

## 눈꽃동충하초 (*Paecilomyces japonica* DGUM 32001) 균사배양물의 항암 효과에 관한 유세포분석학적 연구

이지선 · 이임선 · 정경수 · 김용해\* · 한영환\*\* · 이만형#  
충남대학교 약학대학, \*신화제약 중앙연구소, \*\*동국대학교 자연대학 생물학과,  
#대구가톨릭대학교 약학대학

(Received October 23, 2000; Revised December 5, 2000)

## Flow Cytometrical Investigation on Antitumor Activity of Mycelial Culture of Insect-born Fungus *Paecilomyces japonica* DGUM 32001

Ji-Seon Lee, Im Seon Lee, Kyeong-Soo Chung, Yong Hae Kim\*,  
Young Hwan Han\*\* and Man Hyong Lee#

College of Pharmacy, Chung-Nam National University, Taejon 305-764

\*Research Center, ShinWha Pharm. Ltd., Taegu 704-370

\*\*College of Natural Science, Tongkuk University 780-714

#College of Pharmacy, Catholic University of Taegu, Taegu 712-702

**Abstract** — Protein-polysaccharide fractions, PJ-3 and PJ-4, were prepared from mycelial culture filtrate of an insect-born fungus, *Paecilomyces japonica* DGUM 32001, and subjected to a flow cytometrical analysis for their *in vivo* antitumor and immunomodulating activity in ICR mice. When i.p. injected once daily for seven days at 100 mg/kg, PJ-4 exerted a strong antitumor activity, showing the growth inhibition ratio of 85.1% against i.p. implanted sarcoma 180 cells, while PJ-3 showed only a weak activity. Moreover, PJ-4 significantly increased the expression level of CD25 (IL-2R  $\alpha$ -chain) as well as forward scatter (FSC) values of splenic CD8<sup>+</sup> T cells. It is also noteworthy that PJ-4 strongly induced the peritoneal exudate cells in the same experiment. In an *in vitro* study, PJ-4 slightly inhibited the growth of sarcoma 180 cells at the concentration of 50  $\mu$ g/ml or higher. These results strongly suggest that PJ-4 might exert its antitumor activity through immunostimulation as well as direct inhibitory activity on the tumor cells.

**Keywords** □ Basidiomycetes, *Paecilomyces japonica*, protein-polysaccharide, antitumor, sarcoma 180, immunomodulation, flow cytometry

암의 치료법 중 인체의 면역활성을 이용하는 면역요법은 최근 매우 활발히 연구되고 있다.<sup>1)</sup> 현재 사용되는 면역요법제 중 버섯류의 단백당체들은 뚜렷한 부작용이 없어서 여러 가지 암의 치료에 보조적으로 널리 사용될 수 있으며,<sup>2)</sup> 이러한 용도로 사용되고 있는 대표적 예로는 표고버섯(*Lentinus edodes*)의 lentinan,<sup>3,4)</sup> 구름버섯(운지, *Coriolus versicolor*)의 PS-K(Krestin),<sup>5-8)</sup> 치마버섯(*Schizophyllum commune*)의 schizophyllan,<sup>9,10)</sup>

상황버섯(*Phellinus linteus*)<sup>11-14)</sup> 균사배양 추출물 메시마-엑스 등이 있다. 그러나 버섯류 중 항암효과가 연구 보고된 것은 일부에 지나지 않아서 이 방면의 연구는 계속될 전망이다.

한편 동충하초(insect-born fungus)란 분류학적으로 *Cordyceps* 또는 *Paecilomyces* 속에 속하는 자낭균류를 칭하는 용어로서 고대로부터 중국 등지에서 불로장생, 영양강장제로 알려져 왔으나 다른 버섯과는 달리 인공 재배 방법이 알려지지 않아 희귀한 자연산에 의존하여 연구가 이루어져야만 했다. 따라서 동충하초의 항암 면역활성에 관한 연구는 가장 흔히 발견되는 번데기동충

# 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 053-850-3611 (팩스) 053-850-3602

하초(*Cordyceps militaris*)에 집중되어 왔다.<sup>15-19)</sup> 그러나 최근 Fukatsu 등<sup>20)</sup>에 의해서 눈꽃동충하초(일명, 누에동충하초)의 분류학상 위치가 연구되고, 인공 자실체 형성이 가능해지면서<sup>21)</sup> 대량 생산되어 보급되기에 이르렀다.<sup>22)</sup> 그후 Park 등<sup>23)</sup>은 눈꽃동충하초 열탕추출물이 수종의 암세포에 대해 세포사멸(apoptosis)을 유발함을 입증하였고, 신<sup>24)</sup>은 누에동충하초 열수추출물과 메탄올 추출물의 항암, 면역증강 및 항피로 효과를 확인하였으며, 송 등<sup>25)</sup>은 누에동충하초 물 추출물의 항 HIV 효과를 입증하였다. 그러나 이들 연구는 모두 자실체를 대상으로 한 것이며 눈꽃동충하초 균사 배양액의 성분 및 약리작용에 관한 연구는 찾아 볼 수 없었다. 만약 균사 배양여액에서 눈꽃동충하초의 항암면역활성 성분 등을 얻을 수 있다면 이는 그 유효성분의 대규모 발효 생산이 가능함을 의미하게 된다. 이에 본 연구에서는 눈꽃동충하초 *Paecilomyces japonica* DGUM32001 균사배양 여액으로부터 단백질분해 효소들을 분리하고 이들의 항암효과 및 면역활성을 확인하였기에 보고하는 바이다.

**재료 및 방법**

**사용 균주** - 눈꽃동충하초 *Paecilomyces japonica* DGUM 32001 균주는 농촌진흥청으로부터 분양 받아 사용하였다.

**액체배양** - YMG 한천배지(효모추출물 0.4%, 말트추출물 1.0%, 포도당 0.4%, 한천 1.5%, pH 7.0)에 눈꽃동충하초 포자를 도말한 다음 24°C에서 1주일간 배양하였다. 한천배지상의 colony로부터 직경 8 mm의 cork borer 를 이용하여 5~6개의 균사괴를 떼어내어 YMG 배지에 접종하였다. 전배양된 100 ml의 눈꽃동충하초 배양액을 배양액 10 l가 들어있는 20 l 발효조에 접종한 다음 24°C에서 통기량 1.0 vvm, 120 rpm으로 10일간 진탕배양하였다.

**단백다당체의 제조** - 눈꽃동충하초 균사 배양물을 3 겹의 거즈로 걸러 거즈를 통과한 배양액을 여과지(Toyo, No. 1)로 여과하여 배양여액을 분리하였다. 이 배양여액을 감압농축한 후 3 배량의 95% 에탄올을 첨가하여 침전을 생성시키고 이 침전을 8,000×g 로 원심분리하였다. 침전물을 동결건조하여 조단백다당체 분획 PJ-3 를 얻었고, 이를 증류수로 재용해시킨 다음 투석막(m.w. cut off 12,000)에 넣고 상온에서 24시간

동안 투석하였다. 이를 동결건조하여 단백질분획 PJ-4를 얻었다. PJ-3 및 PJ-4는 각각 갈색 및 담회갈색 무정형 분말이며 이중 PJ-3는 증류수나 생리식염수에 잘 녹지 않고 불용성 잔유물을 남기나 PJ-4는 증류수나 생리식염수에 잘 녹았다.

**실험동물** - 대한실험동물센터로부터 3주령의 SPF (specific pathogen free) ICR 마우스 암컷을 구입하여 공조시설을 갖춘 동물실내에서 일주일 이상 안정화시킨 후 실험에 사용하였다. 사료(삼육실험동물연구소, SAM #31)와 물은 제한 없이 공급하였고 실온은 22 ± 2°C를 유지하였으며 하루에 12 시간씩 조명을 시행하였다.

**In vivo 항암 실험<sup>26)</sup>** - 이미 보고한 과정을 약간 변조하여 다음과 같이 실험하였다. 즉 대조군은 12 마리, PJ-4 처치군은 8 또는 9 마리의 ICR 마우스를 사용하였으며, 제 1일부터 제 7일까지 시료 또는 PJ-4를 1 일 1 회 복강주사하고 제 5 일에는 sarcoma 180 암세포(4×10<sup>5</sup> cells/mouse)를 복강내 이식하였다. 제 8일에 실험동물을 치사시켜 복수를 회수한 후 분석하였다. 통상적으로 복강내에 암세포를 이식하거나 이물질 투입하면 복강유입세포(peritoneal exudated cells, PEC)가 증가하여 암세포의 계수에 혼란을 초래하게 되므로 본 연구에서는 FITC-conjugated anti-mouse CD45 mAb(Sigma)로 PEC를 분별염색하고 유세포 분석기 FACScalibur(Beckton-Dickinson, USA)를 이용하여 FSC/FL1 dot plot에서 PEC와 sarcoma 180 cell을 각각 계수하였다. 이 방법은 본 연구자 등이 고안한 방법<sup>26)</sup>으로서 sarcoma 180 세포와 PEC를 정확히 분별하여 계수할 수 있는 매우 편리한 방법이다. 이때 얻어진 sarcoma 180 세포수로부터 아래 공식(공식 1)에 따라 암세포증식 억제 백분율(% inhibition of tumor growth)을 구하였다.

$$\% \text{ inhibition of tumor growth} = \frac{C_N - T_N}{C_N} \times 100 \quad (1)$$

(단 C<sub>N</sub> 및 T<sub>N</sub>은 각각 대조군과 시료처리군의 sarcoma 180 세포수)

**비장 임파구의 제조<sup>27,28)</sup>** - In vivo 항암실험에 사용한 실험동물의 비장을 적출하여 100-mesh stainless steel 스크린을 통과시킨 후 PBS로 2회 세척하여 비장 임파구 현탁액으로 사용하였다.

**비장 임파구의 면역형광 염색<sup>27,28)</sup>** - 이미 보고한 바

와 같이 FITC 또는 Phycoerythrin-conjugated anti-mouse monoclonal antibody(Sigma)를 사용하여 비장 세포들의 세포표면 표지분자인 CD4, CD8 및 CD25 등에 대해 직접면역형광염색(direct immunofluorescence staining)을 시행하였다.

**비장 임파구 유세포 분석<sup>27,28)</sup>** - 형광염색된 비장세포 현탁액에 propidium iodide(PI, 최종농도 : 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 가하고 3~4분 후에 유세포분석기 FACScalibur로 FSC, SSC, FL1, FL2, FL3 등의 parameter에 대한 자료를 취합하였다. 취합한 자료를 1차적으로 FSC/SSC dot plot에 나타내어 분석 대상 영역을 설정한 후, 이 영역을 만족시키는 세포들을 2차적으로 FSC/FL3 dot plot에 나타내었다. FSC/FL3 dot plot에서 생존 세포 영역 즉 FL3-음성 세포 영역을 설정하여 이 두 영역을 만족시키는 세포들만을 FL1/FL2 dot plot에 나타내어 아래와 같이 CD4/CD8 비율 분석 및 IL-2 receptor 발현정도를 각각 분석하였다.

**CD4/CD8 비율 분석** - FL1/FL2 dot plot 상에서 quadrant 분석을 시행하여 FL1-FL2<sup>+</sup>(CD4<sup>+</sup> T cell)인 세포수와 FL1+FL2-(CD8<sup>+</sup> T cell)인 세포수로부터 CD4/CD8 비율을 계산하였다.

**IL-2R 발현 증가 및 FSC 값 증가효과 분석** - FITC-conjugated anti-mouse CD25 mAb로 IL-2R  $\alpha$ -chain을 형광염색하고, PE-conjugated anti-mouse CD4 또는 CD8 mAb로 CD4 또는 CD8을 염색하였다. FL1/FL2 dot plot 상에서 FL2<sup>+</sup>인 세포를 구분하거나 또는 전체 세포를 FL1 histogram에 나타내고 그 평균형광강도를 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T cell 또는 전체 임파구구의 IL-2R 발현정도로 간주하였다.

**Sarcoma 180 세포주에 대한 *in vitro* 저해작용 실험<sup>27)</sup>** - 1 M HEPES buffer(Sigma) 10 ml, sodium bicarbonate(Sigma) 2 g, penicillin-streptomycin solution(Sigma) 10 ml 및 fetal bovine serum(Hyclon, Utah, USA)을 10% 첨가한 RPMI 1640(Sigma, Missouri, USA) 배지에 PJ-4(최종농도 0, 50, 100 및 500  $\mu\text{g}/\text{m}$ )를 가하고, 여기에 sarcoma 180 세포(최종농도 :  $1 \times 10^6$  cells/m)를 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 상태에서 46 시간 동안 배양하며, 이미 보고한 바<sup>27)</sup>와 같이 유세포분석기를 이용하여 propidium iodide exclusion method로 세포생존률을 분석하였다.

**통계처리** - 모든 실험 data는 Student's t-test를 시행하여 유의성을 검토하였다.

## 실험결과 및 고찰

**실험동물의 체중 및 비장 중량에 미치는 영향** - 첫 번째 실험에서 PJ-3 및 PJ-4 투여군 모두 대조군에 비해 체중이 유의성 있게 증가하였으나(Table I), PJ-4만을 실험대상으로 한 두 번째 실험에서 시료투여 기간 중 체중변화를 관찰한 결과 대조군과 유의적인 차이가 없었다(자료제시 생략). 한편 PJ-4 투여군의 비장 중량은 첫 번째 실험 및 두 번째 실험에서 모두 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 증가하여 PJ-4가 현저한 면역활성을 지님을 알 수 있었다(Table I). 반면에 PJ-3 투여군의 비장 중량은 대조군과  $p < 0.05$  수준에서 유의성 있는 차이가 없었다.

**항암 효과** - PEC를 면역형광 염색하여 FSC/FL1 dot plot(Fig. 1)에서 PEC와 sarcoma 180를 분별시킨 후 각각을 계수한 결과, 첫 번째 실험에서 대조군의 sarcoma 180 세포수는 11,031인데 비하여 PJ-4 50 mg/kg 투여군은 4,644로서 57.9%의 암세포증식 억제효과가 관찰되었다. 그러나, PJ-3 50 mg/kg 투여군은 14.4%에 불과하여 두 번째 실험에서는 PJ-4만을 실험대상으로 하였다. 두 번째 실험에서 대조군의 sarcoma 180 세포수는 2,284인데 비하여 PJ-4 25 mg/kg 투여군은 394, 100 mg/kg 투여군은 340으로 sarcoma 180 복수 암세포의 증식이 82.8 및 85.1% 억제되었다(Table I). 한편 PJ-4 투여군의 sarcoma 180 세포의 FSC 값이 대조군에 비해 유의성 있게 증가한 점(Table I) 또한 특기할 만하며, 이는 PJ-4 투여로 인하여 sarcoma 180 세포가 G2/M phase 에서의 arrest를 일으켜 나타난 결과로 추정할 수 있으나 이에 관하여는 추가적인 연구가 있어야 할 것으로 사료된다. 한편 PJ-4 투여군의 PEC 수치는 대조군에 비해 각각 1.74 및 2.38 배 증가하였다. 따라서 PJ-4의 항암효과는 PEC의 유입 증가 및 이들의 활성화와 상관관계가 있을 것으로 보인다.

**CD8<sup>+</sup> T cell 자극 효과** - 두 차례의 항암 실험에서 현저한 항암활성을 나타낸 PJ-4의 작용기전을 규명하기 위하여, 암세포에 대한 면역 중 세포매개성 면역 반응을 주도하는 T lymphocyte에 미치는 면역활성을 관찰하였다. 우선 PJ-4가 비장내 CD4<sup>+</sup> T lymphocyte 및 CD8<sup>+</sup> T lymphocyte의 IL-2R $\alpha$  chain(CD25)의 발현에 미치는 영향을 분석한 결과, Table II에 나타난 바와 같이 PJ-4 투여로 인해 CD8<sup>+</sup> T lymphocyte 의

**Table 1** - *in vivo* antitumor activity of PJ-3 and PJ-4, protein-polysaccharide fractions isolated from the mycelial culture filtrate of *Paecilomyces japonica* DGUM 32001, against sarcoma 180 tumor cells in ICR mice<sup>a</sup>

Experi- ment	group	dose (mg/kg)	number of mice	Body weight (g)	Spleen weight (mg)	sarcoma 180 cells <sup>b</sup>			PEC <sup>b</sup>	
						Number	% inhibition <sup>c</sup>	Mean FSC <sup>d</sup>		
1st	saline	-	12	27.1 ± 0.4 <sup>f</sup>	139 ± 6	11,031 ± 1,763	-	n.d. <sup>g</sup>	2,839 ± 446	-
	PJ-3	50	8	29.6 ± 0.5***	152 ± 11	9,440 ± 1,545	14.4	n.d.	3,477 ± 826*	1.22
	PJ-4	50	8	28.4 ± 0.3*	224 ± 20***	4,644 ± 2,085*	57.9	n.d.	3,173 ± 487	1.12
2nd	saline	-	12	25.8 ± 0.37 <sup>f</sup>	13 ± 65	2,284 ± 371	-	500 ± 6 (12)	2,604 ± 279	-
	PJ-4	25	8	25.5 ± 0.13	186 ± 10***	394 ± 160***	82.8	600 ± 6*** (5)	4,524 ± 492***	1.74
	PJ-4	100	9	25.9 ± 0.28	247 ± 18***	340 ± 156***	85.1	563 ± 9*** (5)	6,188 ± 1,106**	2.38

<sup>a</sup>) In experiment 1, PJ-3 / PJ-4 was ip injected once daily for six days (days -4, -3, -2, 0, 1 and 2) and in experiment 2, PJ-4 was injected for seven days (day -4 through day 2). In both experiment, sarcoma 180 cells ( $4 \times 10^5$  cells/mouse) were ip implanted on day 0.

<sup>b</sup>) The cells in the peritoneum of a mouse were washed out on day 3 (experiment 1) or day 4 (experiment 2) and immunofluorescence-stained with FITC-conjugated anti-mouse CD45 mAb to distinguish the peritoneal exudate cells (PECs) from sarcoma 180 cells. Sarcoma 180 cells (FL-1-negative cells) and PECs were simultaneously counted for 40 seconds at the flow rate of 35  $\mu$ l/min.

<sup>c</sup>) % inhibition =  $(C_N - T_N) / C_N \times 100$ , where  $C_N$  and  $T_N$  respectively, stands for the number of sarcoma 180 cells of the control and the treated group.

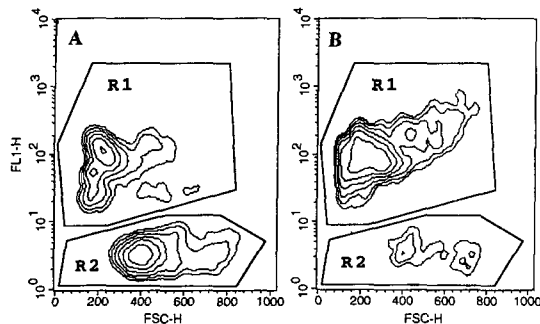
<sup>d</sup>) The mice carrying more than one hundred sarcoma 180 cells were included in statistical analysis. The number in the parentheses shows the number of mice analyzed.

<sup>e</sup>) SI (stimulatory index) =  $T_N / C_N$ , where  $C_N$  and  $T_N$  respectively, stands for the number of the PECs of the control and the treated group.

<sup>f</sup>) mean  $\pm$  S.E.

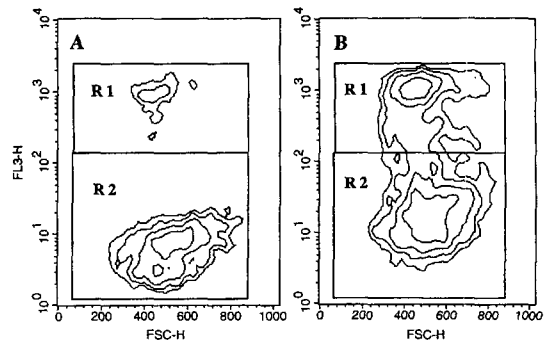
<sup>g</sup>) n.d. = not done.

\*significant at  $p < 0.05$ , \*\*significant at  $p < 0.01$ , \*\*\*significant at  $p < 0.001$ .



**Fig. 1** – Representative contour plots showing the *in vivo* antitumor activity of PJ-4 against the sarcoma 180 cells implanted into the peritoneum of ICR mice. The peritoneal washout cells including peritoneal exudated cells (PECs) and sarcoma 180 cells were immunofluorescence-stained with FITC (FL1)-conjugated anti-mouse CD45 mAb. Regions R1 and R2, respectively, show the CD45<sup>+</sup> peritoneal exudated cells and CD45<sup>-</sup> sarcoma 180 cells. Panel A: control mouse. Panel B: PJ-4-treated mouse.

IL-2R  $\alpha$  chain 발현이 약 24.6% 유의적으로 증가되었다. 반면에 전체 lymphocyte와 CD4<sup>+</sup> T lymphocyte의 IL-2 receptor  $\alpha$  chain의 발현은 유의적으로 증가되지 않았다. 따라서, PJ-4는 CD4<sup>+</sup> T cell 보다는 CD8<sup>+</sup> T cell을 선택적으로 활성화시킴을 알 수 있다. 한편 FSC 값을 분석한 결과에서도 CD8<sup>+</sup> T lymphocyte의 FSC 값은 약 6.6% 증가되었으나( $p < 0.01$ ), CD4<sup>+</sup> T lymphocyte의 FSC 값은 유의적으로 증가되지 않으므로써, PJ-4가 CD8<sup>+</sup> T lymphocyte을 보다 더 선택적으로 활성화시킴을 재확인 할 수 있었다. 뿐만 아니라, CD4/CD8 비율이 대조군의 경우 2.80이었으나 PJ-4 투여군에서는 2.52로



**Fig. 2** – Representative contour plots showing the *in vitro* cytotoxicity of PJ-4 on the sarcoma 180 cells. Three to five minutes prior to analysis, propidium iodide was added to the tumor cells cocultured with or without 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  PJ-4 for 46 hours. Regions R1 and R2, respectively, show the FL3<sup>+</sup> dead cells and the FL3<sup>-</sup> viable cells. Panel A: control cells. Panel B: PJ-4-treated cells.

낮아져서 CD8<sup>+</sup> T lymphocyte의 비율이 상대적으로 높음을 알 수 있다.

**Sarcoma 180 암세포 저해 효과** – PJ-4는 *in vitro* 실험에서 sarcoma 180 세포에 대해 미약하나마 유의성 있는 저해 효과를 발휘하였다. 즉 Fig. 2 및 Fig. 3에 나타난 바와 같이 대조군과 PJ-4 50, 100, 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  처리군의 사멸세포 백분율(% dead cells)이 28 시간의 경우 각각 10.5, 16.8, 20.7, 19.3% 이었으며, 46 시간 배양 후는 각각 27.2, 36.0, 40.2 및 39.8%로 사멸세포 백분율이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 이는 눈꽃동충하초 추출액이 수종의 암세포주에 대하여 직접적인 억제작용을 나타낸다는 연구 결과<sup>24)</sup>와 일치하는 것으로서, 눈꽃동충하초의 단백질 당체가 다른 담자균류의 단백질당체와 달리 암세포에

**Table II** – Activation of CD8<sup>+</sup> T cells by PJ-4 in the spleen of sarcoma 180 tumor-bearing ICR mice<sup>e</sup>

PJ-4 (mg/kg)	n <sup>b</sup>	CD4/CD8 ratio <sup>c</sup>	expression of IL-2 receptor <sup>d</sup>			FSC value	
			Total lymphocytes	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
0	12	2.80 $\pm$ 0.19 <sup>e</sup>	1.86 $\pm$ 0.05	3.34 $\pm$ 0.11	2.03 $\pm$ 0.06	279 $\pm$ 3.35	272 $\pm$ 2.86
100	9	2.52 $\pm$ 0.16	1.94 $\pm$ 0.06	3.27 $\pm$ 0.16	2.53 $\pm$ 0.14***	284 $\pm$ 5.59	290 $\pm$ 5.97**

<sup>a)</sup> The spleens of the same mice in experiment 2 shown in Table I were used in this experiment.

<sup>b)</sup> n=number of mice used.

<sup>c)</sup> The CD4/CD8 ratio was calculated from the percentage of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells, which were analyzed as described in the text.

<sup>d)</sup> Expression of IL-2 receptor was analyzed as described in the text using FITC-conjugated rat anti-mouse CD25 monoclonal antibody (Sigma). The numbers show the fluorescence intensity.

<sup>e)</sup> mean  $\pm$  S.E.

\*\*significant at  $p < 0.01$ , \*\*\*significant at  $p < 0.001$ .

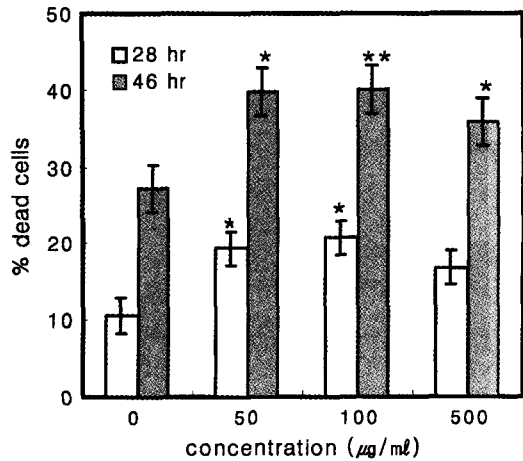


Fig. 3 - *In vitro* cytotoxicity of PJ-4 on the sarcoma 180 cells. The percentage of dead cells was flow cytometrically analyzed using propidium iodide exclusion method as described in the text.

대한 직접 세포독성을 지님을 의미한다.

### 결 론

눈꽃동충하초(*Paecilomyces japonica* DGUM 32001) 균사배양액으로부터 분리한 수용성 단백당체 분획 PJ-4는 다음과 같이 항암면역활성을 나타냄으로써 새로운 면역증강 기능성식품으로서의 개발 가능성이 제시되었다.

1. PJ-4는 25 및 100 mg/kg 용량으로 복강주사하였을 때, ICR 마우스의 복강에 이식된 sarcoma 180 복수암의 증식을 각각 82.8% 및 85.1% 억제하였고 복강 유입세포(PEC)를 각각 1.74 및 2.38 배 증가시켰다.

2. PJ-4는 100 mg/kg의 용량에서 비장내 CD8<sup>+</sup> T cell의 IL-2 수용체 발현을 24.6% 증가시키고 세포자멸(FSC 값)을 6.6% 증가시키는 등 CD8<sup>+</sup> T cell 활성화 효과를 나타내었다.

3. PJ-4는 sarcoma 180 암세포에 대하여 직접적인 세포독성을 발휘하였다.

### 감사의 말씀

본 연구는 경북테크노파크 경상대학교 특화센터에서 시행한 신기술 고도화사업의 지원을 받아 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

### 문 헌

- 1) Hersh, E. M. and Taylor, C. W. : Immunotherapy by active immunization: Use of nonspecific stimulants and immunomodulators. pp. 613-626. In "Biologic Therapy of Cancer" by DeVita, Jr., V. T., Hellman, S., and Rosenberg, S. A. (Eds.). J. P. Lippincott, Philadelphia (1991).
- 2) Hobbs, C. : Medicinal Mushrooms. Interweave Press, Loveland, Colorado pp. 252 (1995).
- 3) Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y. Y., Arai, Y. and Fukuoka, F., Fraction of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (an edible mushroom). *Cancer Res.*, **30**, 2776 (1970).
- 4) Jeannin, J. F., Lagadec, P., Pelletier, H., Reisser, D., Olsson, N. O., Chihara, G., and Martin, F. : Regression induced by lentinan, of peritoneal carcinomas in a model of colon cancer in rat. *Int. J. Immunopharmacol.*, **10**, 855 (1988).
- 5) Tsukagoshi, S. and Ohashi, F. : Protein bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat ascites hepatoma by oral use. *Gann.* **65**, 557 (1974).
- 6) Tsukagoshi, S. Hashimoto, Y., Fujii, G., Kobayashi, H. Nomoto, K. and Orita, K. : Krestin (PSK). *Cancer Treat. Rev.* **11**, 131 (1984).
- 7) Moon, C.-K., Lee, S.-H., Mock, M.-S., and Kim, D.-O. : Antitumor Activity of the Polysaccharide-Fraction (Copolang) from *Coriolus versicolor* and its Effects on the Immune Function. *Yakhak Hoeji* **31**, 126 (1987).
- 8) Jo, S.-K., Kim, S.-H., and Yoon, T.-K. : Effects of Copolang on Murine Immune Function and Antitumor Activity. *J. Kor. Cancer Assoc.* **19**, 95 (1987).
- 9) Komatsu, N., Okubo, S., Likumoto, S., Kimura, K., Saito, G. and Sasaki, S. : Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann.* **60**, 137 (1969).
- 10) Okamura, K., Suzuki, M., Chihara, T., Fujiwara, A., Fukuda, T., Goto, S., Ichinohe, K., Jimi, S., Kasamatsu, T., Kawai, N. : Clinical evaluation of schizophyllan combined with irradiation in patients with cervical cancer. A randomized controlled study. *Cancer* **58**, 865 (1986).
- 11) Ikegawa, T., Nakanishi, Y., Uehara, N., Chigara, G.

- and Fukoka, F : Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*, *Gann*, **59**, 155 (1968).
- 12) Chung, K. S. , Kim, S. S., Kim, H. S., Han, M. W. and Kim, B. K. : Antitumor activity of Kp, a protein-polysaccharide from the mycelial culture of *Phellinus linteus*. *Yakhak Hoeji* **38**, 158 (1994).
  - 13) Song, K. S., Cho, S. M., Lee, J. H., Kim, H. M., Han, S. B., Ko, K. S., and Yoo, I. D. : B-Lymphocyte-Stimulating Polysaccharide from Mushroom *Phellinus linteus*. *Chem. Pharm. Bull.* **43**, 2105 (1995).
  - 14) Chung, K. S., Kim, S. S., Kim, H. S., Kim, K. Y. Han, M. W., and Kim, B. K.: Effect of Kp, an antitumor Protein-polysaccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus* on the humoral immune response of tumor-bearing ICR mice to sheep red blood cells. *Arch. Pharm. Res.* **16**, 336 (1993).
  - 15) Chiu, J. H., Ju, C. H., Wu, L. H., Lui, W. Y., Wu, C. W., Shiao, M. S. and Hong, C. Y. : *Cordyceps sinensis* increase the expression of major histocompatibility complex class II antigen on human hepatoma cell line HA22T/VGH cells. *Am. J. Chin. Med.*, **26**, 159-170 (1998).
  - 16) Sung, J. M.: *The insects-born fungus of Korea in color*, Kyohak Publishing Co., Seoul, Korea (1996).
  - 17) Yamada, H., Kawaguchi, N., Ohmori, T., Takeshita, Y., Taneya, S. and Miyazaki, T. : Structure and antitumor activity of an alkali-soluble polysaccharide from *Cordyceps ophioglossoides*. *Carbohydr. Res.*, **125**, 107-115 (1984).
  - 18) Yoshida, J., Takamura, S., Yamaguchi, N., Ren, L. J., Chen, H., Koshimura, S. and Suzuki, S. : Antitumor activity of an extract of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. against murine tumor cell lines. *Jpn. J. Exp. Med.*, **59**, 157 (1989).
  - 19) Yeon, S. H. : The chemical compositions and biological activities of *Cordyceps militaris*. Thesis for master degree. Graduate School, Seoul National University (2000).
  - 20) Fukatsu, T, Sato, H, and Kuriyama, H. : Isolation, inoculation to insect host, and molecular phylogeny of an entomogenous fungus *Paecilomyces tenuipes*. *J. Invetbr. Pathol.* **70**, 203 (1997).
  - 21) Choi, I.-Y., Choi, J.-S., and Lee, W.-H. : The production of artificial fruiting body of *Paecilomyces japonica*. *Kor. J. Mycol.* **27**, 87 (1998).
  - 22) Cho, S. Y. : Cultivation and distribution of silkworm-dongchunghacho (*Paecilomyces japonica*). *Proceedings of The 1st Internatinal Symposium on Cordyceps.*, Seoul. pp. 73 (1999).
  - 23) Park, Y. H., Moon, E.-K. Shin, Y. K., Bae, M.-A., Kim, J. G., and Kim, Y. H. : Antitumor activity of *Paecilomyces japonica* is mediated by apoptotic cell death. *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 16 (2000).
  - 24) Shin, K. H. : Immuno-stimulating, Anti-tumor and Anti-fatigue Effects of Silkworm-dongchunghacho (*Paecilomyces japonica*). *Proceedings of the 1st Internatinal Symposium on Cordyceps.*, Seoul. pp. 21 (1999).
  - 25) Song, S. K. : Anti-HIV effect of silkworm-dongchunghacho (*P. japonica* J300) and extraction of the active compound (S). *Proceedings of The 1st Internatinal Symposium on Cordyceps.*, Seoul. pp. 83 (1999).
  - 26) Oh, J. Y. and Chung, K. S. : Flow Cytometrical Analysis of the Antitumor and Immunomodulatory Activities of GLB-A and GLB-B, the Protein-polysaccharide Fractions of the Growing Tips of *Ganoderma lucidum*. *Yakhak Hoeji*, **42**, 487 (1998).
  - 27) Chung, K. S., Kim, S. B. and Chung, S. H. : Immunoactivities of the Protein-polysaccharides of the Tips of the Growing Carpophores of *Ganoderma lucidum*. *Yakhak Hoeji*, **41**, 105 (1997).