

버섯균사체 배양물로부터 면역증진 기능성 소재 개발

김 정 옥
(주)HK바이오텍 대표이사

I. Abstract

This study relates to low and medium molecular weight isoflavone- β -D-glucan produced by submerged liquid culture of *Agaricus blazei*, a method of producing the isoflavone-B-D-glucan using autolysis enzyme of *Agaricus blazei* mycelia, and use of the isoflavone-B-D-glucan for anti-cancer and immunoenhancing effect. In accordance with one aspect of the present study, it deals with a method of producing isoflavone- β -D-glucan, which comprises the followings; 1) culturing and separating mushroom mycelia, 2) producing low-medium molecular weight isoflavone- β -D-glucan from high molecular weight one. The cytotoxicity on human cancer cell line (Caco-2, MCF-7), the expression of Cyclin D, Bcl-2, Bax protein, p21 protein, p53 protein in MCF-7 cells assessed by SDS-PAGE and immunoblotting, and other immuno related factors such as TNF- α and IL-1B activities were examined. Structural identification of isoflavone- β -D-glucan which showed cytotoxicity against cancer cell and immunoenhancing effects was carried by separation with DEAE-cellulose column

chromatography, TLC, HPLC, IR, NMR. Clinical test for the cancer patients (n=119) for 6 month was carried out, and immunoenhancing factors (NK cell number, ratio of T4/T8) were checked. We concluded the identified isoflavone- β -D-glucan has immunoenhancing effects and could be useful for cancer chemoprevention.

II. 서 론

β -D-glucan은 면역기능 증진용 의약품과 건강보조식품에 널리 사용되는 소재로써, 약 1조 500억으로 추정되는 국내 건강기능성식품시장과 약 650억불 규모로 추정되는 세계시장에서 그 용도가 급부상하고 있다. β -D-glucan은 효모, 곡물, 버섯등의 다양한 소재로부터 얻을 수 있지만, 버섯균사체유래 β -D-glucan은 효모와 식물로부터 유래된 것 보다 대체로 분자량이 적고 물에 용해도가 높기 때문에 체내 흡수력이 좋고 기능이 크다고 보고되었다. 현재, 의약품, 건강기능식품으로 널리 사용되어온 버섯균의 종류는 표고균사체, 운지균사체이다. 아가리쿠스버섯균사체 배양액으로부터 분리된 isoflavone- β -D-glucan은 면역력을 증진시키는 동시에 암세포

에 대한 cytotoxicity를 보이는 β -D-glucan복합체임이
(주)HK 바이오텍의 연구진에 의해 밝혀졌다.

1. Isoflavone- β -D-glucan (Gluvone[®])의 특징은

- 1) 기존의 항암제가 대체로 면역력을 저하시키는 문제가 있는 데 비해 면역력을 높임과 동시에 암세포를 살해하는 물질로써 항암제로써 매우 기대되는 물질이다.
- 2) 일부성분인 genestein은 콩과 같은 식물체에 glycone으로 수용성 형태로 존재하며, 기능성 면에서 aglycone이 glycone에 비해 훨씬 높은 것으로 보고되었다. Isoflavone의 일종인 genestein은 여성 갱년기 장애, 골밀도증진, 암예방 물질로 알려져 있다.
- 3) 면역증진과 항암제로써 미국과 한국에 특허등록이 되었으며, 일본에 출원중이다.
- 4) 부작용이 없는 천연성분이면서, 항암성이 기존의 항암제와 유사하며, 단독 또는 기존의 항암제와 혼용으로 사용될 수 있는 성분임이 *in vitro*와 *in vivo* mouse실험에서 밝혀 졌고, 임상 실험을 통해 암환자의 삶의 질 향상과 면역증진기능이 확인되었다.

2. 연구내용 및 방법

- 1) 버섯균사체배양
- 2) Isoflavone- β -D-glucan복합체 분획 및 분리:
 - Ethanol precipitation
 - Ion exchange DEAE-cellulose column chromatography
- 3) Isoflavone- β -D-glucan복합체 확인 및 구조해석
 - TLC
 - HPLC
 - IR
 - NMR
- 4) 암세포에대한 독성: Caco-2 (대장암세포), MCF-7 (유방암세포)

5) 면역증진기능 및 항암성에 대한 작용기작

- 암세포 사멸을 유도하는 단백질 (Caspase-3)의 활성화 및 발현
- Apoptosis; DNA fragmentation analysis
- 암세포사멸 억제단백질 (Bcl-2)에 대한 영향
- 암세포 사멸 촉진단백질 (Bax)에 대한 영향
- 종양억제단백질(p21)에 미치는 영향
- 종양억제단백질(p53)에 미치는 영향
- TNF- α 활성화측정
- IL-1 β 활성측정

6) 암환자를 대상으로한 임상시험 (면역증진효과 및 삶의 질 향상)

- 대상: 위암, 폐암, 유방암, 대장암, 자궁암, 담도암, 췌장암 환자
- 조사: 백혈구수 증감율, T4/T8 (보조 T임파구/억제 T임파구)수치변화 NK세포 수의 증감율

3. 결과

- 1) 아가리쿠스 버섯균사체를 액체배양액한 다음, 자가분해효소를 이용하여 분자량이 약9800으로 중·저분자화된 isoflavone- β -D-glucan (Gluvone[®])을 생산하였다.
- 2) 특히 대장암 (Caco-2 cell), 폐암 (A549 cell) 등의 암세포 성장을 억제하고 사멸시키는 효과를 보였으며, S-180과 같은 쥐의 복수암 세포에도 동일한 효과를 보임.
- 3) Gluvone[®]은 타 항암제와는 달리 부작용이 없고, 면역기능의 증강과 함께 암세포만을 선별적으로 사멸시킨다는 획기적인 소재로써 현재, 면역증진용, 항암보조용으로 사용될 수 있도록 한국과 미국에 특허등록되었으며, 일본에 특허출원중이다.
- 4) 임상시험결과 백혈구 감소가 Gluvone[®]복용군에서 적었으며, Gluvone[®]를 복용하지 않은 대조군에 비해 증가율이 높았다.
- 5) T4/T8 비율이 Gluvone[®]복용군에서 증가하는

경향이 있었으므로 복용으로 면역증진효과가 있었다.

- 6) NK세포는 Control 군에서 지속적으로 감소되었으나 Gluvone[®] 군에서는 단기(2개월), 장기(6개월) 모두 증가하였다.
- 7) 암치료 종료 후 회복기간에 Gluvone[®]를 복용함으로써 T4/T8 ratio의 증가 및 NK 수치의 증가가 담도암/췌장암을 비롯한 다양한 암환자에서 일관되게 있었으며 이는 비특이적 면역력 향상 가능성을 시사한다고 판단된다.

4. 고 찰

건강한 체내에서도 끊임없이 암세포 (DNA의 돌연변이에 의해 잘못 만들어진 세포)가 발생하고 있다. 그러나, 사람은 자기가 가지고있는 면역력으로 암세포를 사멸시키기 때문에 면역기능이 충분히 강화되어있으면 암에 걸리지 않는다. 그러나, 스트레스나, 돌연변이물질들 (mutagen)에 의해 면역력이 저하된다면 암세포는 활발하게 증식하게 된다. 자기 자신이 면역력이 약해질때, 면역력을 증진시켜줄 수 있는 식품또는 약품을 사용하여 암을 이겨내는 방법이 대체요법으로 그 효능을 점점 인정받고 있다. 면역증강요법은 1955-1957년경 동물학자인 Lawrence Burton, ph,D에 의해 처음으로 시작되었지만, 실험데이터의 부족으로 인정받지 못하였다. 이후, 면역요법을 이용한 항암치료는 꾸준히 계속되어왔으며, 면역증진용 기능성 식품의 개발과 그 시장은 급격히 커지고 있다. 수술, 항암제, 방사선과 더불어의 제4의 요법으로 인정되고있는 이 부분은 어떤 노력에도 해결되지 않고있는 암퇴치를 위해서는 더욱 발전되어야하는 부분이며, 인정되어야하는 기술개발이다. 운지버섯으로부터 추출된 주요 항암성 다당체인 PSK와 PSP는 폐암, 식도암, 위암환자

가 화학치료나 방사선치료를 받고난 후에 발생하는 부작용을 완화시키고 면역력저하를 억제시키는 것으로 알려진 물질이다. 이들이 항암효과를 일으키는 작용기전은 T백혈구세포를 활성화하고 감마 인터페론, 인터루킨2의 생산촉진, 면역조절 cytokine의 생산과 cytokine수용체의 유전자표출을 촉진하여 신체의 자기항상성을 키우는 과정을 통해 이루어진다. 종양세포의 운동성을 억제하고 종양세포의 혈관내 부착을 억제하며 신생혈관의 생성을 억제하는 방법으로 저지하는 것으로 나타났다. 또한 PSK는 환자의 산화 스트레스를 줄여주는 것으로 보고되었다. 매년 암 발생율이 증가하고 있는 가운데, 국내 암환자 발생수가 1999년도에 8만여명에 달하고 항암제 시장규모가 연간 2천억원에 달하는 등 항암제가 대형시장으로 급부상하고 있다. 신약에 비해 부작용이 없는 건강보조식품소비가 늘어감에 따라 (국내: 1994년도 8263억원, 1996년도 11,235억원, 1998년도 6218억원, 1999년도 8730억원, 2000도 13,500억원) 버섯균사체를 이용한 면역기능강화를 겨냥한 건강보조식품시장의 전망이 밝다. 따라서, 버섯균사체로부터 분리된 항암성소재를 이용한 부작용이 없는 항암제의 개발과 이 성분 (Gluvo[®])에 대한 과학적인 근거 제시 (임상실험)는 새로운 항암제 시장을 개척할 수 있을 것으로 기대된다. Gluvo[®]은 기존의 항암제에 비해 부작용이 없다는 점에서 국제 경쟁력이 충분히 확보될 수 있다. 기존의 항암제 (Taxol등)가 합성 및 분리과정에서 들어가는 고비용으로 인하여 약제자체가 고가이거나, 희귀한 식물의 추출물이라는 점에서 천연항암제 또한 매우 고가인데 비해 Gluvo[®]의 경우 미생물 (버섯균사체)에 의한 대량배양으로 저가의 원료생산이 가능하다. 저비용 고부가가치의 항암소재 생산이 가능하므로, 고부가가치를 창출할 것으로 기대된다.