

한국산 야생버섯 추출물의 항돌연변이원성 및 암세포 성장억제 효과

김현정 · 이인선*

계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터

Antimutagenic and Cytotoxic Effects of Korean Wild Mushrooms Extracts

Hyun-Jeong Kim and In-Seon Lee*

The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

Ames test revealed most methanol extracts of 13 Korean wild mushroom species have strong antimutagenic effects against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) and benzo(a)pyrene[B(a)P]. Methanol extracts of *Coriolus versicolor* and *Phaeolepiota aurea* showed 74-94 and 83-88% antimutagenic effects against MNNG and B(a)P in *Salmonella typhimurium* TA100 strain, while 89 and 91% inhibitions were observed against B(a)P in TA98 strain, respectively. Most water extracts of wild mushrooms did not show antimutagenic activity on MNNG and B(a)P. Wild mushrooms extracts inhibited human colon carcinoma cells (HT29), human hepatoma cell (HepG2), and human histiocytic lymphoma cell (U937) dose-dependently, with most methanol extracts exhibiting stronger effect than water extracts. Highest toxicity was observed against HT-29 cells in methanol extracts of *Coriolus versicolor* and *Phaeolepiota aurea*, showing 84% inhibition at 1 mg/mL, whereas *C. versicolor* water extract showed 53-65% inhibition against HepG2 and U937. These extracts did not show cytotoxic effects against human lymphocyte. Results revealed wild mushrooms have strong antimutagenic and *in vitro* cytotoxic effects.

Key words: wild mushrooms, antimutagenic effect, cytotoxic effect

서 론

산업이 발달하면서 식생활의 서구화 및 영양의 불균형 등에 의한 각종 성인병과 암이 증가하면서 건강에 대한 관심으로, 일상생활에서 섭취하고 있는 식품이 가지는 기능성에 대한 많은 연구가 수행되고 있다. 일상 식품은 생체 내에서 어떠한 유해성과 부작용이 적을 것으로 생각되어 식품이 가지는 약리 성분을 찾으려는 노력이 계속되고 있으며 또한 식용 및 약용으로 쓰이는 야생 자원류로부터 약리성분을 찾으려는 연구도 활발히 진행되고 있다(1,2).

특히 버섯류는 예로부터 독특한 맛과 향기를 지닌 기호성 높은 식품으로 또한 민간 전통 한약으로 전래되어 이용되고 있다. 버섯류에 대한 항암효과, 항변이원성 효과, 항콜레스테롤성 등의 여러 생리활성이 보고되어(3,4), 버섯류는 암 및 성인병에 대한 예방 및 개선 효과가 기대되는 좋은 소재로 주목받고 있다.

한국에 자생하는 버섯은 1,150여 종으로, 그 중 식용 가능한 버섯은 328여 종이 알려져 있으나(5), 실제 각 지방에서 식용

으로 이용하는 종류는 수십 종에 불과하다. 최근 건강식품으로 각광받고 있는 버섯 중 상황버섯, 아가리쿠스 버섯, 번데기 동충하초, 차가버섯, 싸리버섯, 향버섯, 노루궁뎅이버섯 등의 항돌연변이원성 및 항암성이 보고되었고(6-11), 또한 우리나라 산야에 존재하는 야생버섯류에 대한 연구도 몇몇 진행되어 턱수염버섯(*Hydnum repandum*), 깔때기피꼬리버섯(*Cantharellus infundibuliformis*), 진갈색주름버섯 (*Agaricus subrutilescens*), 테미로버섯(*Daedalea dickinsii*), 목장말뚝버섯(*Panaeolus papilionaceus*), 꽃구멍장이버섯(*Polyporus dispansus*) 등의 야생식용 버섯이 항돌연변이 효능이 보고 되었으며(12), 32종의 야생버섯류에 대한 topoisomerase 저해 활성 검색(13)과 46종의 야생버섯류로부터 용혈 작용을 검색하여 그중 색시줄가버섯, 조개껍질버섯, 말버섯 등의 용혈작용이 보고(14) 되기도 하였다.

이처럼 야생버섯류는 다양한 생리활성물질이 존재하고 있음이 밝혀지고 있어, 버섯류가 훌륭한 약재뿐만 아니라 기능성 식품으로 사용될 가능성이 높다고 할 수 있으나, 아직도 야생 버섯류에 대한 체계적이고 과학적인 연구는 부족한 실정이다.

이에 본 연구에서는 우리나라 산야에 널리 분포되어 있는 미이용 자원인 야생 버섯류에 대한 생리활성 물질의 규명에 관한 기초적 연구로, 13종의 야생버섯의 메탄올 및 열수 추출물을 이용하여 버섯의 항돌연변이 활성 및 인간 유래의 결장암 세포 HT-29, 간암세포 HepG2 그리고 혈액암세포 U937에 대한 암세포 성장 저해능을 검토하고자 하였다.

*Corresponding author: In-Seon Lee, The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Tel: 82-53-580-5538

Fax: 82-53-580-6447

E-mail: inseon@kmu.ac.kr

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100은 미국 캘리포니아 대학의 B. N. Ames 교수로부터 제공받아 사용하였다. 또한 암세포주인 인간 유래의 colon carcinoma cell인 HT29, hepatoma cell인 HepG2, histiocytic lymphoma cell인 U937은 한국세포주은행으로부터 분양받아 사용하였다. 돌연변이 유발원인 benzo(a)pyrene(B(a)P), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) 그리고 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, 기타 시약들도 특급 또는 일급 시약을 사용하였다.

시료 조제

시료로 사용한 버섯은 13종으로 *Boletus pseudocalopus*, *Boletus* sp., *Collybia confluens*, *Coriolus versicolor*, *Laetiporus sulphureus*, *Macrolepiota procera*, *Melanophyllum echinatum*, *Phaeolepiota aurea*, *Rhodophyllum clypeatus*, *Russula bella*, *Russula densifolia*, *Russula Pseudodelica*, *Suillus bovinus*이다. 이들 야생버섯은 강원도 오대산, 경주 남산, 양산 통도사, 언양 가지산, 충북 속리산 및 청송 주왕산 등에서 채취한 다음 각각 건조하였다. 건조된 야생버섯의 자실체를 각각 잘게 자른 다음, waring blender로 3,000 rpm에서 5분 동안 분쇄하여 버섯중량의 10배의 80% methanol을 첨가하여 실온에서 8시간 동안 3회 반복추출한 후 여과지(Whatman No. 1, England)로 여과하여 감압농축(rotary evaporator, BUCHI R-3000, Switzerland)하여 메탄올 추출물을 제조하였다. 그리고 버섯 열수 추출물의 경우는 분쇄한 버섯중량의 10배의 증류수를 첨가하여 100°C에서 4시간씩 3회 열탕 추출한 다음, 여과하여 동결건조(freeze dryer, Ilshin Engineering, Korea)하여 실험에 사용하였다.

항변이원성 실험

Maron과 Ames 등(15)의 방법에 의해 멸균시킨 cap tube에 시료 50 µL, 돌연변이원 50 µL, S9 mix 500 µL(직접변이원의 경우, 0.2 M phosphate buffer), 균주 100 µL를 넣고 37°C에서 20분 동안 preincubation시켰다. 이것을 top agar 2 mL와 혼합한 후 최소평판배지에 골고루 도말하였다. 37°C에서 48시간 배양한 후 배지위의 복귀변이주의 콜로니 수를 계수하였다. 이때 한 시료에 대하여 3개의 최소평판배지를 사용하였으며, 변이원에 대한 억제효과는 변이원 물질의 활성에 대한 시료의 억제율(Inhibition rate %)로 나타내었다. 그리고 체내 간 대사 활성 체계인 microsomal enzyme mixture 즉 S9 mix 제조는 Maron과 Ames 등(15)의 방법으로 제조하였다.

암세포 성장 억제효과

3종의 암세포주들은 모두 RPMI-1640배지에 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% antibiotics(penicillin G/streptomycin)을 첨가하여 37°C의 5% CO₂ 배양기에서 배양하였으며, 배양세포는 2-3일 마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 버섯 추출물의 암세포주에 대한 세포증식 억제효과는 MTT assay(16)로 조사하였다. 배양된 cell에 RPMI-1640 배지를 첨가후 잘 혼합하여 cell수를 1×10⁵ cells/mL로 조정된 다음, 96-well microtiter plate에 준비된 cell을 100 µL씩 첨가하고, 각 농도의 버섯 추출물을 10 µL씩 well에 첨가한 후 37°C의 5% CO₂하에서 48시간

배양하였다. 이때 대조군은 시료 대신 DMSO를 동량 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 배양후 5 mg/mL의 MTT 시약 10 µL를 각 well에 첨가한 후 다시 4시간 더 배양하였다. 배양 종료 후 1,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 생성된 formazan 결정을 DMSO로 용해시켜 cell plate reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 암세포 증식억제 효과는 다음 식과 같이 계산하였다.

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

정상 임파구 분리 및 세포 독성 검색

20-25세의 건강한 성인 남자로부터 heparin 처리한 주사기를 사용하여 혈액을 채취한 후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 층의 경계면을 pasteur pipette으로 회수한 다음, 회수한 액에 2배의 배지를 넣어 잘 섞어 비증차 용액인 histopaque-1077 위에 서서히 중층하였다. 중층후 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 histopaque-media 접촉면의 임파구층을 pasteur pipette으로 회수한 다음, 다시 배지를 섞어 4,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 임파구 세포를 가라앉게 하였다. 이 과정을 3회 정도 반복하여 세척한 후 1×10⁶ cells/ml이 되도록 임파구 세포수를 조절한 다음, 각 시료를 첨가하여 암세포주와 동일한 방법으로 MTT assay를 수행하여 임파구의 생존 세포수를 조사하였다.

$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

통계처리

대조군과 각 시료에서 얻은 결과로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석 하였다.

결과 및 고찰

야생버섯 추출물의 항돌연변이원성 효과

한국산 야생 버섯류 13종에 대해 각각의 메탄올 추출물 및 열수 추출물을 제조한 다음, 천연물에는 변이원 및 항돌연변이원을 포함한 여러 가지 성분이 혼재되어 있을 수 있어 야생버섯 추출물 자체의 돌연변이원성 유무를 확인하고자, 각 시료를 처리하여 his⁺ revertant colony수의 증감이 없는 plate당 1 mg으로 시료농도를 결정하였다(자료 미제시). 즉 이 농도에서는 시료 농도 자체에 의한 돌연변이원성은 존재하지 않음을 알 수 있었다.

먼저 세포내의 DNA에 직접적으로 손상을 주어 돌연변이를 유발하는 물질인 MNNG(0.35 µg/plate)에 대한 이들 버섯 시료의 항돌연변이원성 효과를 조사하였다. *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 야생버섯 추출물(1 mg/plate)을 처리하여 돌연변이 억제 효과를 검토한 결과는 Table 1에서와 같이, 산속그물버섯 야재비(*Boletus pseudocalopus*)와 구름버섯(*Coriolus versicolor*)의 메탄올 추출물에서 90-94%의 강한 억제율을 보였다. 그리고 덕다리버섯(*Laetiporus sulphureus*)과 갓버섯(*Macrolepiota procera*)의 메탄올 추출물에서도 60% 정도의 다소 높은 돌연변이 저해효과를 보였으며, 또한 그물버섯(*Boletus* sp.), 밀버섯(*Collybia confluens*), 잔피막흑주름버섯(*Melanophyllum echinatum*), 수원무당버섯(*Russula bella*), 황소비단그물버섯(*Suillus bovinus*), 턱받이금버섯(*Phaeolepiota aurea*) 메탄올 추출물에서도 MNNG에

Table 1. Antimutagenic effects of methanol and water extracts for wild mushrooms on the mutagenicity by MNNG (0.35 µg/plate) in *S. typhimurium* TA100

Treatment	Revertants/plate (IR, %)	
	TA100	
	MeOH ext.	Water ext.
Spontaneous	106 ± 5	
MNNG (control)	813 ± 9	
<i>Boletus pseudocalopus</i> (산속그물버섯아재비)	172 ± 3 ¹ (90) ²	564 ± 9(35)
<i>Boletus</i> sp.(그물버섯)	532 ± 4(39)	770 ± 6(6)
<i>Collybia confluens</i> (밀버섯)	495 ± 5(44)	693 ± 7(17)
<i>Coriolus versicolor</i> (구름버섯)	143 ± 2(94)	383 ± 7(61)
<i>Laetiporus sulphureus</i> (덕다리버섯)	387 ± 7(60)	756 ± 6(8)
<i>Macrolepiota procera</i> (갓버섯)	358 ± 6(64)	404 ± 6(58)
<i>Melanophyllum echinatum</i> (잔피막흑주름버섯)	513 ± 8(42)	684 ± 8(18)
<i>Phaeolepiota aurea</i> (턱받이금버섯)	312 ± 8(67)	542 ± 3(38)
<i>Rhodopophyllus clypeatus</i> (방패외대버섯)	469 ± 9(8)	777 ± 9(5)
<i>Russula bella</i> (수원무당버섯)	551 ± 12(37)	686 ± 4(18)
<i>Russula densifolia</i> (애기무당버섯)	775 ± 3(5)	763 ± 6(7)
<i>Russula Pseudodelica</i> (흰무당아재비버섯)	681 ± 5(18)	757 ± 9(7)
<i>Suillus bovinus</i> (황소비단그물버섯)	693 ± 9(16)	749 ± 5(9)

Each sample was tested at the concentration of 1 mg/plate.

¹Values represent means ± Standard deviation.

²The values in parentheses are the inhibition rate (%).

Table 2. Antimutagenic effects of methanol and water extracts for wild mushrooms on the mutagenicity by B(a)P (4 µg/plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100

Treatment	Revertants/plate (IR, %)			
	TA 98		TA 100	
	MeOH ext.	H ₂ O ext.	MeOH ext.	H ₂ O ext.
Spontaneous	38 ± 2		107 ± 3	
B(a)P (control)	995 ± 11		1027 ± 21	
<i>Boletus pseudocalopus</i>	953 ± 6 ¹ (4) ²	964 ± 7(3)	989 ± 6(4)	910 ± 6(32)
<i>Boletus</i> sp.	741 ± 13(26)	972 ± 11(2)	439 ± 9(53)	902 ± 9(13)
<i>Collybia confluens</i>	463 ± 4(55)	776 ± 7(22)	401 ± 4(68)	697 ± 8(35)
<i>Coriolus versicolor</i>	118 ± 7(91)	766 ± 8(23)	218 ± 7(88)	702 ± 7(35)
<i>Laetiporus sulphureus</i>	585 ± 5(63)	624 ± 7(38)	438 ± 7(64)	742 ± 5(30)
<i>Macrolepiota procera</i>	286 ± 6(74)	634 ± 6(37)	436 ± 7(64)	612 ± 6(45)
<i>Melanophyllum echinatum</i>	503 ± 5(51)	331 ± 7(69)	766 ± 5(28)	831 ± 5(21)
<i>Phaeolepiota aurea</i>	138 ± 3(89)	755 ± 8(25)	261 ± 8(83)	822 ± 7(22)
<i>Rhodopophyllus clypeatus</i>	924 ± 11(7)	933 ± 9(6)	981 ± 7(5)	945 ± 7(8)
<i>Russula bella</i>	487 ± 6(53)	426 ± 11(59)	811 ± 6(23)	778 ± 6(27)
<i>Russula densifolia</i>	934 ± 13(6)	951 ± 13(4)	632 ± 9(42)	976 ± 9(5)
<i>Russula Pseudodelica</i>	933 ± 7(6)	927 ± 7(7)	910 ± 7(12)	979 ± 7(5)
<i>Suillus bovinus</i>	921 ± 8(7)	841 ± 7(16)	789 ± 8(25)	932 ± 8(10)

Each sample was tested at the concentration of 1 mg/plate.

¹Values represent means ± Standard deviation.

²The values in parentheses are the inhibition rate (%).

대한 35-45% 정도의 억제율을 나타내었다. 그러나 버섯 열수 추출물의 경우 갓버섯과 구름버섯에서 MNNG에 대해 58-61%의 다소 강한 저해효과를, 산속그물버섯아재비 열수 추출물에서 35%의 약한 저해효과를 보였으나 나머지 버섯 열수 추출물에서는 MNNG에 대한 저해효과를 볼 수 없었다. 특히 구름버섯의 메탄올 및 열수 추출물은 직접 변이원인 MNNG에 대해 강한 항돌연변이 활성을 보였다.

한편 microzomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접변이원인 benzo(a)pyrene(4 µg/plate)에 대한 저해효과를 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주에서 살펴본 결과는 Table 2와 같다. TA98 균주에 대해서 구름버섯과 턱받이금버섯의 메탄올 추출물이 각각 91%와 89%의 가장 높은 저해효과를 보였고, 갓버섯과 덕다리버섯 메탄올 추출물에서도 63-74%의 억제율을 보였으며, 수원무당버섯, 밀버섯, 잔피막흑

Table 3. Inhibitory effects of methanol extracts for wild mushrooms on the growth of human colon carcinoma cell (HT29), hepatoma cell (HepG2), and histiocytic lymphoma cell (U937)

Treatment	Dose (mg/mL)	Inhibitor (%)		
		HT29	HepG2	U937
<i>Boletus pseudocalopus</i>	0.5	73.7 ± 11.2	40.5 ± 6.9	60.9 ± 11.2
	1	79.4 ± 10.7	46.4 ± 4.2	67.1 ± 9.8
<i>Boletus sp.</i>	0.5	71.6 ± 12.1	34.4 ± 4.6	64.7 ± 10.8
	1	79.4 ± 12.3	46.6 ± 5.1	65.9 ± 9.4
<i>Collybia confluens</i>	0.5	46.5 ± 5.5	39.8 ± 5.7	41.7 ± 7.8
	1	54.4 ± 8.7	40.1 ± 3.8	49.3 ± 6.8
<i>Coriolus versicolor</i>	0.5	78.2 ± 10.3	38.9 ± 4.1	64.7 ± 7.3
	1	83.7 ± 9.9	42.5 ± 3.7	66.3 ± 6.9
<i>Laetiporus sulphureus</i>	0.5	65.8 ± 6.8	29.2 ± 7.3	58.7 ± 5.3
	1	73.2 ± 7.2	31.5 ± 5.6	64.5 ± 7.9
<i>Macrolepiota procera</i>	0.5	27.4 ± 4.1	37.8 ± 4.8	47.9 ± 7.3
	1	29.9 ± 3.9	41.2 ± 5.3	54.4 ± 8.1
<i>Melanophyllum echinatum</i>	0.5	46.7 ± 4.3	24.6 ± 4.1	55.3 ± 4.9
	1	74.6 ± 9.9	41.8 ± 5.9	59.8 ± 9.5
<i>Phaeolepiota aurea</i>	0.5	77.4 ± 10.1	28.5 ± 3.6	22.6 ± 4.8
	1	82.5 ± 9.7	34.5 ± 4.5	45.2 ± 6.2
<i>Rhodopphyllus clypeatus</i>	0.5	65.3 ± 8.6	45.2 ± 5.2	37.1 ± 5.6
	1	69.2 ± 7.8	58.4 ± 7.4	39.5 ± 4.8
<i>Russula bella</i>	0.5	49.6 ± 8.2	39.6 ± 4.9	54.8 ± 5.3
	1	56.9 ± 4.5	41.2 ± 5.3	58.3 ± 7.2
<i>Russula densifolia</i>	0.5	44.8 ± 4.7	43.1 ± 5.8	49.8 ± 6.1
	1	53.7 ± 5.2	46.4 ± 6.4	66.4 ± 7.6
<i>Russula Pseudodelica</i>	0.5	34.8 ± 4.2	43.5 ± 7.4	47.8 ± 4.9
	1	45.9 ± 4.6	49.6 ± 5.9	49.6 ± 5.7
<i>Suillus bovinus</i>	0.5	55.7 ± 5.4	29.8 ± 3.8	57.5 ± 6.2
	1	65.4 ± 6.7	43.2 ± 4.3	61.2 ± 8.9

주름버섯 메탄올 추출물에서도 50% 이상의 약한 돌연변이 억제효과를 확인하였다. 그리고 버섯 열수 추출물의 경우, TA98 균주에 대해 잔피막흑주름버섯과 수원무당버섯의 열수 추출물에서 60-70% 정도의 억제율을 나타내었고, 갓버섯과 덕다리버섯 열수 추출물에서 38% 정도의 약한 억제율을 보였다. 그러나 대부분의 버섯 열수 추출물은 버섯 메탄올 추출물에 비해 낮거나 저해활성이 거의 보이지 않았다.

TA100 균주에서는 구름버섯과 턱받이금버섯의 메탄올 추출물이 각각 88%와 83%의 가장 높은 억제효과가 나타났고, 밀버섯, 갓버섯, 덕다리버섯 메탄올 추출물들은 64% 이상의 다소 강한 저해효과를 보였고, 그물버섯 메탄올 추출물에서도 53%의 약한 저해효과를 보였다. 그러나 버섯 열수추출물의 경우 TA100 균주에 대해 갓버섯 열수 추출물에서 45% 정도의 돌연변이 억제효과가 나타났고 밀버섯과 구름버섯에서 35% 정도의 억제율을 보였으며 대부분의 시료에서는 저해 효과가 나타나지 않았다.

야생 버섯류중 구름버섯과 턱받이금버섯의 메탄올 추출물뿐 아니라 열수 추출물은 직간접변이원에 대해 가장 높은 항돌연변이 효과가 존재함을 확인하였다. 또한 식용으로 알려진(5), 턱받이금버섯, 밀버섯, 황소비단그물버섯, 덕다리버섯 및 갓버섯의 메탄올 추출물은 직간접변이원에 대해 높은 변이원 활성 억제효과가 나타났으며, 한편 식용으로 이용되지는 않지만 잔피막흑주름버섯과 수원무당버섯에서도 항돌연변이원 효과를 나타내었다. 그러나 산속그물버섯아재비의 경우 직접변이원인

MNNG에 대해 높은 억제율을 가졌으나 간접변이원인 B(a)P에 대해서는 억제율을 보이지 않았다. 야생버섯인 호박갓버섯의 경우 1.0 mg/plate에서 MNNG에 대하여 높은 돌연변이 억제효과를 보이나 간접변이원인 B(a)P에 대해서는 낮은 저해를 보였다. 이는 버섯의 종류에 따라 변이원에 대한 저해활성이 다소 다른 경향을 보여줄 수 있었다. 그리고 노루궁뎅이버섯, 향버섯, 목이버섯 메탄올 추출물 경우 1.25 mg/plate 이상 농도에서 MNNG에 대하여 90% 이상의 높은 돌연변이 억제 효과를(11) 보이는 것에 비하여, 산속그물버섯아재비와 구름버섯 메탄올 추출물의 1 mg/plate 농도에서 90% 이상의 강한 항돌연변이원 효과를 보이므로 이들 야생버섯류는 직접 및 간접 변이원에 대해 강한 항돌연변이 활성이 있음을 알 수 있었다.

따라서 13종의 야생버섯 추출물중 8종에서 직접 및 간접 변이원에 대한 항변이원성 효과를 확인하였으므로, 야생버섯류중 식용 가능한 버섯류는 새로운 기능성 식품으로 효율적인 이용에 관한 고려도 필요하리라 사료된다. 나아가 버섯 중에 함유되어 있는 변이원성 억제물질의 규명과 함께 식용으로 사용되지 않는 버섯의 사용가능성에 관한 더 많은 연구가 계속적으로 수행되어야 하겠다.

야생버섯 추출물의 암세포 증식 억제 효과

돌연변이 억제 활성을 가진 물질 중에는 종종 암세포의 성장을 저해하는 효과가 존재함이 많이 보고되고 있다(7,9). 이에

Table 4. Inhibitory effects of water extracts for wild mushrooms on the growth of human colon carcinoma cell (HT29), hepatoma cell (HepG2), and histiocytic lymphoma cell (U937)

Treatment	Dose (mg/mL)	Inhibiton (%)		
		HT29	HepG2	U937
<i>Boletus pseudocalopus</i>	0.5	27.9 ± 4.2	24.5 ± 3.8	41.6 ± 3.6
	1	36.4 ± 5.9	36.3 ± 5.1	46.1 ± 4.2
<i>Boletus sp.</i>	0.5	19.3 ± 6.3	24.8 ± 4.5	37.6 ± 5.5
	1	35.7 ± 3.3	32.6 ± 4.2	42.7 ± 4.6
<i>Collybia confluens</i>	0.5	24.5 ± 2.5	34.1 ± 3.8	41.6 ± 4.2
	1	34.2 ± 4.1	39.8 ± 3.7	45.3 ± 4.5
<i>Coriolus versicolor</i>	0.5	37.2 ± 2.8	56.9 ± 5.2	53.7 ± 3.9
	1	43.8 ± 4.3	64.8 ± 4.6	56.4 ± 5.3
<i>Laetiporus sulphureus</i>	0.5	35.8 ± 4.6	26.9 ± 3.8	46.2 ± 6.2
	1	43.2 ± 4.2	29.2 ± 3.5	49.3 ± 5.9
<i>Macrolepiota procera</i>	0.5	27.1 ± 4.5	27.4 ± 4.4	42.9 ± 4.3
	1	32.2 ± 3.7	34.6 ± 3.9	47.6 ± 4.4
<i>Melanophyllum echinatum</i>	0.5	42.5 ± 4.8	26.9 ± 3.5	46.8 ± 3.9
	1	44.9 ± 3.6	47.8 ± 4.2	49.7 ± 5.8
<i>Phaeolepiota aurea</i>	0.5	27.3 ± 2.9	25.7 ± 4.1	32.7 ± 4.6
	1	42.9 ± 6.6	31.5 ± 3.9	43.6 ± 7.1
<i>Rhodopphyllus clypeatus</i>	0.5	21.5 ± 3.7	35.2 ± 3.7	22.4 ± 4.3
	1	30.7 ± 4.2	35.8 ± 2.8	24.5 ± 3.8
<i>Russula bella</i>	0.5	30.3 ± 4.8	33.4 ± 4.0	42.6 ± 4.5
	1	38.6 ± 3.9	34.6 ± 2.8	44.8 ± 5.2
<i>Russula densifolia</i>	0.5	24.4 ± 2.7	41.2 ± 3.8	38.5 ± 5.8
	1	28.6 ± 3.8	45.3 ± 4.5	41.8 ± 6.2
<i>Russula Pseudodelica</i>	0.5	45.7 ± 4.5	44.5 ± 6.3	42.3 ± 5.3
	1	46.4 ± 4.4	48.8 ± 6.1	45.7 ± 3.6
<i>Suillus bovinus</i>	0.5	24.3 ± 3.8	21.7 ± 5.8	43.5 ± 6.5
	1	26.5 ± 3.6	24.5 ± 3.5	47.1 ± 5.4

야생버섯 메탄올 추출물의 인간 유래의 3종의 암세포(HT29, HepG2, U937)에 대한 증식 억제 효과를 검토한 결과 Table 3과 같이, 결장암세포인 HT29에 대해서 버섯 메탄올 추출물의 시료 농도 0.5 mg/mL의 경우, 그물버섯, 산속그물버섯아재비, 방패외대버섯(*Rhodopphyllus clypeatus*), 황소비단그물버섯, 구름버섯, 턱받이금버섯, 턱다리버섯 메탄올추출물에서 55-78% 이상의 높은 암세포 저해활성을 보였고, 1 mg/mL의 시료농도에서는 이들 버섯의 수원무당버섯, 밀버섯, 잔피막혹주름버섯 등에서도 50% 이상의 저해능을 보였다. 특히 그물버섯, 산속그물버섯아재비, 구름버섯, 턱받이금버섯 메탄올 추출물들은 0.5 mg/mL의 농도에서 70%이상의 억제 효능을, 1 mg/mL의 농도에서는 80% 정도의 높은 저해능을 보였다. HT29에 대해서 버섯 메탄올 추출물은 시료농도가 증가할수록 억제효과 또한 증가하는 경향을 보였다. 이는 차가버섯 추출물의 증가에 따라 대장암세포의 증식억제 효과를 보이고, 표고버섯 및 느타리버섯의 첨가량이 증가할수록 HT29 세포 저지율이 증가하였다는 보고와 유사한 경향이였다(17). 또한 아가리쿠스버섯 메탄올 추출물(7)의 경우 각종 암세포주에 대해 0.25-1 mg/mL의 처리시 1 mg/mL 농도에서 가장 높은 암세포 저해 활성을 보인 것처럼, 본 야생버섯 추출물에서도 1 mg/mL의 농도에서 가장 높은 암세포 저해 활성을 보임을 확인하였다.

한편 간암세포인 HepG2에서는 시료농도가 증가할수록 세포 증식 억제효과를 보이기는 하였으나, 방패외대버섯 메탄올 추출물 1 mg/mL에서만 58.4%의 저해능을 보였고 나머지 시료에

서는 45% 이하의 낮은 저해활성을 보였다. 혈액암세포주인 U937의 경우도 시료농도가 증가할수록 억제효과가 증가하는 경향이었고, 그물버섯, 산속그물버섯아재비, 수원무당버섯, 황소비단그물버섯, 밀버섯, 잔피막혹주름버섯 메탄올 추출물에서 60% 이상의 높은 저해 활성을 나타내었다. 이와 같이 버섯 메탄올 추출물은 세포주에 따른 시료별 암세포 저해 활성의 차이를 볼 수 있었으며, 13종의 야생버섯중 11종의 버섯류에서 암세포 성장 억제 효과가 있었다.

구름버섯 균사체 추출물의 경우 0.1 mg/mL의 농도에서 후두암세포인 Hep-2와 폐암세포인 A-427와 Calu-3에 대해서 높은 항암 효과가 있다고 보고(18)되었는데, 이 구름버섯 메탄올추출물은 직접 및 간접 변이원에 대해서도 가장 강한 저해활성을 보였고 또한 HT29와 U937 세포에서도 강한 저해능을 보였다. 이는 구름버섯 추출물들이 돌연변이 유발에 대한 강한 억제효과를 가지므로 높은 항암 물질로 작용하였음을 알 수 있었다. 즉 야생버섯류 추출물은 암 유발 초기화 단계인 initiation에서 중요한 작용을 하며, 대부분의 발암물질이 돌연변이원이라는 점에서 돌연변이를 억제할 수 있는 물질은 항발암 물질로서의 작용을 가질 수 있다고 하겠다.

그리고 버섯 열수추출물의 경우 Table 4와 같이, 구름버섯 열수추출물은 HepG2와 U937에 대해서 53-65% 정도의 비교적 높은 저해활성이 보였으며, 흰무당버섯아재비 열수추출물은 3종의 암세포주에 대해 42-49% 정도의 저해율을 보였고, 잔피막혹주름버섯 열수추출물 1 mg/mL에서 3종의 암세포주에 대해

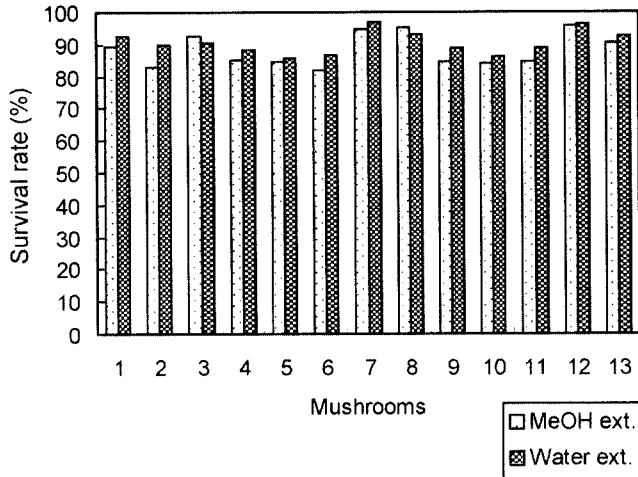


Fig. 1. Effects on the growth of lymphocyte by methanol and water extracts of wild mushrooms at the concentration of 0.5 mg/mL
 Mushrooms 1; *Boletus pseudocalopus*, 2; *Boletus* sp., 3; *Collybia confluens* 4; *Coriolus versicolor*, 5; *Laetiporus sulphureus*, 6; *Macrolepiota procera*, 7; *Melanophyllum echinatum*, 8; *Phaeolepiota aurea*, 9; *Rhodopophyllum clypeatus*, 10; *Russula bella*, 11; *Russula densifolia*, 12; *Russula Pseudodelica*, 13; *Suillus bovinus*

45-50% 정도의 저해율을 보였다. 그러나 대부분의 버섯 열수 추출물은 세포주에 따른 저해능의 차이와 시료농도별 차이를 보이지 않았으며, 버섯 메탄올 추출물에 비해 40% 이하의 낮은 저해활성을 보였다. 이는 차가버섯 열수 추출물의 시료농도가 1.5 mg/mL에서는 HT29의 세포수가 대조군의 83%로 감소하였고, 3.0 mg/mL의 첨가에서는 77%로 감소되었다는 보고(17)에 비해, 실험에 사용된 야생버섯 열수 추출물의 시료처리 농도가 너무 낮아 저해 활성을 나타나지 않은 것으로 보이며, 특히 대부분의 버섯 열수 추출물의 경우 메탄올 추출물에 비해 상대적으로 낮은 저해활성을 가지는 것으로 생각된다.

한편 이들 야생버섯 추출물의 암세포 성장 저해 효과가 암세포주에 대한 선택적인 저해 작용인지 혹은 모든 세포에 작용하여 나타나는 효과인지를 확인하기 위하여 성인 남성의 혈액에서 정상 임파구를 분리하여 세포성장 저해효과를 검색하였다. 그 결과 Fig. 1과 2에서와 같이, 야생버섯 메탄올 및 열수 추출물의 0.5 mg/mL 농도에서는 80% 이상의 생존율을 보였고, 1 mg/mL 농도에서는 75% 이상의 생존율을 확인할 수 있었다. 즉 암세포 성장 저해효과가 크게 나타났던 시료에서도 역시 80% 이상의 생존율을 나타내었고, 특히 야생버섯 추출물은 암세포에 대한 높은 억제효과를 나타내면서 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이는 아가리쿠스버섯 메탄올 추출물의 1 mg/mL 농도에서 85% 이상의 높은 암세포 저해 활성을 보이나, 인간 정상 간세포에 대해서는 50% 이하의 비교적 낮은 생존 억제를 나타낸(7) 보고와 유사한 경향이었다. 버섯추출물의 농도를 10 mg/mL로 할 경우 전체적으로 세포 독성이 강해지고 농도를 1 mg/mL으로 낮출 경우 세포독성이 거의 없다는 권 등(19)의 보고와도 일치하는 경향이었다.

따라서 13종의 야생버섯류의 추출물들은 직접 변이원에 대한 항변이원성 효과가 확인되었으며 또한 야생버섯 추출물은 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성 효과를 나타내면서 3종의 인간유래 암세포에 대해서는 높은 억제효과를 가

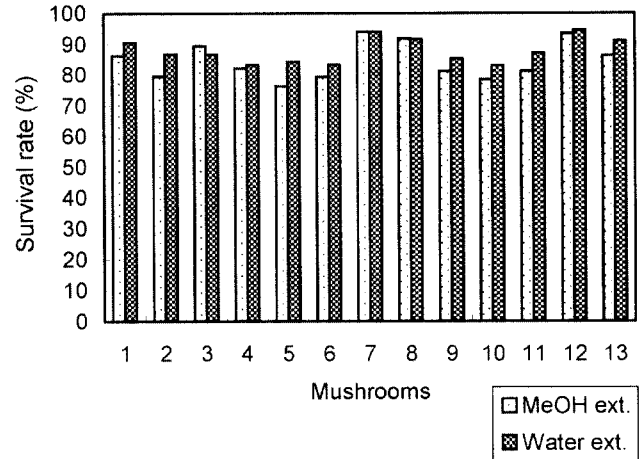


Fig. 2. Effects on the growth of lymphocyte by methanol and water extracts of mushrooms at the concentration of 1.0 mg/mL
 Mushrooms 1; *Boletus pseudocalopus*, 2; *Boletus* sp., 3; *Collybia confluens* 4; *Coriolus versicolor*, 5; *Laetiporus sulphureus*, 6; *Macrolepiota procera*, 7; *Melanophyllum echinatum*, 8; *Phaeolepiota aurea*, 9; *Rhodopophyllum clypeatus*, 10; *Russula bella*, 11; *Russula densifolia*, 12; *Russula Pseudodelica*, 13; *Suillus bovinus*

짐을 알 수 있었다. 앞으로 야생버섯 시료의 효능에 대한 정보를 얻기 위한 정확한 성분 분석과 다양한 변이원 및 암세포주, 여러 검색계를 이용한 더 많은 연구와 함께 식용으로 사용되지 않는 버섯의 사용가능성에 대한 검토도 필요하다고 하겠다.

요 약

13종의 한국산 야생버섯 추출물의 항돌연변이 효과의 검토는 *S. typhimurium* TA98과 TA100을 이용한 Ames 실험계로 확인하였다. 그 결과, 직접변이원인 MNNG에 대해 산속그물버섯 아재비와 구름버섯의 메탄올 추출물은 TA100에서 90-94%의 강한 항변이원성을 보였고, 갯버섯과 구름버섯의 열수 추출물도 58-61%의 저해효과를 보였다. 간접변이원인 B(a)P에 대해서는 TA98과 TA100에서 구름버섯과 턱받이금버섯 메탄올 추출물이 가장 강한 저해효과를 나타내었고, 열수 추출물중 잔피막흑구름버섯과 수원무당버섯은 TA98에서 60-70% 정도의 저해활성을, 갯버섯은 TA100에서 45% 정도의 돌연변이 억제효과를 볼 수 있었고, 나머지 버섯시료는 저해활성을 거의 보이지 않았다. 한편 야생버섯 메탄올 추출물 0.5 mg/mL 투여시 결장암세포인 HT29에 대해 그물버섯, 산속그물버섯아재비, 방패외대버섯, 황소비단그물버섯, 구름버섯, 턱받이금버섯, 덕다리버섯에서 55-78% 이상의 억제 효과를 보였고, 1 mg/mL의 시료농도에서는 11종의 버섯에서 50% 이상의 억제 효과를 나타내었다. 간암세포인 HepG2에서 대해서는 방패외대버섯 메탄올 추출물 1 mg/mL에서만 58.4%의 저해능을 보였고, 나머지 시료에서는 45% 정도의 낮은 저해활성을 보였다. 혈액암세포주인 U937의 경우도 그물버섯, 산속그물버섯아재비, 수원무당버섯, 황소비단그물버섯, 밀버섯, 잔피막흑구름버섯 메탄올 추출물에서 60% 이상의 높은 저해 활성을 나타내었다. 구름버섯 열수추출물의 경우 HepG2와 U937에 대해서 53-65% 정도의 비교적 높은 저해활성을 보였고, 대부분의 버섯 열수 추출물은 40%이하의 낮은 저해활성을 보였다. 정상 임파구에 대해서 야생버섯 추출물 0.5-1 mg/mL 농도에서 75-80% 이상의 생존율을 보여, 야생버

첫 추출물을 1 mg/mL 농도로 처리할 경우 암세포에 대한 높은 억제효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성을 가짐을 확인하였다.

감사의 글

“본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R03-2002-000-00019-0(2002)) 지원 및 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원으로 수행되었음”에 감사드립니다.

문헌

1. Kada T, Inoue T, Morita K, Namiki M. Dietary dismutagens. pp. 245-251. In: Genetic Toxicology of the Diet. Alan R. (ed). Liss inc., NY, USA (1986)
2. Micozzi MS, Tangrea JA. General introduction: Rational for the nutritional prevention of cancer. pp. 3-12. In: Nutrition and Cancer Prevention. Moon TE, Micozzi MS (eds). Marcel Dekker, New York, NY, USA (1989)
3. Kim MN, Oh SW, Lee DS, Ham SS. Antioxidative and antimutagenic effects of the ethanol extract from *Cordyceps militaris*. Korean J. Postharvest Sci. Technol. 8: 109-117 (2001)
4. Yoo IS, Woo MS, Choi EC, Kim BK. Studies on constituents of higher fungi of Korea (XXXIV) Antitumor components of *Ramaria formosa*. Korean J. Mycol. 10: 165-171 (1982)
5. Kim SS, Kim YS. Korean mushrooms. Yupoong Publishing Co., Seoul, Korea. p.251 (1990)
6. Zhang J, Wang G, Li H, Zhuang C, Mizuno T, Ito H, Suzuki C, Okamoto H, Li J. Antitumor polysaccharides from a chinese mushroom “Yuhuangmo”, the fruiting body of *Pleurotus citrinopileatus*. Bioci. Biotech. Biochem. 58: 1195-1201 (1994)
7. Ji JH, Kim MN, Chung CK, Ham SS. Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 322-328 (2000)
8. Lee HK, Kim JS, Kim NY, Kim MJ, Park SU, Yu CY. Antioxidant, antimutagenicity and anticancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*. Korean J. Medicinal Crop. Sci. 11: 53-61 (2003)
9. Ji JH, Kim MN, Choi KP, Chung CK, Ham SS. Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Agaricus blazei* Murill extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1371-1378 (2000)
10. Kim HJ, Lee BH, Kim OM, Bae JT, Park SH, Park DC, Lee KP. Antimutagenic effect of the fruiting body and the mycelia extracts of *Coprinus comatus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 452-457 (1999)
11. Park SH, Kim OK, Lee KP. Antimutagenic and quincne reductase inducing activities of *Hericium erinaceus* extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 1287-1292 (2001)
12. Kim HJ, Lee BH, Kim, OM, Lee KD, Lee KR. Screening for antimutagenic effects of the wild mushrooms in Korea. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 688-692 (1998)
13. Park MJ, Cho KJ, Kim JB, Kim YS, Seok SJ., Kim SY, Hwang YS. Inhibition of topoisomerase-mediated DNA cleavage by *Lycoperdon perlatum*. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1057-1062 (1997)
14. Yang HJ, Lee JS, Chung, KS. Studies on the hemolytic activities of Korean wild mushrooms (III). Korean J. Mycol. 30: 119-123 (2002)
15. Ames BN, Maron DM. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutat. Res. 113: 173-215 (1983)
16. Green LM, Reade JL, Ware CF. Rapid colorimetric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. J. Immunol. Meth. 70: 257-263 (1984)
17. Hwang YJ, Roh GW, Kim SH. Effect of *Inonotus obliquus* extracts on proliferation and caspase-3 activity in human gastrointestinal cancer cell lines. Korean J. Nutr. 36: 18-23 (2003)
18. Lee BW, Lee MS, Park KM, Kim CH, Ahn PU, Choi CU. Anticancer activities of the extract from the mycelia of *Coriolus versicolor*. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20: 311-315 (1992)
19. Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST, Park KM, Hwangbo S. Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia mushrooms. Korean J. Food Nutr. 16: 15-21 (2003)

(2004년 4월 8일 접수; 2004년 8월 3일 채택)