

Enhancement of Anticarcinogenic Potentials of Submerged-Liquid Culture of *Agaricus blazei* Murill on Mouse Ascites Cancer by Rice Hull

Young S. Kim¹, Wook J. Jang¹, Md. A. Rakib¹, Jung M. Kwon¹, Chae R. Ahn¹, So Y. Kim³, Yong U. Cho⁴, Young K. Ha⁵, Jeong O. Kim⁵ and Yeong L. Ha^{1,2*}

¹Division of Applied Life Science (BK21 programs), ²Institute of Agriculture & Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

³Department of Food Science, International University of Korea, Jinju 660-759, Korea

⁴Department of Pharmaceutical Engineering, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea

⁵HK Biotech. Co., Ltd, Jinju 660-913, Korea

Received July 26, 2010 / Accepted August 27, 2010

The effects of rice hull (RH) powder on the anticarcinogenic activity of submerged-liquid cultures of *Agaricus blazei* Murill (AB) were assessed for mouse ascites cancers induced by mouse Sarcoma S-180 (S-180) cancer cells. Optimal growth of AB mycelia in the basal liquid culture medium, containing soybean meal, was achieved by culturing at 25°C for 5 days, when evaluated by β -glucan content, Brix, and mycelial weight, relative to other culture conditions. Hot-water extract (HWE) of the submerged-liquid culture of AB mycelia grown at 25°C for 5 days exhibited a stronger anticarcinogenic activity, relative to HWE from other culture conditions. No such effects were obtained from AB mycelial cultures by alternative temperature-controlling cultures. Both cytotoxicity for S-180 cells and anticarcinogenic potentials for mouse ascites cancer of the HWE from AB mycelia grown in the basal medium containing 1% RH powder for 5 days at 25°C were significantly ($p < 0.05$) enhanced, relative to HWE from the AB mycelia culture of the basal medium without RH powder. These results indicate that HWE of submerged-liquid culture of AB mycelia, incubated in media containing 1% RH powder at 25°C for 5 days, enhanced anticarcinogenic activity against S-180 cell-induced mouse ascites cancer, and suggest that RH powder is an excellent ingredient for the improvement of the anticarcinogenic potentials of the submerged-liquid culture of mushroom mycelia.

Key words : *Agaricus blazei* Murill (AB), β -glucan, mouse ascites cancer, rice hull

서 론

버섯자실체와 버섯균사체 액체배양 추출물의 생리활성에 대한 많은 연구가 수행되었고, 또한 진행되고 있다[24]. 버섯자실체 및 버섯균사체에는 다양한 생화학 물질이 함유되어 있지만 생리활성, 특히, 항암과 관련된 물질은 저분자 화합물이 아닌 고분자 화합물 많다[2,7,13]. 버섯 유래 고분자 다당체와 단백단당체는 암 뿐만 아니라 면역증강, 순환기질환 등의 질환 예방 및 치료효과가 있는 것으로 보고되고 있다[3,6,15,18,20,22,26].

많은 버섯 중, 국내에서 아가리쿠스버섯 또는 흰들버섯으로 불리는 신령버섯 (*Agaricus blazei* Murill; AB)은 동물실험에서 고형암에 대한 억제율이 99.4%, 완전 치유율이 90%인 것으로 보고되었다[21,28,30]. 주 활성 성분은 β -(1-6)-glucosyl의 가치를 가진 β -(1-3)-glucan으로 고형암 뿐만 아니라 복수암, 결장암, 난소암, 유방암, 폐암, 간암 등에도 효과가 있다고 보고되었다[5,7,11,19,21,24,28]. 또한 AB에서 분리한 단백단당

체는 당질이 50.2%이고 단백질이 43.3%로 이들 단백질과 당의 복합체가 항암활성이 있다고 보고되었다[7,12,24]. 버섯에서 분리한 β -glucan 항암성 외 다양한 기능을 갖는 것으로 보고되었다. 예를 들면, Choi와 Koo [3]는 AB의 β -glucan은 당뇨쥐의 식후혈당의 상승을 억제하는 효과가 있다고 하였으며, Mizuno 등[21]과 Nakajima 등[22]은 β -glucan의 면역활성 기능, 항산화능, 생체조직 재생과 치유기능, 항생제, 항균 및 대식세포를 자극하여 돌연변이 세포를 인식하고 공격하는 효과가 있다고 보고하였다.

Mizuno 등[21]은 버섯균사체로부터 β -glucan을 분리하였고, 그 활성 정도는 고분자 물질의 평균 분자량, 구조 및 용해도 등에 따라 차이가 있다고 보고하였다. 따라서 버섯자실체에 비해 버섯균사체의 액체배양은 저비용·단시간에 균일한 균사체 배양액을 대량생산 할 수 있고, 이 액체배양물로부터 유용물질의 추출 및 분리가 간편하여 생리활성물질을 생산할 수 있는 방법이라고 보고되었다[9,10,13,17]. 버섯균사체의 액체배양은 주로 대두박을 기본으로 한 배지에서 배양을 하고 있지만 항암성이 강한 β -glucan 및 단백단당체의 함량과 그 구조는 배양조건에 따라 상이하다. 특히, 싹겨는 배지에 혼합하여 버섯균을 배양할 때 많이 사용하여 왔지만[8], 왕겨를 버

*Corresponding author

Tel : +82-55-751-5471, Fax : +82-55-757-0178

E-mail : ylha@gnu.ac.kr

첫균사체배양에 사용한 연구는 수행된 적이 없다. 따라서 본 연구에서는 AB균사체 액체배양물의 항암성을 증진시키기 위해 AB 균사체 기본액체배지에 왕겨가루를 첨가하여 배양하고, 이들 추출물의 항암성 제고를 연구하였다.

재료 및 방법

재료

AB 균주는 한국버섯종균협회에 등록된 것으로 (주)HK 바이오텍(Jinju, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 대두박은 태평양화학(Seoul, Korea), 황백당은 제일제당(Seoul, Korea), KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 는 Shinyo사(Osaka, Japan)에서 구입하였다. 왕겨는 시중 정미소에서 구입하여 건조하고 100 mesh 체를 통과한 분말을 사용하였다. DMEM 배지는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)에서 구입하였다. Female ICR mouse (6~7주령)는 Life science (Daegu, Korea)에서, mouse Sarcoma-180 (S-180) cell은 Korea Cell Line Bank (Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 사용된 시약은 reagent grade 이상이였다.

배지조성 및 배양조건

액체배양 배지는 기본배지(황백당 20 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/l, KH_2PO_4 0.5 g/l, 대두박 100 ml/l) (Control 배지)와, 기본배지에 1% 왕겨분말 첨가 배지(w/v)를 사용하였다. 배양은 발효조(KF-5 I, Kobiotech, Seoul, Korea)를 이용하여 배양하였다. 배양은 항온배양(10, 20, 25, 30, 37°C에서 각각 3, 5, 7, 9일)과 변온배양을 하였다. 변온배양 I은 25°C에서 5일간 항온배양 후 4°C에서 7일간 배양하고, 다시 25°C에 3일간 배양하였고, 변온배양 II는 25°C에서 5일간 배양 후 10°C에서 7일간 배양하고, 다시 25°C에 3일 배양하였다.

AB 버섯균사체 액체배양물의 β -glucan, Brix 및 균사체 측정

β -glucan 함량 측정

AB균사체 배양물에 1배의 물을 가해 110°C에서 30분 동안 2회 반복 추출하고 원심분리(5,000 rpm, 10분)하여 여액을 얻었다. 여액을 감압농축 하여 3배의 에탄올(95%)을 가하고, 4°C에서 24시간 동안 방치한 다음 5,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 얻어진 침전물을 5일 동안 투석한 후 동결 건조하여 무게를 측정하였다.

Brix 측정

β -glucan 함량측정을 위해 110°C로 가열 추출한 여액에 대해 Brix meter (ATAGO, Japan)를 이용하여 상온에서 측정하였다.

Mycelia 함량 측정

AB균사체 액체배양물(1 l)을 원심분리(5,000 rpm, 10분)하

여 균사체를 회수한 다음 105°C에 건조하여 무게를 측정하였다.

항암성 측정

시료 조제

시료는 액체배양물에 1배의 물을 가해 110°C에서 30분 동안 2회 반복 추출하고 원심분리(5,000 rpm, 10분)하여 여액을 얻고 이를 20배 농축 후 freeze-dry하여 사용하였다. 시료는 AB균사체를 항온배양(25°C에서 5일간)한 액체배양물과 변온배양한 액체배양물이었고, 왕겨첨가 시험에서는 왕겨첨가구(기본배지+Rice hull+AB), 대조구(기본배지+AB), 및 왕겨구(Rice hull+AB) 액체배양물이였다.

S-180 cell에 대한 독성 실험

S-180에 대한 세포독성은 Bahn 등[1]의 방법에 준하여 실시하였다. 시료(10 mg/ml 증류수)를 DMEM 배지로 10배 희석하여 사용하였다. Control은 증류수(100 μ l) + DMEM (900 μ l), 시료처리는 시료 희석액(100 μ l) + DMEM (900 μ l) 농도가 되게 구성하였다. 배양된 S-180 cell을 1.5×10^5 cell/ml이 되게 희석하여 3 ml 부피로 처리한 다음(5×10^4 cell/ml DMEM으로 희석), 처리된 well plate를 5% CO_2 incubator (37°C)에서 48시간 동안 배양한 후 trypan blue로 염색하여 hemacytometer로 생세포수를 조사하여 ED_{50} 값을 구하였다.

Mouse 항복수압성

Mouse 항복수압 실험은 Bahn 등[1]의 방법에 준하여 실시하였다. Female ICR mouse (6~7주령, 27~28 g)를 cage당 5마리씩 분배하고(이때, cage당 평균무게가 같게 임의적으로 넣었다). 온도와 습도가 조절($25 \pm 1^\circ\text{C}$, 60%)되는 시설에 물과 음식을 자유롭게 먹도록 하여 1주일 동안 적응시켰다. Female ICR mouse 복강에서 계대 배양된 S-180 cell (1×10^7 cell/ml PBS)을 각 mouse에 0.1 ml씩 복강에 주사하여 복수암을 유발하였다. 복수암 유발 후 2일마다 시료 0.1 ml (500 mg/ml)을 mouse 복강에 주사하였다. S-180 세포 복강 투여 후 42일 동안 생존한 mouse의 수와 생존일수를 기록하였다.

통계처리

Data는 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 로 표시하였으며, 유의성은 one-way 분산분석(ANOVA)을 통하여 분석한 다음 Duncan의 다중검증으로 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결 과

기본액체배지에서 배양조건에 따른 AB균사체 생육

Fig. 1은 AB균사체를 기본배지에서 배양온도(10, 20, 25, 30, 37°C)와 배양기간(3, 5, 7, 9일)에 따른 배양물 중의 β -glucan 함량을 나타내었다. β -glucan의 함량은 배양온도와 배양기간에 따라 많은 영향을 받았다. 배양조건 중에서 β -glucan을 가

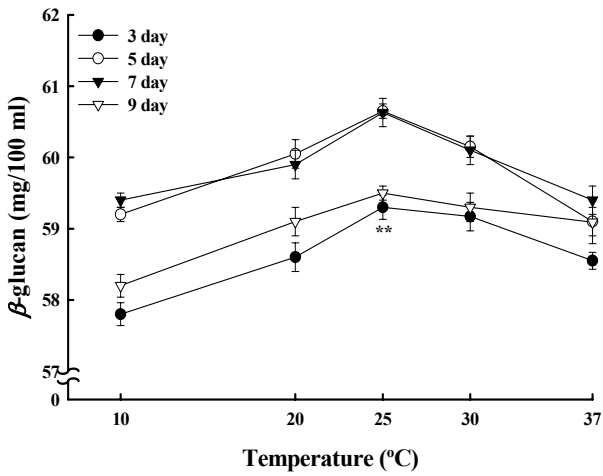


Fig. 1. Contents of β -glucan produced by the submerged-liquid culture of AB mycelia at different incubation temperatures and times.

장 많이 생산한 조건은 25°C에서 5일간 배양한 경우로 그 함량이 60.6 mg/100 ml였다. 25°C를 중심으로 배양온도가 낮아지거나 높아지는 경우에서 β -glucan의 함량은 유의적으로 낮아졌다($p < 0.05$). 또한 배양기간에 따라서는 7일간 배양하였을 때의 β -glucan은 5일 배양하였을 때의 함량과 차이가 없었다. 그러나 3, 9일간 한 경우 그 함량은 5일간 배양한 경우보다 유의성 있게 낮았다($p < 0.05$).

Fig. 2는 다양한 조건으로 배양한 AB균사체 배양물의 Brix를 나타내고 있다. Brix는 25°C에서 5일간 배양한 경우 4.19%로 가장 높았다. 5일간 배양한 경우 배양온도에 따라 25°C로부터 37°C로 높아짐에 따라 0.14% 감소되었고, 20°C에서는 급격히 감소되어 그 함량은 3.85%였다. 배양기간에 따른 Brix의 변화는 25°C에서 5일간 배양하였을 경우가 가장 높았고, 7일, 9일 배양한 경우 5일 간 배양한 것 보다 유의성 있게 감소되었

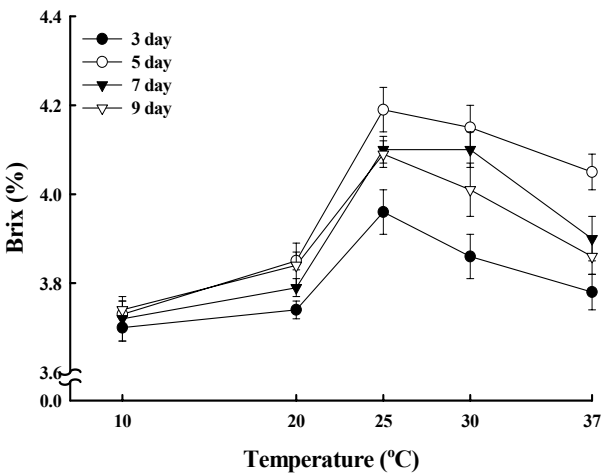


Fig. 2. Changes in Brix of the submerged liquid culture of AB mycelia incubated at different temperatures and times.

다($p < 0.05$). 따라서 배양액의 Brix의 변화는 Fig. 1의 β -glucan 함량 변화와 유사한 패턴을 보여 Brix와 β -glucan의 함량과는 밀접한 관계가 있음을 의미한다.

β -glucan 함량과 밀접한 관계가 있는 배양액 중의 균사체 함량을 조사하였다(Fig. 3). 배양조건에 따른 균사체의 함량은 Fig. 1이나 2와 유사한 결과를 나타내었다. 25°C에서 5일간 배양한 경우의 함량은 6.14 g/100 ml로 가장 높았고, 온도가 높아짐에 따라 감소하여 37°C에서는 6.01 g/100 ml이었다. 25°C 이하에서 배양한 경우에는 급격히 감소하여 20°C에서는 5.76 g/100 ml이었다. 배양기간이 긴 경우(7일, 9일)에 25°C 이하에서는 5일간 배양한 경우보다 그 함량이 많았으나 25°C 이상에서는 5일간 배양한 경우보다 낮았다. 이러한 결과로부터 25°C에서 5일간 배양한 액체배양물이 β -glucan 함량, Brix, 균사체 함량을 최대화시키는 조건임을 알 수 있었다.

β -glucan의 함량을 증가시킬 목적으로 변온조건에 따른 β -glucan 함량을 조사하였다(Table 1). 25°C에서 5일간 항온배양(control)한 액체배양물을 두 가지 변온 조건에서 배양하였다. 변온배양 I은 control 액체배양물을 4°C에서 7일간 배양하고 다시 25°C에서 3일간 배양하였고, 변온배양 II는 control 배양물을 10°C에서 7일간 배양하고 다시 25°C에서 3일 배양하였다(Table 1). β -glucan 함량은 변온배양 I에서 69.3 mg/100 ml로서 control 처리보다 유의성 있게 증가하였다. 변온배양 II의 β -glucan (67.6 mg/100 ml)도 control보다 유의성 있게 증가하였지만, 변온배양 I과는 차이가 없었다. Brix는 처리구간에 유의성이 없었고, 균사체의 함량도 큰 차이가 없었다. 따라서 배양을 4°C나 10°C로 변온배양 함으로써 β -glucan의 함량을 각각 14.3%, 11.6% 증가시킬 수 있었다.

기본액체배지 배양조건에 따른 AB균사체 배양물의 항복수율

25°C 항온에서 5일 배양 한 배양물과 변온배양 I, II에서 배양한 배양액의 S-180 cell에 대한 독성은 항온에서 5일간 배

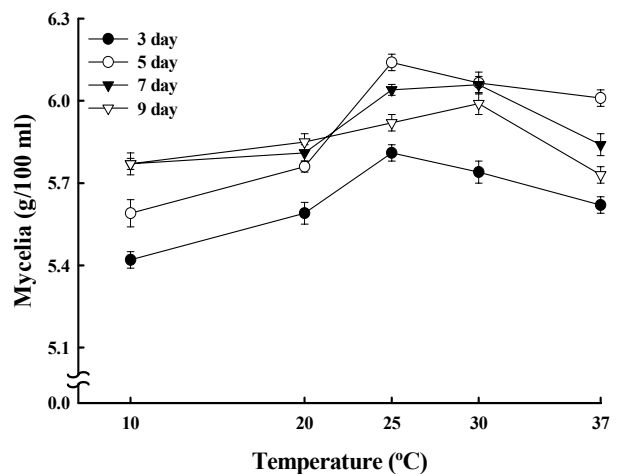


Fig. 3. Dry weight of AB mycelia in the submerged-liquid culture at different incubation temperatures and times.

Table 1. Effect of cultural conditions on the contents of β -glucan, Brix and mycelia of the submerged-liquid culture of AB mycelia

Culture condition ¹⁾	β -Glucan (mg/100 ml)	Brix (%)	Mycelia (g/100 ml)	ED ₅₀ ²⁾ (μ g/ml)
Constant culture	60.6±0.3 ³⁾	4.1±0.2 ^a	6.14±0.04 ^a	1.5±0.2 ^a
I (25-4-25°C)	69.3±1.5 ^a	4.3±0.1 ^a	6.28±0.03 ^b	1.6±0.3 ^a
II (25-10-25°C)	67.6±0.8 ^a	4.2±0.1 ^a	6.09±0.03 ^a	1.9±0.3 ^a

¹⁾Constant culture: incubation at 25°C for 5 days; I (25-4-25°C): incubation at 25°C for 5 days, 4°C for 7 days, and 25°C for 3 days in the order; and II (25-10-25°C): incubation at 25°C for 5 days, 10°C for 7 days, and 25°C for 3 days in the order.

²⁾ED₅₀ represents an effective dose at 50%.

³⁾Average±S.D. of triplication. Means followed by the different letter in same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

양된 배양물의 ED₅₀값은 각 1.5 μ g/ml이었고, 변온배양 I 과 II에서 배양된 배양물의 ED₅₀값은 각각 1.6 μ g/ml, 1.9 μ g/ml로 5일간 배양된 배양물과는 차이가 없었다(Table 1). 따라서 변온에 의해 생산된 배양물의 세포독성은 5일간 배양된 배양물과 차이가 없음을 의미 하였다.

25°C 항온배양과 변온배양 I과 II에서 생산된 배양물의 S-180 세포로 유발한 mouse 복수암의 항암성을 조사하였다(Table 2). 평균수명은 25°C에서 5일간 배양된 배양물이 32.5일로 PBS만 처리한 control 처리구 22.1일에 비해 약 45.7%의 수명연장 효과를 나타내었고, 변온배양 I이 27.3일, 변온배양 II가 25.6일로 약 20% 이상의 수명연장 효과를 나타내었다. 또한 25°C 항온에서 5일간 배양된 배양물이 40일간 최종 3마리가 살아남아 30%의 생존율을 보였으며, 변온배양 I, II는 최종 1마리가 생존하여 10%의 생존율을 나타내었다.

왕겨가루 첨가에 의한 항복수암 증가

기본배지에서 25°C에서 5일간 항온 배양한 AB균사체 배양물이 S-180세포로 유발한 mouse 복수암에 대한 항암성이 강하였다(Table 2). 이 배양물의 항암성을 증가시키기 위해 기본배지에 왕겨분말 1%를 첨가하고 25°C에서 5일간 배양하고, 배양물의 β -glucan 함량, Brix, 균사체 무게, S-180 cell의 세포독성을 조사하였다(Table 3). 왕겨첨가구의 β -glucan 59.8 mg/100 ml, Brix 4.1% 및 균사체무게 6.0 g/100 ml가 대조구나 왕겨구보다 유의성 있게 높았다($p < 0.05$). 또한 S-180세포에 대한 세포독성도 왕겨첨가구 1.0 μ g/ml로 대조구의 11.0 μ g/ml, 왕겨구의 2.3 μ g/ml보다 유의성 있게 높았다($p < 0.05$).

Table 4는 왕겨(1%)를 첨가한 AB균사체 배양액의 S-180 cell로 유발한 mouse 복수암에 대한 항암성을 나타내고 있다. 왕겨첨가구의 평균수명은 30.1일로 control 처리구의 평균수

Table 2. Effect of cultural conditions on the S-180 cell-induced mouse ascites cancer of the submerged liquid culture of AB mycelia

Parameter ¹⁾	Control	Constant-temperature culture ²⁾	Alternative temperature-controlling culture ³⁾	
			I (25-4-25°C)	II (25-10-25°C)
Mean survival day	22.1	32.5	27.3	25.6
Survival rate (%)	100	145.7	124.8	120.6
Survived mouse	0	3	1	1

¹⁾Each treatment was consisted of 10 mice. All the sample containing 100 mg/0.2 ml PBS/mouse. Mean survival day represents mouse numbers survived until 42 days after treatment. Survival rate = [mean survival days of treatment mice/mean survival days of control mice]×100. Survived mouse represent mouse numbers survived until 42 days after treatment.

²⁾Cultured at 25°C for 5 days.

³⁾I (25-4-25°C): incubation at 25°C for 5 days, 4°C for 7 days, and 25°C for 3 days in the order; and II (25-10-25°C): incubation at 25°C for 5 days, 10°C for 7 days, and 25°C for 3 days in the order.

Table 3. Effect of the rice hull on the growth of submerged-liquid culture of AB mycelia and ED₅₀ value for S-180 cells

Treatment	β -glucan (mg/100 ml)	Brix (%)	Mycelia (g/100 ml)	ED ₅₀ ¹⁾ (μ g/ml)
Basal media + Rice hull + AB	59.8±1.5 ²⁾	4.1±0.1 ^a	6.0±0.5 ^a	1.0
Basal media + AB	54.6±1.7 ^b	3.8±0.1 ^b	5.4±0.8 ^a	11.0
Rice hull + AB	56.2±1.4 ^b	3.9±0.1 ^b	5.6±0.4 ^a	2.3

¹⁾DMEM was used for culture of S-180 cells as a medium.

²⁾Average±S.D. of triplication. Means followed by the different letter in same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

Table 4. Effect of rice hull on the S-180 cell-induced mouse ascites cancer of the submerged-liquid culture of AB mycelia

Treatment ¹⁾	Mean survival day ²⁾	Survival rate (%) ³⁾	Survival Mouse ⁴⁾
Control	20.1	100	0
Basal media + Rice hull + AB	30.1	149.8	4
Basal media +AB	24.1	119.9	1
Rice hull + AB	26.7	132.8	2

¹⁾Each treatment was consisted of 10 mice. All the sample containing 100 mg/0.2 ml PBS/mouse. Control mice were given S-180 cells and PBS.

²⁾Average survival days of mouse until 42 days after treatment.

³⁾Survival rate = [mean survival days of treatment mice/mean survival days of control mice]×100.

⁴⁾Numbers of mouse survived until 42 days after treatment.

명 20.1보다 49.8%의 수명 연장효과를 나타내었고, 42일간 최종 4마리가 생존하여 40%의 생존율을 보였다. 또한 왕겨구의 평균 수명은 26.7일로 32.8%의 수명 연장효과를 나타내었으며, 최종 2마리가 생존하여 20%의 생존율을 나타내었다.

고 찰

본 연구에서는 왕겨분말이 대두박을 기본으로 한 액체배지에 25°C에서 5일간 배양한 AB균사체배양 추출물의 mouse 복수암 억제율이 증가하였음을 입증하였다. 또한 항암성을 증가시키기 위하여 배양온도를 변화시키는 변온방법을 사용하였지만, 큰 효과는 없었다.

버섯균사의 생장은 품종에 따라 다소의 차이가 있으나, 생장 온도범위는 품종에 관계없이 5-32°C이며, 32°C 이상에서는 버섯균의 생장이 정지 되어 최적 온도는 22-26°C라 하였고, 온도에 따른 생장 차이와 균사체가 생성하는 β -glucan 함량이 달라진다고 하였다[27]. 본 연구에서 AB 균사체의 생육은 25°C에서 β -glucan 함량, Brix 및 균사체 함량이 가장 많아 (Figs. 1-3) Sung 등[27]의 보고와 일치한다. 또한 본 연구결과는 Lin과 Yang [17]이 보고한 AB균사체의 적정 생육온도는 배양조건에 따라 상이하지만, AB 균사체 생산량에 근거하여 25-30°C라고 한 보고와 일치한다.

변온배양은 버섯균사체 생장에 stress를 주어 균사의 생장이나 β -glucan의 함량을 증기시킨다고 보고하였고[23], β -glucan이 S-180 cell과 같은 allogenic 및 syngenic tumor에 효과가 높은 것으로 보고되었다[25]. 본 연구에서 변온배양은 AB 균사체의 생장에는 큰 영향을 미치지 못하였고, β -glucan 함량과 Brix는 증가시켰으나(Table 1), S-180 복수암세포에 대한 독성과 S-180 세포로 유발한 항암성에는 항온(25°C)에서 배양한 배양물과는 큰 차이가 없었다(Table 2). 이와 같은 결과는 변온에 의한 β -glucan의 생성량은 증가되었지만, 항암성과는 큰 관계가 없는 것으로 추정되고, 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

대두박을 기본으로 한 기본배지에 왕겨분말 1% 첨가하여 배양한 AB균사체 배양 추출물에는 β -glucan 함량이 증가되었

고(Table 3) 항암성도 증가하였다(Table 4). 농산물이나 농산 부산물을 이용하여 버섯균사체를 배양하여 버섯균사체의 생장을 촉진시켜 균사체의 생산량을 증가시킨 연구는 수행되었으나[8], 왕겨를 버섯균사체 액체배양에 이용한 경우는 문헌상 찾아 보기 쉽지 않다. Choi와 Park [4]은 버를 도정하여 얻은 왕겨는 조섬유가 7~11%, 가용성 당질이 34~52%, 회분이 7~10%, 탄수화물이 14%, hemicellulose를 비롯한 식이섬유와 inositol, choline, niacin, tocopherol, thiamine (B₁), pantothenic acid 등 vitamin류가 풍부하다고 보고 하였고, 왕겨에서 추출한 페룰산이 강한 항산화력을 나타내고, 피틴산은 암세포의 신호체계를 혼란시켜 이상 증식을 억제하고 항암효과를 나타낸다고 보고하였다. 또한 왕겨에는 강력한 항암물질인 arbinoxylan의 전구체인 hemicellulose가 함유되어 있다[4,16,29]. 본 연구에서 왕겨를 이용하여 배양한 AB 균사체배양물의 항암성이 증가된 것은 왕겨에 함유된 화합물이 AB 균사체의 생육 중 β -glucan의 함량 또는 구조에 변화를 줄 수 있을 것으로 추정된다. 또한 왕겨의 hemicellulose가 가수분해 되어 많은 양의 arabinoxylan이 생성되어 β -glucan과 함께 synergy 효과를 보여 줄 수도 있을 뿐만 아니라 고분자 β -glucan이 중·저분자로 전환되어 항암효과가 증가 되었을 것으로 추정한다 [14,25,29]. 그러나 일련의 결과에 대한 구체적인 연구가 더 수행되어야 할 것이다.

결론적으로 AB균사체를 대두박을 기본으로 한 액체배지에 왕겨분말 1%를 첨가하여 25°C에서 5일간 배양함으로써 AB균사체 액체배양물의 S-180 cell로 유도한 mouse 항복수암성을 증가시킬 수 있었다. 따라서 이 방법은 다른 버섯균사체의 액체배양 시 항암성을 증가시킬 목적으로 활용할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 경상대학교 BK21 지원사업과 한국연구재단(2009-0075483)의 사업비로 연구되었음을 감사드립니다.

References

1. Bahn, K. N., E. J. Lee, M. S. Yang, J. O. Kim, and Y. L. Ha. 1995. Potent anticarcinogenic action of *Moutan radix* for mouse ascites cancer induced by mouse Sarcoma 180 cells. *Agric. Chem. Biotechnol.* **38**, 364-369.
2. Chang, H. L., G. R. Chao, C. C. Chen, and J. L. Mau. 2001. Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Antrodia camphorata* and *Cordyceps militaris* mycelia. *Food Chem.* **74**, 203-207.
3. Choi, J. M. and S. J. Koo. 2000. Effects of β -glucan from *Agaricus blazei* Murill on blood glucose and lipid composition in db/db mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **32**, 1418-1425.
4. Choi, H. C. and S. J. Park. 2003. Element compositions of rice hull and rice husk ash in Korea. *Korean J. Nutri.* **36**, 352-358.
5. Dong, Q., J. Yao, X. T. Yang, and J. N. Fang. 2002. Structural characterization of water-soluble β -D-glucan from fruiting bodies of *Agaricus blazei* Murr. *Carbohydrate Res.* **337**, 417-421.
6. Franz, G. 1989. Polysaccharides in pharmacy: current applications and future concepts. *Planta Med.* **55**, 493-497.
7. Itoh, H., H. Amano, and H. Noda. 1994. Inhibitory action of a (1 \rightarrow 6)- β -D-glucan-protein complex isolated from *Agaricus blazei* Murill on metha fibrosarcoma-bearing mice and its antitumor mechanism. *Jpn. J. Pharmacol.* **66**, 265-271.
8. Jhune, C. S., G. P. Kim, and C. W. Shin. 2000. Effect of rice bran added at spawn-making on the cultivation of Oyster mushroom, *Pleurotus* spp. *Korean J. Mycology* **28**, 1-5.
9. Jung, I. C., S. H. Kim, Y. I. Kwon, and J. S. Lee. 1996. Cultural Condition for the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* on cereals. *Korean J. Mycol.* **24**, 81-88.
10. Kang, A. S., T. S. Kang, S. M. Cho, and S. H. Yu. 2001. Studies on Submerged culture and mycelial components of *Naematoloma sublateritium* mycelia. *Korean J. Mycol.* **29**, 22-27.
11. Kawagish, H., R. Inagaki, and T. Kanao. 1989. Fraction and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Carbohydrate Res.* **186**, 267-273.
12. Kawagish, H., T. Kanao, R. Inagaki, T. Mizuno, K. Shimura, H. Ito, T. Hagiwara, and T. Nkamura. 1990. Formolysis of a potent antitumor (1-6)- β -D-glucan-protein complex from *Agaricus blazei* fruiting bodies and antitumor activity of the resulting products. *Carbohydrate Polymers* **12**, 393-403.
13. Kim, S. W., H. J. Hwang, J. P. Park, Y. J. Cho, C. H. Sang, and J. W. Yun. 2002. Mycelial growth and exo-biopolymer production by submerged culture of various edible mushrooms under different media. *Let. Microbiol.* **34**, 56-61.
14. Kim, S. J., H. R. Park, E. J. Park, and S. C. Lee. 2007. Cytotoxic and antitumor Activity of momilactone B from rice hulls. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 1702-1706.
15. Kuko, K. and H. Nanba. 1996. The effect of Maitake mushrooms on liver and serum lipids. *Altern. Ther. Health Med.* **2**, 62-69.
16. Kumagai, S., N. Hayashi, T. Sakaki, M. Nakada, and M. Shibata. 2004. Fractionation and saccharification of cellulose and hemicellulose in rice hull by hot-compressed-water treatment with two-step heating. *J. Japan Inst. Energy* **83**, 776-78.
17. Lin, J. H. and S. S. Yang. 2006. Mycelium and polysaccharide production of *Agaricus blazei* Murrill by submerged fermentation. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **39**, 98-108.
18. Liu, F., V. E. Ooi, and S. T. Chang. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci.* **60**, 763-766.
19. Menoli, R. C. R. N., M. S. Mantovani, L. R. Ribeiro, G. Speit, and B. Q. Jordao. 2001. Antimutagenic effects of the mushroom *Agaricus blazei* Murill extracts on V79 cells. *Mut. Res.* **496**, 5-13.
20. Mizuno, M., M. Morimoto, K. Minate, and H. Tsucjida. 1998. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 434-437.
21. Mizuno, T., T. Hagiwara, T. Nakamura, H. Ito, K. Shimura, and T. Sumiya. 1990. Antitumor activity and some properties of water soluble polysaccharides from the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill, *Agric. Biol. Chem.* **54**, 2889-2896.
22. Nakajima, A., T. Ishida, M. Koga, and M. Takeuchi. 2002. Effect of hot water extract from *Agaricus blazei* Murill on antibody-producing cells in mice. *Int. Immunopharmacol.* **2**, 1205-1211.
23. Park, K. S., J. E. Son, and G. H. Yoon. 2001. Effects of low and alternated temperature treatments on quality of oak mushroom in sawdust. *J. Bio-Environ. Control* **10**, 3-10.
24. Smith, J. E., N. J. Rowan, and S. Richard. 2002. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities. *Biotech. Letter* **24**, 1839-1845.
25. Sørensen, H. R., A. S. Meyer, and S. Pedersen. 2003. Enzymatic hydrolysis of water-soluble wheat arabinoxylan. 1. Synergy between L-arabinofuranosidases, endo-1,4-xylanases, and xylosidase activities. *Biotechnol. Bioeng.* **81**, 726-731.
26. Sugiyama, K., S. Saeki, and Y. Ishguro. 1992. Hypercholesterolemic activity of *ningyotake* (*Polyporus confleuens*) mushroom in rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **45**, 265-270.
27. Sung, J. M., Y. B. Yoo, and D. Y. Cha. 1998. *Mushroom*. pp. 3-10, Kyohaksa. Seoul.
28. Wasser, S. P. 2002. Medicinal mushrooms as a source of anti-tumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **60**, 258-274.
29. Watanabe, T., M. Shida, Y. Furuyama, K. Tsukamoto, T. Nakajima, and K. Matsuda. 1983. Structure of the arabinoxylan of rice hull. *Carbohydrate Res.* **123**, 83-95.
30. Yoshiaki F, K. Hidekazu, O. Koichi, S. Ryo, E. Takusaburo. 1998. Tumorcidal activity of high molecular weight polysaccharides derived from *Agaricus blazei* via oral administration in the mouse tumor model. *Kagaku Kaishi* **45**, 246-252.

초록 : 왕겨에 의한 신령버섯균사체 액체배양액의 생쥐 항복수암성 증가

김영숙¹ · 장욱진¹ · 라키브¹ · 권정민¹ · 안채린¹ · 김소영³ · 조용운⁴ · 하영권⁵ · 김정옥⁵ · 하영래^{1,2*}

(¹경상대학교 응용생명과학부(BK21), ²경상대학교 농업생명과학연구원, ³한국국제대학교 식품과학과, ⁴진주산업대학교 제약공학과, ⁵(주) HK바이오텍)

왕겨가 *Agaricus blazei* Murill (AB: 신령버섯)균사체 액체배양 추출물의 항암성을 증가시키는지에 관한 연구를 수행하였다. AB균사체를 대두박을 기본으로 한 액체배지에 다양한 조건으로 배양하여, β -glucan 함량, Brix, 균사체를 측정하여 적정 생육조건을 선정하고, 이들의 열수추출물의 S-180 cell로 유도한 mouse 복수암에 대한 항암성을 조사하였다. AB균사체는 25°C에서 5일간 배양하였을 때 최적 생육을 나타내었고, 이 배양물이 다른 조건에서 배양한 배양물보다 우수한 항암성을 나타내었다. AB균사체의 생육 및 항암성은 변온배양에 따른 효과는 없었다. 따라서 이 최적배양조건(25°C, 5일 배양)에서 AB균사체를 1% 왕겨분말이 함유된 액체배지에 배양하고, 이의 열수 추출물의 항암성을 검증하였다. 1% 왕겨가 함유된 액체배지에서 배양한 열수추출물의 항암성은 왕겨가 함유되지 않은 배지의 열수추출물보다 항암성이 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$). 왕겨의 첨가는 AB균사체의 생육을 오히려 촉진시켰다. 이 결과는 왕겨가 AB균사체 뿐 만 아니라 다른 버섯균사체 액체배양물의 항암성 증진을 위한 원료로 활용될 수 있을 것임을 의미한다.