

## 유근피(楡根皮)로부터 단백다당체의 분리 및 항암 면역활성 연구

양 영 렬 · \*김 영 주 · 김 경 화 · 오 유 진  
삼성종합기술원  
(접수 : 2001. 10. 25., 게재승인 : 2001. 12. 19.)

### Separation of Glycoprotein and its Anticancer Immunostimulating Activity from Dried Barks of Slippery Elm (*Ulmus parvifolia*)

Young Lyeol Yang, Young Joo Kim\*, Kyung Hwa Kim, and Eugene Oh  
Samsung Advanced Institute of Technology  
(Received : 2001. 10. 25., Accepted : 2001. 12. 19.)

Glycoprotein from the water extract of dried root barks of slippery Elm was investigated for its anticancer immunostimulating activity. The glycoprotein contained molecular weight 15,000 to 500,000 Da, total carbohydrates 55.8 to 72.1%, total uronic acid 30.0 to 30.5%, and total proteins 5.0 to 6.1%. The anticancer immunostimulating activities were examined for both *in vitro* bioassays such as immune cell proliferation assay, mixed lymphocyte reaction (MLR), direct mitogenicity, T-dependent antibody production, and *in vivo* bioassays such as septic shock test and anticancer activity test in B16 melanoma transplanted mouse model. *In vivo* assay, the glycoprotein at the concentration of 3 mg/kg showed the best result that median survival time increased to about 140% in contrast to control groups.

**Key Words** : *Ulmus*, glycoprotein, immunostimulating anticancer activity

#### 서 론

현재까지 암에 대한 많은 의약품이 개발되어 시스플라틴(cis-platin), 5-플루오로우라실(5-fluorouracil), 메토틱세이트(methotrexate), 택솔(taxol) 등 여러 가지 항암제가 개발되었지만, 부작용이나 안정성면에서 여전히 만족할 만한 수준이 아니어서 암에 대한 선택성이 높은 새로운 항암제의 개발연구가 계속되고 있다. 이와 더불어 비교적 부작용이 적고 면역증강에 의한 항암효과를 나타내는 천연물 유래의 항암제의 개발에도 관심이 높아지고 있는 실정이다. 실제로 표고버섯으로부터 추출한 고분자 다당체인 렌티난(Lentinan), 구름버섯으로부터 추출한 다당체인 크레스틴(Krestin), 스트렙토마이세스 올리보레티쿨리(*Streptomyces olivoreticuli*)의 배양을 통해 수득한 디펩티드 등이 일본에서 항암효과와 면역증강 효과를 인정 받아 널리 사용되고 있으며(1-3), 한국에서도 상황버섯의 균사체 추출물인 메시마(한국신약)가 면역증강 항암보조제로서 상용화되어 있다(4).

느릅나무과(Ulmaceae)에 속하는 느릅나무(*Chinese elm*)는 참느릅나무(*Ulmus parvifolia*), 왕느릅나무(*Ulmus macrocarpa*),

난티나무(*Ulmus laciniata*), 당느릅나무(*Ulmus davidiana*) 등의 여러 종류가 있으며, 한국을 비롯하여 일본, 중국 등에서 자라는 낙엽교목이다. 특히, 느릅나무의 뿌리 껍질을 건조한 유근피는 본초강목, 의학입문, 향약집성방, 동의보감 등의 고전 의서들에서도 그 약성에 대해 언급이 되어 있으며, 한방이나 민방에서는 이수, 임질, 수종, 응종, 유선염, 위궤양, 축농증 등에 널리 사용되고 있다(5). 의학입문에 따르면 유근피는 독이 없고 수도(水道)를 통리하여 주고, 종만(腫滿)을 소멸시키고, 대소변을 소통시켜주는 것으로 나와있다. 또한, 뿌리껍질의 수액은 간암에 사용하고, 낭유염은 느릅나무의 잎 부분으로서 장중, 요배통, 치통의 소염으로 사용하며, 과실은 구충, 항진균 용도로 사용하고 있다.

전술한 바와 같이 느릅나무 껍질 특히, 유근피는 다양한 생리활성기능을 갖고 있지만, 해당 생리활성을 부여하는 성분에 대한 연구는 많이 보고되어 있지 않다.

그러나, 김종평(6)은 당느릅나무로부터 전형적인 천연물 용매추출방법에 의하여 전체 추출물 중 극성에 따른 성분 분리를 통해 다비디아논(davidianone) 화합물들을 분리하였으며, 이들 성분의 세포독성, 항균활성 및 산화억제 활성 등을 보고하였다. 전기 화합물들은 저분자량의 유기화합물로서 세포독성에 의한 항암효과 및 소염진통, 항부종 작용의 주성분인 것으로 밝혀졌다. 한편, 조승길 등(7)은 참느릅나무의 근피수침엑스를 분리하여 이것이 갖고 있는 소염, 진통작용을 보고하였다. 그러나, 이 논문에서는 따로 단백다당체를 분리하지

\*Corresponding Author : Samsung Advanced Institute of Technology, 103-6, Moonji-dong, Yuseong-gu, Taejeon 305-380, Korea  
Tel : +82-42-865-4784, Fax : +82-42-865-4789  
E-mail : yjkim@sait.samsung.co.kr

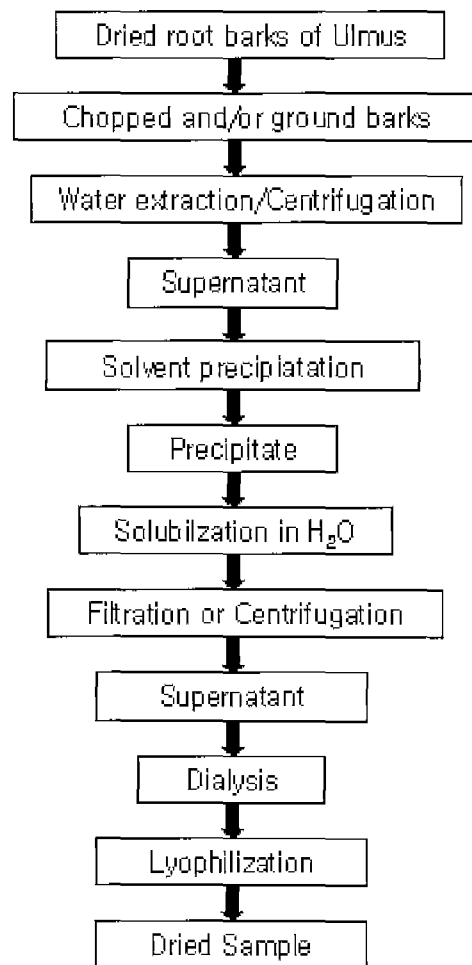
않았고, 수용액 추출물 전체를 사용했기 때문에 단백질당체의 면역활성에 의한 생리활성을 볼 수 없었다. 오히려 이 논문에서는 근피수침액스가 제액성, 세포성 면역반응을 모두 저해하는 것으로 보고하고 있다. 본 논문에서는 유근피의 수용액 추출물로부터 단백질당체를 분리하고 단백질당체의 면역활성에 의한 항암효과를 보고하고자 한다.

느릅나무 뿌리껍질은 이미 국내에서 암환자들 사이에 좋은 인식으로 퍼져 있으나, 아직 과학적인 기작 연구를 통한 항암 활성성분은 확인되지 않았다. 느릅나무 껍질을 분리/정제 공정 없이 복용할 경우, 일부 화합물은 면역억제의 효과를 나타내므로, 고분자량의 단백질당체가 갖는 면역증강 효과를 감소시킬 수 있다. 또한, 저분자량의 유기화합물은 세포독성에 의한 항암, 항균, 소염, 항부종 효과를 보일 뿐이어서, 본 연구의 고분자량의 단백질당체가 갖는 무독성(IC<sub>50</sub> > 100 mg/kg) 과는 구별이 된다(6). 따라서, 본 논문에서는 부작용이 적고 독성면에서 매우 안전하면서도, 인체 내 면역계의 기능을 강화시켜 항암효과를 나타내는 물질로 저분자량의 유기화합물이 아닌 고분자량의 단백질당체를 느릅나무로부터 선택적으로 분리하고, 그것이 갖고 있는 면역활성에 의한 항암 효과를 밝히는 연구에 대해 보고하고자 한다(8).

**재료 및 방법**

**단백질당체의 제조**

초재상(아산약업사, 대구)에서 구입한 건조된 느릅나무(*Ulmus parvifolia*)의 뿌리 껍질을 잘게 자르거나 또는 분쇄기에서 조분쇄물로 만든 조편분말 84.7g에 증류수 1.2 L를 가하여 상온에서 3 내지 5회 반복 추출하였다. 상기 수용액 추출액을 초고속 원심분리기(Sorvall RC 26 Plus, DuPont)를 사용하여(Rotor SLA-3000, 7,200 g, 30분) 고형물을 분리하고 상등액을 취한 후, 아세톤과 상등액을 2:1(v/v)의 비율로 혼합하여 단백질당체를 침전시켰다. 이렇게 침전된 단백질당체를 증류수로 용해시켜 0.5 내지 3.0 μm 범위의 필터(Glass microfibre filters, Whatman International Ltd., England)를 거쳐 여액을 수득하고, 수득된 여액을 다시 배제 분자량이 5내지 10 kDa 인 투석막(Spectrapor, Spectrum Medical Industries, Inc., U.S.A.)을 거쳐 내부 분획을 수득하였다(Scheme 1). 이렇게



Scheme 1. Flow diagram for sample preparation from the dried slippery Elm.

얻어진 내부분획을 동결건조하여, 백색의 최종 단백질당체 5.0 g을 6% 정도의 수율로 수득하였다(Figure 1).

**단백질당체의 조성분석**

느릅나무로부터 제조된 단백질당체의 분광학적 분석은 FT-IR(Bomem MB-104, Hartmann&Braun, Canada)과 <sup>1</sup>H-NMR

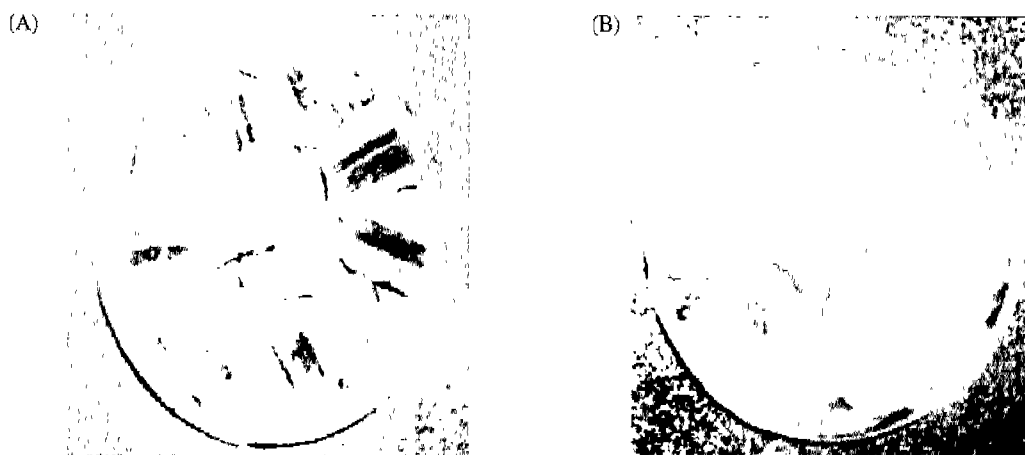


Figure 1. Photographs of samples (a) chopped samples of dried slippery Elm (b) lyophilized samples after extraction.

(Avance300, Bruker, Swiss)을 사용하여 수행하였고, 분자량 측정을 위해서는 HPLC(Waters, U.S.A.)를 이용하였다. HPLC 분석을 위해 겔여과 컬럼(Tosohaas TSK-Gel G-3000SW, 직경 7.5 mm, 길이 600 mm, Japan)을 사용하고, 20 mM 인산이 포함된 0.2 M 아세트산암모늄(pH 6.8) 용액을 이동상으로 하고, 1.0 mL/min의 유속을 유지하면서 분석하였다. 겔여과 컬럼에 텍스트란을 통과시켜 공부피(Vo)를 구하고, 각각의 표준물질(텍스트란을 제외한 겔여과 분자량 표지에 포함되어 있는 6 종류의 물질들)을 통과시켜 용출부피(Ve)를 구한 후, 분자량 대 Ve/Vo에 의한 검량곡선을 작성하였다. 느릅나무추출 성분의 Ve를 측정하여 검량곡선으로부터 Ve/Vo를 계산하여 추출성분의 분자량을 구하였다(9).

단백다당체의 총합량을 측정하기 위하여, 페놀-황산법(10)을 이용하였으며, 단백질의 산성당 함량 측정은 우론산(uronic acid) 함량을 측정하는 카바졸법(11)을 사용하였다. 그리고, 단백질의 단백질 함량 측정을 위해 개선된 로우리법(modified Lowry method)(12)을 사용하였으며, 단백질의 당의 구성성분을 분석하기 위하여 8mg의 단백질을 0.8 mL의 2 M 염산용액으로 처리하고, 100°C에서 2내지 5시간 가수분해 반응 시킨 후, 탄산바륨으로 반응액을 중화시키고 원심분리하여 분리된 상층액을 HPLC의 시료로 사용하였다. HPLC(Waters, U.S.A.)를 이용하여 분리컬럼(Waters Carbohydrate, 직경 4.6 mm, 길이 250 mm, U.S.A.)을 사용하고, 75%(v/v) 아세트나트륨 수용액을 이동상으로 하여 0.5 mL/min의 유속을 유지시키며 분석하였다. 0.5 M 수산화나트륨 용액의 컬럼후 혼합기(0.5 mL/min)를 거쳐 전기화학검출기(Waters 464, U.S.A.)에 결합시켜 검출하였다. 이때, 표준용액으로는 각각의 단당류 용액(증류수에 글루크론산(glucuronic acid), 람노스(rhamnose), 아라비노스(arabinose), 글루코스(glucose), 갈락토스(galactose), 푸코스(fucose), 자일로스(xylose), 라피노스(raffinose), 만노스(mannose), 라이보스(ribose) 등을 0.2 내지 10 mg/mL의 농도로 용해시킨 용액)을 사용하여 표준 용량곡선을 작성하여, 느릅나무추출 단백질의 당의 구성성분을 비교 분석하였다.

#### 실험동물

느릅나무추출 단백질의 면역활성에 의한 항암효과를 검증하기 위하여 B16 흑색종 이식 쥐를 이용하여 실험하였다. 실험동물은 대한실험동물센터(주)로부터 공급 받아 유지 관리되고 있는 특정병원체부재 쥐(암컷, 6주령, 18~22 g)를 사용하였다.

#### 생체의 면역활성 검증

면역세포 증식시험(immune cell proliferation assay)(13)은 특정병원체부재(specific pathogen free, SPF) balb/c 쥐로부터 비장을 취하여 면역세포를 분리하였고, 세포의 최종 농도가  $2 \times 10^6$  세포/mL, 단백질의 최종 농도가 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$ 이 되도록 96-well plate에 단백질 10  $\mu\text{L}$ 와 세포액 90  $\mu\text{L}$ 를 처리하였다. 면역세포의 증식을 알아보기 위하여 단백질을 첨가하여, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 배양기에서 3일간 배양한 후, 배양액에 MTS 용액(14) 20  $\mu\text{L}$ 를 처리한 후, 4시간 내에 490 nm에서 흡광도를 판독하여 관찰하였다. 이때,

양성대조군으로는 리포 폴리사카라이드(lipopolysaccharide, LPS)를 동일한 농도 범위로 처리하여 사용하였다. 아울러, 각 농도 범위에서 현미경(200배율)으로도 면역세포의 증식 정도를 확인하였다.

혼합림프액 반응(mixed lymphocyte reaction, MLR)(15)은 특정병원체부재의 B6C3F1(H-2<sup>k</sup>) 쥐와 BDF1(H-2<sup>d</sup>) 쥐의 비장세포( $5 \times 10^6$  세포/mL)를 이용하여 혼합림프액 반응을 유도하였다. 단백질의 최종 농도가 1, 10, 100  $\mu\text{g/mL}$ 이 되도록 첨가한 후, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 배양기에서 3일간 배양한 다음에 세포분열시 <sup>3</sup>H-티미딘(thymidine)의 결합 정도를 측정하였다. 면역세포 분열촉진(direct mitogenicity) 시험(16)은 BDF1 쥐의 비장세포( $1 \times 10^5$  세포/mL)를 96-well plate에 well 당 200  $\mu\text{L}$ 씩 가하고, 단백질의 최종 농도가 1, 10, 100  $\mu\text{g/mL}$ 이 되도록 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 배양기에서 3일간 배양하고 <sup>3</sup>H-티미딘의 결합 정도를 측정하였다. T-cell의존형 항체생성(in vitro T-cell dependent antibody production) 능력 측정(17)에서는 BDF1 mouse에서 적출한 비장세포( $1 \times 10^7$  세포/mL)를 sRBC antigen으로 면역화 시켰으며, 이후 시료를 처리하여 시료에 의한 항체생성능력의 변화를 측정하였다.

#### 생체내 항암활성 및 독성 검증

생체내 면역활성에 의한 항암효과를 보기 위해 B16 흑색종 모델을 사용하였다. 단백질의 농도를 0.3, 1, 3, 10 mg/kg의 농도로 조제하였다. 용매대조군은 멸균증류수를 사용하였고, 양성대조군으로는 아드리아마이신(adriamycin, ADR) 1 mg/kg을 사용하였다. 먼저, 그룹당 쥐를 10마리로 나누고, 실험 0일째에 B16 흑색종 세포( $1 \times 10^5$  세포/동물)를 복강으로 쥐당 0.2 mL을 이식하고, 4시간 경과 후 조제된 단백질 및 용매를 복강주사하였다. 투여 횟수는 15일째까지 총 16회 투여하였고, 당일부터 2일 간격으로 체중의 변화를 측정하였다. 또한, 약물에 의한 독성 정도를 알아보기 위하여, 투여 당일부터 2일 간격으로 체중의 변화를 측정하였으며, 동시에 하루에 두 번 사망 여부를 관찰하여 살아있는 쥐의 수를 조사하였다. 그리고, 단백질의 급성독성을 알아보기 위해 단백질의 패혈성 쇼크모델에서의 급성독성 유발 정도를 검증 비교하였다. 단백질의 농도는 쥐 한 마리 당 1, 3, 10, 30, 100 mg/kg이 되도록 처리하였다. 대조물질로는 리포폴리사카라이드(LPS)를 3 mg/쥐(150 mg/kg)의 용량으로 멸균증류수에 희석하여 사용하였고, 실험 0일째에 단백질 및 LPS를 0.2 mL/20 g씩 복강 주사하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 단백다당체의 조성

단백다당체의 FT-IR 스펙트럼에서는 3446  $\text{cm}^{-1}$ 에서 당 성분에 존재하는 하이드록시(-OH)기가 강한 흡광도를 보였고, 1654  $\text{cm}^{-1}$ 에서 아미드카보닐(NHC=O)기의 흡광도가 나타났다. 단백질을 D<sub>2</sub>O에 용해시켜 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼을 분석한 결과 3.5 내지 4.5 ppm에서 고분자의 다당류가 나타내는 당 성분 특유의 피크들이 나타나 느릅나무 추출물이 다당류가 함유된 단백질임을 확인할 수 있었다. 느릅나무 추

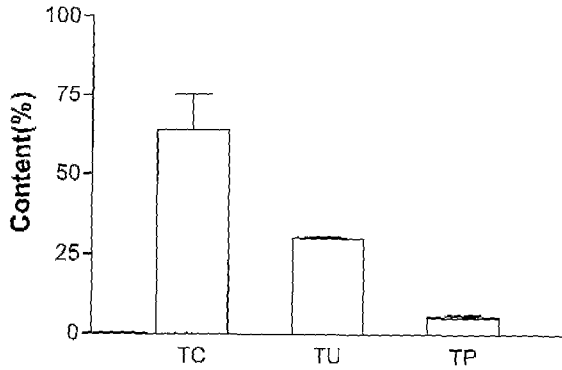


Figure 2. Contents of total carbohydrate(TC), total uronic acid(TU) and total protein(TP) in a sample extracted from dried slippery Elm.

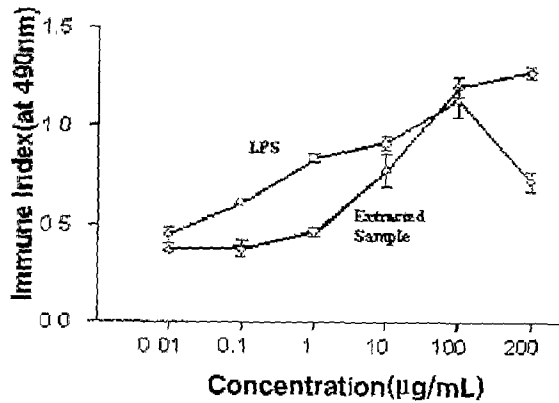


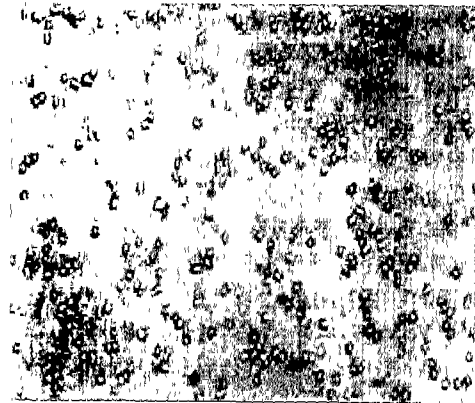
Figure 3. Result of immune cell proliferation assay. Immune index means absorbance at 490nm in MTS assay.

출물의 화학적 조성을 분석한 결과 총당함량은 55.8~72.1%였고, 총산성당 함량은 30.0~30.5%, 총단백질 함량은 5.0~6.1%로 나타났다(Figure 2). 느릅나무 추출성분의 분자량은 50내지 500 kDa 범위의 분자량을 나타내었다. 그리고, 단백 다당체를 구성하는 당성분을 조사한 결과 글루크론산이 63.9%, 람노스가 14.8%, 아라비노스가 3.9%, 글루코스가 1.1%, 갈락토스가 15.5% 정도로 나타났다.

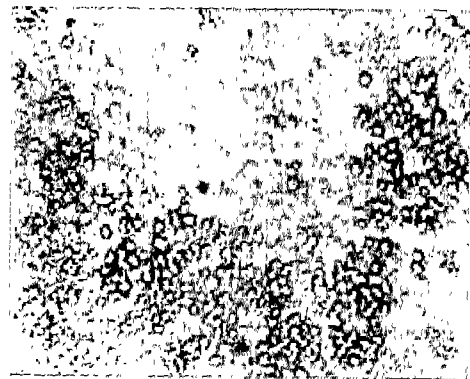
세포의 면역활성 검정

다당류의 항암활성은 암세포에 대한 직접적인 세포치사에 기인하는 것이 아니라, 면역활성에 의한 간접적인 치료에 의한 것이다(18). 따라서 본 연구를 위해 얻어진 단백다당체의 면역증강활성을 측정하기 위하여, 생체의 면역활성 점정법으로 면역세포 증식시험(immune cell proliferation assay), 혼합림프액 반응(mixed lymphocyte reaction, MLR), 면역세포 분열촉진(direct mitogenicity) 시험, T-cell 의존형 항체생성(*in vitro* T-cell dependent antibody production) 능력측정을 실시하였다.

MTS 용액을 이용하여 balb/c mouse의 비장에서 분리한 면역세포의 증식실험을 보면(Figure 3), 느릅나무 추출물인 단백다당체의 농도가 증가할수록 높은 면역세포 증식을 나타내었다. 양성대조군으로 사용한 LPS의 경우와 비교해보면 10 µg/mL 이하의 낮은 농도범위에서는 LPS보다 낮은 증식 결과를 보여주지만 이보다 높은 농도에서는 LPS보다 더 높



(a)



(b)

Figure 4. Microscopic photographs(magnification: ×200) of immune cell proliferation assay after 3 days culture. [(a) control: medium + cell, (b) sample treatment(200 µg/mL)].

은 증식을 보여주었다. 이 결과는 느릅나무 추출 단백다당체가 면역세포의 증식을 자극하는 물질(mitogen)로서 면역세포의 증식을 유도함을 나타낸다. Figure 4의 현미경 사진을 보면 단백다당체를 처리하지 않은 실험에 비하여(Figure 4(a)) 단백다당체를 처리할 경우(Figure 4(b)) 면역세포의 증식이 유도된 것을 뚜렷이 볼 수 있다. 이러한 결과는 <sup>3</sup>H-티미딘을 이용한 direct mitogenicity 실험에서도 동일한 경향을 나타내었으며(Figure 5(b)) 시료의 농도가 증가할수록 높은 면역세포 증식을 보여주었다. Figure 5(b)를 보면 양성대조군에 비해 단백다당체의 농도가 100 µg/mL일 때 상당히 높은 수준의 면역세포 증식을 나타내었다.

Figure 5(a)는 혼합림프액 반응(MLR) 결과를 나타내는 것으로 이 경우도 단백다당체의 처리농도가 높을수록 높은 면역반응을 나타내었다. MLR은 면역세포 중 T세포에 의한 면역반응을 측정하기 위한 하나의 실험으로 이 결과는 느릅나무 추출물인 단백다당체가 면역세포인 T세포의 면역반응을 촉진시킴을 보여준다. 생체내의 면역반응은 크게 체액성 면역반응과 세포성 면역반응으로 구분 지을 수 있는데, 전자의 경우 B세포에 의한 면역반응이고 후자의 경우 T세포에 의한 면역반응이다(19,20). 이 중 T세포는 항원으로부터의 자극이 있으면 이에 반응하여 급격히 활성화되어 세포분열을 일으키게 되며 이에 따라 특정항원에 특이성을 가진 T세포의 숫자가 현저히 증가하게 된다. 뿐만 아니라 B세포나 다른 T세포,

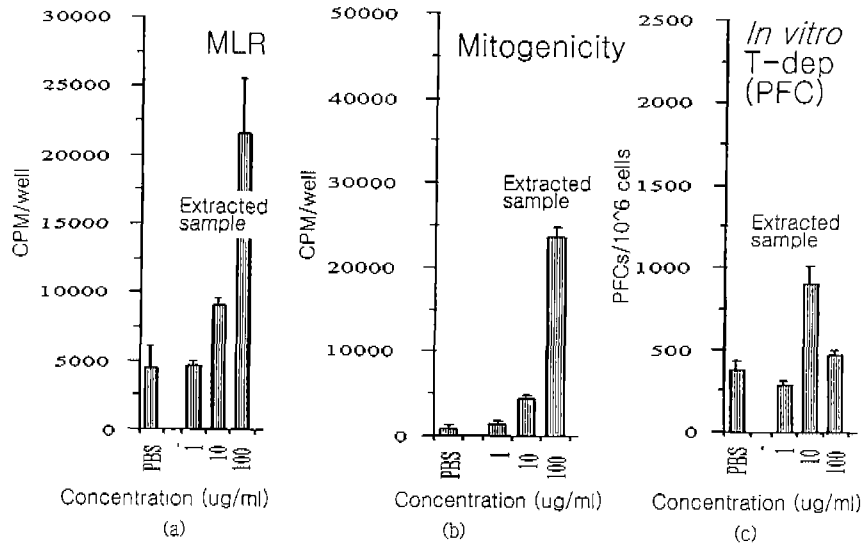


Figure 5. *In vitro* bioassays for measuring immunostimulating activities(PBS:phosphate-buffered saline, CPM: counts per minute, PFC: plaque forming cell) [(a): mixed lymphocyte reaction(MLR), (b) direct mitogenicity test, (c) *in vitro* T-dependent antibody production test].

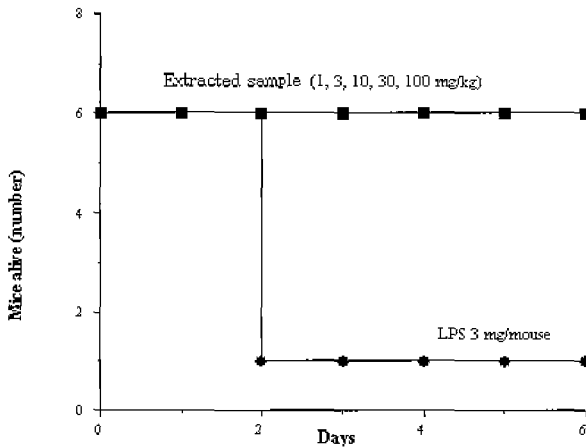


Figure 6. The numbers of live mice after treatment of extracted sample. The sample is glycoprotein with which mice was treated at the concentration of 1, 3, 10, 30, 100 mg/kg. 3 mg of lipopolysaccharide (LPS) was injected to each mouse.

혹은 대식세포(macrophage)와 같은 다른 면역세포에 자극을 줄 수 있는 여러 가지 factor를 분비하기도 하고 암세포를 직접 공격하여 죽이기도 한다. 따라서, 단백질다당체의 T세포 활성화는 면역증강에 의한 암세포 제거에 중요한 역할을 하게 된다(21,22). Figure 5(c)는 느릅나무 추출물인 단백질다당체의 *in vitro* T-dependent 항체형성 능력에 대한 실험결과로 MLR 이나 direct mitogenicity 실험 결과에 비하여 낮은 활성을 보여 주었다. 이상과 같은 세포 외 면역활성 검정 결과를 토대로 볼 때 느릅나무 추출물인 단백질다당체는 면역세포의 증식을 유도하는 mitogen으로서의 기능을 갖고 있으며, 면역세포 중 B세포에 대한 면역반응보다는 T세포에 대한 면역반응을 더 강하게 유도하는 것으로 판단된다.

**생체내 독성 검정**

패혈성 쇼크(septic shock) 모델에서의 단백질다당체의 독성 실험 결과를 보면(Figure 6) 양성대조물질인 LPS처리군에 비

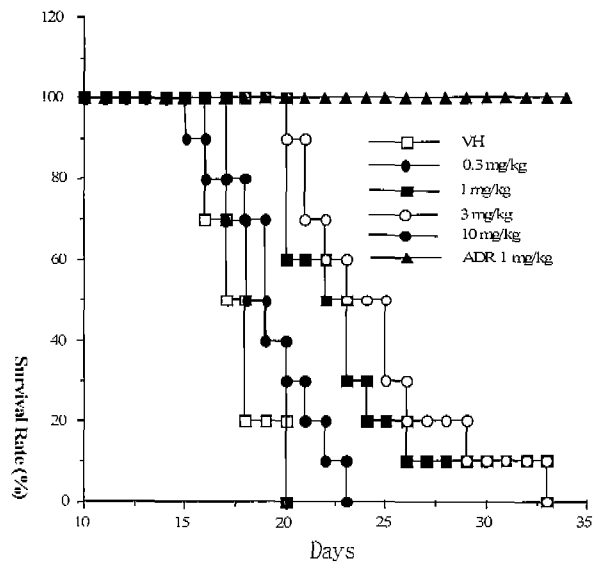


Figure 7. *In vivo* immunostimulating anticancer activities of extracted samples. The mice implanted with B16F10 melanoma were treated with each sample. BDF1 mice were inoculated i.p. on day 0 with 10<sup>5</sup> B16F10 melanoma cells. Drugs were administered by the i.p. route at days 0-15 ADR means adriamycin.

해 안전한 결과를 나타내었다. 결과를 보면 느릅나무추출 단백질다당체는 100 mg/kg의 농도까지 패혈성 쇼크 유사증상이 관찰되지 않을 정도로 안전하였으나, 양성대조물질인 LPS 처리군(3 mg/마우스)의 경우 둘째 날에 패혈성 쇼크 진행, 행동 실조 등 제반 독성증상을 보이면서 6 마리 중 5 마리에서 패혈성 쇼크에 의한 사망 동물이 관찰되었다.

**생체내 항암활성 검정**

느릅나무 추출물인 단백질다당체의 면역활성에 의한 항암효능을 검증하기 위하여 B16 흑색종 이식 마우스 시험을 실시하였다(Figure 7). Figure 7의 결과를 보면 용매 대조군은 15 일째에 사망 동물이 관찰되기 시작하였으며, 아드리아마이신

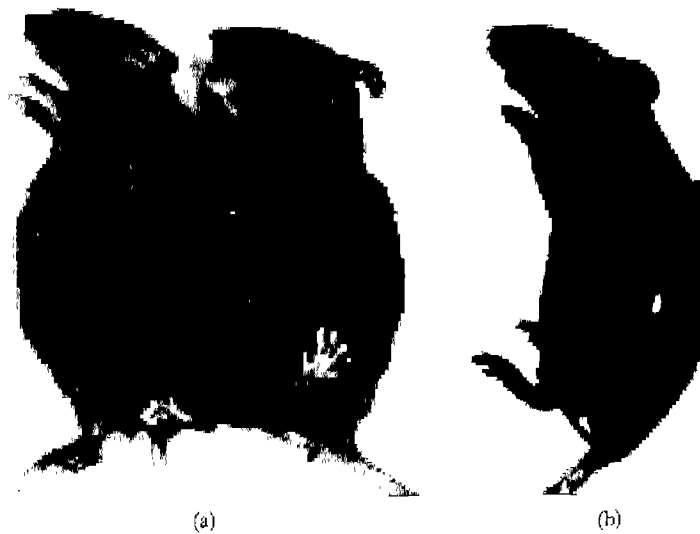


Figure 8. Photographs of B16 melanoma transplanted mice[(a) control(no treatment), (b) 3 mg/kg sample treatment].

을 처리한 양성대조군을 제외한 전 처리군에서 34일째를 전후해 모든 동물이 사망하였다. 느릅나무 추출 단백질당체는 0.3, 1, 3, 10 mg/kg의 농도에서 각각 113.0%, 131.2%, 139.2%, 107.9%의 유의성 있는 항암효과를 보였으며, 이중 3 mg/kg 군에서 가장 강한 항암효과(약 140% 생존연장 효과)가 있었다. 이때 양성 대조물질인 아드리아마이신은 177.2% 이상의 높은 생존연장 효과를 나타냈다. 단백질당체에 의한 생존연장효과는 면역증강에 의한 항암효과로서 나타난 결과이고, 아드리아마이신의 경우 암세포에 대한 세포독성에 의해 나타난 것이다. 한편 투여 익일부터 14일간 체중의 변화를 2일간격으로 관찰한 결과 약물처리 후 14일째까지 특별한 체중의 감소는 관찰되지 않았다. Figure 8는 B16 흑색종 이식 마우스의 사진을 보여주고 있으며, Figure 8(a)는 용매대조군의 마우스를 Figure 8(b)는 3 mg/kg의 느릅나무 추출물 단백질당체를 처리한 경우의 마우스를 보여주고 있다. 그림에서 보면 용매대조군의 경우 암세포 증식이 과도하게 이루어진 것을 알 수 있으며 단백질당체 시료를 처리한 경우 이러한 암세포 증식이 상당히 억제된 것을 알 수 있다.

## 요 약

본 연구에서는 민방이나 한방에서 천연 약재로 많이 사용하고 있는 느릅나무 뿌리껍질(유근피)로부터 수용액 추출물을 분리하여 이 중 단백질당체를 분리하여 성분분석 및 단백질당체가 갖고 있는 면역활성에 의한 항암효과를 실험적으로 제시하였다. 느릅나무 추출물 당단백질의 화학적 조성은 보면 총당함량은 55.8~72.1%였고, 총산성당 함량은 30.0~30.5%, 총단백질 함량은 5.0~6.1%으로 수용성 고분자이며, 50 내지 500 kDa 범위의 분자량을 나타내었다. 그리고, 단백질당체를 구성하는 주요 당성분으로는 글루크론산, 람노스, 아라비노스, 글루코스, 갈락토스 등이었다. 단백질당체의 면역활성 검정에 따르면 면역세포의 증식을 자극하는 mitogen 역할을 하며, 특히 T세포에 의한 면역증강 효과를 나타내었다. B16 흑색종 이식 마우스를 이용한 생체내 면역활성에 의

한 항암효과를 조사한 결과 유의성 있는 항암효과를 나타내었으며, 느릅나무 추출물인 단백질당체가 3 mg/kg 군에서 가장 강한 항암효과를 나타내어 용매대조군에 대해 약 140% 생존연장효과를 나타내었다.

## REFERENCES

1. Witczak, Z. J. and A. N. Karl (1997), Carbohydrates in drug design, Marcel Dekker, Inc.
2. Franz, G. (1989), Polysaccharides in pharmacy: Current applications and future concepts, *Planta Medica*, **55**, 493-497
3. Jong, S. C., J. M. Birmingham, and S. H. Pai (1991), Immunomodulatory substances of fungal origin, *J. Immunol. Immunopharmacol.*, **11**, 115-122.
4. Song, K. S., Soo-muk Cho, et al., (1995), B-lymphocyte-stimulating polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*, *Chem. Pharm. Bull.*, **43**(12), 2105-2108.
5. Choi, J. K. (1997), Long life with Korean herbal medicine, p 414-417, Taecil Publications.
6. Kim, J. P. (1995), Chemical structures and antitumor activities of new sesquiterpene quinones isolated from *Ulmus davidiana* Planch, Ph.D. Dissertation, Dept. of Agriculture, Seoul National University, Seoul.
7. Cho, S. K., S. G. Lee and C. J. Kim (1996), Anti-inflammatory and analgesic activities of water extract of root bark of *Ulmus parvifolia*, *Kor. J. Pharmacogn.*, **27**(3), 274-281.
8. Yang, Y. L., Y. J. Kim, K. H. Kim and E. Oh (2000), Peptido-glyco compounds separated from slippery Elm for anticancer immunoactive material and the processes for the preparation of the material, Korean Patent (2000-00636).
9. Wankat, P. C. (1990), Rate-controlled separations, pp293, Elsevier Applied Science, New York.
10. Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy (1986), Carbohydrate Analysis, p23, IRL Press, Oxford.
11. Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy (1986), Carbohydrate Analysis, p6, IRL Press, Oxford.
12. Bollag, D. M. and S. J. Edelman (1991), Protein Methods, p56, Wiley-Liss Inc., New York.

13. Coligan, J. E., M. K. Ada, H. M. David, M. S. Ethan, and S. Warren (1991), *In vitro* assays for mouse lymphocyte function, *Current Protocols in Immunology*, vol. 1.
14. CellTiter 96R Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay, *Technical Bulletin*, 1-9, Promega.
15. Hudson, L. and F. Hay (1989), *Practical Immunology*, p 171, Blackwell Scientific Publications.
16. Severinson, E. and E. L. Larsson (1986), *Handbook of Experimental Immunology*, vol. 2, p63, Blackwell Scientific Publications.
17. Gilbert, K. and D. W. Dresser (1997), *Lymphocytes: A Practical Approach*, p109, Klaus G. G. B., IRL Press.
18. Ozaki, S., T. Okazaki, and K. Nakao (1995), Biological response modifiers (BRM) as antigens- T cell lines specific for BRM kill tumor cells in a BRM-specific manner, *Cancer Immunology and Immunotherapy*, **40(4)**, 219-27.
19. Goldsby, R. A., J. K. Thomas, and A. O. Barbara (2000), *Immunology*, 4th Ed., W. H. Freeman and Company, New York.
20. Shearer, G. M. and M. Clerici (1997), Vaccine strategies: Selective elicitation of cellular or humoral immunity, *TIBTECH*, **15**, 106-109.
21. Ha, B. J. and C. C. Lee (1983), Antitumor activity of some phytobased polysaccharides and their effects on the immune function, *Arch. Pharm. Res.*, **6(2)**, 123-131.
22. Chihara, G. (1984), Immunopharmacology of Lentinan and the glucans, *J. Immunol. Immunopharmacol.*, **4**, 85-97.