화기계통도 튼튼하게 지켜주는 탁월한 식품으로 알려져 있다. 그러나 상황버섯의 생리활성에 대한 체계적이고 학술적인 연구가 거의 이루어져 있지 않기 때문에 그 연구의 진행이 시급하다고 볼 수 있다. 따라서 본 연구에서는 상황버섯 추출물의 생리적 기능에 대한 활성을 탐색하기 위하여 먼저 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100을 이용한 Ames test(7)로서 항돌연변이원성을 검토하고, 각종 암세포에 대한 세포독성효과를 규명하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 상황버섯은 1998년 10월 강원도 춘천에 위치한 발산농장에서 구입하여 분말화한 후 -20°C 냉동실에 보관하면서 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

추출에 적합하도록 분말화하여 환류냉각기를 부착시킨 플라스크에 시료중량에 대하여 10배량의 70% 메탄올을 첨가하여 80°C에서 8시간씩 3회 추출한 후, 감압여과 장치에서 뜨거운 상태로 여과한 후 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조하였다. 분획물의 제조는 동결건조물로부터 용매의 극성에 따라 분별분리를 행하여 디에틸 에테르, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물층으로 극성의 차이에 의해 다섯가지 분획물을 분리한 후 감압농축 후 동결건조하여 실험에 사용하였다.

변이원 물질

직접 돌연변이원인 *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine(MNNG), 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO)는 미국 Sigma 회사로부터 구입하였고, 간접 돌연변이원인 benzo(*a*)pyrene(B(*a*)P)과 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-*b*)indol(Trp-P-1)은 일본 和光純藥 특급시약을 구입하였다. 이들 변이원 물질은 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다.

세포주 및 배양

실험에 사용한 세포주는 암세포로 인간 폐암세포 A549(Lung carcinoma, Human), 유방암세포 MCF7(Breast adenocarcinoma, Human), 간암세포 Hep3B(Human hepatocellular carcinoma), 상피성암세포 HeLa(Epitheloid carcinoma, Human), 섬유성육종세포 HT1080(Fibrosarcoma, Human)를 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. A549, MCF7 세포주는 RPMI Medium 1640 복합배지, Hep3B, HT1080, HeLa 세포주는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)배지를 이용하여 10% fetal bovine serum, 37°C, 5% CO₂에 적응시켜 각각 배양시켰다.

돌연변이원성 실험

상황버섯 추출물의 돌연변이원성 실험은 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation법(7)으로 실시하였다. 상황버섯 추출물을 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 각각 50 µl씩 가하고 여기에 미리 TA-culture배지(Difco nutrient

broth 0.8 g + NaCl 0.5 g + 증류수 100 mL)에서 하룻밤 배양시킨 균액 100 μ L를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 30분간 preincubation한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar를 2 mL씩 가하여 잘 혼합한 후에 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(his⁺ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이원성 실험

항돌연변이원성 실험에 사용된 발암물질은 MNNG, 4NQO, B(a)P 및 Trp-P-1을 사용하였다. 건열 멸균시킨 glass cap tube에 상황버섯 추출물 및 분획물을 각각 50 μ L씩 첨가하고 변이원 물질을 각각 50 μ L 첨가한 다음 대사 활성물질이 필요한 경우에는 본 실험실에서 Maron과 Ames의 방법(7)에 따라 제조한 rat의 간 microsomal enzyme mixture인 S-9 mix를 250 μ L씩 각각 첨가하였다. 여기에 하룻밤 배양시킨 균액을 100 μ L씩 주입한 후 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 30분간 진탕 배양한 다음 상기의 돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀 돌연변이 수를 측정하여 항돌연변이원성의 유무를 판정하였다. 상황버섯 추출물 및 분획물과 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며 항돌연변이 활성은 변이원 물질의 활성에 대한 시료의 억제율(%)로 나타내었으며, 아래의 식으로 산출하였다.

$$\text{Inhibition ratio(\%)} = \frac{M - S_1}{M - S_0} \times 100$$

M: 돌연변이원만 존재할 경우의 복귀 돌연변이 균수

S₀: 자연 복귀 돌연변이 균수

S₁: 시료를 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이 균수

SRB assay

SRB(sulforhodamine B) 분석(8-10)은 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 10% fetal bovine serum 및 각각의(A549, MCF7, HeLa, Hep3B, HT1080)를 함유하는 RPMI 1640과 DMEM배지를 5 × 10⁴ cells/mL 농도로 100 μ L씩 각 well에 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 0.2 M 이하의 DMSO로 녹인 시료를 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL의 농도로 100 μ L씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 냉장보관한 10%(w/v) trichloroacetic acid(TCA)를 100 μ L씩 첨가한 후 1시간동안 4°C에서 방치한 후 증류수로 다섯 번 행구었다. 실온에서 건조시킨 후 1%(v/v) acetic acid에 녹인

0.4%(w/v) SRB용액 100 μ L를 첨가해 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1%(v/v) acetic acid 용액으로 네 번 정도 행구어, 다시 건조시킨 후 10 mM Tris buffer(pH 10.5) 100 μ L로 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

Ames test에 의한 항돌연변이 효과

S. typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test를 행한 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 17 ± 2, TA100은 167 ± 8이었고, 메탄올 추출물을 첨가하여 실험한 결과 집락수가 음성대조군에 비하여 농도의존성을 나타내지 않으므로 이 상황버섯 메탄올 추출물은 돌연변이원성 및 독성을 나타내지 않은 것으로 판단되었다.

상황버섯 메탄올 추출물을 plate당 50, 100, 150, 200 μ g의 농도로 첨가하여 돌연변이 억제효과를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. TA98 균주에 대하여 양성변이원 물질로 직접변이원물질인 4NQO(0.15 μ g/plate)와 변이원의 활성화를 위해 S-9 mix를 필요로 하는 간접변이원물질인 Trp-P-1(0.5 μ g/plate)과 B(a)P(10 μ g/plate)을 사용하였다. 3가지 변이원 물질에 대한 억제율은 농도증가에 따라 증가함을 보여주었다. 200 μ g/plate의 농도를 첨가하였을 때 B(a)P에 대해 88.1%의 억제율을 보였고, 4NQO는 78.3%, Trp-P-1은 78.7%의 억제율을 보여주었다. TA100 균주에 대하여 직접변이원물질로 MNNG(0.4 μ g/plate), 4NQO 그리고 간접변이원물질인 Trp-P-1, B(a)P을 사용하여 각각의 변이원물질에 대한 상황버섯 메탄올 추출물의 억제효과를 시료의 농도별 첨가에 따라 검토하

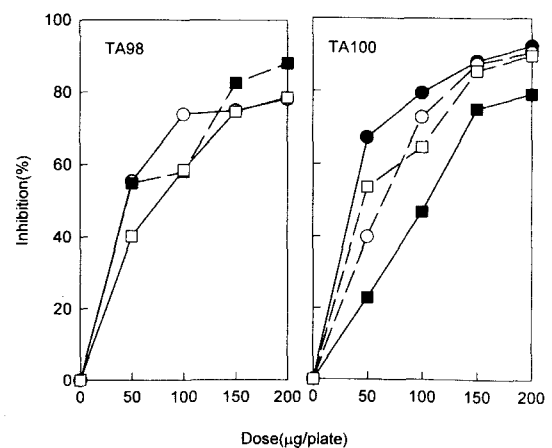


Fig. 1. Antimutagenic effects of methanol extract of *Phe-llinus linteus* against mutagens on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

● MNNG (0.4 μ g/plate), ○ 4NQO (0.15 μ g/plate)
■ B(a)P (10 μ g/plate), □ Trp-P-1 (0.5 μ g/plate)

였다. 200 µg/plate의 농도를 첨가한 결과 MNNG에 대해 92.3%의 높은 억제율을 나타내었다.

돌연변이 유발 억제효과를 나타내는 성분들의 특성을 검토하고자 각각의 버섯에 대한 메탄올 추출물을 디에틸 에테르, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물층으로 분획을 한 후 MNNG, 4NQO, B(a)P, 그리고 Trp-P-1을 사용하여 항돌연변이원성 실험을 수행한 결과 Fig. 2, 3, 4, 5에서 나타낸 바와 같이 각각의 변이원 물질에 대하여 각 분획물들은 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 즉 MNNG에 대해서는 에틸 아세테이트 분획물이 87.7%로

가장 높은 억제율을 보였고(Fig. 2), 4NQO에 대해서는 TA98과 TA100 두 균주 모두 디에틸 에테르 분획물에서 90% 이상의 높은 억제율을 보여주었다(Fig. 3). 그리고 B(a)P을 사용한 Fig. 4에서는 물층을 제외한 모든 분획물층에서 80% 이상의 높은 억제율 나타내었다. 또한 Trp-P-1에서는 TA98 균주에서 디에틸 에테르 분획물과 클로로포름 분획물이 높은 억제율을 보였고, TA100 균주에 대해서는 분획물 모두가 80% 이상의 높은 억제율을 나타내었다(Fig. 5). 이와 같이 대부분의 분획물에서 60% 이상의 높은 억제율을 보였고 물층을 제외한 4가지 분획물에서 고르게 억제율이 나타났으며, 농도증가에 따라 억

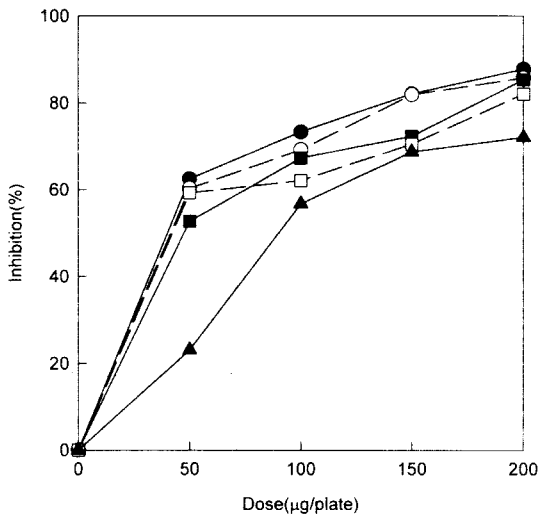


Fig. 2. Antimutagenic effects of solvent fraction of *Phellinus linteus* against MNNG (0.4 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA 100. ● Ethyl acetate, ○ Diethyl ether, ■ Butanol, □ Chloroform, ▲ Aqueous

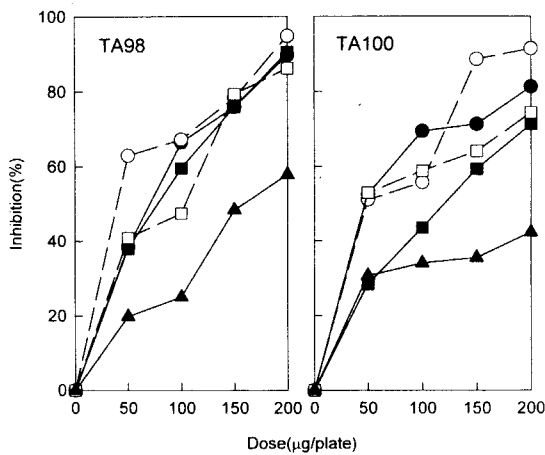


Fig. 3. Antimutagenic effects of solvent fraction of *Phellinus linteus* against 4NQO (0.15 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA100. ● Ethyl acetate, ○ Diethyl ether, ■ Butanol, □ Chloroform, ▲ Aqueous

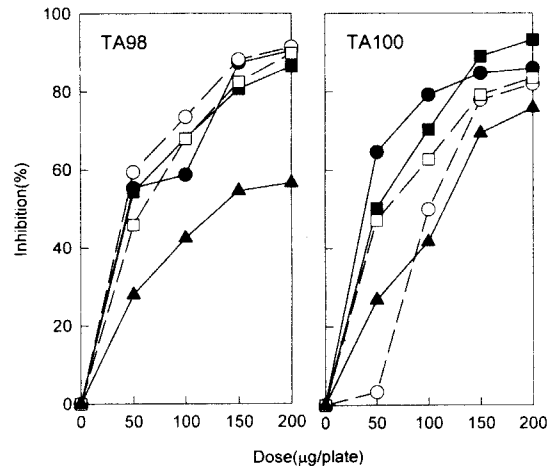


Fig. 4. Antimutagenic effects of solvent fraction of *Phellinus linteus* against B(a)P (10 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA100. ● Ethyl acetate, ○ Diethyl ether, ■ Butanol, □ Chloroform, ▲ Aqueous

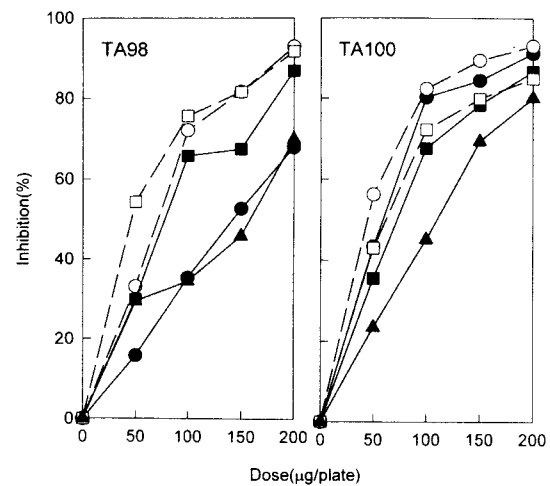


Fig. 5. Antimutagenic effects of solvent fraction of *Phellinus linteus* against Trp-P-1 (0.5 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA100. ● Ethyl acetate, ○ Diethyl ether, ■ Butanol, □ Chloroform, ▲ Aqueous

제효과도 증가함을 보였다.

상황버섯 추출물 및 분획물의 세포독성

암 유발 초기단계에서 돌연변이가 매우 중요한 작용을 하고 대부분의 발암물질이 돌연변이원이라는 공통점은 항돌연변이성을 나타내는 물질이 항암활성을 가질 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 본 실험에서는 각종 암세포에 대한 세포독성을 규명하기 위해 암세포로 A549, Hep3B, MCF7, HeLa와 HT1080 세포를 이용하여 상황버섯 메탄올 추출물 및 분획물들에 대하여 SRB assay를 행하였다. 상황버섯 추출물에 의한 암세포 성장억제효과는 Fig. 6에 나타내었다. 시료 1 mg/mL 투여시 MCF7 92.0%, Hep3B 84.9%, A549 84.2%, HT1080 82.9% 그리고 HeLa 68.3%의 억제효과를 보였다. 버섯 메탄올 추출물의 활성성분의 특성을 검토하고자 극성이 다른 용매인 디에틸 에테르, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물층으로 분획하여 농축한 후 이 분획물로 암세포(A549, MCF7, HT1080, HeLa, Hep3B)에 대한 성장억제 효과를 검토하였다.

버섯류의 항암효과는 Ikekawa 등(11)에 의하여 말굽버섯과(Polyporaceae)를 위시하여 식용균류의 자실체를 열수추출하여 얻은 추출물이 sarcoma 180 등의 동물 이식암에 대하여 숙주 중개성이 현저한 항종양 활성이 있는 것이 발견되었으며, 이후 표고버섯(*Lentinus edodes*), 운지버섯(*Coriolus versicolor*), 자작나무버섯(*Piptoporus betulinus*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 등에서도 항종양 효과가 있는 물질이 발견되었다(12). 최근 국내에서도 한국산 버섯류의 항종양 활성에 관한 연구들이 보고되고 있다. 활성성분들은 대부분 버섯 자실체나 액체배양

균사체로부터 추출된 다당류들로서 대표적으로 표고버섯 자실체에서 분리한 순수 다당체 lentinan이 sarcoma 180에 대하여 강한 항암작용을 나타낸다고 보고되었다(13). 운지버섯에서 추출한 단백다당인 Krestin 또한 sarcoma 180, P-388과 Yoshida sarcoma 등 다양한 암세포에 항암효과를 나타내었으며(14) 암환자에게 경구 투여시 다른 부작용없이 임상적 효과를 보이고 있다(15). 버섯 다당류들의 항종양작용은 암세포를 직접적으로 공격하지는 않고 숙주의 면역계에 작용하여 생체방어력 증가에 의한 것으로 알려지고 있다(16). 그리고 영지버섯의 약효 성분은 주로 다당류와 단백질이 결합된 polysaccharide-protein complex로서 그 화학적 조성도 밝혀진 바 있고, 동물실험에서도 암세포 억제효과가 입증되었다(17). 목질진흠버섯은 주로 항암활성에 관한 연구가 알려져 있는데, Chang 등(18)에 의해 보고된 자료에 의하면 17종의 담자균 가운데 월등히 높은 항암력을 지닌 버섯은 목질진흠버섯을 비롯하여 송이버섯(*Tricholoma matsutake*), 맛버섯(*Pholiota nameko*), 팽이버섯(*Flammulina velutipes*), 표고버섯 등 5종이었으며, 이 중 상황버섯은 종양저지율이 96.7%로서 가장 강력한 항암력을 지닌 것으로 보고하였다. 또한 문헌에 의하면(19) 회귀 한방 약재로서 옛부터 위통, 무릎관절통 등에 사용되어 의약품 개발의 자원으로써 그 가능성이 시사되어져 왔다. *Phellinus linteus*(상황버섯 또는 목질진흠버섯)의 자실체 열수추출물은 소화기 계통의 암에 저지효과가 있는 것으로 나타나 많은 연구가 진행되어 왔으며 균사체 배양 추출물로부터

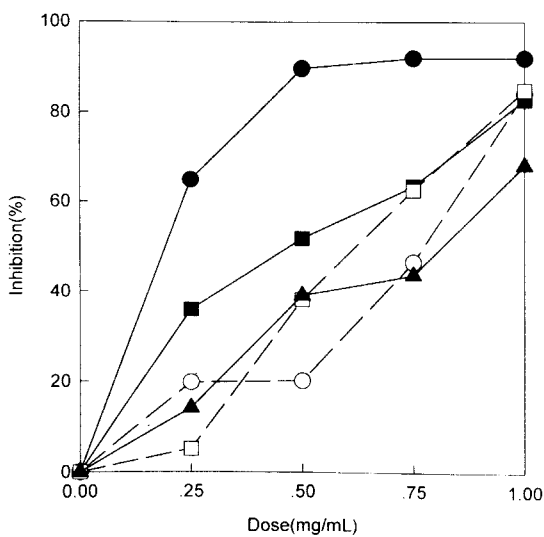


Fig. 6. Growth inhibitory effects of methanol extract of *Phellinus linteus* on human cancer cells. ●- MCF7, ○- A549, ■- HT1080, □- Hep3B, ▲- HeLa

Table 1. Growth inhibitory effects of each fraction from the 70% methanol extract of the *Phellinus linteus* on the human cancer cell

<i>P. linteus</i>	Dose (mg/mL)	Growth inhibition(%)				
		MCF7	A549	HT1080	Hep3B	HeLa
Ethyl acetate	0.25	42.8	5.7	27.1	13.4	11.3
	0.5	57.1	18.2	44.2	58.1	25.2
	0.75	90.4	29.2	57.0	61.9	38.2
	1	91.4	79.5	72.8	81.9	59.8
Diethyl ether	0.25	83.9	63.0	79.1	12.9	8.8
	0.5	84.8	78.3	83.2	41.7	14.7
	0.75	86.3	80.0	90.1	49.1	36.5
	1	86.8	83.2	93.8	62.2	58.6
Butanol	0.25	82.1	38.2	28.4	23.6	11.6
	0.5	90.0	51.2	57.2	38.0	15.9
	0.75	91.2	81.6	90.9	39.8	29.8
	1	91.7	84.2	96.3	63.3	57.0
Chloroform	0.25	88.8	61.3	32.4	23.8	7.1
	0.5	90.4	71.5	61.9	49.1	30.2
	0.75	91.2	83.0	81.7	59.9	37.9
	1	92.3	85.1	82.2	66.5	52.7
Aqueous	0.25	32.0	13.2	32.5	6.9	18.5
	0.5	48.3	38.7	39.8	16.7	34.7
	0.75	90.7	43.9	45.3	22.7	39.6
	1	91.4	48.6	61.3	26.9	62.2

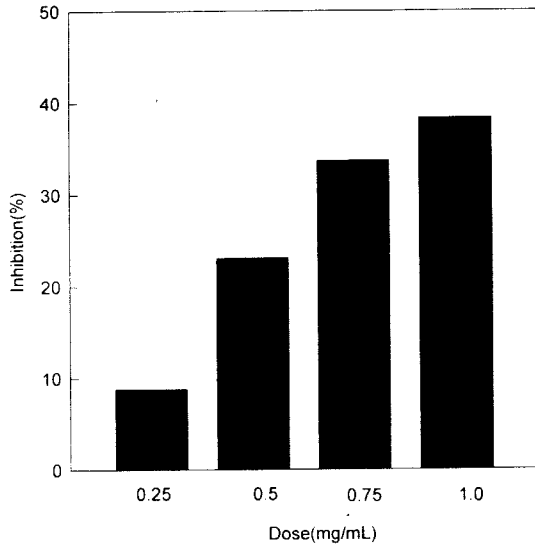


Fig. 7. Growth inhibitory effects of methanol extract of *Phellinus linteus* on human liver embryo, WRL68.

터 면역활성 및 항암활성도 입증되었다(20).

Table 1에서와 같이 상황버섯 분획물들의 암세포 성장 억제효과를 검토해 보면 1 mg/mL 첨가시 에틸 아세테이트 분획물은 HeLa 세포에 대해서 59.8%의 효과를 보인 것을 제외하고는 72.8~91.4% 정도의 높은 억제효과를 보였으며, 각각의 암세포에 대해서도 70% 전후의 높은 억제효과를 나타내었다. 그리고 유방암 세포인 MCF7의 경우는 각각의 분획물에서 0.5 mg/mL 첨가시 50% 이상의 높은 억제효과를 보인 반면에 A549와 Hep3B는 다른 암세포에 비해 비교적 낮은 억제효과를 보였다. Fig. 7은 이러한 암세포들에 대한 높은 활성을 토대로 인간 정상 간세포 WRL68(by SRB assay)에 대한 시료 농도에 따른 세포독성효과를 나타낸 것으로 1 mg/mL의 시료를 첨가시 암세포에 대해서 대부분이 70% 전후의 억제율을 보이는데 반해 WRL68에 대해서는 50% 이하의 생육억제율을 보였다. 이는 암세포에 대한 높은 억제효과에 비해 정상 세포에 대해서 비교적 낮은 독성효과를 나타냄을 알 수 있었다.

요 약

S. typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test에서는 상황버섯 메탄올 추출물 모두 시료자체의 돌연변이원성은 없는 것으로 나타났다. 상황버섯 메탄올 추출물 (200 µg/plate) 중 TA98 균주를 이용한 항돌연변이 효과를 확인한 결과 직접변이원인 4NQO에 대해 78.3% 그리고 간접변이원인 Trp-P-1과 B(a)P에 대해 각각 78.7%와 88.1%의 높은 억제효과를 보였다. 또한 TA100 균주에서는 MNNG는 92.3%의 높은 억제율을 보였다. 4NQO,

Trp-P-1 및 B(a)P은 각각 90.5%, 89.6% 그리고 78.9%의 억제율을 보였다. 각각의 변이원 물질에 대한 상황버섯 분획물(200 µg/plate)의 항돌연변이 효과에서는 MNNG에 대해서 에틸 아세테이트 분획물이 87.7%로 가장 높은 억제율을 보였고, 4NQO는 TA98과 TA100 두 균주 모두 디에틸에테르 분획물에서 90% 이상의 높은 억제율을 보여 주었다. 그리고 B(a)P에 대해서는 물층을 제외한 모든 분획물층에서 80% 이상의 높은 억제율 나타내었다. 또한 Trp-P-1에서는 TA98 균주에서 디에틸에테르 분획물과 클로로포름 분획물이 높은 억제율을 보여주었고, TA100 균주에 대해서는 분획물 모두가 80% 이상의 높은 억제율을 나타내었다.

각종 암세포에 대한 상황버섯 메탄올 추출물의 저해효과는 시료 1 mg/mL 투여시 MCF7 92.0%, Hep3B 84.9%, A549 84.2%, HT1080 82.9% 그리고 HeLa 세포에서는 68.3%의 억제효과를 보였다. 인간 정상 간세포 WRL68에 대한 시료 농도에 따른 세포독성효과는 1 mg/mL의 시료를 첨가시 50% 이하의 생육억제율을 나타냄으로써 정상 세포에 대해서는 낮은 독성효과를 나타낸다는 사실을 알 수 있었다. 상황버섯 분획물들에 대한 억제효과에서는 시료의 농도를 1 mg/mL 첨가시 에틸 아세테이트 분획물의 경우 HeLa 세포에 대해서 59.8%의 억제효과를 보인 것을 제외하고는 72.8~91.4% 정도의 높은 억제효과를 보였으며, 각각의 암세포에 대해서도 70% 전후의 높은 억제효과를 나타내었다. 그리고 유방암 세포인 MCF7의 경우는 각각의 분획물에서 0.5 mg/mL 첨가시 50% 이상의 높은 억제효과를 보인 반면에 폐암세포인 A549와 간암세포인 Hep3B는 다른 암세포에 비해 비교적 낮은 억제효과를 보였다. 그러나 물 분획물의 경우는 암세포에 대해 상대적으로 낮은 억제효과를 나타내었다.

문 헌

- Rhew, T.H. : Food, nutrition and cancer. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **14**, 305-313 (1985)
- Suh, Y.J. : Cancer chemoprevention by food. *Food Science and Industry*, **30**, 59-63 (1997)
- Kim, G.H. and Han, H.K. : The effect of mushroom extracts on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 326-332 (1998)
- Sung, J.M., Yoo, Y.B. and Cha, D.Y. : *Mushroom*. Kyo-haksa, Seoul, p.3 (1998)
- Yamada, S. : Mycelial culture method of *Phellinus linteus*. *Korean patent* 92-1194 (1994)
- Choi, J.H., Ha, T.M., Kim, Y.H. and Rho, Y.D. : Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. *Kor. J. Mycol.*, **24**, 214-222 (1996)
- Maron, D.M. and Ames, B.N. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**, 173-215 (1983)
- Martin, A. and Martin, C. : Comparison of 5 microplate

- colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. *Cytotechnology*, **11**, 49-54 (1997)
9. Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Bistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A., Gray-Goodrich, M., Campbell, H., Mayo, J. and Boyd, M. : Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.*, **83**, 757-766 (1991)
 10. Skehan, P., Storeng, R., Monks, S.A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M.R. : New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, **82**, 1107-1112 (1990)
 11. Ikekawa, J., Nakamishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F. : Antitumor action of some basidiomycetes especially *Phellinus linteus*. *Gann.*, **59**, 155-157 (1968)
 12. Hartwell, J.L. : Plants used against cancer. *A. Survey. Lloyd.*, **34**, 386-389 (1971)
 13. Goro, C., Junji, H., Yukiko, Y., Yoshiko, A. and Fumoko, F. : Fractionation and purification of the polysaccharides with masked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res.*, **30**, 2776-2781 (1970)
 14. Hiroshi, F., Katsui, O., Masanori, I., Mikio, M., Shinji, N., Michie, S., Masanori, T., Yoshikumi, C. and Yoshio, K. : Effect of PSK, A protein bound polysaccharide from *Coriolus versicolor*, on drug-metabolizing enzyme in sarcoma 180 bearing and normal mice. *Int. J. Immunopharmac.*, **10**, 445-451 (1988)
 15. Youlchi, M. and Osamu, Y. : Activation by protein bound polysaccharide PSK (Krestin) cytotoxic lymphocytes that act on fresh autologous tumor cells and T24 human urinary bladder transitional carcinoma celline in patients with urinary bladder cancer. *J. Urology*, **145**, 1082-1088 (1991)
 16. Kweon, M.H., Lim, E.J. and Sung, H.C. : Studies on bioactive polysaccharide isolated from *Agaricus bisporus*. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, **41**, 60-66 (1998)
 17. Kim, S.W. : Studies on anti-microbial and anti-cancer functions of polysaccharide extracted *Ganoderma lucidum*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1183-1188 (1998)
 18. Chang, S.T., John, A.B. and Chiu, S.W. : *Mushroom biology and mushroom products*. World scientific, Washington, D.C., p.1-20 (1993)
 19. 江蘇新醫學院編 : 中藥大辭典. 上海科學技術出版社, 香港, p.28 (1977)
 20. Kang, C.Y., Shim, M.J., Choi, E.C., Lee, Y.N. and Kim, B.K. : Studies on antineoplastic components of Korean basidiomycetes. Mycelial culture and an antineoplastic component of *Ganoderma lucidum*. *J. Korean Biochem.*, **14**, 101-112 (1981)

(2000년 1월 15일 접수)