

## 매생이 열수추출물의 면역 및 항암 활성

박희연<sup>1,\*</sup> · 임치원<sup>1</sup> · 김연계<sup>1</sup> · 윤호동<sup>2</sup> · 이가정<sup>2</sup>

<sup>1</sup>국립수산과학원 생명공학연구단, <sup>2</sup>식품위생팀

## Immunostimulating and Anticancer Activities of Hot Water Extract from *Capsosiphon fulvescens*

Hee-Yeon Park<sup>1,\*</sup>, Chi-Won Lim<sup>1</sup>, Yeon-Kye Kim<sup>1</sup>, Ho-Dong Yoon<sup>2</sup> and Ka-Jung Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Research Center, <sup>2</sup>Food Sanitation Team, National Fisheries Research & Development Institute, Busan, 619-902, Korea

Received November 14, 2006; Accepted December 1, 2006

To investigate the immunostimulating and anticancer activities from hot water extract of *Capsosiphon fulvescens*, tumor cell toxicity, sarcoma-180 growth inhibition activity, complement system-activity, intestinal immune system and oral toxicity were performed. The extract of *Capsosiphon fulvescens* was prepared by hot water and precipitated by using ethanol. Partially purified extract (CFE) was obtained after dialysis and ultrafiltration. The polysaccharide compositions consisted of xylose (19.1%), fucose (15.3%), mannose (4.2%) and galactose (7.9%). The tumor cell toxicity of CFE slightly showed at high concentrations of 10-30 µg/ml, but inhibition ratio against mouse solid tumor was more increased for CFE of 40.1-59.4% than the control. Blood leukocyte counts increased to a maximum of 83% including liver, spleen and thymic of mouse. Immunoglobulin A binding amounts showed a high level of CFE of 2,454 ± 113.8-2,670 ± 133.1 µg/mg in comparison with the control of 2,092 ± 123.0 µg/mg. Acute toxicity of CFE was not detected at the concentration of 2,000 mg/kg in normal mouse.

**Key words:** immunostimulating activity, anticancer activity, *capsosiphon fulvescens*

### 서 론

경제발전을 위한 공업화의 추진은 우리가 살고 있는 환경을 악화시키고 식생활의 변화는 인체 내부의 항상성을 변화시킴으로써 암, 후천성면역결핍증, 성인병 등 난치성 질병을 유발하여 인류의 보건안전을 위협하고 있다. 지금까지는 이러한 문제점을 해결하기 위하여 다양한 화학요법이 시술되어 왔으나 이에 따르는 부작용도 간과할 수 없는 것이 사실이다. 따라서 최근에는 비교적 부작용이 적은 것으로 알려진 면역요법 즉, 인체가 보유하고 있는 면역력을 증강시키는 방법을 통해 각종 질병을 치료 또는 예방하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 생체 내에서 일어나는 생화학적 반응들 중에는 반드시 단계적으로 일어나는 것이 있으며, 이들 반응은 첫 단계반응을 활성화시켜주면 두 번째 단계반응이 활성화되고 차례로 다음 단계반응이 활성화되는 연속적 단계반응(cascade reaction)이 일어나게 된다. 이 연속적 단계반응은 반드시 순서를 밟아 활성화되며 앞

단계의 반응 없이 중간단계부터 활성화되지 않는다. 순서대로 단계를 밟아 일어나는 생화학적 반응으로서 항체의 기능과 합세하여 숙주방어기전에 커다란 영향을 미치는 기구를 보체계라고 한다.

보체계는 약 20여종의 혈청 순환단백질로 구성되어 있으며, 체액성 면역의 효과적 연결을 수행하여 외부감염 병원체 등을 항체의 존재 또는 비존재하에 비특이적으로 제거하는 생체의 주요한 방어기구이다.<sup>1)</sup> 보체의 활성화는 항체(IgM 혹은 IgG)와 항원을 포함하는 immune complex에 의한 C1q의 수준에서 활성화시키는 고전적 경로(Classical pathway)와 항체의 도움 없이 직접적으로 C3를 활성화시키는 부경로(Alternative pathway) 등 두 가지 경로에 의해 활성화된다. 지금까지 알려진 보체계 활성화 다당류들은 당귀(*Angelica acutiloba*)의 뿌리에서 분리된 4종의 pectic arabinogalactan과 2종의 중성 arabinogalactan,<sup>2,4)</sup> 쑥(*Artemisia princeps*)의 잎에서 acidic heteroglycan,<sup>5)</sup> 의이인(*Coix lachryma-jobi* var. *ma-yuen*)의 줄기에서 2종의 산성 heteroglycan,<sup>6)</sup> 인삼(*Panax ginseng*)의 잎에서 3종의 산성 heteroglycan,<sup>7,8)</sup> 고사리(*Pteridiym aquilinum*)의 α-(1→2)-glucuronmannan back born<sup>9)</sup> 등이 보고되고 있으며 이들 다당류들은 대부분 육상고등식물로부터 분리되고 있다.

\*Corresponding author  
Phone: 82-51-720-2457; Fax: 82-51-720-2456  
E-mail: hypark@nfrdi.re.kr

한편, 해양생물은 지구상 전체 생물의 80%를 차지하고 있으며 서식환경도 육상과는 많은 차이점이 있어 새로운 유용물질의 개발가능성이 높을 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 총 102종의 해양생물로부터 *in vitro*에서 보체계 활성물질을 탐색하였으며 그 중 활성이 높고 자원량이 비교적 풍부하여 산업화가 용이할 것으로 판단되는 매생이(*Capsosiphon fulvescens*)를 대상으로 면역 활성물질의 적정추출조건 및 정제조건을 검토하고 5종의 인체암세포에 대한 세포독성을 조사하였으며 정제한 면역 활성물질의 당조성 분석, *in vivo*에서의 장관면역 활성 확인, 마우스 육종세포 성장저해 효과, 급성독성시험 등을 실시하였다.

## 재료 및 방법

**시약.** EDTA-gelatin veronal buffered saline(EDTA-GVB<sup>++</sup>, pH 7.4), GVB<sup>++</sup>(pH 7.4) 및 IgM hemolysin sensitized sheep erythrocytes(EA,  $1 \times 10^9$  cell)는 일본 Biotest Co.로부터 구입하였고, NHS(normal human serum)는 본 연구의 목적을 이해하는 건강한 성인남성(25세)의 자발적 동의를 얻어 채취한 혈액으로부터 제조하였다. 즉, 정상인의 정맥혈로부터 얻은 혈액을 25°C에서 30분간 방치한 후 2500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 1 ml씩 분주하여 -70°C에서 보관하면서 사용하였다.

**시료의 추출.** 매생이(*Capsosiphon fulvescens*)는 전남 완도에서 11월에 채취하여 실험실까지 저온상태로 운반한 다음 담수로 깨끗이 씻은 후 열풍건조기(60°C)에서 건조한 다음 분쇄하여 0.84 mm 표준체를 통과한 분말에 20배의 증류수를 첨가하여 적정 추출온도와 시간을 조사하였으며 추출수율은 추출분획을 건조한 중량을 추출에 사용된 시료의 중량에 대한 백분율로 나타내었다.

**면역 활성의 측정.** 시료의 면역 활성을 측정하기 위한 방법으로 보체계 활성을 Mayer의 방법<sup>10)</sup>으로 측정하였다. 즉, 시료(50  $\mu$ l)에 혈청(50  $\mu$ l)과 gelatin veronal buffer(GVB<sup>++</sup>) 50  $\mu$ l를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 GVB<sup>++</sup> 750  $\mu$ l를 가한 후 양의 감각적혈구를 250  $\mu$ l 가해 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBS(2.5 ml)를 가하여 원심분리하여 상층액의 흡광도(412 nm)를 측정하였으며, 보체계 활성은 대조군의 총보체용혈(total complement hemolysis, TCH<sub>50</sub>)에 대한 저해율(inhibition total complement hemolysis, ITCH<sub>50</sub>)로서 나타내었다.

**당 조성 분석.** 매생이로부터 추출한 보체계 활성물질의 당조성을 알아보기 위하여 매생이(SP-0)에 증류수 20배를 가하여 100°C에서 3시간 동안 가열한 후 원심분리하여 상층액을 취하였다(SP-1). 이 추출물을 1/20 부피로 진공농축하여 4배량의 알코올을 가한 다음 4°C에서 24시간 동안 정지한 후 원심분리하여 침전물을 증류수에 녹인 다음 24시간 투석한 것을 진공 동결 건조하여(SP-2) 각각 당분석용 시료로 제공하였다. 당 조성 분석은 동결건조 시료 0.2 mg을 Chaplin의 방법<sup>11)</sup>에 따라 전처리하여 가스크로마토그래피로 분석하였다(Table 1). 정량은 내부 표준물질(myo-inositol)과 표준시약(D-xylose, D-fucose, D-mannose, D-glucose, D-galactose)을 시료와 동일하게 TMS화하여 농도별 상대적인 면적비를 구하여 환산하였다.

**Table 1. Analytical conditions of gas chromatography for component sugars**

Instrument	Shimadzu GC-14A
Column	Shimadzu CBP-1, 50 mm×0.22 mm
Oven temp.	180 → 280°C, 5°C/min
Carrier gas	He, 2.75 kg/cm <sup>2</sup>
Split ratio	60 : 1
Detector	Flame Ionization Detector
Injector temp.	250°C
Detector temp.	300°C

**장관면역 활성 측정.** 마우스(Balb/c) 32마리를 대조군(PBS 투여), 매생이 추출물 투여군(20, 50, 100 mg/kg체중)으로 구분하여 각각 7일간 구강에 투여한 다음 소장의 IgA 항체 생산 응답에 미치는 영향을 알아보기 위하여 분변 중의 IgA 항체량을 측정하였다. 신선한 분변 2-4알을 tube에 채취하여 중량을 측정하고 0.1 g/ml이 되도록 protease inhibitor액을 가하여 4°C에서 1시간 동안 방치한 다음 vortex mixer에 의해 강하게 교반하여 현탁액을 만들어 원심분리한 후 상층액을 취해 450 nm에서 흡광도를 측정하여 IgA 항체를 정량하였다. 이때 표준물질로 mouse IgA를 사용하였다.

**백혈구수 및 면역관련 장기 무게의 측정.** 정제한 매생이 추출물을 실험동물(Female ICR mouse)의 복강에 농도별(체중 1 kg당 0, 20, 50, 100 mg)로 10일간 연속적으로 투여하고, 시료투여 최종일로부터 1일, 2일, 4일, 7일째 되는 날에 채혈하여 hemacytometer로 백혈구수를 측정하였으며, 8일째 되는 날 실험동물을 경주탈골법으로 치사시킨 다음 체중을 측정 후 간, 비장 및 흉선을 적출하여 각각의 무게를 체중에 대한 비율로 나타내었다.

***In vitro*에서 암세포에 대한 독성시험.** 매생이 추출물의 세포독성은 5종의 인체 암세포(폐암, 난소암, 색소세포암, 추추신경계암, 결장암)를 대상으로 하여 MTT시험법(Methylthiazolotetrazolium assay)을 이용하여 측정하였다.

***In vivo*에서 고형암 성장 저지시험.** 마우스의 왼쪽 서혜부에 종양세포(Sarcoma-180)를 이식한 후 24시간 후부터 20일간 연속적으로 매생이 추출물을 복강에 투여하고 32일째 되는 날에 고형암의 무게를 측정 후 다음 식에 따라 종양성장 저지율을 측정하였다.

$$\text{종양성장 저지율(\%)} = \frac{\text{대조군 종양무게} - \text{시료 투여군 종양무게}}{\text{대조군 종양무게}} \times 100$$

**수명연장 실험.** 종양세포(Sarcoma-180)를 마우스의 복강에 이식한 후 24시간 후부터 10일간 시료를 복강에 투여하여 35일 까지의 생존여부를 관찰하고 평균수명일수를 계산하여 다음 식으로부터 수명연장율을 구하였다.

$$\text{수명연장율(\%)} = \frac{\text{시료 투여군 수명} - \text{대조군 수명}}{\text{대조군 수명}} \times 100$$

**급성독성 시험.** 마우스를 대상으로 매생이 추출물을 100, 500, 1,000, 2,000 mg/kg 농도로 경구투여하고 14일 동안 사망여부,

체중변화 및 일반상태(털, 경련, 설사, 눈물, 보행 등)를 관찰하였다.

**동물실험 결과 통계분석.** 실험결과는 평균치 ± 표준편차로 표시하였으며, 각 실험군간 유의성은 Student's *t*-test로 검증하여 *p* value가 0.05 이하인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

**결과 및 고찰**

**면역 활성물질의 추출.** 면역 활성물질의 일종인 보체계 활성물질이 대부분 열수에서 용이하게 추출되고, 현재 유통되는 보체계 활성화 다당류(complement system activating polysaccharide) 관련 상품도 건강보조식품임을 고려하여 우리나라 식품공전에 적합한 열수추출 방법을 선정, 최적조건을 검토하였다. 즉 매생이를 탈이온수로 깨끗하게 세척, 탈염한 후에 열풍건조기로 건조한 다음 분쇄하여 물 20배를 가한 후 추출시간 및 온도에 따른 수율 및 보체계 활성의 변화를 관찰하였다. 먼저 추출온도를 100°C로 하여 추출시간에 따른 보체계 활성 및 수율의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 매생이의 보체계 활성물질 수율은 추출 4시간까지 시간이 경과할수록 증가하였으나, 보체계 활성은 추출 3시간까지 증가하다가 그 후 감소하였다. 따라서 매생이 보체계 활성물질의 적정 추출 조건은 3시간인 것으로 나타났으며, 3시간 이후에 추출되어 수율의 증가를 보인 물질은 보체계 활성에 영향을 덜 미치는 것으로 사료되었다. 그리고 추출시간을 3시간으로 하여 추출온도별 보체계 활성 및 수율의

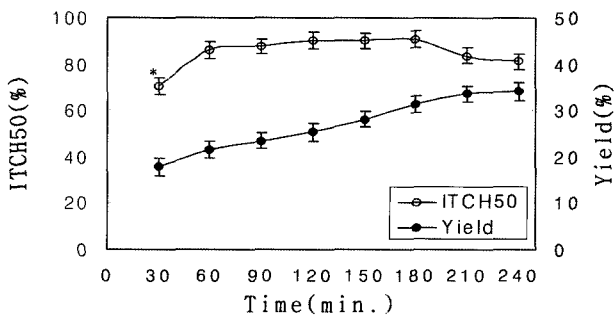


Fig. 1. Variation of anticomplementary activities and yield of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* on extraction time. The data are mean ± SD of triplicate.

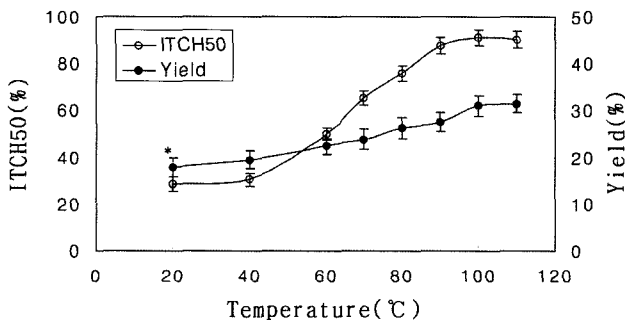


Fig. 2. Variation of anticomplementary activities and yield of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* on extraction temperature. The data are mean ± SD of triplicate.

변화를 Fig. 2에 나타내었다. 매생이의 수율은 추출온도 110°C까지 온도가 높아질수록 증가하였으나, 활성은 100°C가 가장 높게 나타났다. 따라서 매생이 보체계 활성물질의 추출은 100°C에서 3시간 동안 하는 것이 가장 적합할 것으로 사료되었다.

**면역 활성물질의 정제.** 면역 활성물질의 활성을 높이기 위하여 현행 식품공전에서 식품의 추출용매로 사용이 가능한 주정을 이용한 침전분리와 한외여과장치에 의한 분획을 실시하였다. 즉, 매생이 열수추출물을 1/20 부피로 진공농축하여 4배량의 주정을 가한 다음 4°C에서 24시간 동안 정치한 후 원심분리하여 침전물을 증류수에 녹인 다음 24시간 투석한 것을 한외여과하여 분자량별로 분획하였다. 분자량별 보체계 활성 및 수율을 Table 2에 나타내었다. 매생이 보체계 활성물질을 주정 침전 및 한외여과에 의한 분획을 실시한 결과, 분자량 300 kDa 이상 분획의 활성이 정제전보다 3.6%가 향상된 94.7%로 가장 높았으며 수율은 25.2%를 나타내었다. 따라서 매생이 보체계 활성물질의 정제는 주정침전 및 투석 후 분자량 300 kDa의 한외여과막을 통과하지 않는 분획을 취하는 것이 좋을 것으로 사료된다. 지금까지 보고된 식물유래 보체계 활성화 다당의 분자량을 보면 시호 중의 중성다당 BR-5-I(18 kDa), 고추 중의 산성다당 CAP-IIIb(120 kDa), 고사리에서 분리한 산성복합다당인 PA-IIa-1(1 kDa), PA-IIa-2(450 kDa), HPA-2-IVa(500 kDa) 등이 있으며 Yamada 등은 분자량이 클수록 높은 활성을 나타낸다고 하였다.<sup>12-16)</sup>

**면역 활성물질의 당 조성.** GC를 이용하여 매생이 원료(SP-0), 열수추출 다당류(SP-1) 및 알코올 정제다당류(SP-2)의 당 조성을 분석한 결과를 Table 3에 나타내었다. 즉, GC로 분석한 당 조성은 매생이 원료가 xylose 6.32%, fucose 4.77%, mannose 2.14%, glucose 5.27%, galactose 0.77%이었으며, 열수추출 다당류는 xylose 19.97%, fucose 16.34%, mannose 3.67%, glucose 3.86%이었고, 알코올 정제 다당류는 xylose 19.01%, fucose 15.29%, mannose 4.23%, galactose 7.92%로 나타났다. 지금까지 보고된 보체계 활성화 다당은 산성 복합다당류가 대부분이고 당 조성에 있어서 뚜렷한 공통성이 없이 다양하며 활성에 직접적인 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다.<sup>12-14,17,18)</sup>

**장관면역 활성.** 매생이 추출물의 기능성 식품 활용 가능성을 검토하기 위하여 장관면역 활성을 측정하였다. 즉, 마우스에 매

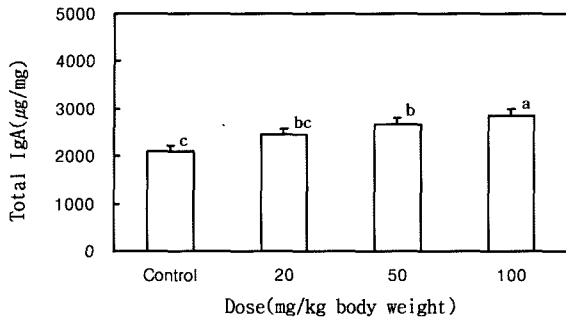
Table 2. Anticomplementary activities and yield of several molecular weight of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens*

	Molecular weight (kDa)		
	<100	100-300	>300
ITCH <sub>50</sub> (%)	15.6 ± 3.1*	40.5 ± 3.5	94.7 ± 3.7
Yield (%)	1.5 ± 0.5	4.3 ± 0.8	25.2 ± 0.8

\*Mean ± SD of triplicate.

Table 3. Sugar composition of the polysaccharides by GC (%)

	Total	Xly	Fuc	Man	Glu	Gal
SP-0	19.27	6.32	4.77	2.14	5.27	0.77
SP-1	43.84	19.97	16.34	3.67	3.86	-
SP-2	46.43	19.01	15.27	4.23	-	7.92



**Fig. 3.** Variation of IgA in mice fecal administered of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens*. Values are mean  $\pm$  SD (n = 8). Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

생이 추출물을 투여한 다음 소장의 IgA 항체 생산 응답에 미치는 영향을 알아보기 위하여 분변 중의 IgA 항체량 변화를 측정 한 결과, 마우스 분변 중 IgA 항체량은 대조군이  $2,092 \pm 123.0 \mu\text{g/mg}$ 인 것에 비하여 매생이 추출물 투여군은  $2,454 \pm 113.8$ – $2,670 \pm 133.1 \mu\text{g/mg}$ 로 높았으며 이는 매생이 추출물이 마우스의 소장 내에서 IgA 항체 생산을 촉진하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 소화관은 영양원이 되는 음식물을 소화 흡수할 뿐만 아니라 virus, 병원미생물 등 생체에 유해한 이물질들을 배제하는 중요한 면역장기이다. 소화관에는 장관 상피의 임파구(lymphocyte), 점막 고유층(lamina propria)의 임파구, Peyer's patch 등으로부터 구성되는 장관관련 임파구 조직이 존재하여 효과적인 생체방어기구를 형성하고 있다. 면역 글로불린(immunoglobulin, Ig)은 항체로서의 기능을 담당하는 일군의 단백질이며 생체의 체액성 면역에 중요한 역할을 담당한다. 특히, 소화관 점막 상피세포에서 분비되는 분비형 IgA 항체는 소장 에서 대량으로 생산되어 유해물질의 흡수억제, 중화 및 제거 등을 통하여 점막면역기구의 중심역할을 한다.<sup>19)</sup>

**혈중 백혈구수에 미치는 영향.** 매생이 추출물을 마우스에 10 일간 연속적으로 복강에 투여한 다음 1일, 2일 4일 및 7일째 되는 날에 혈중 백혈구수를 측정 한 결과, 1일째의 경우에 동량의 탈이온수를 투여한 대조군의 백혈구수  $7,654 \pm 728 \text{ cells/mm}^3$ 에 비하여 매생이 추출물 20 mg/kg 투여군 39%, 50 mg/kg 투여군 70%, 100 mg/kg 투여군 83%가 증가한 것으로 나타났다. 그리고 매생이 추출물의 투여를 중지할 경우 백혈구수가 감소하여 100 mg/kg 투여군의 경우 1일째 백혈구수가  $13,972 \pm 475 \text{ cells/mm}^3$ 이던 것이 7일이 경과한 후에는  $12,860 \pm 619 \text{ cells/mm}^3$ 로 감소하였다(Table 4).

**Table 4.** Effect of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* on the number of circulating leucocytes in ICR mice (cells/mm<sup>3</sup>)

Group	Day 1	Day 2	Day 4	Day 7
Control	7,643 $\pm$ 140 <sup>d</sup>	7,560 $\pm$ 300 <sup>d</sup>	7,497 $\pm$ 207 <sup>d</sup>	7,479 $\pm$ 238 <sup>d</sup>
20 mg/kg	10,679 $\pm$ 733 <sup>c</sup>	9,796 $\pm$ 644 <sup>c</sup>	9,334 $\pm$ 556 <sup>c</sup>	8,831 $\pm$ 440 <sup>c</sup>
50 mg/kg	13,005 $\pm$ 520 <sup>b</sup>	12,735 $\pm$ 657 <sup>b</sup>	11,607 $\pm$ 883 <sup>b</sup>	11,015 $\pm$ 794 <sup>b</sup>
100 mg/kg	13,972 $\pm$ 475 <sup>a</sup>	13,570 $\pm$ 762 <sup>a</sup>	12,904 $\pm$ 429 <sup>a</sup>	12,860 $\pm$ 619 <sup>a</sup>

Values are mean  $\pm$  SD (n = 8)

Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 5.** Effect of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* on the immunoorgan weight of ICR mice

Group	Weight (g/100 g body weight)		
	Liver	Spleen	Thymus
Control	4.42 $\pm$ 0.63 <sup>b</sup>	0.74 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.28 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
20 mg/kg	4.28 $\pm$ 0.90 <sup>b</sup>	0.71 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	0.29 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
50 mg/kg	5.59 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>	0.78 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
100 mg/kg	5.44 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>	0.89 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	0.34 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>

Values are mean  $\pm$  SD (n = 8).

Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

백혈구는 체내 혈액을 구성하는 주요성분으로 호중구, 호산구, 호염구, 임파구, 단핵구 등으로 구성되어져 있으며, 식작용(phagocytosis)에 의해서 체내에 들어오는 세균을 방어하는 역할을 하고, 호중구는 생체의 염증반응 즉 leukocytosis에도 관여한다. 또한, 면역체의 형성 등으로 생체를 감염으로부터 방어하는 면역반응에 관여하여 1차적 작동세포로서 중요한 기능을 수행하고 있다.<sup>20)</sup> 따라서 매생이 추출물의 투여로 인한 혈중 백혈구수 증가는 생체 내 면역기능의 증가와 관련이 있을 것으로 사료된다.

**면역관련 장기의 중량 변화.** 매생이 추출물을 마우스의 복강에 10일간 투여한 다음 간장, 비장, 흉선 등 면역과 관련이 있는 장기의 중량을 측정하여 체중에 대한 중량비율로 Table 5에 나타내었다. 매생이 추출물의 투여로 간장, 비장, 흉선 등 모든 장기가 중량의 증가를 보였으며, 투여량 50 mg/kg 이상에서 통계적 유의성을 나타내었다. 간장의 Kuffer cell, 비장의 splenic macrophage 및 흉선의 T-임파구 등은 생체의 면역과 밀접한 관련이 있으며, 이러한 장기의 중량 증가는 생체 내의 면역활성 증가를 시사한다고 할 수 있다.

**암세포독성.** 보체계 활성화 다당류에 의한 항암작용은 직접적인 세포독성보다는 대부분 숙주면역계의 기능 증강에 의한 것으로 보고되어 있으나, 일부 해조류 성분에 대한 세포독성이 보고된 바 있어 매생이 보체계 활성화다당의 인체 암세포에 대한 세포독성을 *in vitro*에서 확인하였다(Table 6). 그러나 매생이 추출물의 인체 암세포에 대한 세포독성은 고농도(10-30  $\mu\text{g/ml}$ )에서 미미한 독성을 나타내었다. 이는 대부분의 세포독성물질이 저분자물질로서 세포내에 침투하거나 포접하여 독성을 나타내는 것으로 알려져 있으나 보체계 활성화 다당은 300 kDa 이상의 고분자물질이기 때문에 직접적인 세포독성을 나타내지 못하는 것으로 추측된다.

**Sarcoma-180에 대한 성장저지 효과.** 매생이 추출물을 마우

**Table 6. Cytotoxicity of human cancer cells of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* (Net growth as % of control)**

Concentration (µg/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
0.10	100.80	98.84	101.73	102.18	99.43
0.30	99.20	98.41	99.02	99.92	99.47
1.00	99.00	96.82	97.80	97.25	97.49
3.00	98.69	94.07	96.42	97.66	96.89
10.00	97.85	93.97	92.77	95.15	93.7.
30.00	96.17	87.09	59.42	94.55	92.28

A549, human lung carcinoma; SK-OV-3, human ovarian cancer; SK-MEL-2, human skin cancer; XF498, human CNS cancer; HCT15, human colon cancer.

**Table 7. Antitumor activities in hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* in tumor bearing ICR mice with sarcoma-180 cells**

Group	Tumor weight (g)	Inhibition rate (%)	Complete repression
Control	4.51 ± 0.63 <sup>a</sup>		0/7
20 µg/g	2.70 ± 0.63 <sup>b</sup>	40.13	0/7
50 µg/g	2.14 ± 0.45 <sup>bc</sup>	52.55	0/7
100 µg/g	1.83 ± 0.31 <sup>c</sup>	59.42	0/7

Values are mean ± SD (n = 7).

Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different (p < 0.05).

**Table 8. Effect of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* on life span of ICR mice**

Group	Survival time (day)	Prolongation rate (%)
Control	18.14 ± 1.35 <sup>a</sup>	
20 µg/g	19.14 ± 2.48 <sup>a</sup>	5.51
50 µg/g	19.43 ± 1.81 <sup>a</sup>	7.11
100 µg/g	19.86 ± 1.07 <sup>a</sup>	9.48

Values are mean ± SD (n = 7).

Values with a common superscript letter within the same column are not significantly different (p < 0.05).

스의 복강에 투여한 결과 혈액내의 백혈구수 및 면역관련 장기의 중량이 증가하는 것을 확인하였다. 이러한 면역력의 증가는 체내에 존재하는 암세포의 성장을 저해한다는 보고가 있는바, 이를 검토하기 위하여 마우스의 왼쪽 서혜부에 sarcoma-180을 이식한 후 매생이 추출물을 복강에 투여하고 종양성장 저지율을 측정하여 Table 7에 나타내었다. 매생이 추출물의 투여로 마우스 고형암의 성장이 대조군에 비하여 40.13-59.42%가 저해되었으며, 성장 저해율은 매생이 추출물의 투여량에 비례하여 약간 증가하는 경향을 보였다. 조 등은 청각에서 추출한 당단백

질의 종양성장 저지율을 측정한 결과 50 mg/kg의 농도에서 49.16%, 100 mg/kg에서 53.30%로 농도에 따른 저지율의 차이가 별로 나타나지 않았다고 보고하였다.<sup>21)</sup>

**Sarcoma-180에 대한 수명연장 효과.** 매생이 추출물이 마우스의 sarcoma-180 cell 복수암에 대한 수명연장 효과 실험 결과는 Table 8과 같다. 본 실험에서 마우스의 생존시간은 16-22일이었으며, 대조군에 대한 매생이 추출물의 수명 연장율은 5.51-9.48%로 나타났으나 p < 0.05 수준에서 실험군간 통계적 유의차는 없었다. 매생이 추출물의 투여가 *in vivo*에서 고형암의 성장을 저지하는 것으로 나타났으나 복수암에 매생이 추출물을 직접 투여하는 경우 수명연장 효과는 미미한 것으로 보아 매생이 추출물의 항암효과는 직접적인 세포독성 보다 면역력 증가에 의한 것으로 추정된다.

**독성평가.** 매생이는 우리나라 남해안에서 전통적으로 식용에 이용되어온 해조류로써 독성으로 인한 인체 안전성에는 문제가 되지 않을 것으로 판단되나 매생이로부터 보체계 활성물질을 추출하는 과정에서 특정 성분이 농축되어 독성을 일으킬 가능성이 있다. 따라서 마우스를 대상으로 매생이 추출물에 대하여 경구독성을 측정하였다(Table 9). 그 결과 모든 시험군이 14일 동안 사망하거나 일반상태의 이상이 발견되지 않았으며, 체중 증가량도 0.48-0.49 g/day로 동량의 증류수를 투여한 대조군 0.48 g/day와 비슷하게 나타난 것으로 보아 매생이 추출물은 독성으로 인한 인체 위해성이 없는 것으로 나타났다.

**초 록**

본 연구에서는 매생이 열수추출물의 항암 및 면역 활성을 알아보기 위하여 적정 추출 및 정제조건, 당 조성, 암세포독성, sarcoma-180 성장저지 효과, 백혈구수 변화, 보체계 활성, 장관 면역 활성, 경구독성 등을 검토하였다. 매생이 보체계 활성물질은 100°C의 물로 3시간 동안 추출하여 4배량의 주정으로 24시간 침전시킨 다음 투석 및 환외여과하여 분자량 300 kDa 이상의 고분자 물질을 분리정제 하였으며 당 조성은 xylose 19.01%, fucose 15.29%, mannose 4.23%, galactose 7.92%로 나타났다. *In vitro*에서 매생이 보체계 활성물질의 인체 암세포에 대한 독성은 고농도(10-30 µg/ml)에서만 경미하게 나타났으며, *in vivo* 시험에서는 매생이 추출물의 투여로 마우스 고형암의 성장이 대조군에 비하여 40.13-59.42%가 저해되었다. 그러나 수명 연장율은 실험군간에 통계적 유의차가 없었다. 정제한 매생이 추출물을 마우스의 복강에 투여한 결과, 혈중 백혈구수가 대조군에 비하여 20 mg/kg 투여군 39%, 50 mg/kg 투여군 70%, 100 mg/kg 투여군 83%가 증가하는 것으로 나타났으며,

**Table 9. Acute toxicity of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens* in ICR mice**

Group	No. of mouse	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g/day)	No. of mouse survived	Survival rate (%)
Saline	6	30.2 ± 1.45	36.9 ± 1.50	0.48	6	100
100 mg/kg	6	30.4 ± 2.08	37.2 ± 2.01	0.49	6	100
500 mg/kg	6	30.1 ± 2.57	36.9 ± 2.89	0.49	6	100
1,000 mg/kg	6	30.3 ± 2.19	37.0 ± 2.51	0.48	6	100
2,000 mg/kg	6	30.5 ± 2.81	37.2 ± 2.90	0.48	6	100

면역과 관련이 있는 간장, 비장, 흉선의 중량이 증가하였다. 매생이 추출물을 마우스에 경구투여하고 분변으로 배출되는 IgA 항체의 양을 측정 한 결과, 대조군이  $2,092 \pm 123.0 \mu\text{g}/\text{mg}$ 인 데에 비하여 매생이 추출물 투여군은  $2,454 \pm 113.8$ - $2,670 \pm 133.1 \mu\text{g}/\text{mg}$ 로 높게 나타났다. 매생이로부터 추출한 면역증강물질은 마우스에 대한 급성독성을 측정 한 결과, 체중 1 kg당 2,000 mg 투여 시 까지도 독성을 나타내지 않아 인체에도 무해할 것으로 사료되었다.

### 감사의 글

이 연구는 국립수산물과학원(RP-2--6-BT-010)의 지원에 의해 운영되었습니다.

### 참고문헌

- Low, S. K. A. and Reid, K. B. M. (1988) Complement. In *complement*, pp. 1-21. IRL Press, Oxford.
- Yamada, H., Kiyohara, H., Cyong, J. C., Kojima, Y., Kumazawa, Y. and Otsuka, Y. (1984) Studies on polysaccharides from *Angelica acutiloba*. *Planta medica* **50**, 163-167.
- Yamada, H. and Kiyohara, H. (1989) Structure of the neutral carbohydrate side chains in anti-complementary acidic polysaccharides from the root of *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Carbohydr. Res.* **187**, 255-265.
- Kiyohara H. and Yamada, H. (1989) Structure of an anti-complementary arabinogalactan from the root of *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Carbohydr. Res.* **193**, 173-192.
- Yamada, H., Nagai, T., Cyong, J. C. and Otsuka, Y. (1991) Mode of complement activation by acidic heteroglycans from the leaves of *Artemisia princeps* PAMP. *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 2077-2081.
- Yamada, H., Kiyohara, H., Cyong, J. C. and Otsuka, Y. (1987) Characterization of anti-complementary acidic heteroglycans from the seed of *Coix lachryma jobi* var. *ma-yuen*. *Phytochemistry* **26**, 3269-3275.
- Gao, Q. P., Kiyohara, H., Cyong J. C. and Yamada, H. (1988) Characterization of anti-complementary acidic heteroglycans from the leaves of *Panax ginseng* C.A. MEYER. *Carbohydr. Res.* **181**, 175-187.
- Gao, Q. P., Kiyohara, H. and Yamada, H. (1990) Further structural studies of anti-complementary acidic heteroglycans from the leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Carbohydr. Res.* **196**, 111-125.
- Kweon, M. H., Kim, H. I. Sung, H. J. and Yang, H. C. (1994) Core structure of the anti-complementary acidic polysaccharide (PA-IIa-1) from water extract of *pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. *Food Biotech.* **3**, 137-143.
- Mayer, M. M., Miller, J. A. and Shin, H. S. (1970) A specific method for purification of the second component of guinea pig complement and a chemical evaluation of the one-hit theory. *J. Immunol.* **105**, 327-341.
- Chaplin, M. F. (1982) A rapid and sensitive method for the analysis of carbohydrate components in glycoproteins using gas-liquid chromatography. *Anal. Biochem.* **123**, 336-341.
- Yamata, H., Ra, K. S., Kiyohara, H., Cyong, J. C., Yang, H. C. and Otsuka, Y. (1988) Characterization of anti-complementary neutral polysaccharides from the roots of *Bupleurum falcatum*. *Phytochemistry* **27**, 3163-3171.
- Ra, K. S. (1990) Purification and chemical properties of anti-complementary polysaccharides from the Roots of *Bupleurum falcatum* L. and the fruits of *Capsicum annuum* L., Ph.D. Thesis, Korea University, Seoul, Korea.
- Shin, K. S., Cho, H. Y., Sung, H. C. and Yang, H. C. (1992) Action mode of the anti-complementary polysaccharide purified from *Arecae Pericarpium*. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **35**, 462-470.
- Kweon, M. H., Sung, H. C. and Yang, H. C. (1994) Acidic heteroglycans with anti-complementary activity from the water extract of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. *Food Biotech.* **3**, 83-91.
- Yamada, H. and Kiyohara, H. (1989) Bioactive polysaccharides from Chinese herbal medicines. *Abstract of Chinese Medicines* **3**, 104-111.
- Gao, Q. P., Kiyohara, H., Cyong, J. C. and Yamada, H. (1989) Chemical properties and anti-complementary activities of polysaccharides fractions from roots and leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Planta Med.* **55**, 9-13.
- Zhao, I. F., Kiyohar, H., Matsumoto, T. and Yamada, H. (1993) Anti-complementary acidic polysaccharides from roots of *Lithospermum euchromum*. *Phytochemistry* **34**, 719-724.
- Yoichi, F., Yoichi, K., Koko, M., Jun-ichi, K. and Tomotari, M. (1999) Effect of bifidobacteria feeding on fecal flora and production of immunoglobulins in lactating mouse. *Int. J. Food Microbiol.* **46**, 193-197.
- Arthur, C. and Guyton, M. D. (1986) In *Textbook of medical physiology* pp. 51-59, W. B. Saunder Company, New York.
- Cho, K. J., Lee, Y. S. and Ryu, B. H. (1990) Antitumor effect and immunologic activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Korean Fish. Soc.* **23**, 345-352.