

桑黃버섯의 免疫增進에 關한 研究

송기철 · 임의수 · 최병렬 · 유화승 · 이용연 · 서상훈,
조정효 · 이연월 · 손창규 · 조종관 · 이용구*

대전대학교 한의과대학동서암센터, 대전대학교 부속혜화병원내과*

A study on the Immune activity of Phellinus Linteus Extracts

Kee-Cheol Song, Eui-Su Lim, Byung-Ryul Choi, Hwa-Seung Yoo, Yong-Yeon Lee, Sang-Hoon Seo,
Jung-Hyo Cho, Yeon-Weol Lee, Chang-Kyu Son, Chong-Kwan Cho, Yong-Gu Lee*,

*Department of East-West Cancer, College of Oriental Medicine, Daejeon University,
Department of Internal Medicine, Hye-Hwa Hospital, Daejeon University**

Objectives

This experimental study was carried out to evaluate the effects of Phellinus Linteus on immune activation.

Methods

In order to investigate the effect of Phellinus Linteus, the following was performed: The fraction of CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ in splenic cell, gene expression of IL-12 (p35), IL-12 (p40), IFN- γ , and splenic cell proliferation by PL-E.

Results

PL-E helped CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ expression more effectively compared with control group. PL-E helped IL-12 (p35), IL-12 (p40), IFN- γ gene expression in splenic cells more effectively compared with control group. PL-E proliferated splenic cells more effectively compared with control group.

Conclusions: It is suggested that PL-E is able to activate immune response system.

Key Words: Phellinus Linteus, Immune activation, splenic cell, IL-12, IFN- γ , proliferation

I. 緒 論

버섯의 種類는 全世界의 15,000여 種이 되고 食用 可能한 것은 2,000餘種인데 이 중 桑黃버섯은 (*Phellinus linteus*) 高山 地帶에 棲息하고 있는 산뽕나무의 枯木에서 自生하는 매우 희귀한 擔子菌類의 多年生 버섯이며, 成分으로는 agaric acid, 脂肪酸, 飽和炭化水素, 카탈라제, 우레아제, lipase, sucrase, 말타아제, 셀룰라아제 등 여러 가지 酵素를 含有한다¹⁾.

에로부터 益氣不飢, 利五臟, 宣脹胃氣, 排毒氣의 效能을 가지고 있어 血病??積聚, 癖飲積聚, 男子?癖에 使用하였으나²⁾, 臨床에서 널리 活用되지 못하다가 最近에 擔子菌類에 대한 抗癌效果가 알려지면서 많은 科學的인 研究가 活潑히 進行되고 있는데, 擔子菌類의 抗腫瘍成分은 대부분 蛋白結合多糖體 또는 多糖體이며 이러한 蛋白多糖類는 抗癌性 化學療法劑와는 달리 正常細胞에 毒作用을 나타내지 않을 뿐만 아니라, 오히려 免疫機能을 強化함으로써 抗癌力을 發揮하기 때문에 既存의 抗癌劑와 並行할 때 理想的인 治療效果를 나타나게 된다는 報告들이 發表되고 있다³⁾.

이에 著者는 桑黃버섯의 抽出物에 의한 免疫增進에 의한 抗癌 效果를 알아보기 위하여 cytometer를 이용한 脾臟細胞 (spleenic cell)에서의 CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺를 分析 및 脾臟細胞에서 IL-12 (p35), IL-12 (p40), IFN- γ 遺傳子 發顯과 桑黃버섯이 脾臟免疫細胞 增殖에 미치는 影響을 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗方法

1. 材料 및 動物

1) 藥材 및 動物

本 實驗에 使用한 桑黃버섯 (*Phellinus linteus*) 藥劑는 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였다.

實驗動物은 韓國 化學 研究所에서 4주령의 雌性 BALB/C mouse 購入하여, 2週日 동안 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다. 動物飼育室의 條件은 conventional system으로 22 \pm 2 $^{\circ}$ C, 1일중 12時間은 200-300 Lux로 照明하고 12時間은 모든 빛을 遮斷하였다. 固形飼料 (조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 삼양사, 항생제 무첨가)와 물을 充分히 供給하였다.

2) 試藥 및 器機

細胞培養 關聯 試藥으로 RPMI 1640, fetal bovine serum (FBS), dulecco's phosphate buffered saline (DPBS-A)은 Sigma (USA) 製品을 使用하였으며, RNAzolB, Taq. polymerase, Deoxynucleotide triphosphate (dNTP)는 TaKaRa (Japan) 製品을, 逆轉寫酵素 (Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase; M-*ml*V RT)와 RNase inhibitor는 promega 製品, 그리고 Agarose (FMC, USA) 등을 使用하였고, 流細胞 分析에 使用된 FITC-anti-CD4, FITC-anti-CD8 그리고 FITC-anti-CD19는 pharmingen (USA)의 製品을, 3H-Thymidine은 Amersham에서 購入하였으며, 其他 一般 試藥은 特級 試藥을 使用하였다.

使用된 器機는 cytometer (Becton Dickinson, USA), imager system (Kodak, USA),

microcentrifuge (한일과학), UV-Vis spectrophotometer (shimadzu, Japan), Turbo Thermalcycler™ (Bioneer Co., Korea), CO₂ incubator (rapco, USA), clean bench (KMC-14001, vision scientific Co.) rotary vacuum evaporator (Buchi461), autoclave (Hirayama, Japan) 그리고 blood cell counter (minos, sweden) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 桑黃버섯 추출물 및 검액 제조

桑黃버섯 300 g에 각각 증류수 2000ml을 가하여 熱湯 抽出器에서 3時間 抽出하여 얻은 액을 吸入 濾過하여 이를 減壓 蒸溜裝置 (Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 濃縮하여, 이를 다시 凍結 乾燥機 (Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan)를 利用하여 完全 乾燥한 桑黃버섯 抽出物 (25g)을 冷凍 (-84℃) 保管하면서 적당한 濃度로 稀釋하여 使用하였다. in vitro 실험에는 多様な 濃度로 우태아혈청결핍 RPMI1640 培養液에 稀釋하여 使用하였고, 動物實驗用 으로는 150mg/kg과 50mg/kg의 濃度로 稀釋하여 經口投與 하였다.

2) 桑黃버섯에 의한 脾臟免疫細胞의 免疫 增進 調節

(1) 脾臟細胞 回收

BALB/C mice에 10日間 桑黃버섯 (p.o 150mg/kg, 50mg/kg)를 投與 後 頸椎脫臼으로 致死시킨 後 脾臟을 摘出하여 脾臟細胞를 各各 分離하여 PBS로 3回 水洗 後 Mesh Screen (Sigma, USA)위에 올려놓고 가위와 유리봉을 使用하여 脾臟細胞를 分離하고 RPMI 培養液을 添加하여 細胞 懸濁液을 만들었다. 이 懸濁液을 4℃에서 10분간 定置한 後 上層液을 取하고 3回 水

洗하여 組織 切片과 細胞 덩어리를 除去하고, RBC lysis 溶液 (sigma, USA) 2ml을 넣고 37℃ water bath에서 5分間 放置한 後 10ml의 D-PBS를 添加하여 2000 rpm에서 10分間 遠心分離하여 脾臟細胞를 回收하여 배지로 3回 水洗 後 細胞 숫자를 1x10⁶cells로 計數하였다

(2) 流細胞 螢光分析器 (flow cytometer)를 利用한 免疫細胞 分析

脾臟細胞는 各各 4℃에서 免疫 螢光染色 (immunofluorescence staining)을 實施하였고, 各各에 PE-anti-CD3e, FITC-anti-CD4, PE-anti-CD₈, FITC-anti-CD19를 넣고 30分間 얼음에서 反應시켰다. 反應 後 3回 以上 磷酸 緩衝 生理食鹽水로 水洗한 後 流細胞 螢光分析機 (flow cytometer, Becton dickinson, USA)로 免疫活性細胞를 分析하였다. 脾臟細胞 分析은 Cellquest 프로그램을 利用하여 CD4⁺, CD8⁺과 CD19⁺ (positive cell)의 比率 (gated, %)을 算出한다.

(3) 脾臟細胞 cytokine 遺傳子 發顯

正常 C57BL/6 생쥐의 脾臟을 摘出하여 脾臟細胞를 分離한 後 우태아혈청결핍 RPMI-1640 培養液에서 1時間 동안 培養한 後 桑黃버섯 (100µg/ml, 10µg/ml, 1µg/ml)을 處理하고 3時間 동안 培養器 (37℃, CO₂, Napco, USA)에 培養하였다. 培養한 後 2000rpm에서 5分間 遠心分離하여 上層液을 除去한 後 RNAzolB를 利用하여 細胞膜을 터트린 後 RNA를 抽出하는 方法을 擇하였다. 抽出한 RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 處理한 20µl의 蒸溜水에 녹여 RT-PCR에 使用하였다.

PCR product의 量은 Windows 1D main program (AAB, USA)을 利用하여 最高값 (height, Ht)으로 測定하였다.

(4) 脾臟細胞 增殖에 미치는 影響

脾臟免疫細胞를 分離하여 96 well plate의 各 well에 5×10^5 cell씩 添加하고, 桑黃버섯 抽出物을 濃度別로 處理한 後 細胞를 37℃에서 72 時間 培養 後 50 μ Ci/ml의 [methyl-3H] Thymidine (Amersham, USA)을 添加한 後 다시 8時間 培養하였다. 細胞內로 吸收된 放射線 同位元素의 量을 測定하기 爲하여 細胞만을 細胞收集器 (Cell Harvester)를 使用하여 유리섬유여지 (Glass microfiber filter, Whatman)위에 捕獲하고, 乾燥한 後 放射線 測定器 (Liquid Scintillation Counter, LKB)를 利用하여 放射線 同位元素의 量을 測定하였다.

3. 統計處理

多様な 實驗으로부터 얻은 結果는 mean \pm standard error로 紀錄하였다. 有意性 檢證은 Student's t-test 分析 方法을 利用하여 決定하였다.

III. 實驗成績

1. 桑黃버섯에 의한 脾臟免疫細胞의 免疫調節

1) 流細胞 螢光分析機를 利用한 免疫細胞의 分析

(1) CD4⁺ 細胞 數의 變化

脾臟脾臟細胞中 CD3e⁺ CD4⁺의 效果에서 活性流細胞 (% positive cell to)는 對照群 (B)이 12.2 ± 0.7 이고 桑黃버섯 抽出物 投與群 (D)은 28.0 ± 2.1 으로 對照群에 比하여 有意한 增加를 나타내었고, 또한 Ursolic acid 處理群 (C)은 1.5

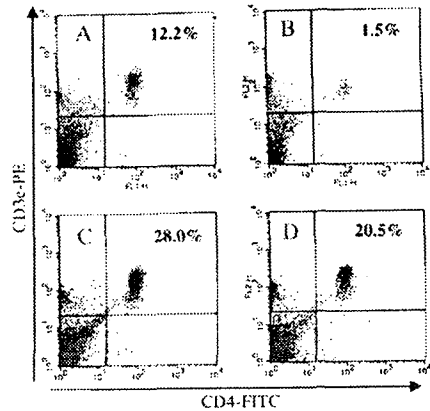


Fig. 1. Effect of PL-E on the expression of CD3e and CD4 in splenic cells of BALB/C mice.

BALB/C mice were administrated with PL-E (p.o, 150 mg/kg, C), PL-E (p.o, 50 mg/kg, D) and ursolic acid (i.p, 25 mg/kg, B) for 10 days. The splenic cells were washed twice and analyzed by flow cytometer. A, non-treatment, control; B, 25 mg/kg ursolic acid; C, 150 mg/kg PL-E; D, 50 mg/kg PL-E, were stained with CD3e-PE/CD4-FITC. Two group treated with PL-E showed increased number of CD4⁺ cells.

± 0.3 로 顯著한 減少와 細胞毒性을 나타내었다 ($p < 0.001$) (Fig. 1).

(2) CD8⁺ 細胞 數의 變化

脾臟細胞에서 CD3e⁺ CD8⁺의 效果에서 活性流細胞(% positive cell to)는 對照群 (B)이 9.1 ± 1.1 이고 桑黃버섯 抽出物 投與群 (D)은 19.1 ± 2.1 로 對照群에 比하여 有意한 增加를 나타내었고 ($p < 0.001$), Ursolic acid 處理群 (C)은 0.5 ± 0.2 로 顯著한 減少와 細胞毒性을 나타내었다 ($p < 0.001$) (Fig. 2).

(3) CD19⁺ 細胞 數의 變化

脾臟細胞에서 CD19⁺의 效果에서 活性流細胞 (% positive cell to)는 對照群 (B)이 60.5 ± 2.0 이고 桑黃버섯 抽出物 投與群 (D)은 66.9 ± 1.9 로

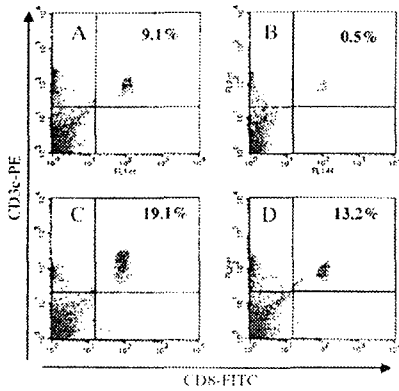


Fig. 2. Effect of PL-E on the expression of CD3e and CD8 in splenic cells of BALB/C mice.

BALB/C mice were administrated with PL-E (p.o, 150mg/kg, C), PL-E (p.o, 50mg/kg, D) and ursolic acid (i.p, 25mg/kg, B) for 10 days. The splenic cells were washed twice and analyzed by flow cytometer. A, non-treatment, control; B, 25mg/kg ursolic acid; C, 150mg/kg PL-E; D, 50mg/kg PL-E, were stained with CD3e-PE/CD4-FITC. Two group treated with PL-E showed increased number of CD8⁺ cells.

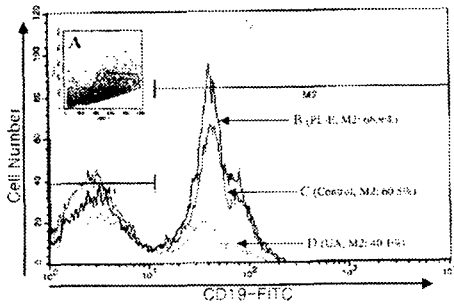


Fig. 3. Effect of PL-E on the expression of CD19 in splenic cells of BALB/C mice.

BALB/C mice were administrated with PL-E (p.o, 150 mg/kg, C) and ursolic acid (i.p, 25mg/kg, B) for 10 days. The splenic cells were washed twice and analyzed by flow cytometer. Events in panel (A) were backscattered onto a dot-plot of FSC-H versus SSC-H. C, non-treatment, control; D, 25mg/kg ursolic acid; B, 150mg/kg PL-E; were stained with CD19-FITC. Two group treated with PL-E showed increased number of CD19⁺ cells.

對照群에 比하여 有意한 增加를 나타내었고, Ursolic acid 處理群 (C)은 40.1 ± 2.3 로 顯著한 減少와 細胞毒性을 나타내었다 ($p < 0.05$) (Fig. 3).

2) 正常 생쥐의 脾臟細胞에서 cytokine 遺傳子 發顯 分析

(1) 脾臟細胞에서 IL-12 (p35) 遺傳子 發顯

脾臟細胞에서 IL-12(p35) 遺傳子 發顯은 Fig. 4에서 보는 것 같이 media 對照群 (lane 1)에서 Ht값이 21이었고 다양한 농도의 桑黃버섯 抽出物 ($1 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$, $50 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{g/ml}$)을 處理한 結果 31 (lane 2), 78 (lane 3), 75 (lane 4), 132 (lane 5)로 IL-12 (p35) 遺傳子 發顯이 濃度 依存的으로 增加하였다. (Fig. 4)

(2) 脾臟細胞에서 IL-12 (p40) 遺傳子 發顯

IL-12(p40) 遺傳子 發顯은 Fig. 5에서 보는 것 같이 media 對照群 (lane 1)에서 Ht값이 67이었고

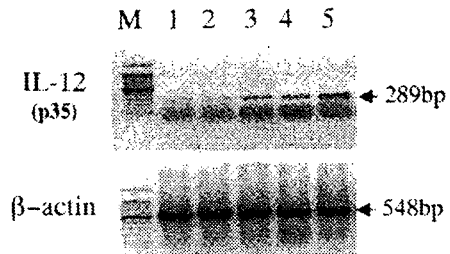


Fig. 4. Effect of PL-E on IL-12 (p35) gene expression in splenic cell.

BALB/C mice splenic cells were cultured with PL-E for 3 hrs. Cytoplasmic RNA was isolated and RT-PCR was performed. Lane M, 100 bp DNA marker; lane 1, RPMI-1640 media control; lane 2, PL-E ($1 \mu\text{g/ml}$); lane 3, PL-E ($10 \mu\text{g/ml}$); lane 4, PL-E ($50 \mu\text{g/ml}$), lane 5, PL-E ($100 \mu\text{g/ml}$) and internal control (β -actin).

고 다양한 농도의 桑黃버섯 抽出物($1\mu\text{g/ml}$, $10\mu\text{g/ml}$, $50\mu\text{g/ml}$, $100\mu\text{g/ml}$)을 處理한 結果 102 (lane 2), 88 (lane 3), 95 (lane 4), 156 (lane 5)로 對照群에 比하여 IL-12 (p40) 遺傳子 發顯이 增加하였다. (Fig. 5)

(3) 脾臟細胞에서 IFN- γ 遺傳子 發顯

脾臟細胞에서 IFN- γ 遺傳子 發顯은 Fig. 6에서 보는 것 같이 media 對照群 (lane 1)에서 Ht 값이 38이었고 다양한 농도의 桑黃버섯 抽出物 ($1\mu\text{g/ml}$, $10\mu\text{g/ml}$, $50\mu\text{g/ml}$, $100\mu\text{g/ml}$)을 處理한 結果 各各의 Ht 값은 98 (lane 2), 103 (lane 3), 76 (lane 4), 137 (lane 5)로 對照群에 比하여 顯著한 IFN- γ 遺傳子 發顯이 增加하였다. (Fig. 6)

3) 脾臟細胞 增殖 效果

正常 생쥐에서 分離한 脾臟細胞에 桑黃버섯 抽出物 (PL-E)과 LPS ($10\mu\text{g/ml}$)을 處理하고 72 時間 培養하여 [^3H]-thymidine uptake assay를 遂

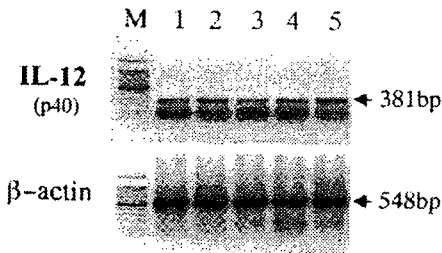


Fig. 5. Effect of PL-E on IL-12 (p40) gene expression in splenic cell.

BALB/C mice splenic cells were cultured with PL-E for 3 hrs. Cytoplasmic RNA was isolated and RT-PCR was performed. Lane M, 100 bp DNA marker; lane 1, RPMI-1640 media control; lane 2, PL-E ($1\mu\text{g/ml}$); lane 3, PL-E ($10\mu\text{g/ml}$); lane 4, PL-E ($50\mu\text{g/ml}$), lane 5, PL-E ($100\mu\text{g/ml}$) and internal control (β -actin).

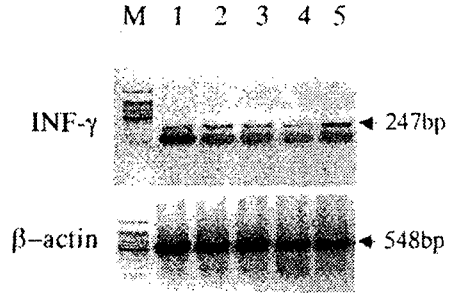


Fig. 6. Effect of PL-E on IFN- γ gene expression in splenic cell.

BALB/C mice splenic cells were cultured with PL-E for 3 hrs. Cytoplasmic RNA was isolated and RT-PCR was performed. Lane M, 100 bp DNA marker; lane 1, RPMI-1640 media control; lane 2, PL-E ($1\mu\text{g/ml}$); lane 3, PL-E ($10\mu\text{g/ml}$); lane 4, PL-E ($50\mu\text{g/ml}$), lane 5, PL-E ($100\mu\text{g/ml}$) and internal control (β -actin).

行하였다. Fig. 7에서 보는바와 같이 處理된 모든 桑黃버섯 抽出物에 의해서 對照群에 比하여 脾臟細胞 增殖를 觀察할 수 있었다. 細胞增殖는 對照群이 6439 ± 2104 CPM이고 LPS 處理群이 55810 ± 2648 CPM이었다. PL-E $10\mu\text{g/ml}$ 處理群에서 有意한 增殖 (25901 ± 4379)이 보였고 ($p < 0.001$), 또한 PL-E $100\mu\text{g/ml}$ 處理群에서 有意한 細胞增殖 效果 (44719 ± 4890)가 確認되었다 ($p < 0.001$) (Fig. 7).

IV. 考 察

免疫이란 人體內에서 어떤 要因으로 因해서 든지 異物의 侵入이나 變異細胞가 發生하면 生體防衛機能, 즉 immune system이 關與하여 異物은 물론 새로이 發生된 變異細胞를 非自己로 認識하여 處理하는 能力을 發揮함으로써 個體의 恒常性을 維持하려는 現狀으로 抗原刺戟에

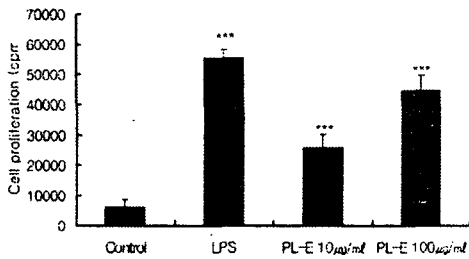


Fig. 7. Effect of PL-E on cell proliferation in splenic cell.

Mice splenic cells cultured with medium, LPS (10µg/ml), PL-E (10µg/ml) and PL-E (100µg/ml) relatively for 60 hrs. Cells were harvested with cell harvester followed by treatment with [3H]thymidine (2µCi/well) for 12 hrs. Radio activity were determined with Liquid scintillation counter. Each data represent the mean ± S.D. Statistically significant value compared with control by T-test. (***: p<0.001)

의해 항체가 만들어지는 면역 반응을 체액성 면역 (humoral immunity)이라 하고, 항원 자극을 받은 T림프구나 B림프구가 만들어낸 여러 단백질에 의한 면역 반응을 세포성 면역 (cellular immunity)이라 한다. 암세포 발생을防禦하는 면역監視器具의 主役은 세포성 면역이라 할 수 있는데, 첫째로 세포傷害성 T-세포 (Cytotoxic T-lymphocyte), 둘째로 自然殺害細胞 (Natural killer cell), 셋째로 세포傷害성 大食細胞 (Cytotoxic macrophage), 넷째로는 最近에 問題가 되기 시작한 LAK細胞 (lympholine activated killer cell) 등이 암세포의 監視 第 1線 細胞集團이라 생각된다^{4,5)}.

韓醫學에서의 腫瘍에 대한 認識은 이러한 免疫機能의 低下, 곧 正氣가 不足하고 邪氣가 停滯함으로써 氣滯血瘀하고 痰飲獨聚하여 서로 絞結하고 蘊鬱하여 마침내 腫塊가 形成되는 것으로 理解해 왔으며, '正'은 正氣로서 人體가 邪氣의 侵犯에 抵抗하고 生命活動을 維持하게

되는 能力을 말하며 '邪'는 邪氣로서 外感六淫, 七情?飲食?勞倦?痰飲 및 瘀血等 發病要因을 나타낸다 할 수 있다⁶⁻⁷⁾. 黃帝內經에서의 "正氣存內 邪不可干", "邪氣所湊 其氣必虛", "邪之所在 皆爲不足"이란 文句는 이러한 여러 가지 原因으로 因하여 正氣가 虛弱해지면 外邪가 쉽게 虛弱한 곳으로 侵入하여 各種 疾患을 惹起시킴을 나타낸다 할 수 있다⁸⁾. 現代에서의 免疫의 概念은 非己를 識別하여 非己를 排斥하고 自己를 保存하는 것이며, 基本的으로 韓醫學에서의 正氣의 概念과 一致한다 할 수 있다⁹⁾.

한편 위에 言及한 免疫療法으로 즉 生物學的 反應 調節物質 (BRM) 로서 BCG나 擔子菌類의 抗腫瘍 蛋白多糖體 등이 關心이 高조되고 있으며 이러한 生藥 抽出物의 하나인 擔子菌類에서 起源하는 多糖體는 人體의 細胞免疫을 強化하여 抗癌作用을 나타내는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 擔子菌類는 15,000餘種 以上이 記錄되어 있는 高等菌類로서 지금까지 많은 種類의 抗生物質이 抽出되었고 이 중 眞正 擔子菌類는 대부분 抗腫瘍 物質을 生成하며, 이외에도 擔子菌類에서 抽出된 抗生物質은 免疫調節 作用 및 血壓降下 作用도 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 즉, 植物에서 抽出한 多糖體들은 大食細胞의 活性化를 통한 T-림프구의 機能亢進 및 IL-1 등의 媒介 物質을 放出함으로써 宿主의 免疫機能을 活性化시키는 것으로 알려져 있다¹¹⁻¹²⁾. 一般的으로 擔子菌類의 抗腫瘍 蛋白 多糖體는 抗癌 化學療法製劑와는 달리 正常細胞에 毒作用을 나타내지 않을 뿐만 아니라 오히려 宿主의 免疫機能을 強化시킴으로써 抗癌效果를 나타내기 때문에 抗癌 化學療法製劑와 併用할 경우 그 治療效果를 向上시킬 수 있다. 따라서 擔子菌類에서 抽出된 多糖體는 一種의 生物學的 反應 調節物質 (BRM)이라고 할 수

있다¹³⁾.

最近生物學的反應調節物質과 抗癌劑의 併用投與에 關한 研究가 活潑한데 그 理論的 背景은 첫째로 抗癌劑와 BRM의 抗癌作用의 메카니즘이 틀리므로 上昇作用을 期待할 수 있다는 점이다. 둘째로 抗癌劑의 用量에 따른 免疫機能에 대한 調節의 效果를 들 수 있다. 各種 腫瘍에 대하여 細胞毒性 藥物로 使用되는 cyclophosphamide가 免疫抑制 機能만이 아니라 免疫增強 效果를 가짐이 밝혀졌으며, 이는 用量에 따라 다른 것이 알려졌다. cyclophosphamide가 免疫抑制 機能만이 아니라 免疫增強 效果도 있다는 사실이 밝혀진 후 이와 BRM의 併用に 關한 臨床研究가 進行되고 있다¹⁴⁾. cyclophosphamide는 T-淋巴球중 억제 T-淋巴球를 選擇적으로 除去시킨다. 이들 植物性 多糖類의 作用 메카니즘은 마크로파지의 活性化를 통한 T-淋巴球의 機能亢進 및 interleukin-1 등 다수의 免疫媒介 物質을 放出함에 의해 免疫器具를 活性化시켜 間接적으로 癌細胞가 抑制된다고 한다¹⁵⁾.

이에 著者는 抗癌效果가 있는 것으로 알려져 있는 桑黃버섯의 抽出液을 얻은 후 免疫 增進作用을 알아보기 위하여 in vitro 에서의 脾臟 免疫 細胞의 細胞活性化, 脾臟細胞에서 cytokine 遺傳子 發顯 分析등을 통하여 抗癌 治療劑로서의 科學的 根據를 提示하고 臨床活用 度를 높이고자 하였다.

本 實驗에서는 BALB/C 생쥐의 免疫 增進에 의한 抗癌效果를 알아보기 위하여 cytometer를 이용하여 脾臟細胞 (splenic cell)에서 CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺를 分析하여 活性 免疫細胞와 細胞 受容體 發顯 增進을 觀察한 바 對照群에 비하여 桑黃버섯 抽出物 (PL-E) 投與群의 成績이 CD4⁺에서 28.0±2.1 (Fig. 1)로, CD8⁺에서 19.1±2.1 (Fig. 2)로, CD19⁺에서 66.9±1.9 (Fig. 3)

로 有意性 있게 增加한 것을 알 수 있었다.

또한 정상 생쥐의 脾臟細胞에서 cytokine 遺傳子 發顯分析을 觀察한 結果 IL-12 (p35)는 濃度 依存的으로 遺傳子 發顯이 增加하는 것으로 (Fig. 4), IL-12 (p40)은 media 對照群에 비하여 有意性 있게 增加하는 것으로 (Fig. 5), IFN-γ는 media 對照群에 비하여 顯著的 遺傳子 發顯 增加를 (Fig. 6) 觀察할 수 있었다.

桑黃버섯 抽出物이 脾臟 免疫 細胞 增進에 미치는 影響을 [3H]-thymidine uptake assay 遂行 후 觀察한 結果 桑黃버섯 抽出物 (PL-E)處理 群에서 對照群에 비하여 有意性 있는 細胞增進 效果가 있음을 確認할 수 있었다. (Fig. 7)

以上の 實驗 結果 桑黃버섯의 抽出液(PL-E)이 腫瘍細胞의 細胞毒性 및 轉移抑制 效果가 顯著할 뿐만 아니라 및 免疫增進 結果를 나타냄으로써 桑黃버섯이 우수한 抗癌劑로의 可能性을 確認할 수 있었으며 앞으로 持續的인 研究 및 臨床 活用을 期待할 수 있을 것으로 思料된다.

IV. 結 論

桑黃버섯 抽出物 (PL-E)의 抗轉移 및 免疫調節을 통한 抗癌效果를 알아보기 위해 試驗管內 細胞毒性能 測定, 癌轉移 遺傳子 發顯實驗, 抗轉移效果 觀察 및 脾臟細胞에서의 免疫細胞分析 및 cytokine 遺傳子 發顯, 脾臟細胞 增進能 등의 觀察을 통하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 桑黃버섯 抽出物은 脾臟細胞에서 CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ 活性化를 對照群에 비하여 有意性 있게 增加시켰다.
2. 桑黃버섯 抽出物은 脾臟細胞의 IL-12 (p35), IL-12 (p40), IFN-γ 遺傳子 發顯을 對照群에 비해 有意性 있게 增加시켰다.

3. 桑黃버섯 抽出物은 脾臟細胞의 增殖을 有意性있게 增加시켰다.

以上の 實驗結果로 桑黃버섯 抽出物은 癌細胞에 대하여 免疫 增強效果가 있는 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 김창민외: 完譯中藥大辭典, 서울,鼎談, p.2836, 1998.
2. 許 浚: 東醫寶鑑, 서울,麗江出版社, p.401, 1994.
3. 정경수외: *Phellinus linteus* 균사 배양물로부터 분리한 단백다당체Kp의 항암활성, 약학회지 38(2), pp.158-165, 1994.
4. 하대유외: 免疫學, 서울, 고문사, pp.7-23, 1994.
5. 정태호: 免疫學講義, 大邱, 慶北大學校 出版部, pp.294-303, 1993.
6. 文濬典외: 東醫病理學, 서울, 古文社, pp.78-90, 1990.
7. 劉正才: 中醫免疫, 北京, 重慶出版社, pp.8-13, 1983.
8. 王 ? : 黃帝內經, 서울, 古文社, 素問, p.91,166,229,326. 靈樞, p76,88, 1977.
9. 安德均譯: 免疫과 韓方, 서울, 열린책들, pp.45-48, 1992.
10. Ikekawa T, Nakashi M, Uehara N, Chihara G, Fukuoka F, Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*, GANN; 59, p.155-157, 1968.
11. Nomoto K, Yoshikum: C, Matsunaga K, Fuji T, Takeya K.: Restoration of antibody forming capacities by Polysaccharide-K in tumor bearing mice, GANN; 66, p.365, 1975.
12. Nakanhara W, Fuoka F, Maeda Y, Aoki K: The host mediated antitumor effect of some plant Polysaccharides, GANN; 55, pp. 283-288, 1964.
13. 김상용: 메시마엑스의 항암효과에 대한 연구, 대한암학회지; 23 pp.210-217, 1991
14. Berendt MJ, North RJ: T cell mediated suppression of anti tumor immunity, An explanation for progressive growth of an immunogenic tumor, J Exp Med 151, pp.69-80, 1980.
15. Dennert G, et al: Antitumor Polysaccharide Lentinan A T cell adjuvant J Nat Can Inst 51, pp.1727-1730, 1973.