

복강암세포(Sarcoma-180)를 이식한 마우스에서 상황버섯(*Phellinus linteus*) 추출물이 백혈구 화학주성(chemotaxis)능에 미치는 영향

단국대학교 자연과학대학 미생물학과

조홍식 · 윤정중 · 이연태

The Effect of *Phellinus linteus* on Leukocytes Chemotaxis in Mouse Transplanted with Sarcoma-180 Tumor Cells

Hong-Sik Cho, Jeong-Joong Yoon and Yun-Tai Lee

Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

The purpose of this experiment is to examine the effects *Phellinus linteus* on leukocyte migration, the number of leukocytes and the cytotoxicity of *Phellinus linteus* extract against human cancer cell line. The results were as follows; The chemotaxis of leukocytes from *Phellinus linteus*-treated mice was significantly increased. The number of leukocytes cells significantly increased in *Phellinus linteus*-treated tumor-bearing mice. The cytotoxicity against human cancer cell lines of *Phellinus linteus* extract was not significant by changed. According to these results, *Phellinus linteus* could activate chemotatic leukocytes, increase the number of leukocytes and have no cytotoxic activity on human cell lines.

Key Words: Leukocytes chemotaxis, Sarcoma-180 cells, *Phellinus linteus*

서 론

면역증강을 나타내는 물질로서 낮은 독성을 나타내는 새로운 물질의 개발은 효모, 조류, 박테리아, 고등 식물 그리고 특정한 진균류 등으로부터 얻은 많은 다당체에 대한 항 종양 및 면역조절제(Immuno-modulator) 활성 등에 대한 연구에 의해 진행되어 왔으며,^{12,25,47)} 이러한 다당체의 항 종양 활성은 숙주세포의 면역계를 자극함으로써 일어난다고 보고되었다.^{7,12,28)}

예로부터 약용으로 많이 사용되던 담자균류의 항암 성분에 관한 연구는 1950년대부터 본격적으로 시작되었는데, Roland등³⁸⁾은 *Calvatia gigantea*로부터 담자균 최초의 항암성분을 분리하여 calvaine라 명명하였고, Gregory¹⁶⁾는 대대적인 검색을 통하여 20속 50군주의 항암력을 확인하였다. 이같은 담자균류로부터 분리된 다당체는 단백질다당체인데 이들은 기존의 세포독성 항암제들과는 대조적으로 암세포에 독성을 나타내지 않으며 숙주의 면역기능을 통하여 간접적으로 항암력을 나타내기 때문에²⁴⁾ 이들 담자균류의 항암성 단백질

다당체는 화학요법들과 달리 뚜렷한 부작용이 없을 뿐만 아니라 화학 요법제의 부작용을 완화하기도 한다고 하였다.³⁴⁾

한편, Ikegawa 등^{19,20)}은 표고버섯(*Lentinus edodes*) 등 수종의 식용버섯의 항암효과를 확인하였으며, 표고버섯 자실체로부터 lentinan,¹¹⁾ 구름버섯(우지, *Coriolus versicolor*) 균사체로부터 PS-K (Krestin),¹¹⁾ 치마버섯(*Schizophyllum commune*) 균사체로부터 schizophyllan²⁴⁾ 등의 항암성분이 발견되었고, 이것들은 비특이적인 면역자극을 일으킨다고 하였다. 때문에 이들은 암의 보조적 치료제로서 뿐만 아니라 면역조절제 또는 일종의 생물학적 반응조절제(biological response modifier, BRM)로서 각종 면역관련 질환의 치료 및 예방제로서 새로운 관심의 대상이 되고 있다. 이외에도 *C. versicolor*의 균사 배양물로부터 분리한 단백다당체 Licovex는 면역요법성 간염치료제로 이용되고 있다.³⁶⁾

이러한 물질의 중앙억제효과는 중앙세포에 대한 독소로서의 작용에 의한 것이 아니라 간접적 혹은 숙주중재성에 의한 것이라고 추측하였으며,⁴²⁾ 버섯류로부터 추출된 많은 다당체는 생물학적 반응조절제로 작용한다고 보고된 바 있다.^{17,24,33)} 그러나 상황버섯(*Phellinus linteus*)의 다당체에 의한 면역조절에 관한 연구는 보고된 바가 많지 않다.²³⁾

상황(일명: 목질진흙버섯)은 상목(*Morus alba* L.), 양(楊, *Populus* spp.), 유(柳, *Salix* spp.), 백화(白樺, *Betula Platyphylla* suk.), 락(絡, *Quercus* spp.), 거수(*Zelkova schneideriana* Hano-Mazz.), 두견(杜鵑, *Rhododendron Simsii* Planch.), 사조화(*Cornus Kousa* HANE-Var. *chinensis* Osborn) 등의 광엽수(廣葉樹)의 수간(樹幹)에 자생하는 *Phellinus igniarius* (L. ex FR.)의 약물명을 말하고 있으나, 진정한 상황은 상목(*Morus alba* L.)의 수간에서 자생하는 *Phellinus linteus* (Berk, et curt Asoshima=*Phropolyporus yucatensis* Murr)를 말한다. 이 *Phellinus linteus*는 *Phellinus igniarius*와는 달리 상목에 자생하고, 이 버섯의 샷갓의 표면을 제외하고는 모두 황색이므로 한명(漢名)으로는 간황(幹黃)이라고 한다.¹⁾

본 실험에서 사용한 *Phellinus linteus* (桑黃)는 소나무비늘과 진흙버섯속에 속하며 뽕나무 등 오래된 나무에 붙어 자라는 다년생의 버섯으로³⁵⁾ 항암효과는 Ikegawa 등^{19,20)}에 의해 최초로 확인된 바 있으나, *C. versicolor* 등과는 달리 희귀종류로 인공배양법이 발견

되지 않아 자실체의 항암성분을 의약품으로 개발하기에는 불가능하였다.

따라서 본 연구는 최근 버섯 중에서도 상황버섯 추출물이 암을 유발시킨 마우스의 세포성 면역에 관계하는 세포들의 활성화 및 암세포 증식을 억제하는 효과를 연구해보기 위하여 ICR계 마우스 피하 및 복강에 Sarcoma-180 복강암 세포를 이식시키고 상황버섯 추출물을 경구투여한 후, 백혈구의 화학주성능을 백혈구의 분포 및 암세포에 대한 세포독성능을 알아보기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

1) 실험 동물

본 실험에 사용한 마우스는 1997년 8월 충남 성환 동물 사육 농장에서 체중 20±1 g의 정상 ICR 계 마우스를 구입하여 실험군마다 각각 동수를 사용하였으며, 실험 기간 중에는 암, 수 구별없이 사용하였다.

2) 암세포의 이식

(1) 복강암 세포주

본 실험에 사용한 암 세포주는 마우스 복강암 세포(Sarcoma-180)²⁷⁾로 가톨릭 의과대학 미생물학교실에서 분양받아 사용하였다. 분양받은 Sarcoma-180 복강암세포를 무균적으로 채취하여 pH 7.3, Hank's Balanced Salt Solution (HBSS, Gibco, Grand Island, NY)으로 250×g (Kubota, KN-70, Japan)에서 15분간 2회 원심 세척한 후 1×10⁶ cells/ml의 세포농도로 조정하여 ICR 계 마우스 복강내에 15일 간격으로 계대 이식하여 사용하였다.

실험 동물 복강에서 얻은 Sarcoma-180 세포를 HBSS로 250×g에서 15분간 2회 원심세척한 후 다시 부유시켜 1×10⁶ cells/ml되게 조정하여 0.2 ml씩 마우스 피하에 접종하였다.

3) 시료제조 및 투여방법

본 실험에 사용한 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 강원도 춘천의 강원버섯농장에서 구입한 후 증류수로서 중탕 추출하여 membrane filter (0.45 μm)로 여과한 후, 무균적으로 50 ml씩 conical tube에 분주하여 사용할 때까지 -20°C에 보관하였다가 사용하였다.

마우스는 대조군과, 서해부와 복강에 암을 이식한 시험군으로 각 15마리씩 나누어 시험하였으며, 시험군은 분리된 각 군에 상황버섯 추출물을 0.2 ml씩 매일 일정시간에 경구투여 하였으며, 대조군은 동량의 생리식염수를 매일 일정시간에 경구투여 하였다.

4) 백혈구의 분리

백혈구 분리 및 유능능의 실험은 이등^{2,3,6)}의 방법을 사용하였다. 즉, ICR계 마우스의 혈액을 heparin을 10 unit/ml 첨가하여 각 군당 15 ml을 무균적으로 채혈하였으며, 동량의 3% dextran을 가해 혼합하고 37°C에서 1시간 방치하였다. 반응시간 후 상층액을 회수하여 HBSS로 450×g에서 20분간 원심세척 하였으며, 상층액을 버리고 침사 백혈구와 잔여 적혈구에 4 ml의 냉증류수를 30초 동안 가하여 잔여 적혈구를 파괴시킨 후, 다시 1.8% 생리식염수 4 ml를 넣어 완충시킨 후 HBSS를 첨가하여 250×g에서 20분 원심분리하여 상층액을 버리고 침사 백혈구에 HBSS를 가해 백혈구 부유액을 만들었다. 이 부유액을 hemocytometer로 세포수를 1×10^6 cells/ml이 되도록 조정하여 실험에 사용하였다.

5) 화학주성능 분석

본 실험에 사용한 화학주성인자는 MacConkey agar에서 배양한 *Escherichia coli* (ATCC 25922)를 RPMI 1640 세포배양액에 접종하고 37°C에서 48시간 배양한 후 3,000×g에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 분리하였으며, -20°C에 보관하였다가 실험할 때 마다 RPMI 1640 조직배양액을 가해 1 : 4로 희석하여 사용하였다.⁶⁾ 실험에 사용한 chamber는 Boyden의 것을 변형 개조한 modified Boyden chamber (B 312)을 사용하였고, Nucleopore membrane filter는 pore size 3 μ m, 직경 13 mm인 polycarbonate filter를 사용하여 백혈구의 화학주성능을 측정하였다.⁴⁾

Chamber 하단에는 화학주성 인자를 가한 후 그 위에 filter를 기포가 생기지 않도록 완전히 접촉시키고, filter의 상단에 분리한 백혈구를 가한 후 37°C에서 60분간 작용시켰다.³⁾ Nucleopore membrane filter의 염색은 먼저 filter를 핀셋으로 chamber에서 꺼낸 후 99% ethanol로 30초 동안 고정하였다. 고정 후 Mayer's Hematoxylin solution에서 6분간 염색하고 3차 증류수에 2~3초간 세척한 후 Wright solution에서

4분간 염색하였다. 염색한 filter를 광학현미경상에서 400배로 확대하여 유주한 백혈구수를 20시야 세었고 그 평균치를 성적으로 하였다.^{5,45)}

6) 백혈구 분포 측정

각 군별 마우스의 백혈구를 종류별로 측정하기 위해 상황버섯 추출물 처리군과 대조군의 혈액을 각 군별로 20장씩의 혈액도말을 제작하여 시행하였다. 즉 Wright's액으로 염색을 한 후 현미경 상에서 100개의 다형핵 백혈구를 측정하여 각 백혈구 세포의 비율을 수치로 나타내었다.

7) Cytotoxicity

제조한 시료의 세포독성 여부는 SRB (Sulforhodamine B) assay^{39,41)}에 의하여 판독하였다. 즉, 인간 폐암 세포주인 A549, 자궁암 세포주인 SK-OV-3, 피부암 세포주인 SK-MEL-2, 결장암 세포주인 HCT 15 그리고 중추신경계 세포주인 XF498에 대한 상황버섯 추출물을 trypsin으로 처리한 세포 부유물에 첨가하여 측정하였다. 먼저 A549와 HCT15는 5×10^3 cells/ml, SK-MEL-2와 XF498은 1×10^4 cells/ml, SK-OV-3은 2×10^4 cells/ml 세포가 포함된 배지 150 μ l를 96 multi well plate에 넣어 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후, 배지를 제거하고 새 배지에 여러농도의 상황버섯 추출물을 첨가하여 48시간 방치하였다. 그 후, 배지를 제거하고 차가운 10% TCA (Trichloroacetic acid) 용액 100 μ l를 위에서 천천히 가해주고 TCA가 바닥에 가라앉도록 잠시 기다린 후 조심스럽게 냉장고로 옮겨 1시간 동안 충분히 고정시켰다. 고정이 끝난 후에는 TCA용액을 제거하고 세척하여 상온에서 건조시킨 후, 고정된 세포는 1% acetic acid에 녹인 0.4% SRB (Sulforhodamine B) 용액 100 μ l를 가하여 30분간 염색하였다. 염색이 끝난후 1% acetic acid로 5회 세척하여 건조시키고 100 μ l의 10 mM unbuffered Tris 용액으로 SRB dye를 잘 녹여내어 MR 700 microplate reader (Dynatech. Lab.)로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 각 well에 존재하는 총 단백질의 양을 나타내며, 그 well에 남아있는 생존세포들의 수와 비례한다.

결 과

1) 정상 마우스 다형핵 백혈구의 최적 유주시간

백혈구의 시간별 유주능의 적합한 시간을 알아보고자 10마리의 마우스로부터 혈액을 채혈한 후, 백혈구 세포를 분리하여 유주시험을 시행한 결과 Fig. 2와 같았다. 즉, 37°C에서 30분, 60분, 90분, 120분간 관찰한 결과 60분간 반응시키는 것이 가장 양호하였다.

2) 실험군과 대조군의 다형핵백혈구 유주능

대조군과 상황버섯추출물을 처리한 시험군으로부터 얻은 백혈구의 유주능을 modified Boyden chamber를 이용하여 3회에 걸쳐 측정해 본 결과 Table 1과 같이 나타났습니다.

즉, 생리식염수를 투여한 정상마우스의 유주한 백혈구수의 평균치는 30개로 측정되었으나, 서혜부에 암을 유발시키고 생리식염수를 투여한 군의 평균치는 65개로 백혈구 유주능이 다소 증가하였다. 그러나 피하에 암을 유발시키고 상황버섯 추출물을 투여한 실험군의 평균치는 93개로 대조군에 비해 우수한 유주능을 보였으며, 특히 암을 복강에 유발시키고 상황버섯추출물을 투여한 실험군의 경우, 유주한 백혈구수의 평균치는 250개로 대조군에 비해 8배 이상이나 월등히 우수한 유주능을 보였다.

3) 백혈구 세포수

대조군과 상황버섯추출물을 처리한 시험군으로부터 각각의 백혈구 세포수를 측정하여 평균치를 계산한 결과, 생리식염수를 투여한 정상 마우스의 경우, 분엽핵 호중구와 림프구는 각각 25.0%와 73.0%로 나타난 것에 비해, 서혜부에 암을 유발시키고 생리식염수를 투여한 군은 각각 37.4%와 60.4%로 호중구가 증가되는 경향을 나타내었다.

또한 상황버섯 추출물을 처리한 시험군의 경우, 서혜부에 암을 유발한 시험군은 각각 47.8%와 51.5%로 나타났으며, 복강에 암을 유발시킨 시험군은 각각 59.3%와 38.8%로 대조군에 비해 호중구가 증가하는 경향을 나타내었다(Table 2).

Table 1. Effect of *Phellinus linteus* on chemotactic activity of peripheral leukocytes in ICR mouse

Treatment	No. of migrated leukocytes
Normal mice (Control)	30±2.5
Normal mice (<i>P. linteus</i> treated)	32±3.2
Tumor-bearing mice (Control; Subcutaneous)	65±3.2
Tumor bearing mice (<i>P. linteus</i> treated; Subcutaneous)	93±2.5
Tumor bearing mice (<i>P. linteus</i> treated; Abdomen)	250±6.5

Table 2. Differential count of peripheral blood leukocytes in ICR mouse

Types of cells	Normal mice (Control)	Tumor bearing mice (Control ; subcutaneous)	Tumor bearing mice (<i>P. linteus</i> treated ; subcutaneous)	Tumor bearing mice (<i>P. linteus</i> treated ; Abdomen)
Band neutrophil	0	0.2	0	0.5
Segmented neutrophil	25	37.4	47.8	59.3
Lymphocytes	73	60.4	51.5	38.8
Monocytes	1	2	0.8	1.5
Eosinophil	1	0	0	0
Basophil	0	0	0	0

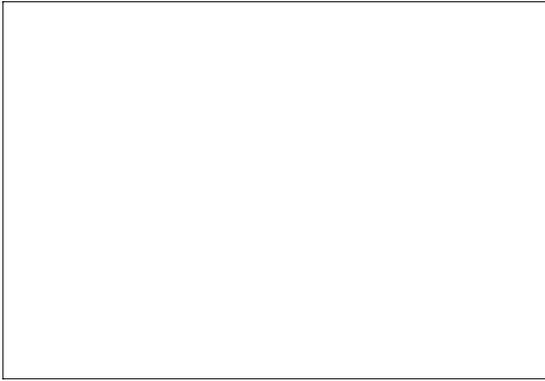


Fig. 1. Migration of polymorphonuclear leukocytes during incubation at 37°C.

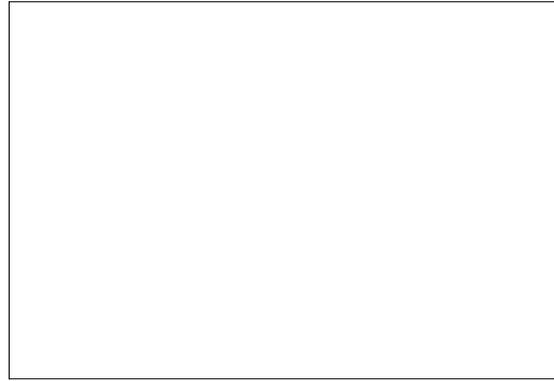


Fig. 2. Cytotoxic activity of *P. linteus* in A549 cell line.

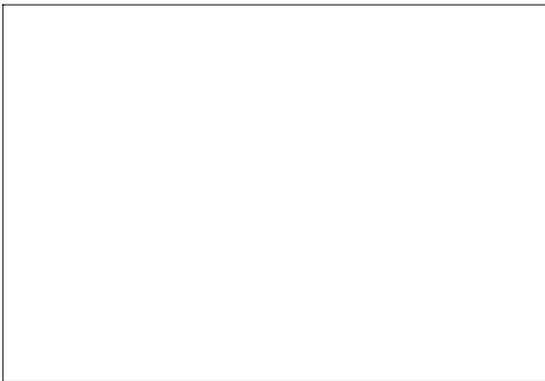


Fig. 3. Cytotoxic activity of *P. linteus* in SK-OV-3 cell line.



Fig. 4. Cytotoxic activity of *P. linteus* in SK-MEL-2 cell line.

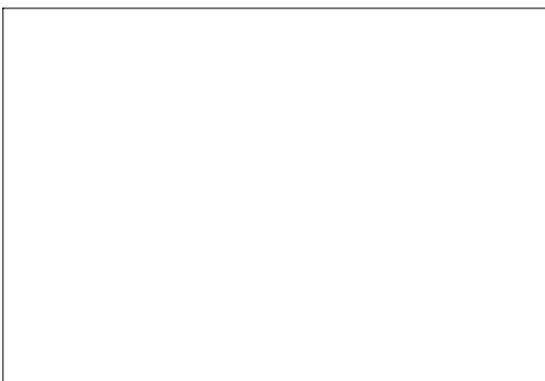


Fig. 5. Cytotoxic activity of *P. linteus* in HCT15 cell line.



Fig. 6. Cytotoxic activity of *P. linteus* in XF498 cell line.

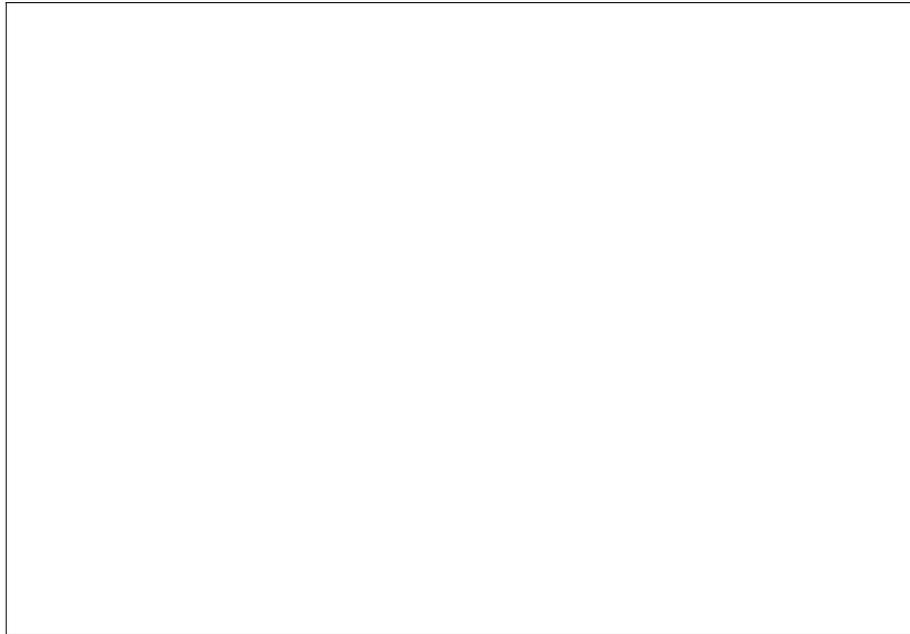


Fig. 7. PMNs at the lower surface of nucleopore membrane filter after chemotaxis assay (×1,000).

4) 상황버섯추출물의 암세포에 대한 세포독성

상황버섯추출물이 암세포에 대해 직접적인 세포독성이 있는지를 알아보기 위해 인간폐암 세포주인 A549, 자궁암 세포주인 SK-OV-3, 피부암 세포주인 SK-MEL-2, 결장암 세포주인 HCT 15 그리고 중추신경계 세포주인 XF498을 이용하여 상황버섯 추출물의 각 농도별로 SRB assay를 시행한 결과, Fig. 2~6과 같이 나타났다.

즉, A 549세포주의 경우, 상황버섯 추출물의 농도가 6.25 µg/ml일 때 102.5%인데 반해 농도가 200.0 µg/ml일 경우 99.5%로 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. SK-OV-3 세포주는 각각 101.6%, 93.0%, SK-MEL-2 세포주는 각각 98.7%, 85.0%, XF498 세포주는 각각 90.2 %, 85.0%, 그리고 HCT 15 세포주는 각각 104.7%, 106.7%로 나타나 세포에 대한 직접적인 세포독성은 거의 없는 것으로 나타났다.

고 찰

면역계에는 T림프구와 B림프구가 있다는 사실이 Cooper¹⁷⁾에 의해 밝혀진 이래 이들 T와 B림프구들은

각각 독자적으로 혹은 상호 의존적으로 생체의 면역기능을 수행하며, 임파구는 세포성 및 체액성 면역반응에 관여하고, 단핵구는 조직내에서 대식세포로 분화하여 이물질의 탐식 및 탐식된 이물질을 항원으로 인식할 수 있도록 임파구에 신호를 전달하여 면역반응이 일어나는 것으로 알려져 있다.

혈액세포는 간세포(stem cell)에서 분화되고 성숙되는데, 이중 백혈구에 속하는 각종 세포들이 면역반응에 관여하고 혈관계를 순환하며 체내에 침입한 이물질을 탐식하여 처리하는 식세포의 일종으로 알려져 있는데, 그러한 역할을 하는 세포로는 혈관 순환 백혈구와 조직내에 고착된 대식세포가 있으며, 이와같은 다양한 백혈구는 생체내에 존재하면서 직접, 간접으로 각종 형태의 면역반응에 참여하여 생체를 보호하는 기전이 확인되었다.⁹⁾

이러한 면역세포들이 이동하는 원인은 대개 화학주성 때문이라고 알려져 있는데, 이것은 백혈구 또는 대식세포 등이 특정 화학물질에 의해 이동하는 현상으로서 백혈구의 유주능은 Leber 에 의해 최초로 관찰되었고,²⁶⁾ 그 후 Metchnikoff가 유주 혈액세포에 의한 이물질의 탐식 기능을 최초로 관찰한 후 더욱 관심을 갖

게 되었다.²⁹⁾

특히 백혈구의 화학주성능에 관한 연구는 실험방법의 발달로 시험관내에서도 정확히 평가할 수 있는 방법이 Boyden¹⁰⁾에 의해서 처음으로 개발되었고, 뒤이어 Wilkinson⁴⁶⁾에 의해 Boyden chamber를 변형 개조하여 백혈구의 유주능을 평가하는 방법이 고안되었으며, 또 많은 종류의 화학주성인자에 대한 백혈구의 유주능도 보고된 바 있다. 그후 Synderman과 Pike,⁴³⁾ Ward와 Maderazo⁴⁵⁾에 의해 백혈구 및 대식세포의 유주능 측정법이 보완되었다.

한편, Keller과 Sorkin²²⁾은 *Staphylococcus albus*와 *E.coli* 배양여과액을 화학주성인자로 사용한 경우 neutrophil의 유주성능이 효과가 있었다고 하였으며, Ward⁴⁶⁾도 *Staphylococcus albus*, α -hemolytic Streptococcus, *E.coli*와 *Proteus mirabilis* 등의 배양여과액이 neutrophil의 화학 주성능에 미치는 영향을 관찰하였다. 그후 Wilkinson⁴⁸⁾은 많은 종류의 amino acid 및 단백질을 백혈구 유주능에 뚜렷한 영향을 미친다고 하였고 Schiffman⁴⁰⁾ 및 Aswanikumar⁴⁸⁾은 합성 peptide인 N-formylmethionylpeptide chemotactic factor, 보체성분(C5a) 및 세균배양여과액을 화학주성인자로 사용하여 백혈구 및 대식세포의 유주능을 조사하였을 때 peptide계가 가장 우수한 유주능을 유발한다고 하였으며 이외에도 보체 C3a, C5a 성분, 그리고 zymosan도 백혈구와 대식세포의 유주능을 촉진한다고 보고되었다.⁴⁹⁾ 또한 오등²⁾은 인삼, 녹용 추출물 및 대장균 배양액으로 사람의 백혈구 유주능을 측정하였을 때, 이들 추출물이 백혈구 유주능에 영향을 준다고 하였다.

본 연구에서도 상황버섯 추출물이 일반적으로 대조군에 비하여 우수한 면역증강작용을 나타내어 백혈구의 유주능을 증가시켰음을 알 수 있었다. 따라서 본 실험의 결과에 의하면 상황버섯 추출물의 유효성분이 면역증강작용을 나타낸다는 사실을 알 수 있었으나, 아직 국내에서 이에 대한 연구가 부족한 실정이므로 다방면에 걸쳐서 이에 대한 연구가 병행되어야 한다고 사료된다.

결 론

1) 상황버섯 추출물이 백혈구의 화학주성능에 미치는 영향을 알아보기 위해 modified Boyden chamber

로 micropore filter assay를 이용하여 측정한 결과를 살펴보면 암을 유발시키지 않은 마우스에서는 상황버섯 추출물을 투여한 군의 백혈구 유주능(32개)과 투여하지 않은 군의 백혈구유주능(30개)사이에서 거의 차이가 없지만, 암을 유발시킨 경우, 생리식염수 투여군의 백혈구유주능(서혜부; 65개)과 상황버섯추출물 투여군의 백혈구유주능(서혜부; 93개, 복수암유발; 250개)을 비교한 결과, 상황버섯추출물 투여군의 백혈구 화학주성능이 높게 나타남을 알 수 있었다.

2) 대조군과 상황버섯추출물을 처리한 시험군으로부터 백혈구의 평균수치를 측정하여 본 결과, 생리식염수를 투여한 정상 마우스의 경우, segmented neutrophil과 lymphocytes의 비율이 25.0 : 73.0으로 나타났으나, 생리식염수를 투여한 암 유발 군의 평균치는 37.4 : 60.4로 neutrophil이 증가되는 경향을 나타냈으며, 상황버섯 추출물을 처리한 시험군의 경우, 피하에 암을 유발한 시험군의 평균치는 47.8 : 51.5로 나타났고, 복강에 암을 유발시킨 시험군의 평균치는 59.3 : 38.8로 대조군에 비해 neutrophil이 증가하는 경향을 나타내었다.

3) 상황버섯추출물이 세포에 대해 직접적인 세포독성이 있는지를 알아보기 위해 인간폐암 세포주인 A549, 자궁암 세포주인 SK-OV-3, 피부암 세포주인 SK-MEL-2, 결장암 세포주인 HCT 15, 그리고 중추신경계 세포주인 XF498을 이용하여 상황버섯 추출물의 각 농도별로 SRB assay를 시행한 결과 세포에 대한 직접적인 세포독성은 거의 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 보면 상황버섯 추출물이 다형핵 백혈구의 화학주성능에 미치는 영향은 정상일때 보다 비정상 상태일 때 활성화시키며 백혈구의 수치 또한 증가시키고, 세포에 대한 직접적인 세포독성은 없는 것으로 보아 백혈구 등의 면역세포의 기능을 활성화시켜 암세포의 증식을 억제하는데 어느정도 기여하는 것으로 사료되어진다.

참고 문헌

- 1) 야마나 세이쥬. *Phellinus linteus* 균사체의 배양방법. 대한민국 특허청 특허공보, 1994 공고번호 92-1194.
- 2) 오재세, 이연태, 오석훈. 고려홍삼, 녹용유출물 및 대장균 배양액이 백혈구의 Chemotaxis에 미치는 영향. 대한미생물학회지 1985; 20: 247.
- 3) 이미숙, 정규선, 이연태. 영지추출물이 백혈구의 Che-

- motaxis에 미치는 영향. 대한면역학회지 1988; 10: 167.
- 4) 이연태, 곽주희. 영지(*Ganoderma lucidum*)의 마우스 복강 암세포에 대한 NK 세포 활성화 및 세포성 면역 효과. 숙명여자대학교 대학원 석사학위논문, 1993.
 - 5) 이연태, 이종훈. 세균 및 바이러스 처리 후 백혈구 Chemotaxis에 관한 연구. 대한바이러스학회지 1980; 10: 77.
 - 6) 이연태, 이종훈. 장티푸스 환자의 다형핵 백혈구에 대한 chemotaxis에 미치는 영향. 대한면역학회지 1979; 1: 1.
 - 7) Arika T, Amemiya K, Matsuo T, Kato T. Experimental anti-tumor activity of schizophyllan. Proc. 13th Intl. Congr. *Chemotherapy* 1983; 238, 53-58.
 - 8) Aswanikumar S, Schiffman E, Corcoran BA, Wahl SM. Role of a peptidase in phagocyte chemotaxis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 2439-2442.
 - 9) Bjorksten B, Quie PG. Abnormalities of circulating phagocyte function; recent advance in clinical immunology. Edited by Thompson RA, Churchill Livingstone and New York. 1977, 181-202.
 - 10) Boyden SV. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocyte chemotaxis. edited by John I. Gallin & Quie, Raven Press, New York 1962, 67-71.
 - 11) Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F. Fractionation of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk) Sing(an edible mushroom). *Cancer Res* 1970; 30: 2778.
 - 12) Chihara G. Immunopharmacology of lentinan and the glucans. *Rev Immunol Immunopharmacol* 1984; 4: 48- 96.
 - 13) Clark RA, Kimball HR. Defective granulocyte chemotaxis. edited by John I. Gallin & Quie, Raven Press, New York. 1971, pp 67-71.
 - 14) Cooper MD, Peterson RDA, Soutj MA, Good RA. The function of the thymus and bursa system in the chicken. *J Exp Med* 1966; 123: 75.
 - 15) Gallin JE, Quie PG. Leukocyte chemotaxis, Raven Press, 1978.
 - 16) Gregori F, Healy EM, Agerbory HP. Studies on antitumor substance produced by Basidiomycetes. *Mycologia* 1966; 58: 80.
 - 17) Hamuro J, Rollinghoff M, Wagner H. *Cancer Res* 1978; 38: 3080-3085.
 - 18) Hengst JCD, Mitchell MS. Principles of combining biological response modifiers with cancer chemotherapy. In Hellmann K, Carter SK (Eds). *Fundamentals of cancer chemotherapy*. McGraw-Hill Book Co., New York, 1987, 64-75.
 - 19) Ikegawa T, Nakanishi M, Uehara N, Chihara G, Fukuoka F. Antitumor action of some basidiomycetes especially *Phellinus linteus*. *Gann* 1988, 59, 155.
 - 20) Ikegawa T, Nakanishi M, Pukioha P. Antitumor activity of aqueous extract of some edible mushrooms. *Cancer Res* 1969; 29: 734.
 - 21) Kabat EA, Mayer MM. Capiary tube technique. *Experimental Immunochemistry* 1961, 72.
 - 22) Keller HU, Sorkin E. Studies on chemotaxis V, on the chemotactic effect of bacteria. *Int Arch Allergy* 1967; 31: 505.
 - 23) Kim HM, Han SB, Oh GT, Kim YH, Hong DH, Hong ND, Yoo ID. Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int J Immunopharmac* 1996; Vol. 18: No. 5, 295-303.
 - 24) Komatsu N, Okubs S, Likumoto S, Kimura K, Saito G, Sakaki S. Home-mediated antitumor action of schizophyllan a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gene* 1969; 60: 137.
 - 25) Kraus J, Franz G. b (1~3) glucans; anti-tumor activity and immunostimulation. In *Fungal Cell Wall and Immune Response*, 31-444, Springer-Verlag, Berlin, 1991.
 - 26) Leber T. Uber die Entstehung der Entzündung und die Wirkung der entzuneugenden Schadlichkeiten. *Fortschritte der die Medizin*. 4: 460.
 - 27) Manson MD, Segell JE. Chemotaxis, *Encyclopedia of microbiology*, Academic Press, 1: A-C, 1992, pp 501-512.
 - 28) Matsuo T, Arika T, Mitani M, Komatsu N. Pharmacological and toxicological studies of a new antitumor polysaccharide, Schizophyllan. *Arzneim Forsch. Drug Res* 1982; 32: 647-656.
 - 29) Metchnikoff E. *Immunity in infective diseases*. London, Cambridge Univ. Press, 1905.
 - 30) Miller ME, Oski FA, Harris MP. Lazy leukocyte syndrome a new disorder of neutrophil function. *Lancet* 1971; 1: 665.
 - 31) Miller ME. Phagocytosis in the newborn infant, humoral and cellular factors. *J Pediatrics* 1969; 74: 255.
 - 32) Mowat AG, Baum J. Chemotaxis of Polymorphonuclear leukocytes from patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1971; 50: 2541.
 - 33) Mueda YY, Chihara G. *Natural* (London). 1971; 229: 634.
 - 34) OhHashi F, Kataoka T, Tsugagoshi S. Effect of combined use of anticancer drugs with a polysaccharide preparation. Kreatin on mouse leukemia P388. *Gann* 1976; 67: 713.
 - 35) Park WH. *Colored fungi of Korea*. Kyo-Hak Pub. Co, Seoul, 1991, 504.
 - 36) Park YM, Yoon SK, Park SH, Baeg NJ, Kim BS. Efficiency and safety of *Coriolus versicolor* polysaccharide(Licovek) in the treatment of chronic type H. *hepatitis*. *Kor J Pharmacol Ther* 1993; 1: 45.

- 37) Quie PG, Davis TA. Phagocytic and granulocytic disorders. 1973, pp. 273-288.
- 38) Roland JF, Chmielwicz ZF, Weiner BA, Gross A, Boening OP, Luck JV, Bardos TJ, Reall HC, Sugiura K, Stock CC, Lucas EH, Scevena JA. Calvacine a new antitumor agent. 1960; *Science* 132: 1987.
- 39) Rubinstein LV, Shoemaker RH, Paull KD, Simon RM, Tosini S, Skehan P, Scudiero DA, Monks A, Boyd MR. Comparison of in vitro anticancer-drug screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1113-1118.
- 40) Schiffman E, Corcoran BA, Aswanikumar S. Molecur events in the response of neutrophils to Synthetic N-FMET chemotactic peptides. Raven press, New York, 1978, pp 97-112.
- 41) Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren T, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *N Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1107-1112.
- 42) Song KS, Cho SM, Lee JH, Kim HM, Han SB, Ko KS, Yoo JD. B-lymphocyte-stimulating polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Chem Pharm* 1995; 43(2): 2105-2108.
- 43) Synderman R, Pike MC. Methodology for monocyte and macrophage chemotaxis: Cited form leukocyte chemptaxis; methods, physiology and clinical implications. edited by Gallin JI, Quie PG, 1978, Raven press pp.73-78.
- 44) Tsugagoshi S, Ohashi F. Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat hepatoma AH-13 by oral use. *Gann* 1974; 65: 557.
- 45) Ward PA, Eufring G, Maderazo. Leukocyte chemotaxis; *Manual of clinical Immunology*, 1980, pp261-266.
- 46) Ward PA, Lepow IH, Newman LJ. Bacterial factors chemotactic for polymorphonuclear leukocytes. *Am J Pathol* 1968; 52: 725.
- 47) Whistler RL, Bushway A, Sinh PO, Nakahara W, Tokuzen R. Noncytotoxic antitumor polysaccharides. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 1976; 32: 235-275.
- 48) Wilkinson PC. Chemotaxis and inflammation. Churchill Livingston, Edinburgh and London 1974; 4: 168.
- 49) Wright DG, Gallin JI. Modulation of the inflammatory respose by products released from human polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis: Generation and inactivation of the chemotactic factor C₅α inflammation. 1975; 1: 23.