

# AOM/DDS로 대장암 유도 후 식용버섯균사체 유래 다당류의 대장암 억제효과 및 대장 미생물군총의 변화

공 승 식\* · †강 순 아\*\*,\*\*

호서대학교 벤처대학원 융합공학과 박사과정 학생, \*호서대학교 보건산업연구소 연구원,  
\*\*호서대학교 벤처대학원 융합공학과 교수, \*\*\*호서대학교 보건산업연구소 소장

## Anti-cancer Effects and Changes in Colonic Microflora of Polysaccharide Derived from Edible Mushroom Mycelium on AOM/DDS-induced Colon Cancer Model

Seaug Sik Kong\* and †Soon Ah Kang\*\*,\*\*

Ph.D. Student, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*Researcher, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*\*Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*\*\*Director, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

### Abstract

The objective of this study was to investigate the anticancer effects of EMPS (edible mushroom mycelium polysaccharide: *Tremella fuciformis*) in animal models with colorectal cancer induced by AOM/DSS. The experimental groups consisted of Nor (normal), NC (AOM/DSS), EMPS (EMPS 50, EMPS 100), and PC (Fluorouracil). The NC group had the highest number of colon tumors, whereas it was observed that tumor occurrence was significantly reduced in the EMPS consumption group. The expression of Bcl-2, an apoptosis inhibitor, was significantly lower in the EMPS 50 & 100 and PC groups. On the other hand, the mRNA gene expression of Bax, a factor that induces apoptosis, was significantly higher in the EMPS 50 & 100 and PC groups compared to the NC group. The mRNA expression levels of TNF- $\alpha$  and COX-2 significantly increased in the NC group, but showed a significant decrease in the EMPS and PC groups, indicating inhibition of the cancer-promoting response of cells. At the phylum level of the mice's intestinal microbial composition, the proportion of Bacteroidetes tended to decrease, while the proportion of Firmicutes tended to increase with EMPS administration. This suggests that changes in the gut microbiota caused by inflammation can be influenced by dietary intake.

Key words: anti-cancer effect, *Tremella fuciformis*, edible mushroom mycelium polysaccharide, colorectal cancer

### 서 론

식생활의 변화와 함께 성인병 예방 및 고령화에 따른 다양한 기능성 식품 및 소재에 대한 요구도가 높아지고 있다. 대장암(CRC: colorectal cancer)은 폐암, 유방암 다음으로 세 번째로 전 세계적에서 발병률이 가장 높은 암으로 암과 관련된 사망의 주요한 원인으로 나타났다(Boyle & Langman 2000). 대장암에 의한 사망률은 미국에서 남녀 모두 3위였고, 한국

에서는 꾸준히 증가하여 2011년에는 남성, 2012년에는 여성 발병률이 가장 높게 보고되었다(Jung 등 2019). 대장암은 정확한 병인은 아직 알려지지 않았지만 유전적, 환경적 요인, 생활습관 등이 원인이며, 식생활의 변화가 생활수준 향상으로 인해 육류 위주의 식단, 고지방식이, 고칼로리 음식 섭취 증가가 증가되면서(West 등 1989) 식이섬유소 섭취 부족, 가족력, 염증성 장질환, 식습관, 신체활동량, 흡연, 알코올, 비만 유병률과 매우 밀접한 관계가 있다고 본다(Parkin

† Corresponding author: Soon Ah Kang, Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea. Tel: +82-2-2059-2388, Fax: +82-2-2059-1405, E-mail: sakang@hoseo.edu

등 2005; Almeida & Barry 2011; Chung JY 등 2011). 중요한 사실은 식생활을 포함한 환경 요인들이 장내미생물 균총의 변화를 일으킬 수 있다는 것이다. 최근 연구에서 장내미생물 균총이 염증반응 및 DNA 손상기전을 조절하면서 다양한 대사산물을 생성함으로써 대장암이 진행되는 정도를 조절할 수 있다는 논문이 보고되고 있다. 대장암 환자에서 장점막에서 세균의 다양성이 낮아지면서 장내미생물의 불균형(dysbiosis)이 관찰되어 부틸레이트 생성 박테리아 같은 공생 박테리아 종이 감소하면서 전염증성 병원체 같은 해로운 박테리아 군이 우세해짐이 보고되었다(Yoon CH 2023). 이러한 장내미생물군이 종양진행에 중요한 역할을 할 수 있음을 밝혔다. 즉 우리가 먹는 식품이 대장암의 발달에 중요한 영향을 줄 수 있음을 시사하고 있다.

생체 외부의 염증반응은 관리가 용이한 반면, 장관 내 염증은 관리가 어려워 만성질환으로 진행되면서 다양한 성인병 등을 유발한다. 이를 저해할 수 있는 천연물질의 약리활성을 이용한 기능성식품의 개발에 많은 관심을 가지게 되었고, 식물 유래의 프리바이오틱스 소재, 유산균, 버섯, 효모가 생산하는 다당류 연구가 진행되고 있다(Turnbaugh 등 2006; Liu 등 2018). 건강기능성식품, 바이러스 감염 예방 의약품, 화장품 등 다양한 바이오 소재로 면역증강에 도움을 줄 수 있는 다양한 다당류가 활용되고 있다.

천연 약용자원 중 식용 혹은 의약용으로 사용하는 버섯은 향과 맛도 풍부하고, 다양한 영양성분과 생체조절물질을 함유하고 있으며(Oh 등 2006), 초기 면역 활성을 올려주는 대식세포의 역할이 중요하다(Kim & Kim 1997). 담자균류 유래 버섯의 생리활성물질은 다당류인 주로  $\beta$ -(1,3)-glucan 성분으로 상황버섯의 Meshima(Lee 등 1996; Kim 등 2000; Lim 등 2005; Lee 등 2012), 표고버섯의 Lentinan(Chihara 등 1970a)은 면역 및 항암보조제에 상업적으로 활용하고 있다.

버섯의 면역 활성화, 항암, 항혈전효과, 항고혈압, 콜레스테롤 감소 등의 약리활성을 나타내는 약리물질은 버섯 균사체 또는 자실체 유래 다당류로 알려졌다(Oh 등 2006). 표고버섯 자실체 유래 다당류(lentinan)의 종양세포에 대한 항암효과(Chihara 등 1970b), 아카시아영지버섯 다당류의 면역증강효과(Cho 등 1995), 영지버섯 균사체 유래 다당류 물질의 면역능 증가 및 항암효과(Kim SW 1998; Back 등 2001; Back 등 2002), 삼색도장버섯 자실체 유래 다당류의 항암 효과(Shim 등 2003), 흰목이버섯 추출 조다당류의 항면역능 증가 및 항암효과(Oh 등 2006), 송이버섯 자실체 추출 조다당류의 항암효과(Hur 등 2008), 노루궁뎅이 자실체 조다당류의 면역 및 항암효과(Choi 등 2010), 잎새버섯 자실체 유래 조다당류의 항암효과 및 면역증강효과(Kim 등 2011), 상황버섯 균사체 유래 다당류의 면역증가효과(Lee 등 2012; Park & Hong

2017) 등 식용버섯 균사체의 다양한 항암 연구가 진행되고 있었다.

백목이 버섯(*Tremella fuciformis* Berk.)은 한국, 일본, 중국, 인도 등 전 세계에 분포되어있으며 고사목이나 활엽수의 줄기 위에 서식하는 담자균류이며(Cheng 등 2002), 항암, 면역강화, 항노화, 항고혈압, 기관지염, 변비, 항동맥경화 등 생리활성이 있다(Oh 등 2006). 백목이버섯을 4주 동안 투여한 경우 혈청 LDL-콜레스테롤, 간의 총 콜레스테롤, 중성지방의 함량을 유의하게 감소시키는 다이어트효과는 fecal neutral steroids와 total bile acids excretion을 증가시키면서 SCFA 생성을 증가시킴에 따라 발생함을 밝혔다(Cheng 등 2002; Liu 등 2018).

유용한 생리활성물질의 보고인 버섯의 대중화를 위하여, 자실체에 비하여 균사체가 각종 영양성분의 함량이 높고 항암 및 면역기능 생리활성물질도 높게 함유하고 있어서 균사체 유래 다당류의 기능성연구가 진행되고 있다(Chang HY 1998; Lee 등 2012; Kim 등 2013; Park & Hong 2017; Ge 등 2020). 흰목이버섯의 재배방법은 안정적인 대량생산 기술을 위하여 미생물공학적으로 균사의 최적의 배양조건에 관한 연구가 되어지고 있다(Lee 등 2019). 흰목이버섯 균사체 유래 항당뇨 다당류 생산방법 특허(Yoon JW 2008), 흰목이버섯 다당류의 항산화활성(Ge 등 2020) 및 항암 생리활성(Bin C 2010), 백목이버섯 균사체 유래 다당류의 항염증효과(Yoo & Kang 2021)에 대한 연구는 있으나 백목이버섯 균사체 유래 다당류의 대장염 동물모델에서의 항암효과 및 대장내 미생물 균총에 대한 연구는 미흡하다.

따라서 본 연구는 azoxymethane/dextran sulfate sodium(AOM/DSS)으로 유도한 대장암 동물모델에서 백목이버섯 균사체 유래 다당류의 항암효과 및 대장 내의 미생물 균총의 변화를 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험용 동물 준비 및 실험군 구성

실험용 C57BL/6 마우스는 6주령으로 20.0±2.0 g 체중이며 오리엔트바이오(Orient Bio Co., Seong-nam, Korea) 회사에서 분양받았다. 사료는 AIN-93G 식이를 공급하였고, 온도 조건은 23±2°C, 상대습도 조건은 55±5%, light-dark cycle이 유지되는 12시간 주기(micro ventilation cage system) 조건에서 사육하였다. 실험동물 입고 후 적응 기간 1주일 후, 체중을 개별 측정하여 실험군을 정상군(Nor: normal), AOM/DSS로 대장염을 유도한 대조군(NC: AOM/DSS), AOM/DSS로 대장암을 유도하고 EMPS(식용버섯균사체 다당류: *Tremella fuciformis*)를 50 mg/kg 체중의 농도로 경구 투여 섭취군(low dose, EMPS

50), AOM/DSS로 대장암 유도 후 EMP를 100 mg/kg 체중의 농도로 경구 투여군(high dose, EMPS 100), AOM/DSS로 대장암을 유도하고 fluorouracil (5-FU)를 20 mg/kg 체중의 농도로 경구 투여군(PC: positive control)으로 분류하였다. 실험에 사용된 EMPS는 *Tremella fuciformis* 균사체 유래 다당체로 500 L 유가식 배양을 통하여 생산하였다. 유가식 배양은 변형된 MCM 배지(glucose 20 g/L, MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.5 g/L, CSL 10 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.46 g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g/L)를 사용하였고, 50 L 용량의 교반형 배양기(KoBioTech Co., Incheon, Korea)를 이용해서 24시간 배양 하였다. 배양 후 500 L 용량의 교반형 배양기에서 96시간동안 배양 하였다. 최종적으로 정제농축액을 50 kg 용량의 동결건조기(Ilshin Bio Base Co., Dongducheon, Korea)로 96시간 동안 동결건조 후 회수한 다당체 시료를 한국생명공학연구원에서 제공받아 본 연구 시료로 사용하였다. 본 연구를 위한 동물실험은 차의과대 동물실험윤리위원회(승인번호: IACUC210040) 승인을 받고 진행하였다.

## 2. 대장암 유도

C57BL/6 마우스에 대장암을 유도하기 위하여 azoxymethane (AOM, Sigma, USA)을 PBS 용액에 혼합하여 10 mg/kg mouse body weight로 복강 투여하고, AOM 투여 2주 후부터 2% dextran sulfate sodium(DSS; Biomedicals, LLC, Illkirch, France)을 1주일 동안 음수로 투여 후 휴식기를 가졌다. 시료인 EMPS 저농도(50 mg/kg b.w.), 고농도(100 mg/kg b.w.), fluorouracil(5-FU, 20 mg/kg b.w.)를 PBS 용액에 희석한 후 경구 투여하였다. 저·고농도의 EMPS는 실험 11주간 매일 경구로 투여하였고 5-FU는 1주일에 한 번 경구 투여하였다. 실험 기간은 총 11주간 진행하였다.

## 3. 실험동물의 체중 변화량 측정 및 종양갯수 측정

실험동물을 입수 시, 순화 적응 기간 중 주 1회, 군 분리 시점 및 실험 기간 동안 1주일에 한 번씩 개체 별로 체중을 측정하였다. 특히 체중측정은 실험기간 중 매주 측정 시 오차범위를 최소화하고자 동일한 시간을 정해서 오전 10시 전 후에 동일한 종류의 저울을 사용하여 측정하였다. 실험 종료 되는 시점에 각 군의 실험동물을 희생하여 항문에서 대장이 끝나는 지점까지 대장조직을 적출하여 길이와 무게를 측정하였다. 대장의 길이는 길이가 짧을수록 대장암이 유발된 것으로 관찰하였다. 특히, 염증 및 종양으로 인해 대장의 무게는 무거워지면서 대장암이 유발된 것으로 보았다. 대장 내부에 생성된 종양의 수를 측정하면 대장암 발생 정도의 비교를 할 수 있었다. 대장, 정소, 신장, 간과 비장을 적출하여 무게를 측정하였다. 혈액을 원심분리 조건은 3,000 rpm에서 15분간하여 혈청을 채취한 후 -70°C에 보관 후 분석에 이용하였다.

## 4. 대장조직의 병리학적 검사 결과

대장 내 남아있는 분뇨를 PBS 용액으로 깨끗이 제거 후 10% 포르말린 용액에 넣고 4°C에서 24시간 고정시킨 후 파라핀 조직 표본 시료를 만든 후 5 µm 두께로 절편하였다. 조직 절편은 hematoxylin & eosin으로 염색하고 현미경(Y-TV55; Nikon, Tokyo, Japan)을 이용하여 고배율(×100)에서 관찰하였다.

## 5. 조직 내 mRNA 발현 측정(RT-qPCR)

실험군의 대장조직을 1 cm 취하여 trizol 용액(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)으로 세포에서 RNA를 분리하였고, 0.1% diethyl-pyrocabonate(DEPC) 용액에 용해시켰다. 용해되어진 총 RNA는 NanoDrop ND-1000 kit(NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE, USA)로 정량하였다. cDNA를 합성은 Superscript II reverse transcriptase 시약(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 이용하여 합성하였다. 합성된 cDNA는 Thermal Cycler BioRad CFX-96 Real Time System 기기(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 유전자 발현 분석을 하였다(Jeong JK 2012).

## 6. 조직 내 단백질 발현 측정 (Western Blot)

실험군의 대장조직을 1 cm를 취하여 1 mL radio-immunoprecipitation assay(RIPA, Invitrogen) buffer 용액으로 균질화한 후 4°C에서 13,000 rpm에서 5분간 원심분리를 통하여 조직 내 단백질을 분리하였다. 분리되어진 단백질은 Bradford assay 방법(Bradford MM 1976)으로 단백질 농도를 정량하였다. 추출되어진 단백질을 SDS-polyacrylamide 겔 전기영동으로 분리한 후 polyvinylidene fluoride(PVDF; Bio-Rad) 얇은 막으로 이동시킨 다음, PBS-T 용액을 함유한 5% 스킵 밀크로 비특이적인 단백질을 블로킹시켰다. Blocking 단계 후, PVDF membrane을 PBS-T용액으로 3회, PBS용액으로 1회 세척 후 1차 항체를 투여 후 4°C로 overnight 반응시켰다. 그 이후에 PBS-T용액으로 3회, PBS용액으로 1회 세척 후 2차 항체를 투여 후 2시간 동안 실온에서 반응시켰다. Bcl-2, Bcl-xL, caspase3, p21, p53, IL-6 및 β-actin(Santa Cruz, Dallas, TX, USA) 1차 antibody를 사용한 후, 각각에 맞는 2차 antibody를 사용하였고 Amersham Imager 680 기기(GE Healthcare Life Sciences, Chicago, IL, USA)로 분석하였다.

## 7. 마우스 대장의 microbiota의 NGS 분석

시료 QC에서 sequencing까지 MiSeq-Metagenomic sequencing 분석은 제조사의 프로토콜에 따라 진행하였으며 PowerSoil® DNA separation Kit(MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA USA)로 DNA를 추출하였다. 각각에 맞는 sequencing sample

은 Illumina 16S Metagenomic Sequencing Library protocol에 의하여 준비되었다. 16S rRNA 크기 유전자를 16S V3-V4 primer로 증폭과정을 하였다(forward type : 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CCT ACG GGN GGC WGC AG-3', reverse type : 5'-GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGA CTA CHV GGG TAT CTA ATC C-3'). 상대적인 input type gDNA를 16S V3-V4 프라이머로 증폭 시킨 후 제한되어진 cycle 증폭 과정을 거치면서 다중화 지수와 일루미나 서열 분석 어댑터를 첨가시켰다. 최종 생성물을 피코그린(PicoGreen)을 이용하여 정규화과정과 풀링과정을 거치고, 테이프 스테이션 DNA Screen Tape D1000(Agilent, Santa Clara, CA, USA)으로 library 크기를 각각 확인하였다. 이어서 MiSeq™ 플랫폼(Illumina, San Diego, USA)으로 sequencing 과정을 거쳤다. 모든 절차는 Macrogen Inc.(Seoul, Korea)에서 진행하였다. Operational taxonomic unit (OUT) 정보가 들어있는 QIIME(v.1.8)로 다양한 종류의 미생물 군집을 정밀 분석하였다. 각 시료에서 미생물 군집의 종들의 다양성과 균질함을 확인하고자 Shannon 지표와 Inversed Simpson 지표를 얻어내고, Rarefaction curve와 Chao1 값을 산정하여 알파 다양성 정보들을 확인하였다. 이 모든 절차는 Macrogen Inc.(Seoul, Korea)에서 진행하였다.

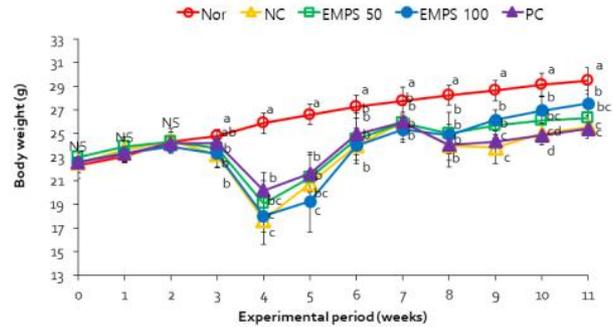
## 8. 통계 처리

RT-qPCR 실험분석 결과들은 평균값과 표준오차(standard error, SE)로 표시하였고, 이를 제외한 실험분석 결과들은 평균값과 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였다. 실험군간의 차이를 보기위하여 One-way analysis of variance (ANOVA) 통계방법을 실시하였고, 실험 군(n=10)간의 차이를 보는 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 실시하였다. 유의성 범위는  $p < 0.05$  이하일 때 군간의 통계학적 유의성이 있다고 판단하였다. SPSS v.18 statistical software 패키지 (SPSS Inc., Westlands, Hong Kong)로 실험결과를 통계 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 실험동물의 체중 변화

체중의 변화는 Fig. 1에 보여주듯이 실험 전의 실험동물인 마우스의 무게는  $21.6 \pm 1.5$  g으로 실험군 전체 군 간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 실험기간에 대장암을 유도하지 않은 Nor(normal: 정상)군에서 실험 기간에 따라 점진적으로 증가하는 경향이 있었지만 AOM/DSS로 대장암을 유도한 NC 군(negative control: AOM/DSS), EMPS 군(EMPS 50, EMPS 100) 및 PC 군(positive control: Fluorouracil)은 체중이

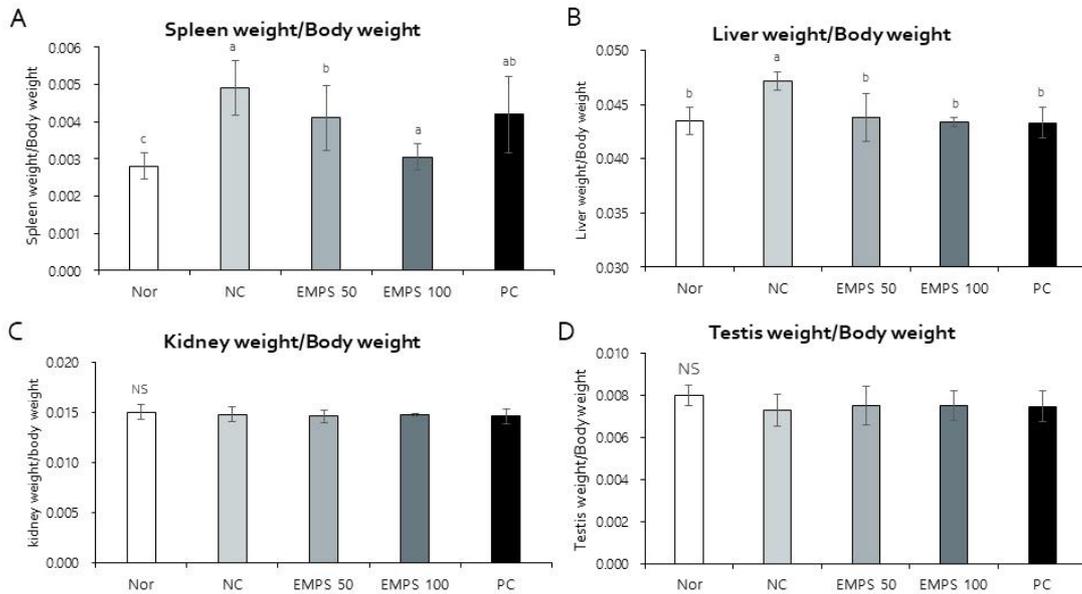


**Fig. 1. Effects of EMPS on the change of body weight in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer.** Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a-d</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests. <sup>NS</sup>Not significantly different.

더 적은 경향이 나타났다. AOM/DSS 처리하여 대장암을 유도한 군에서는 체중 감량이 유도된 것이 확인되었다. AOM은 DNA를 알킬화하여 암을 유발하는 화학물질이다. 이 연구에 사용된 AOM/DSS 조합 방법은 만성염증으로 인하여 단기간 내에 대장암을 성공적으로 유도할 수 있다. 따라서, 암이 발생한 마우스는 혈변 및 설사 증상을 보이며 체중이 감소하였다. 특히, DSS가 공급된 후 4주 및 7주 사이에서 유의한 체중 감소가 관찰되었다. 8주부터 실험종료일까지 저농도와 고농도 EMPS를 먹인 군을 다른 군과 비교하면 NC 군(AOM/DSS)에 비해 고농도의 EMPS(EMPS 100)를 먹인 군이 체중 회복 속도가 빨랐으며, 이는 PC(positive control) 군보다 빠르게 회복되었다(Fig. 2). DSS로 대장염을 유도한 마우스에서 급격한 체중감소가 *Tremella fuciformis* 균사체 다당류 군에서 체중 회복 속도가 빨랐으며 양의 대조군과 비슷한 결과를 보이면서(Yoo & Kang 2021) 본 연구 결과와 흡사한 양상을 보였다.

### 2. 장기무게의 변화

실험 11주에 간, 비장, 신장 및 고환의 중량을 비교하였고 결과는 조직 중량에 대한 체중의 비율로 표시하였다(Fig. 2). 신장과 고환의 무게는 군 간에 유의적인 차이가 없으므로 대장암 모델은 잘 유도된 것으로 본다(Fig. 2C 및 Fig. 2D). 그러나 간과 비장 장기에서 독성으로 염증과 부종 현상이 나타나면서 장기 크기가 약간 커짐을 관찰하였다. 구체적으로, NC (AOM/DSS) 군은 Nor 군보다 간과 비장 무게가 유의하게 높



**Fig. 2.** Effects of EMPS on the tissue weight per body weight (A-D) in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer. Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a-c</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests. <sup>NS</sup>Not significantly different.

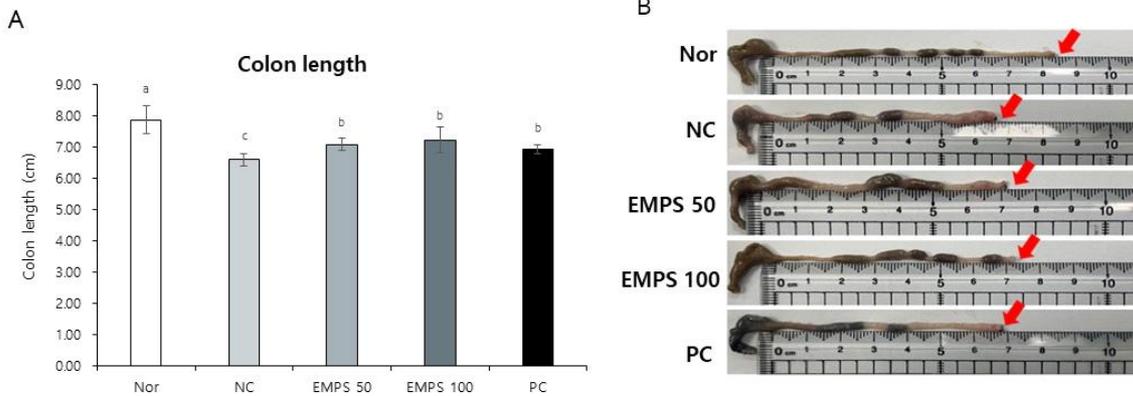
았으며 EMPS 50, EMPS 100 및 PC군의 장기무게는 정상군과 비슷할 정도로 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ) (Fig. 2A 및 Fig. 2B). 따라서 EMPS를 섭취한 군은 NC(AOM/DSS) 군에 비하여 독성현상과 염증 수준이 감소하면서 완화됨을 보였고 특히, EMPS 100 군이 많이 완화됨을 보였다. DSS로 대장염을 유도한 마우스에서 간 무게의 증가가 고농도 *Tremella fuciformis* 균사체 유래 다당류 군에서 회복됨을 보이면서 독성과 염증 수준이 완화된 결과(Yoo & Kang 2021)는 본 연구의 대장암 모델에서 EMPS의 효과와 흡사한 결과를 보였다.

### 3. 대장길이 및 대장무게/길이 비율

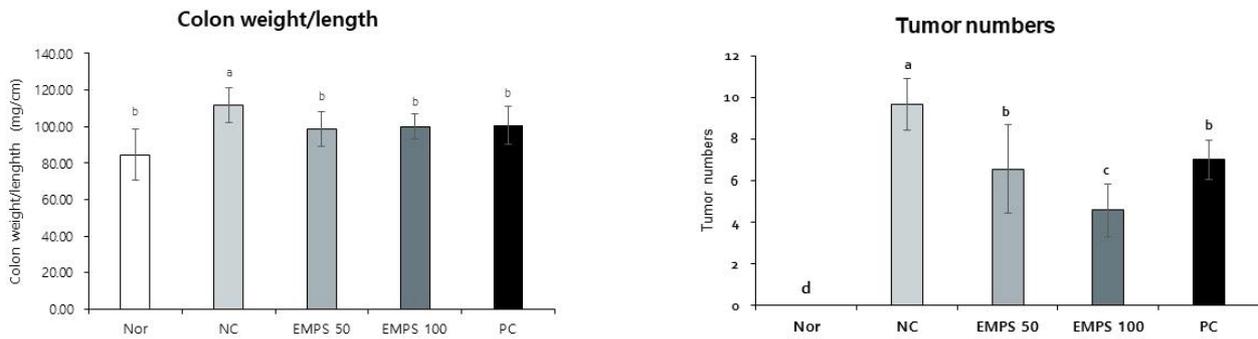
AOM/DSS 투여에 의한 대장암 유도 후 EMPS에 의한 완화 효과를 보기 위하여 항문에서 ileocecal 접합부까지의 결장을 절제하고 맹장에서 항문까지의 길이와 대장길이에 대한 무게비율을 측정된 결과는 Fig. 3A 및 Fig. 3B에 보여주었다. NC 군은 Nor 군에 비하여 대장 길이가 현저히 낮았고 EMPS 및 PC 군의 대장의 길이는 NC 군보다 대장 길이가 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). AOM/DSS로 대장암을 유도한 AOM/DSS 군( $6.60 \pm 0.19$  cm)은 Nor 군( $7.88 \pm 0.46$  cm)과 비교하여 대장 길이가 유의하게 짧아져서( $p < 0.05$ ) AOM/DSS로 대장암이 유도된 것을 확인하였다. 하지만 EMPS 50군( $7.09 \pm 0.20$  cm)과 EMPS 100군( $7.23 \pm 0.40$  cm)으로 식용 백목

이버섯 균사체 유래 다당류를 섭취한 군은 AOM/DSS 군에 비하여 대장의 길이가 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 일반적으로 대장이 염증 혹은 암에 의하여 손상되면 체중 감소현상, 대장 출혈 및 팽창 현상, 대장의 길이 감소, 혈변 및 설사를 유발할 수 있다. 특히, 결장암이 발생하면 상피에 염증이 생기면서 조직이 손상되고 점막이 얇아지며 수축되어 결장 길이가 짧아지게 된다. 따라서, 대장 길이 측정은 결장/직장암의 진행 또는 결장암의 항암 효과를 확인하는데 중요하다. 이는 EMPS가 AOM/DSS로 인한 대장암 유도에서 대장의 손상을 효과적으로 감소시키면서 대장의 길이가 축소됨을 방해하였고, EMPS 섭취 군의 대장은 비교적 낮은 염증에 의한 현상을 가질 것으로 예상된다.

대장 직장암의 진행은 결장 상피의 염증성 용종의 형성을 특징으로 하며, 이는 대장의 무게를 증가시킨다. 따라서, 대장 조직의 길이와 무게의 비율을 측정함으로써 대장암의 진행 정도를 비교할 수 있다. 이 연구에서 NC(AOM/DSS) 군의 대장 무게/길이 비율이 다른 군보다 통계적으로 유의하게 높은 결과를 보였다(Fig. 4)( $p < 0.05$ ). EMPS 50, EMPS 100 및 PC 군의 대장 무게/길이 비율은 NC(AOM/DSS) 군의 대장 무게/길이 비율보다 상당히 낮았다( $p < 0.05$ ). 이 결과는 EMPS에 의해 대장 상태가 개선되었음을 시사한다. Yoo & Kang(2021)의 연구에서 백목이버섯 균사체 다당류가 DSS로 유도된 대



**Fig. 3.** Effects of EMPS on the colon length(A,B) in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer. Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100 : AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC(positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a-c</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan’s multiple range tests.



**Fig. 4.** Effects of EMPS on the colon weight/length ratios in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer. Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a,b</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan’s multiple range tests.

**Fig. 5.** Effects of EMPS on the colon tumor numbers in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer. Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a-d</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan’s multiple range tests.

장의 손상을 완화시켜 대장 길이 감소 현상을 보였다. 또한, DSS로 유도된 대장염 마우스의 부종을 유산균에 의하여 감소 하였고, 점막세포 파괴도 감소, 대장길이 감소를 억제함을 관찰 하였다(Lee JH 2010). Lee GH(2018) 연구에서도 백강잠의 대장염 억제효과로 대장길이의 유의한 회복효과를 볼 수 있었다.

**4. 대장조직 내 종양개수**

실험 11주에 대장을 적출하여 대장 내 종양의 수를 측정하

였다(Fig. 5). Nor 군은 대장암을 유도하지 않았기 때문에 대장암이 유발되지 않아 종양이 없었다. NC(AOM/DSS) 군 (9.67±1.22개)은 다른 군과 비교하여 가장 많은 수의 종양을 나타냈다. 반면, EMPS 50 군에서 6.56±2.13개, EMPS 100 군에서 4.57±1.27개, PC 군에서 7.00±0.94개로, EMPS를 섭취한 군이 EMPS를 섭취하지 않은 대조군에 비해 종양 발생을 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었다( $p<0.05$ ). 뿐만 아니라 EMPS 50에 비해 EMPS 100의 종양 수가 유의하게 더 적은

것으로 나타나, EMPS의 농도가 높을수록 종양 생성 억제 효과가 증가되는 것으로 보인다.

### 5. 대장 조직의 병리학적 분석

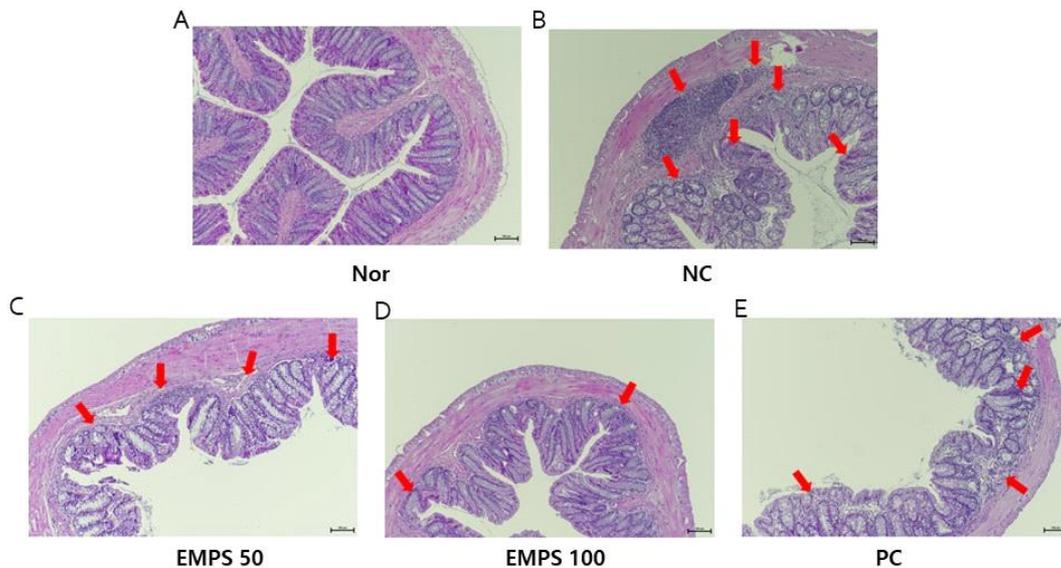
실험동물의 대장 조직의 병리학적 결과를 Fig. 6에서 나타내었다. 일반적인 대장조직의 경우, 염증이 발생되지 않고, 정상적인 용모를 확인할 수 있으나, 대장 내 염증과 종양이 발생되면 조직 염색 관찰 시 침윤 현상에 의하여 형태학적으로 상이하게 붕괴된 모습을 확인할 수 있다. 해당 조직들에서의 조직 염색관찰 결과, Nor 군(Fig. 6A)에서는 어떠한 염증이나 종양이 관찰되지는 않았다. 하지만 NC(AOM/DSS) 군에서 대장의 침윤과 종양이 관찰되었다(Fig. 6B). EMPS 50(Fig. 6C), EMPS 100(Fig. 6D) 및 PC 군(Fig. 6E)에서는 NC(AOM/DSS) 군의 경우보다는 염증 및 종양이 상당히 완화된 것을 확인할 수 있었다. PC 군도 NC(AOM/DSS) 군보다 염증 및 종양이 완화된 것을 확인할 수 있으나 특히, EMPS 100 군은 Nor 군 수준의 조직 형태를 나타내, 염증 및 종양이 현저히 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

### 6. RT-qPCR로 대장 조직 내 mRNA 발현 측정

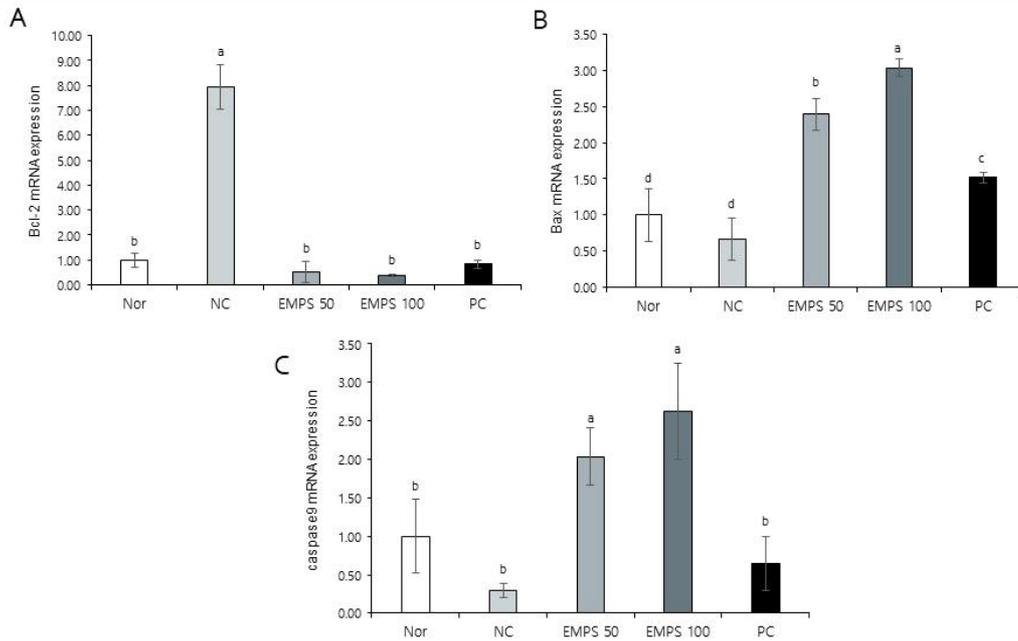
세포의 apoptosis에 관여하는 인자인 Bcl-2 family는 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, apoptosis를 억제하는 인자인 pro-survival regulator와 apoptosis를 유도하는 인자인 pro-apoptosis

regulator가 있다. 본 연구에서는 pro-survival regulator인 Bcl-2, 그리고 pro-apoptosis regulator인 Bax의 mRNA 유전자 발현 수준을 비교하였다(Fig. 7). 그 결과, pro-survival regulator인 Bcl-2의 경우, EMPS 50, EMPS 100 및 PC 군과 비교하여 유의적으로 낮게 나타났다( $p < 0.05$ )(Fig. 7A). 한편 apoptosis를 유도하는 Bax의 발현 수준은 EMPS 50, EMPS 100 및 PC 군이 NC(AOM/DSS) 군과 비교하여 유의적으로 높게 나타났고, EMPS 100 군은 이들보다 가장 높게 발현되었음을 알 수 있었다( $p < 0.05$ )(Fig. 7B). Apoptosis(세포 사멸)는 유전자에 의한 세포사멸의 형태로, 손상된 세포, 비정상세포 및 노화된 세포는 이 과정으로 인하여 스스로 사멸되어진다. 암은 정상 세포와 달라서 세포 분열과 성장과정이 비정상적이므로 세포사멸이 정상적으로 이루어지지 않아서 발생하게 된다. 그러므로 암세포의 apoptosis를 활성화시키는 방법은 암의 증식과 발달을 저해하는 효과적인 방법이다.

Bax와 같은 세포사멸과정의 조절제에 의해 조절되어지는 caspase는 전구체인 pro-caspase 형태로 존재하며, 세포사 활성화 회로에 의하여 자극되면 caspase로 분해되면서 세포사멸을 유도하게 된다. 따라서, 분해 형태의 caspase 3 및 9를 분석하면, 세포사멸의 활성화 정도를 확인할 수 있다. caspase 9의 발현 수준은 EMPS 군이 NC(AOM/DSS) 군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 고농도의 EMPS를 섭취한 군에서 가장 높게 발현되었다( $p < 0.05$ )(Fig. 7C).



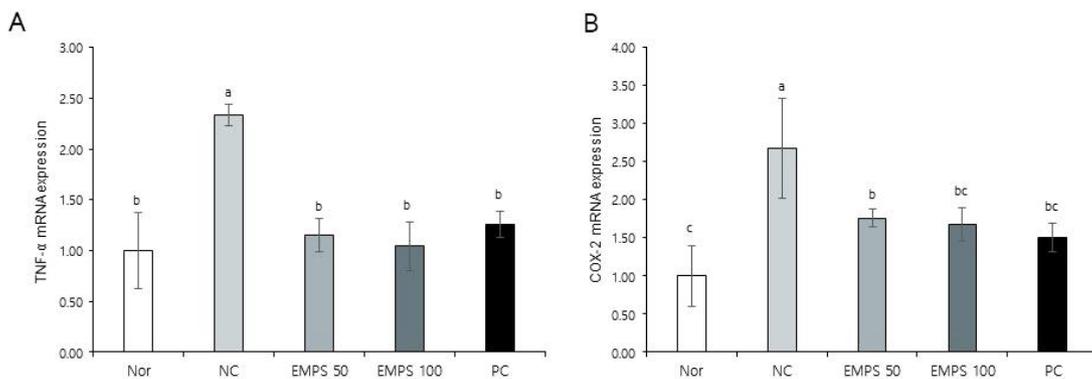
**Fig. 6.** Effects of EMPS of histological observation of colon tissues in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer (H&E staining, 100). A: Nor, B: NC, C: EMPS 50, D: EMPS 100, E: PC. Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU.



**Fig. 7. Effects of EMPS on colon mRNA expression levels of apoptosis related genes (A: Bcl-2, B: Bax, C: caspase-9) in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer.** Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a-d</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

TNF- $\alpha$ (Fig. 8A)와 COX-2(Fig. 8B) 유전자의 mRNA 발현 정도는 Nor 군에 비해 NC(AOM/DSS) 군에서 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 하지만, EMPS 및 positive control로 5-FU를 투여한 마우스에서 NC(AOM/DSS) 군보다 유의적으로 낮게

나타났다( $p < 0.05$ )(Fig. 8). 따라서 EMPS 군이 NC(AOM/DSS) 군과 비교하여 염증관련 유전자들의 발현을 조절하여 염증 반응을 억제함을 보였고, 이 결과는 대장암의 증상을 완화하는데도 효과적으로 활성을 보였다. COX-2 유전자는 발현이



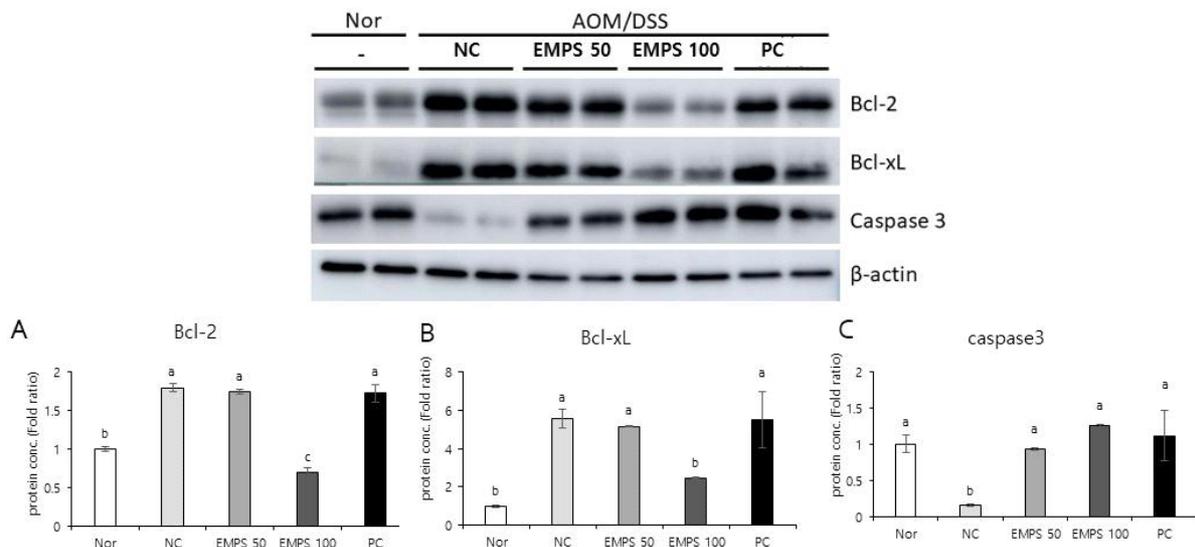
**Fig. 8. Effects of EMPS on colon mRNA expression levels of pro-inflammatory related genes (A: TNF- $\alpha$ , B: COX-2) in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer.** Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a-c</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

증가되면 세포사멸과정에 대한 저항성을 나타내면서 염증반응에 이어서 세포의 암세포 분화 및 성장과정에 관여하고 있다. 본 연구에서 COX-2의 mRNA 발현 양은 EMPS 및 PC 군에서 NC(AOM/DSS) 군보다 유의적으로 낮은 것으로 나타남으로써 세포의 암생성 반응을 억제함을 보였다(Fig. 8B). 영지버섯균사체 다당류의 마우스 복강 내 대식세포로 면역기능을 본 결과 세포의 유사분열 능력을 증가시켰고, TNF의 분비를 현저하게 증가시키면서 숙주의 1차 방어작용에 관여하는 것으로 보고하였다(Kim & Kim 1997). 영지버섯 균사체 배양물로부터 유래된 다당체의 항암작용은 대식세포에서 분비되는 물질에 의한 작용, 종양세포에 대한 독성작용 및 숙주의 면역활성 증가에 의한 것으로 보였다(Baek 등 2001; Baek 등 2002; Park 등 2013). 송이버섯 자실체 유래 조다당류의 위암세포에 대한 항암효과 및 면역증강효과가 있음을 보고하였다(Hur 등 2008). 노루궁뎅이 자실체에서 유래된 조다당류 추출물의 B 림파구 알칼라인 포스파타아제 활성 증가, 총 복강 세포수와 백혈구 수를 증가 결과로 면역을 증강시키는 효과로 sarcoma 180에 대하여 항암효과를 보였다(Choi 등 2010). 상황버섯 자실체 열수 추출물이 sarcoma 180에 대한 항암활성이 높게 나타났다(Lee & Seo 2000). 이와 같이 다양한 종류의 버섯 균사체 혹은 자실체 유래 다당류의 면역증강 및 항암 효능을 보여준 결과와 비슷한 결과를 보여주었다.

## 7. Western blot으로 대장 조직 내 단백질 발현 측정

실험동물의 대장 조직 내 단백질 발현을 측정된 결과 EMPS 및 5-FU를 투여한 마우스에서, 대장조직의 Bcl-2(Fig. 9A)와 Bcl-xL(Fig. 9B)의 발현정도가 감소하였고 caspase 3(Fig. 9C)의 단백질 발현은 증가시켰다(Fig. 9). 이 결과는 대장 조직내 관련 유전자들의 mRNA의 발현 정도와 유사하게 나타났고, 전사 수준 및 단백질 발현 수준 정도도 비슷한 결과를 보였다. 일반적으로 세포사멸은 예정세포사 혹은 세포자살이라고 하며, 다세포 생물체에서 일어나는 현상이다. 세포사멸에 의하여 염색질의 응축, 세포막의 기포 형성, 핵의 단편화 현상과 세포사멸체 형성 등의 세포 형태의 변형이 특징이다. 이러한 세포사멸에 관여하는 단백질 발현을 통하여 대장암 유도 시 증가하는 IL-6 발현이 식용버섯 균사체에 의하여 억제됨을 보였다.

흰목이 자실체 추출 다당류는 sarcoma 180으로 복수암을 유발시킨 쥐에서 B림파구의 alkaline phosphatase 효소 활성 증가, 백혈구수 증가 현상을 보이면서 면역력 증가 및 항암효과를 보였다(Oh 등 2006). 치마버섯 균사체 배양물에서 분리된 다당류의 라디칼 제거 효과, 면역 활성능 등 다양한 활성에 기능성 소재 개발 가능성을 보였다(Lee JW 2014). 상황버섯에서 분리되어진 단백질 결합 다당류는 SW480 인간 결장암 세포의 증식과 콜로니 형성 억제, 특정 암세포의 세포 사



**Fig. 9.** Effects of EMPS on colon protein expression levels of apoptosis related protein (A: Bcl-2, B: Bcl-xL, C: caspase-3) in C57BL/6 mice with AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer. Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU. <sup>a-c</sup>Means with the different letters at the same storage period are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

멸효과로 항종양 효과를 보였다(Li 등 2004). 잎새버섯(*G. frondosa*) 균사체 유래 다당류 추출 분획물의 항암효과를 구강암세포주(KB cell)와 간암세포주(HepG2 cell)에서 암세포 억제 효과를 보였다(Park 등 2012). NO 생성량이 LPS 처리군에 비교하여 상황버섯 균사체 유래한 다당류에서 감소함을 보였고, TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 생성량이 높아지면서 면역증강 생리활성 효과가 있음이 연구되었다(Park & Hong 2017). 잎새버섯 자실체에서 추출한 조다당류를 처리한 비장세포는 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2 및 IL-1 $\beta$  사이토카인 분비량이 1.4배 증가하였고, 백혈구 수가 증가하면서 sarcoma180에 대한 항암효과를 시사하였다(Kim 등 2011). 이와 같이 다양한 종류의 버섯 균사체 또는 자실체 추출 다당류의 항염증 및 항암효과를 보여준 결과와 비슷한 결과를 보였다. 특히 본 연구에서는 식용 백목이버섯 균사체로부터 유래된 다당류의 세포사멸을 유도하고 세포주기를 정지시키며 염증성 사이토카인을 조절하여 대장암 생존 및 증식을 억제할 것이라고 생각된다. AOM 처리에 의한 DNA알킬화에 의하여 암이 유도되었고 AOM/DSS 조합은 만성 염증으로 단기간 내에 대장암을 유도하여 염증을 일으킨 대장 조직에서 식용 백목이버섯 균사체로부터 유래된 다당류가 염증 관련 유전자의 mRNA 및 단백질 발현을 감소시키면서 염증 발생을 억제하면서 대장암에 대한 항암효과를 보여주었다. 백목이버섯 균사체 유래 다당류의 동물실험으로 항암효과와 유사한 연구는 없었으나 다양한 종류의 식용 버섯 추출물로 세포실험에서 면역 및 항암활성이 있었음을 보

였다. 이러한 결과들은 앞으로 결장 혹은 직장암 등 대장조직의 면역개선 및 항암 치료제로서의 활용가치를 제시한다.

8. 장내 미생물 분석

실험동물의 장내 미생물 조성의 phylum level은 Bacteroidetes와 Firmicutes가 장내 주요 미생물이다(Fig. 10A). NC(AOM/DSS) 군에서 Bacteroidetes는 42.4%가 나타나 Nor 군에 비해 증가하였고, Firmicutes는 46.6%의 비율로 Nor 군에 비해 감소하였다. EMPS 투여한 EMPS 50과 EMPS 100 군의 장내 미생물에서 Bacteroidetes의 비율은 각각 43.1%와 31.5%였고, Firmicutes의 비율은 각각 52.1%와 56.9%였다(Fig. 10B). EMPS 투여에 의하여 Bacteroidetes의 비율은 감소하는 경향성을 보이면서 Firmicutes의 비율은 증가하는 경향을 나타냈다. 특히, EMPS 100은 다른 군에 비해 Nor 군과 가장 비슷한 경향을 나타내어 대장암 치료에 효과가 있는 것으로 생각된다. PC 군에서 Bacteroidetes의 비율은 40.6%로 나타나 NC(AOM/DSS) 군에 비해 감소하였고, Firmicutes의 비율은 51.1%로 NC(AOM/DSS) 군에 비해 증가하였으나 그 차이는 크지 않은 것으로 보아 항암제로 인해 장내미생물 균총의 균형이 깨진 것으로 보인다. Bacteroidetes와 Firmicutes의 비율은 Nor 군에 비교하여 NC(AOM/DSS) 군에서 약 40% 증가하는 경향을 보였으나 EMPS를 섭취한 군에서는 이 비율이 감소하는 것을 볼 수 있으며 특히 고농도의 EMPS를 섭취한 EMPS 100 군은 Nor 군과 비슷한 경향성을 나타내었다(Fig.

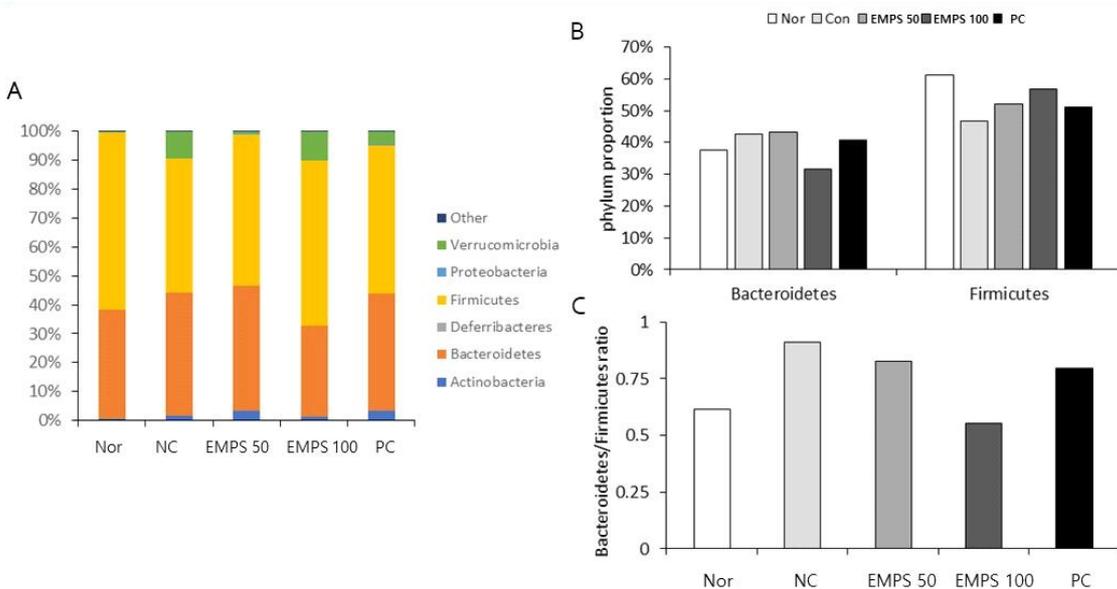


Fig. 10. Gut microbiota composition at the phylum level (A: Composition, B: % of phylum proportion, C: Bacteroidetes/Firmicutes ratio). Nor: Normal diet, NC (AOM/DSS): AOM/DSS+Normal diet, EMPS 50: AOM/DSS+50 mg/kg b.w. EMPS, EMPS 100: AOM/DSS+EMPS 100 mg/kg b.w. EMPS, PC (positive control): AOM/DSS+20 mg/kg b.w. 5-FU.

10C).

비만 및 관련 대사장애, 자가면역질환 및 여러 유형의 암은 장의 세균 불균형 및 미생물 균총 변화 현상을 가져온다 (Gagnière 등 2016). 대장의 dysbiosis(세균 불균형)는 미생물 균총의 변화를 유도하여 미생물 다양성의 손실을 초래한다. AOM/DSS로 처리된 마우스의 대장 상피조직과 점액층은 심각한 손상에 의하여 궤양이 형성되고, 점점 장내 조직들이 파괴되면서 유익균의 수가 감소하고 유해균의 수가 증가한다. 최근 연구에서 대장암 환자는 *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *E. coli*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Peptostreptococcus* 등이 유의성 있게 증가하고 *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Clostridium*이 감소한다고 알려져 있다(Wang 등 2012). 이러한 미생물 변화는 전염증성 병원체를 증가하고 부틸레이트 생성 박테리아를 감소시켜 장내 항상성 불균형(세균 불균형)을 초래하여 종양 형성을 가져온다. 또한 전형적인 대장암 환자에 비교하여 초기 대장암 환자는 미생물 구성이 다르게 나타나면서 장내미생물군의 구성에 따라 종양 진행에 밀접한 관련이 있음을 시사하고 있었다(Yoon CH 2023). 특히 *Firmicutes*는 그람 양성 박테리아이며 짧은 지방산(SCFA)들을 생성하며 대장 상피 세포의 에너지원으로 작용하고 장내 점막 장벽 기능을 회복시키므로 미생물 균총의 변화는 중요한 의미를 갖는다. 만성염증은 암 촉진과 연관되어 발암 과정에서 암세포에 의해 생성된 염증성사이토카인은 염증을 유도한다. 또한, 장내미생물 불균형과 장벽 투과성 증가로 미생물이 결장 염증 현상을 초래하면 용종 현상 즉 대장암의 개시 및 진행이 될 수 있다(Dzutsev 등 2015). 다양한 연구들을 토대로 염증에 의하여 유발된 미생물 균총들의 변화는 대장암의 발달과정에 중요한 역할을 하므로, 식이로 섭취하는 성분에 의하여 장내미생물의 변화를 초래하여 다양한 질병 예방을 도모할 수 있음을 시사한다.

## 요약 및 결론

본 연구의 목적은 AOM/DSS로 유도된 대장암 동물모델에서 EMPS(식용버섯균사체 다당류 : *Tremella fuciformis*)의 항암 효과를 관찰하고자 하였다. 실험군은 Nor(normal), NC(AOM/DSS), EMPS(EMPS 50, EMPS 100), PC(Fluorouracil)군으로 진행하였다. 체중, 대장 길이, 대장조직 내 종양개수, 장기무게, 세포사멸인자 및 전염증성인자의 대장조직 mRNA 발현 및 단백질 발현을 분석하였다.

실험 결과는 AOM/DSS로 유도된 대장암 증상인 체중감소는 EMPS(EMPS 50, EMPS 100) 섭취에 의하여 체중 감소 현상이 억제되면서 체중이 빠르게 회복되었다. 또한 대장 손상으로 대장 길이 감소현상을 EMPS 섭취에 의하여 억제효과

가 유의하게 나타났다. 대장 내 종양의 수는 AOM/DSS 유도군에서 가장 많은 수의 종양을 나타내고, EMPS를 섭취한 군이 종양 발생을 현저하게 감소하였다. 대장 조직의 병리학적 결과에서 AOM/DSS 군에서 대장의 침윤과 종양이 관찰되었으나 EMPS 50, EMPS 100 및 PC 군에서 염증 및 종양이 상당히 완화된 것을 확인할 수 있었다. 세포사멸 억제인자인 Bcl-2 발현은 EMPS 50, EMPS 100 및 PC 군에서 유의적으로 낮게 나타났다, 세포사멸을 유도하는 인자인 Bax의 mRNA 유전자 발현 EMPS 50, EMPS 100 및 PC 군이 AOM/DSS 군과 비교하여 유의적으로 높게 나타났다. 그러므로 암의 발달과 증식을 막는 효과적인 방법은 암세포의 세포사멸을 활성화시키는 것이라고 할 수 있다. 염증관련 TNF- $\alpha$ 와 COX-2 유전자의 mRNA 발현 양은 NC(AOM/DSS) 군에서 유의적으로 증가하였으나 EMPS 및 PC군에서 유의적으로 감소함으로써 세포의 암생성 반응을 억제함을 보였다. 식용 백목이버섯 균사체로부터 유래된 다당류가 염증 관련 유전자의 mRNA 및 단백질 발현을 감소시키면서 대장암에 대한 항암효과를 보여주었다. 마우스의 장내 미생물 조성의 phylum 수준에서 EMPS 투여에 의하여 *Bacteroidetes*의 조성 비율은 감소하는 경향성을 보였고 *Firmicutes*의 비율은 증가하는 경향을 보였다. 이는 염증에 의해 유발된 미생물 균총의 변화가 식이섭취에 의하여 장내미생물의 변화를 초래하여 다양한 질병 예방을 도모할 수 있음을 시사한다.

## 감사의 글

본 논문은 한국생명공학연구원 지원(KGM5482113)을 받아 수행된 연구로 이에 감사드립니다.

## References

- Almeida CA, Barry SA. 2011. Cancer: Basic Science and Clinical Aspects. John Wiley & Sons.
- Baek SJ, Kim YS, Yong HM, Chae JB, Lee SA, Bae WC, Park DW, Kim DY, Lee JW, Park SK. 2002. Antimetastatic effect of proteoglycan isolated from the mycelium of *Ganoderma lucidum* IY009 *in vitro* and *in vivo*. *Yakhak Hoeji* 46:11-17
- Baek SJ, Kim YS, Yong HM, Chae JB, Yun HM, Park DW, Kim DY, Lee JO, Lee JW, Park SK. 2001. Antitumor activities of the proteoglycans from the mycelium of *Ganoderma lucidum* IY009. *Yakhak Hoeji* 45:641-649
- Bin C. 2010. Optimization of extraction of *Tremella fuciformis* polysaccharides and its antioxidant and antitumor activities

- in vitro*. *Carbohydr Polym* 81:420-424
- Boyle P, Langman JS. 2000. ABC of colorectal cancer: Epidemiology. *BMJ* 321:805-808
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254
- Chang HY. 1998. Mycelial properties of *Tremella fuciformis* and *Hypoxylon* sp. *Korean J Mycol* 26:321-326
- Cheng HH, Hou WC, Lu ML. 2002. Interactions of lipid metabolism and intestinal physiology with *Tremella fuciformis* Berk edible mushroom in rats fed a high cholesterol diet with or without Nebacitin. *J Agric Food Chem* 50:7438-7443
- Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F. 1970a. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) sing. (an edible mushroom). *Cancer Res* 30:2776-2781
- Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F. 1970b. Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (pachyman). *Nature* 225:943-944
- Cho SM, Lee JH, Han SB, Kim HM, Yu SH, Yoo ID. 1995. Immuno-stimulating polysaccharides from the fruiting bodies of *Fomitella fraxinea* (II): Isolation and characterization of hot-water extracted polysaccharides. *Korean J Mycol* 23: 340-347
- Choi YI, Lee JS, Lee UY, Lee TS. 2010. Immuno-stimulating and antitumor effects on mouse sarcoma 180 by crude polysaccharides extracted from fruiting body of *Hericium erinaceus*. *J Life Sci* 20:623-631
- Chung JY, Ahn KY, Lee DH, Naruse M, Son YN, Lee JW, Chu SH, Jeon JY, Kim NK. 2011. Analysis of physical activity participation, intention and attitude of patients with colorectal cancer. *J Korean Soc Living Environ Syst* 18:120-128
- Dzutsev A, Goldszmid RS, Viaud S, Zitvogel L, Trinchieri G. 2015. The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy. *Eur J Immunol* 45:17-31
- Gagnière J, Raisch J, Veziat J, Barnich N, Bonnet R, Buc E, Bringer MA, Pezet D, Bonnet M. 2016. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 22:501-518
- Ge X, Huang W, Xu X, Lei P, Sun D, Xu H, Li S. 2020. Production, structure, and bioactivity of polysaccharide isolated from *Tremella fuciformis* XY. *Int J Biol Macromol* 148:173-181
- Hur H, Choi YI, Lee TS. 2008. Antitumor and immunopotentiating activity against mouse sarcoma 180 by crude polysaccharides extracted from fruiting body of *Tricholoma matsutake*. *J Life Sci* 18:1290-1298
- Jeong JK. 2012. Improvement of quality and probiotic effect of *meju* and *doenjang* prepared with mixed starter cultures. Ph.D. Thesis, Pusan National Univ. Busan. Korea, pp. 123-180
- Jung KW, Won YJ, Kong HJ, Lee ES, The Community of Population-Based Regional Cancer Registries. 2019. Cancer statistics in Korea: Incidence, mortality, survival, and prevalence in 2016. *Cancer Res Treat* 51:417-430
- Kim H, You J, Jo Y, Lee Y, Park I, Park J, Jung MA, Kim YS, Kim S. 2013. Inhibitory effects of *Phellinus linteus* and rice with *Phellinus linteus* mycelium on obesity and diabetes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1029-1035
- Kim JH, Cha YJ, Shim JM, Lee MW, Lee TS. 2011. Immuno-stimulating and antitumor effects of crude polysaccharides extracted from fruiting body of *Grifola frondosa*. *Korean J Mycol* 39:68-77
- Kim SW, Kim ES. 1997. Studies on the immunomodulating effects of polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* on macrophage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26:148-153
- Kim SW. 1998. Studies on anti-microbial and anti-cancer functions of polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:1183-1188
- Kim YS, Lee BE, Cho KB, Lee YT, Lee DJ. 2000. Antitumor and immunomodulatory activities of mushroom (*Phellinus linteus*) cultured on oak and mulberry. *Korean J Immunol* 22:165-171
- Lee BE, Ryu SY, Kim EH, Kim YH, Kwak KA, Song HY. 2012. Immunostimulating effect of mycelium extract of *Phellinus linteus*. *Korean J Pharmacogn* 43:157-162
- Lee EJ, Park HS, Lee CJ, Kong WS, Koo CD. 2019. Suitable conditions for mycelial culture of *Tremella fuciformis*. *Korean J Mycol* 47:1-12
- Lee ES, Seo BI. 2000. Characteristics of the polysaccharide extracted from *Phellinus linteus*. *Herbal Formula Sci* 8:281-289
- Lee GH. 2018. Study on the remediation effect of *Bombycis corpus* in DSS-induced colitis model. Master's Thesis,

- Konyang Univ. Nonsan. Korea
- Lee JH, Cho SM, Song KS, Han SB, Kim HM, Hong ND, Yoo ID. 1996. Immuno-stimulation activity and characterization of polysaccharides from mycelium of *Phellinus linteus*. *J Microbiol Biotechnol* 6:213-218
- Lee JH. 2010. Improving effect of lactic acid bacteria in DSS-induced colitic mouse model. Ph.D. Thesis, Kyung Hee Univ. Seoul. Korea
- Lee JW. 2014. Antioxidant and immunological activities of polysaccharide extracted from cultured mycelia of *Schizophyllum commune*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1334-1341
- Li G, Kim DH, Kim TD, Park BJ, Park HD, Park JI, Na MK, Kim HC, Hong ND, Lim K, Hwang BD, Yoon WH. 2004. Protein-bound polysaccharide from *Phellinus linteus* induces G<sub>2</sub>/M phase arrest and apoptosis in SW480 human colon cancer cells. *Cancer Lett* 216:175-181
- Lim BO, Hong DP, Yun JY, Jeoung YJ, Lee JY, Chung HG, Choi DK, Choi WS, Cho BG, Park TK, Park DK. 2005. Immunoregulatory effects of *Phellinus linteus* (Berk. et Curt) Teng extract on the cytokine production, T cell population and immunoglobulin E level in murine mesenteric lymph node lymphocytes. *Korean J Med Crop Sci* 13:213-218
- Liu YW, Liang MT, Tsai YC. 2018. New perspectives of *Lactobacillus plantarum* as a probiotic: The gut-heart-brain axis. *J Microbiol* 56:601-613
- Oh YH, Kim SB, Lee GW, Kim HY, Shim MJ, Rho HS, Lee HS, Lee MW, Lee UY, Lee TS. 2006. The immunomodulatory and antitumor effects of crude polysaccharides extracted from *Tremella fuciformis*. *Korean J Mycol* 34:105-111
- Park CH, Lee GM, Nam EJ, Yu YH, Kim YH, Kwon HJ, Yoon OH, Han MD. 2012. Optimum extraction conditions and anticancer effect of functional polysaccharide from mycelia of *Grifola frondosa*. *Korean J Food Nutr* 25:181-187
- Park HM, Hong JH. 2017. Immune-enhancing effects of polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* mycelium on *Mori ramulus*. *J Korean Soc Food Nutr* 46:26-33
- Park YJ, Nam JY, Yoon DE, Kwon OC, Kim HI, Yoo YB, Kong WS, Lee CS. 2013. Comparison of anti-inflammatory, antioxidant and anti-allergic effects of *Ganoderma* species mycelial extracts. *J Mushroom Sci Prod* 11:111-115
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. 2005. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 55:74-108
- Shim SM, Im KH, Kim JW, Lee UY, Kim HW, Lee MW, Lee TS. 2003. The immuno-modulatory and antitumor effects of crude polysaccharide extracted from *Daedaleopsis tricolor*. *Korean J Mycol* 31:161-167
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444:1027-1031
- Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, Jia W, Cai S, Zhao L. 2012. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J* 6:320-329
- West DW, Slattery ML, Robison LM, Schuman KL, Ford MH, Mahoney AW, Lyon JL, Sorensen AW. 1989. Dietary intake and colon cancer: sex- and anatomic site-specific associations. *Am J Epidemiol* 130:883-894
- Yoo SH, Kang SA. 2021. Anti-inflammatory effects of polysaccharides isolated from *Tremella fuciformis* mycelium on dextran sulfate sodium-induced colitis model. *Korean J Food Nutr* 34:146-155
- Yoon CH. 2023. The role of intestinal microflora in colon cancer. Available from <https://doi.org/10.22800/kisti.kosen.expert.2023.1075> [cited 24 November 2023]
- Yoon JW, Saerom Bio Co., Ltd. 2008. Hypoglycemic exopolysaccharides from *Tremella fuciformis* mycelium and a preparation method thereof. KR Patent 10-2008-0079962

Received 03 May, 2024

Revised 29 May, 2024

Accepted 05 June, 2024