

Phellinus baumii 자실체 열수 추출물의 Sarcoma-180에 대한 항암 및 면역효과

하효철* · 김현표 · 심지영 · 장윤희 · 김현수

풀무원 식문화 연구원

Antitumor and immunomodulatory effects of a hot water extract of *Phellinus baumii* using Sarcoma-180 in the mouse

Hyo-Cheol, Ha*, Hyun-Pyo, Kim, Ji Young, Sim, Yun-Hee, Chang and Hyun Su, Kim

R&D Center for Functional Foods, Institute of Food and Culture, Pulmuone Co. Ltd. Seoul, Korea.

ABSTRACT : A hot water extract(HWE-P4) was separated from the fruit bodies of PMO-P4, and its antitumor and immunomodulatory activities against sarcoma-180 in ICR mice were investigated. The internal transcribed spacer(ITS) regions from PMO-P4 were amplified using polymerase chain reaction(PCR) and sequenced. The results revealed that PMO-P4 was belong to the *Phellinus baumii*. When oral administration at the dose of 160mg/kg/day in the mice until the end of the experiment with 2 week's pre-feeding of the HWE-P4, the survival rate of the mice was 152% for 50days after the inoculation of sarcoma-180 and the suppression rate of the tumor growth was 35.3%($p<0.05$) for 28 days after inoculation of sarcoma-180. The HWE-P4 increased 71.4% of the CD4/CD8 ratio and 5-fold of the expression of CD25(IL-2 receptor chain) compared with the control. From these results, the antitumor activity of HWE-P4 is exerted through its immunomodulating activity on the host's immune system.

KEYWORDS : *Phellinus baumii*, Sarcoma-180, Antitumor, Flow cytometry

현대의학의 발전에도 불구하고 암은 아직도 그 원인 및 치료방법이 분명치 않아 인류의 건강을 위협하는 가장 중요한 인자로 남아 있으며 최근에는 성인병에 의한 사망 중에서도 암에 의한 사망이 증가하고 있다. 현재 암 치료에 이용되고 있는 화학요법, 방사선요법 및 외과적 수술요법 등은 치료적 한계성 및 부작용 등으로 그 이용에 많은 제약과 문제점을 가지고 있다. 이러한 관점에서 볼때, 직접적인 세포독성보다는 생체의 방어기전, 특히 면역능을 이용하여 암을 예방 혹은 치료하고자 하는 시도는 매우 의의가 있는 일이라 할 수 있다.

버섯은 대부분 담자균류라 불리우는 고등균류로 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있으며 항암성분을 비롯한 다양한 생리활성 성분들이 밝혀짐에 따라 전 세계적으로 관심을 모으고 있다. 특히 버섯류에서 추출한 다당류 성분들은 부작용이 적어 독성면에서 안전한 반면 인체 면역계의 기능을 강화시켜 항암작용에 효과가 있는 것으로 다수 보고되어져 왔다(Wasser, 2002).

상황은 민주름 버섯목(Aphyllophorales), 소나무 비늘버섯과(Hymenochaetaceae)의 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하며 대가 없고 다년생으로 자라는 백색부후균이며 전 세계적으로 200여종 이상이 분포하고 있는 것으로 알려져

있으며 상황의 약리작용으로는 일본의 Ikekawa등(1968)이 목질 진흙버섯으로 알려져 있는 *Phellinus linteus*의 자실체 열수 추출물로부터 항암효과가 있다고 보고한 이후 국내에서도 *P. linteus*의 자실체, 균사체 추출물로부터 면역조절 작용 및 항암 효과(Chung등, 1993; Kim등, 1996; Song등, 1998; Han등, 1999; Lee등, 2000; Kim등, 2003)에 관한 연구결과가 보고된 바 있다. 한편, 중국 상황이라 불리는 말뚝 진흙버섯(*Phellinus igniarius*)의 자실체 열수 추출물로부터 항 돌연변이원성 효과(Shon등, 1999), 균사체 추출물로부터 항산화 효과(Lee등, 2002)에 관한 연구 결과가 보고된 바 있으며 최근에는 낙엽송 진흙버섯인 *Phellinus pini* (Jeong등, 2004)의 균사체로부터 생산된 다당류의 면역조절기능에 관한 연구결과가 보고된 바 있다. 이와 같이 상황이 항암활성 및 면역증강 효과가 우수하다고 보고된 이후 국내에서는 상황 관련 연구가 활발하게 진행되어져 왔으며 2003년에는 식품원료로 등재되어 국민 건강과 관련하여 상황의 수요가 증가할 것으로 기대되고 있다. 그러나 현재 국내에서 식품공전에 의해 식품원료로 사용될 수 있는 종은 *P. linteus*, *P. baumii*의 두가지로 정하여져 있으나 일부 무분별한 유통에 의해 위에서 언급한 두 종류의 상황 이외에 다수의 상황류들이 국민건강을 위한 식품원료로 사용되고 있는 현실이다. 또한 대부분의 상황 연구는 *P. linteus*에 집중되어져 왔으나

*Corresponding author: <hcha@pulmuone.co.kr>

최근 국내에서 재배하여 생산되어지고 있는 많은 상황 자실체는 *P. baumii*인 것으로 알려져 있으며 국내 농가에서 재배되고 있는 상황인 *P. baumii*의 약리작용에 관한 연구는 거의 보고된 바 없다.

본 연구에서는 국내에서 재배하여 생산하고 있는 상황 자실체를 rDNA ITS 염기배열 분석을 통하여 계통분류를 확인한 뒤 실험원료로 사용하였으며 건강기능성 식품 및 의약품 개발에 적용하기 위한 기초자료를 확립하고자 Sarcoma-180에 대한 항암 및 면역증강효과를 조사하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

시료준비

본 실험에 사용한 상황 자실체는 전라남도 장흥군에서 인공 재배하여 풀무원 건강생활(주)에서 상황 원료로 사용하고 있는 PMO-P4 자실체를 가지고 실험 하였다(Fig. 1). PMO-P4 자실체 100g을 20배량의 증류수를 가하여 100°C에서 12시간 추출한 후 5000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 여과지(Whatman No. 2)를 이용하여 상등액을 여과하여 여과액을 감압 농축, 동결건조 하여 사용하였으며 HWE-P4라 명명하였다.



Fig. 1. The photogram of PMO-P4 fruiting body

Total genomic DNA 분리 및 ITS 배열 분석

Total genomic DNA를 분리하기 위하여 PMO-P4 자실체를 분쇄기로 homogenization시킨 후 Chen등(1999)의 방법을 이용하였다. 400ul LETS buffer [20mM Tris-Cl(pH 7.8), 100mM LiCl, 10mM EDTA, 0.5% SDS, pH 7.8]에 넣고 30°C에서 4시간 이상 세포조직으로부터 total DNA를 추출하였다. ITS영역을 증폭하기 위하여 White등(1990)에 의해 보고된 방법을 이용하였다. 곰팡이류의 ITS 영역증폭 primer를 이용하였으며 이들의 oligomer 염기서열은 다음과 같이 만들었다 (ITS 1; 5' TCCGTAGG TGAACCTGC G 3', ITS 4; 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'). 이 밖의 PCR 증폭조건은 일반적인 방법으로

실시하였으며 PCR clean up kit (Genemed Co.)를 이용하여 정제한 후 염기서열 분석은 마크로젠(주)을 통해 실시하였다.

염기서열을 이용한 유연관계 분석

계통 분류도 작성을 위한 rDNA ITS 염기배열 분석은 Clustal W 프로그램을 이용하여 정렬 시킨 후 보정하였으며 계통 분류도는 Phylogenic analysis program에 의해 작성하였다.

실험동물

ICR계 마우스는 대한 바이올링크로부터 분양 받아 고형사료와 물을 자유롭게 공급하면서 실험 동물실에서 적응시킨 후, 건강상태가 양호한 마우스를 사용하였다. 실험동물의 온도는 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 $55 \pm 5\%$ 였으며 사료는 펠렛형 실험동물 사료(신촌사료)로 하였다.

암세포주

Sarcoma-180 세포를 8-12주령된 ICR 마우스의 복강에서 계대 배양한 복강액을 1ml 주사기로 찢러 노란색의 복수액 1ml를 채취한 후, 그 원액을 0.1ml씩 정상 ICR 마우스의 복강속에 접종하고 배양하면서 13일 마다 계대하였다.

시료투여

시료투여는 A, B의 2가지 군으로 나누어 실시하였다. A 군은 ICR마우스에 HWE-P4를 160mg/kg/day의 농도로 증류수에 완전히 용해시켜 2주 동안 매일 경구 투여하고 Sarcoma-180암세포를 이식한 뒤 HWE-P4를 매일 동일량의 농도로 경구투여하면서 실험하였다. B군은 ICR마우스에 Sarcoma-180암세포를 이식한 뒤 HWE-P4를 160mg/kg/day의 농도로 증류수에 완전히 용해시켜 매일 동일량의 농도로 경구투여 하면서 실험하였다.

Sarcoma-180 복수암에 대한 항암 효과 측정

ICR계 마우스의 복강에 *in vivo* 계대 중인 Sarcoma-180 암세포를 멸균된 주사기로 채취하여 암세포들을 10% Fedal bovin serum이 첨가된 RTMI배지(Gibco, Cat.)로 희석하여 농도가 1×10^7 cell/ml되게 하였다. 이와 같이 희석한 Sarcoma-180세포액을 100ul (1×10^6 cells)씩 ICR계 마우스(28 ± 2 g, 6주령)의 복강에 주사하였다. 50일까지 마우스의 생존일을 관찰하였으며 생존율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{생존율}(\%) = \frac{\text{시험군의 생존일수}}{\text{대조군의 생존일수}} \times 100$$

Sarcoma-180 고형암에 대한 항암 효과 측정

ICR계 마우스의 복강에 *in vivo* 계대 중인 Sarcoma-

180 암세포를 멸균된 주사기로 채취하여 암세포들을 10% Fedal bovin serum이 첨가된 RTMI배지(Gibco)로 희석하여 농도가 4X10⁷cell/ml되게 하였다. 이와 같이 희석한 Sarcoma-180세포액을 50ul(2X10⁶cells)씩 ICR마우스(28±2g, 6주령)의 우측 사타구니 피하에 이식하여 고형암을 유발시켰다. 4주후 마우스의 고형암를 적출하고 무게를 microbalance로 측정하였다. 고형암 증식에 대한 저해율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시험군의 암세포 무게}}{\text{대조군의 암세포 무게}}\right) \times 100$$

FACS analysis

4주후 마우스의 고형암을 적출시 채취한 전혈에서 HISTOPAQUE◆-1077(Sigma)를 이용하여 림프구를 분리한 후 각 림프구를 CD4+, CD8+, CD25+로 세 그룹으로 분류하였다. CD4+, CD8+의 경우 mAb를 동시에 가하여 2중 형광염색된 세포들을 FL1/FL2 dual parameter dot plot상에 나타내어 quadrant분석을 시행하였다. CD25+의 경우 FL2 histogram상에서 marker를 설정하여 CD25+ 세포집단의 % 및 전체세포 집단의 FL2 평균형광강도(mean fluorescence)를 분석하였다. 각각의 특이항체로 염색한 후, FACScalibur(Becton Dickinson) flow cytometry로 측정한 후 CellQuest™ program을 이용하여 분석하였다.

통계학적처리

각 실험군의 측정값의 평균과 표준편차를 구하고, 대조군과의 차이를 Student's t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

ITS영역의 염기서열을 이용한 진흙버섯속군의 유연관계

진흙버섯속의 분류 동정에 관한 연구에서 형태학적인 분류법에 의한 종간의 분류가 쉽지 않기 때문에 최근에는 분자생물학적 유전정보를 이용한 계통분류법이 많이 이용되고 있는 실정이다.

본 연구를 위한 DNA는 인공적으로 재배한 PMO-P4 자실체에서 추출하였으며, 특히, 검사시료의 대표성을 위하여 부위별로 검체를 샘플링 하였다. 이때 사용된 DNA추출법은 일반적으로 사용되는 DNA추출법을 변형한 것으로, 추출과정 중, protease와 RNase를 복합적으로 처리하여 고순도의 DNA용액을 얻을 수 있었다. 본 실험방법에 의한 PMO-P4 자실체의 rDNA ITS부위의 PCR 증폭산물은 약 750 b.p의 크기로 Gen Bank에 등재되어 있는 *P. baumii*, *P. linteus*의 ITS 부위(700-747 b.p)와 비슷한 크기로 나타났으며, 이러한 결과는 일반적인 곰팡이류의 primer를 이용하여 *Phellinus*속의 ITS 영역 염기서열을 증폭한 결과로 생각된다.

PMO-P4 자실체의 ITS 영역 염기서열을 비교하기 위하여 multiple alignment를 시행한 결과, ITS I 영역부분에서 Nam등(2002)이 Gen Bank에 등록된 *P. baumii* AF200230, *P. baumii* AF200231와 동일한 상동성을 갖는다는 것을 알 수 있었으며 *P. linteus* AF200228, *P. linteus* AF153010, *P. igniarius* AY189708, *P. robustus* AY189701, *P. nigricans* AF200239와는 염기서열 상동성이 차이가 나는 것을 알 수 있었다. 이들의 상동성 비교를 통하여 계통분석도를 작성한 결과는 Fig.2와 같다. 결과적으로 본 연구에 사용한 PMO-P4 자실체는 *P. baumii*로 판단되며 이를 기초로 생리활성 연구를 진행하였다.

Sarcoma-180복수암에 대한 항암효과

Sarcoma-180암세포를 ICR 마우스의 복강에 투여한 결과 14일 이내 복수암이 100% 유발되었으며 복수암에 걸린 마우스와 정상 마우스는 육안으로 쉽게 관찰되었다. 실험 결과는 먼저 2주간 시료를 섭취한 뒤 암을 유발시킨 A군의 경우 마우스의 생존율은 대조군과 비교하여 152% 연장되는 것으로 나타났다(Fig. 3). 대조군의 경우 Sarcoma-180세포를 ICR 마우스의 복강에 투여한 뒤 26일 경과 후 10마리 중 3마리만 살아남았으나 A군은 6마리가 살아남았으며 50일까지 수명이 연장되었다. B군은 대조군과 마찬가지로 3마리가 살아남았으나 44일까지 수명이 연장되는 것을 관찰할 수 있었다.

버섯 유래 생리 활성 물질의 생명연장 효과가 있는 결과로는 Kim등(2000)이 *P. linteus* 자실체의 열수추출물

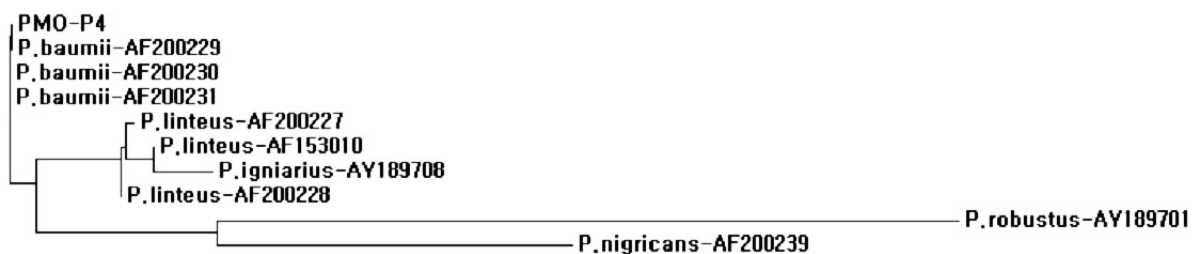


Fig. 2. The phylogenetic tree showing the relationships among the isolates of PMO-P4 and other *Phellinus* sp.

300mg/kg/day을 매일 경구투여 하였을 경우 수명연장 효과가 140.2% 나타났다고 보고한 바 본 실험에서 A군 160mg/kg/day의 농도에서의 수명연장효과와 비슷한 결과를 나타내었다. Moon등(1987)은 구름버섯 자실체 및 균사체로부터 추출, 분리한 단백다당체(Copolang)와 크레스틴(PS-K)을 250mg/kg/day의 농도로 복강투여 하였을 경우 Sarcoma-180의 고형암에 대해서는 70%이상의 저해율을 나타내었으나 복수암에 대해서는 효과가 없는 것으로 보고한 바 있으나 이와는 상이한 결과를 나타내었다.

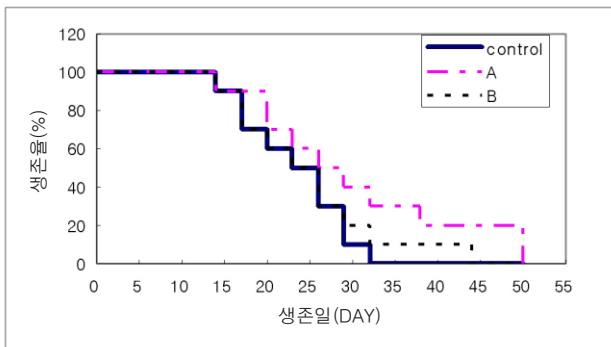


Fig. 3. Effect of a hot water extract from PMO-P4 on the survival of ICR mice against Sarcoma-180 cancer cells by oral administration.

Control: ICR mice were treated only Sarcoma-180 cancer cell.

A : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment with 2 week's pre-feeding of the same extract.

B : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment without 2 week's pre-feeding of the same extract.

Each treatment group consisted of 10 mice.

Sarcoma-180 고형암에 대한 항암효과

Sarcoma-180 세포를 접종한 후 고형암 성장 저해를 알아보기 위하여 대조군의 경우 28일째에 마우스로부터 적출한 암괴의 무게는 10.95 ± 2.51이었으며, 이때 Sarcoma-180 고형암의 성장은 ICR마우스의 개체에 따라 다소 차이를 나타내었다. Sarcoma-180 고형암에 대한 실험군의 항암 활성도는 A군의 경우 적출한 암괴의 무게가 6.96 ± 2.13이었으며 대조군과 비교하여 35.3% (p<0.05)의 암세포 성장 저해율을 나타내었다. B군의 경우 적출한 암괴의 무게는 9.64 ± 1.79이었으며 대조군과 비교하여 10.3%의 성장 저해율을 나타내었으나 유의적인 차이가 있는 것은 아니었다(Table 1). 이러한 결과는 시험군이 대조군보다 항암효과가 유의적인 수준에서 차이가 있음을 보여 주는 것으로 식이방법에 있어서도 먼저 2주간 시료를 섭취한 뒤 암을 유발시킨 A군이 그렇지 않은 B군보다 높은 항암효과를 나타내었다. 따라서 본 연구에서 사

용한 PMO-P4 자실체로부터 열수 추출한 생리활성 물질을 꾸준히 경구투여 하였을 경우 암에 대한 예방 효과도 볼 수 있을 것으로 생각된다.

Table 1. Antitumor activities of a hot water extract from PMO-P4 in tumor bearing ICR mouse with Sarcoma-180 cells

Sample	Dose (mg/kg) ¹⁾	Tumor weight	Inhibition rate(%)
Control	-	10.75 ± 2.51 ²⁾	-
A	160.0	6.96 ± 1.81*	35.3
B	160.0	9.64 ± 1.79	10.3

1) Mice were treated by samples for 30 days

2) Values are mean ± S.D. of 7 mice

* Significantly different from the control with p<0.05

Control: ICR mice were treated only Sarcoma-180 cancer cell.

A : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment with 2 week's pre-feeding of the same extract.

B : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment without 2 week's pre-feeding of the same extract.

Each treatment group consisted of 10 mice.

버섯 유래 생리 활성물질로부터 Sarcoma-180 암세포를 이용한 항암효과의 경우, Kwak등(1994)이 영지버섯 (*Ganoderma lucidium*) 자실체로부터 열수 추출한 성분을 80mg/kg/day의 농도로 15일간 경구투여 하였을 경우 31%의 Sarcoma-180 고형암 억제효과를 나타내었다고 보고 하였으며 Cho등 (1991)은 황금빨나팔버섯 (*Craterellus aureus*) 자실체로부터 열수 추출한 성분을 700mg/kg/day의 농도로 28일간 경구투여 하였을 경우 21%의 Sarcoma-180 고형암 억제효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한 Ikekawa등(1992)은 느티만가닥버섯 (*Hypsizigus marmoreus*) 자실체로부터 열수 추출한 성분을 500mg/kg/day 혹은 1000mg/kg/day의 농도로 10일간 경구투여 하였을 경우 22-25%의 Sarcoma-180 고형암 억제효과를 나타내었다고 보고한 바 있어 본 연구에서 사용한 HWE-P4에 의한 항암효과 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

CD4/CD8 증가효과

CD4를 발현하는 TH cell은 여러 종류의 cytokine을 생산하여 B cell이 효율적으로 항체를 생산하도록 도와주고, 면역반응의 행동세포인 Tc cell, monocyte, macrophage 등을 활성화시키기 때문에, 증가된 CD4수는 TH cell이 우세해지면서 증가된 면역반응을 의미한다. 한편 CD8는 과도한 세포독성 세포활성의 결과로 면역반응을 억제하는

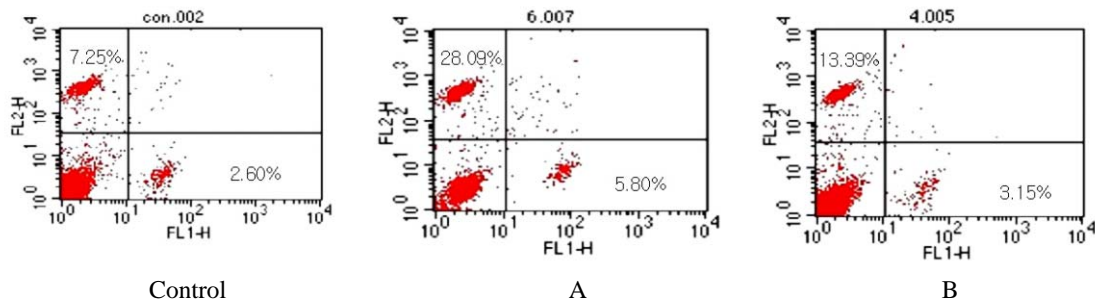


Fig. 4. FL1/FL2 dual parameter dot plot for analysis of CD4/CD8 ratio.

Control: ICR mice were treated only Sarcoma-180 cancer cell.

A : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment with 2 week's pre-feeding of the same extract.

B : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment without 2 week's pre-feeding of the same extract.

Each treatment group consisted of 10 mice.

것을 암시한다. 따라서 CD4/CD8 비율의 증가는 일반적으로 세포성 면역 증진의 한 지표로 사용되고 있다. 실험동물의 면역세포를 분리하여 CD4/CD8 비율을 분석한 결과, 대조군에 비해 A군은 71.4%, B군은 51.8% 증가하였다. A군이 B군보다 CD4/CD8 비율이 높은 것은 암세포를 접종하기 전부터 투여된 시료에 의해 면역능이 더욱 활발해졌기 때문으로 생각된다. 이는 HWE-P4를 암세포에 접종한 실험동물의 CD4 T cell을 보다 선택적으로 활성화시켜 세포성 면역반응을 증진시킨 것으로 앞에서 보여준 Sarcoma-180암세포의 증식을 억제한 결과에 영향을 미친것으로 생각된다. Oh등(1998)이 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 생장점으로부터 분리 정제한 산성 단백다당체 분획인 GLB-A으로 부터 50mg/kg/day의 농도로 5회 ICR 마우스에 복강투여 하였을 경우 CD4/CD8 비율이 86.1% 증가된다는 보고와 비슷한 결과를 나타내었다. 본 실험 결과 대조군 보다 HWE-P4를 투여한 시험군의 경우 CD4/CD8 비율이 높았으며, 이러한 결과는 HWE-P4에 의해 체내 세포성 면역반응이 활성화되어 암세포에 대한 방어능이 향상될 수 있음을 의미한다고 생각된다.

CD25 증가효과

IL-2는 활성화된 T cell에 의해 분비되는 T cell 성장인자의 하나로 T cell의 증식과 활성화에 매우 중요한 역할을 하는 cytokine이며 T cell 외에도 B cell, NK cell등 다양한 면역세포를 자극하여 활성화시키고 분화를 촉진한다. 활성화된 T cell, B cell, monocyte등 IL-2 receptor를 가진 세포들은 IL-2에 의해 자극되어질 경우, CD25 분자의 발현을 증가시켜 더욱 활성화 된다. 따라서 CD25 발현의 증가는 활성화된 면역세포의 상태를 나타낸다. 대조군과 시험군의 면역세포에서 CD25 분자의 발현정도를 분석한 결과, 대조군에 비해 A군은 약 5배의 발현 증가를 나타냈고 B군은 0.3배 정도의 증가를 나타냈다. 이러한 결과는

CD4/CD8 증가 효과와 더불어 HWE-P4에 의해 암유발 동물의 세포성 면역능이 향상됐음을 나타낸다.

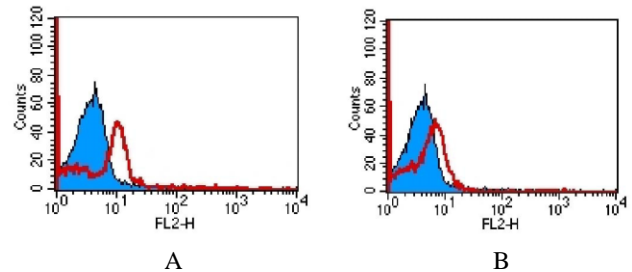


Fig. 5. FL2 histogram for analysis of expression of CD25 molecules.

Control: ICR mice were treated only Sarcoma-180 cancer cell.

A : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment with 2 week's pre-feeding of the same extract.

B : ICR mice received a hot water extract(160mg/day) from cultivated PMO-P4 after Sarcoma-180 cancer cell treatment, until the end of the experiment without 2 week's pre-feeding of the same extract.

Each treatment group consisted of 10 mice.

적 요

국내에서 재배되고 있는 약용버섯인 상황(*P. baumii*) 자실체의 열수 추출물로 부터 건강 기능성 식품 및 의약품개발의 기초자료를 제공하고자 항암실험 및 면역효과에 대한 실험을 수행하였다. 본 연구에서 사용한 PMO-P4의 경우 rDNA의 ITS부위의 염기서열 분석을 통한 계통분석 결과 *P. baumii*로 판명 되었으며, PMO-P4 자실체로부터 열수 추출한 성분(HWE-P4)을 160mg/kg/day의 농도로 하여 Sarcoma-180 암세포를 유발한 마우스에 경구투여

한 결과 A군의 경우, 종양억제효과는 35.3%로 대조군보다 유의성 있게 감소하였으며($p < 0.05$), 생명연장 효과는 156%증가한 것으로 나타났다. 시료의 경구투여 방법에 있어서도 시료를 먼저 2주간 투여한 후 암세포를 접종한 A군의 경우가 시료 투여와 암세포 접종을 동시에 실시한 B군의 경우 보다 종양억제효과 및 생명연장효과가 높았음을 알 수 있었다. A군의 경우 대조군에 비하여 CD4/CD8의 비율이 71.4%증가 하였으며, CD25(IL-2receptor chain)분자의 발현을 5배정도 증가시키는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과로 보아 *P. baumii*로 밝혀진 PMO-P4 자실체로부터 열수 추출한 성분의 항암효과는 암세포를 직접 공격하여 항암효과를 나타내기 보다는 T cell등의 면역세포를 활성화시킴으로써 암세포를 억제 혹은 사멸시키는 것으로 생각된다.

참고문헌

- Chen, X., Romaine, CP., Ospina-Giraldo MD. and Royse DJ. 1999. A polymerase chain reaction-based test for the identification of *Trichoderma harzianum* biotypes 2 and 4, responsible for the worldwide green mold epidemic in cultivated *Agaricus bisporus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52: 246-250.
- Cho, M. K., Jung, K. S., Park, C. H. and Lee, Y. T. The effect of *Craterellus aureus* extracts to proliferation of sarcoma-180 cells. *Kor. J. Immunology* 13: 215-224.
- Chung, K. S., Kim, S. S., Kim, H. S., Kim, K. Y., Han, M. W. and Kim, K. H. 1993. 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: 336-338.
- Han, S. B., Lee, C. W., Jeon, Y., J., Hong, N. D., Yoo, I. D., Yang, K. H. and Kim, H. M. 1999. The inhibitory effect of polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* on tumor growth and metastasis. *Immunopharmacology* 41: 157-164.
- Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., chihara, G. and Fukuoka, F. 1968. Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann* 59: 155-157.
- Ikekawa, T., Saitoh, H., Feng, W., Zhang, H., Li, L. and Matsuzawa, T. 1992. Antitumor activity of *Hypsizigus mamoreus*. I. Antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Chem. Pharm. Bull.* 40: 1954-1957.
- Jeong, S. C., Cho, S. P., Yang, B. K., Jeong, Y. T., Ra, K. S. and Song, C. H. 2004. Immunomodulating activity of the exopolymer from submerged mycelial culture of *Phellinus pini*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14: 15-21.
- Kim, G. Y., Oh, Y. H. and Park, Y. M. 2003. Acidic polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* induces nitric oxide-mediated tumoricidal activity of macrophages through protein tyrosine kinase and protein kinase C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 309: 399-407.
- Kim, H. M., Han, S. B., Oh, G. T., Kim, Y. H., Hong, D. H., Hon, N., D. and Yoo, I. D. 1996. Stimulation of humoral and cellular mediated immunity by poly-saccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int. J. Immunopharmacol.* 18: 295-303.
- Kim, Y. S., Lee, B. E., Cho, K. B., Lee, Y. T. and Lee, D. J. 2000. Antitumor and immunomodulatory activities of mushroom(*Phellinus linteus*) cultured on oak and mulberry. *Kor. J. Immunol.* 22: 165-171.
- Kwak, J. H., Chung, K. S. and Lee, Y. T. 1994. Effects of NK cells activity and cell-mediated immunity of *Ganoderma lucidum* water extracts in mice transplanted with tumor cell(Sarcoma-180). *Korean J. Immunol.* 16: 115-126.
- Lee, H. W., Lee, D. W., Ha, H. C., Jung, I. C. and Lee, J. S. 2002. Antioxidant activities of the mycelium and culture broth of *Phellinus igniarius* and *Agrocybe cylindracea*. *Kor. J. Mycol.* 30: 37-43.
- Moon, C. K., Lee, S. H., Mock, M. S. and Kim, D. O. 1987. Antitumor activity of the polysaccharide fraction (Copolang) from *Coriolus versicolor* and its effect on the immune function. *Yakhak Hoiji* 31, 126-132.
- Nam, B. H., Kim, G., Y., Park, H. S., Lee, S. J. and Lee, J. D. 2002. Molecular detection of *Phellinus linteus* and *P. baumii* by PCR specific primer. *Mycobiology* 30: 197-201.
- Oh, J. Y. and Chung, K. S. 1998. 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 Hoiji* 42, 487-493.
- Rhee, Y. K., Han, M. J., Park, S. Y. and Kim, D. H. 2000. In vitro and in vivo antitumor activity of the fruit body of *Phellinus linteus*. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 32, 477-480.
- Shon, Y. H., Lee, J. S., Lee, H. W. and Nam, K. S. 1999. Antimutagenic potential of *Phellinus igniarius*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9: 525-528.
- Song, C-H., Ra, K-S., Yang, B-K. and Jeon, Y-J. 1998. Immuno-stimulating activity of *Phellinus linteus*. *Kor. J. Mycol.* 26: 86-90.
- Wasser, S. P. 2002. Medicinal mushroom as a source of antitumor and immuno modulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60: 258-274.
- White, T., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis et al, eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. New York: Academic Press, p 315-322.