

상황버섯 자실체 메탄올 추출물과 분말의 지방소화효소 억제 및 항산화 활성

김지현¹ · 손인숙¹ · 김정상² · 김기훈³ · 권정숙^{1*}

¹안동대학교 생활과학대학 식품영양학과

²경북대학교 동물공학과

³안동시 농업기술센터

Lipase-Inhibitory and Anti-Oxidative Activity of the Methanol Extract and the Powder of *Phellinus linteus*

Ji Hyun Kim¹, In Suk Son¹, Jong-Sang Kim², Ki Hoon Kim³, and Chong-Suk Kwon^{1*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea

²Dept. of Animal Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

³Andongsi Agricultural Technology Center, Andong 760-380, Korea

Abstract

Phellinus linteus (PL) has been known to exhibit potent biological activity. The present study was designed to investigate lipase-inhibitory and anti-oxidative activity of the methanol extract and the powder of PL fruiting body. The methanol extract of PL appeared to have the inhibitory activity against pancreatic lipase with an IC₅₀ value of 36.3 µg/mL, and the scavenging activity of DPPH radical with an IC₅₀ value of 20.1 µg/mL, which was similar to that of vitamin C (IC₅₀ 18.3 µg/mL). To investigate the lipase-inhibitory and anti-oxidative effect of PL on animal, Sprague-Dawley rats were fed with high-fat diet supplemented with either 2% or 5% PL powder for 8 weeks. Total food intake was significantly increased, but body weight was not changed by PL powder supplementation. However, fecal fat excretion of the experimental groups fed with the PL powder were higher than that of the control group. PL powder showed a decrease in the plasma total cholesterol, LDL-cholesterol, and the hepatic total cholesterol levels. The anti-oxidative enzyme activities were also affected by PL supplementation. Glutathione peroxidase (GSH-Px) in the plasma and liver were significantly increased by 98% and 46% in the 2% PL group, and 99% and 32% in the 5% PL group, respectively. Total superoxide dismutase (T-SOD) activity was not affected by PL supplementation. DNA damage was measured by the comet assay in the lymphocytes collected after 2 weeks, 4 weeks, and 8 weeks of feeding PL supplemented diet. Lymphocyte DNA damage was decreased in the PL supplemented group. Furthermore, PL feeding enhanced the resistance to lymphocyte DNA damage caused by an oxidant challenge with H₂O₂.

Key words: *Phellinus linteus*, lipase-inhibitory, anti-oxidative, comet assay

서 론

비만과 그에 수반되는 만성질환에 대한 우려가 확산되면서 체중조절을 위한 식품의 필요성이 급속히 증대되고 있으나, 과학적으로 증명된 식품이나 소재의 개발이 미흡한 상태이다. 최근 우리 국민의 지방 섭취 증가(1)와 아울러 비만 인구가 증가하고 있는 것(2)과 관련하여 지방소화 억제를 통한 비만 방지가 체중조절의 한 방법으로 사용되고 있으나, 현재 사용되고 있는 지방소화 억제제인 orlistat은 부작용이 있으므로(3) 천연물로부터 상시 섭취 가능한 지방소화 억제제의 탐색이 필요한 실정이다. 또한 비만은 만성적인 산화스트레스 상태로 알려져 있으며 비만으로 인한 합병증 발생과 산화스트레스가 밀접한 연관이 있는 것으로 보고되고 있다

(4-6).

상황버섯은 위암, 식도암 및 직장암 등의 소화기계 암에 효과가 있으며, 항암활성물질은 일종의 당단백질로서 면역활성의 증강을 통해 항암활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(7-10). 최근에는 상황버섯의 항암활성을 상황버섯이 가지는 강한 항산화활성(11-13)과 알파- 및 베타-글루코시다제 억제 활성(14)과 관련 지워 설명하는 연구들도 있다.

본 연구에서는 상황버섯의 항비만과 항산화 효과를 구명하기 위해 상황버섯 메탄올 추출물의 췌장 지방소화효소 억제 활성과 항산화 활성을 in vitro에서 측정하고, 흰쥐에 고지방식이와 함께 상황버섯 분말을 투여하여 지방소화효소 활성 억제를 통한 지질 흡수 감소 효과와 항산화 효과를 in vivo에서 관찰하였다.

*Corresponding author. E-mail: cskwon@andong.ac.kr
Phone: 82-54-820-5484, Fax: 82-54-820-6282

재료 및 방법

재료

상황버섯 시료는 참상황농장(안동시 길안면)에서 재배 제 공한 것을 사용하였다. 시료를 분쇄한 후 일부를 사용하여 메탄올 추출물을 얻고(수율 6.5%), 이를 DMSO에 일정 농도 로 용해하여 in vitro 실험에 사용하였으며, 분말은 동물 실험 용 식이 재료로 사용하였다.

일반성분 분석

일반성분은 AOAC 법(15)에 의거하여 수분은 105°C 상압 가열법, 회분은 550°C 직접회화법, 조지방은 Soxlet법, 조단 백질은 micro-Kjeldahl법으로 분석하였고, 총 식이섬유는 Prosky 등의 방법(16)으로 측정하였다.

실험동물과 식이

6주령 된 Sprague Dawley계 흰쥐를 대한실험동물센터로 부터 구입하여 1주일간 적응시킨 후, 대조군(Control), 2% 상황버섯군(2% PL)과 5% 상황버섯군(5% PL)의 세 군으로 나누어 각 군당 6마리씩 분배하였다. 실험식이(Table 1)로 대조군은 AIN-76 식이를 기본으로 한 고지방식이만 공급하 고 상황버섯군은 고지방식이에 상황버섯 분말을 각각 2% 또는 5% 첨가하고 상황버섯 분말 시료의 일반성분 분석 결 과(Table 2)를 참고하여 셀룰로오스와 전분량을 조정한 식 이를 공급하였다. 사육실은 온도(23±1°C)와 습도(50±5%), 그리고 12시간 주기로 명암이 자동 조절되도록 하였으며 물 과 식이를 자유롭게 섭취하도록 하여 8주간 사육하였다. 식 이섭취량은 일주일에 두 번 일정한 시간에 측정하였고, 체중 은 일주일에 한 번 공복 시에 측정하였다.

Table 1. Composition of the experimental diets (w/w, %)

Ingredients	Groups		
	Control	2% PL	5% PL
Corn starch	10	9.4	8.5
Sucrose	10	10	10
Beef tallow	40	40	40
Casein	30	30	30
Cellulose	5	3.6	1.5
Mineral mixture ¹⁾	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture ²⁾	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Methionine	0.3	0.3	0.3
<i>Phellinus linteus</i> (PL) powder	0	2	5
Total	100.0	100.0	100.0

¹⁾AIN-76 mineral mixture (g/100 g diet).

²⁾AIN-76 vitamin mixture (g/100 g diet).

Table 2. Chemical composition of *Phellinus linteus*

(w/w, %)					
Moisture	Crude ash	Crude lipid	Crude protein	Total sugar	Total dietary fiber
7.65	6.87	2.00	4.81	9.89	68.77

시료의 채취와 체지방 측정

사육 마지막 주 3일간의 분변을 채취하여 칭량하고 동결 건조한 후 분말화하여 분변 시료로 하였다. 림프구의 DNA 손상 정도를 측정하기 위하여 실험식이 공급 후 2주, 4주에 각각 꼬리 정맥에서 채혈하고 Histopaque 1077을 사용하여 림프구를 분리한 후 즉시 comet assay를 실시하였다. 실험 식이를 공급하고 8주 후에 동물을 12시간 절식시킨 후 에테 르로 마취시켜 개복한 후 복부대동맥을 통해 채혈하고, 일부 혈액은 채혈한 즉시 림프구를 분리하여 comet assay를 시행 하였으며, 나머지 혈액은 원심분리(3,000 rpm, 20분)하여 혈 장과 적혈구를 분리한 후 -70°C에 보관하였다. 간을 적출하 여 생리식염수로 헹군 후 수분을 제거하고 무게를 측정하였 으며, cytosol을 분리하여 효소활성 측정용 시료로 사용하였다. 피하지방과 내장지방을 수거하여 체지방량을 측정하였다.

췌장 지방산화효소 활성 측정

상황버섯 메탄올 추출물의 췌장 지방산화효소 활성 저해 능은 4-methylumbelliferyl oleate(4-MU oleate)를 기질로 사용하는 Kawaguchi 등(17)과 Bitou 등(18)의 방법으로 측 정하였다. 4-MU oleate(0.1 mM, 0.1 mL), McIlvane buf fer(0.1 M citrate-Na₂HPO₄, pH 7.4, 0.04 mL)와 농도별 시료 0.01 mL를 혼합한 반응액에 지방산화효소를 첨가하여 37°C 에서 20분간 반응시킨 후, 지방산화효소에 의해 유리된 4-MU oleate의 양을 형광광도계(Ex 320 nm, Em 450 nm, Hitachi F-4500)로 측정하여 지방산화효소 활성 저해율을 구하고, 지방산화효소 활성을 50% 저해하는 시료의 농도 (IC₅₀)를 구하였다.

DPPH 라디칼 소거능

상황버섯 메탄올 추출물의 DPPH(1,1-diphenyl-2-pic rylhydrazyl) 라디칼 소거능은 Hatano 등의 방법(19)에 따 라, 96 well plate에 일정 농도의 시료와 200 µM DPPH를 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 515 nm에서의 흡광 도를 측정(Hitachi U-3010)하였다. 시료 첨가 전과 후의 흡 광도 차이로부터 DPPH 라디칼 소거율을 구하고, 50% 소거 하는 시료의 농도(IC₅₀)를 구하였다.

분변, 혈장 및 간의 지질 농도

분변의 총지질 함량은 Soxhlet 법(15)으로 추출한 후 정량 하였으며, 혈장의 중성지방, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스 테롤 농도는 측정용 kit(아산제약, 한국)를 사용하여 측정하 였고, LDL-콜레스테롤은 Friedewald의 식(20)을 사용하여 계산하였다. 간의 총 지질은 간 조직을 Folch 법으로 추출한 후 정량하였으며, 추출한 간 지질을 시료로 하여 간의 중성지 방과 총 콜레스테롤 양을 측정용 kit를 사용하여 측정하였다.

혈장 transaminase 활성 측정

혈장 aspartate aminotransferase(AST)와 alanine ami notransferase(ALT) 활성을 kit(아산제약, 한국)로 측정하 였다.

항산화효소 활성 측정

혈장, 적혈구 및 간의 glutathione peroxidase 활성은 Paglia와 Valentine의 방법(21)에 따라, superoxide dismutase 활성은 Flohe와 Otting의 방법(22)에 따라 각각 분광광도계(Hitachi U-3010, Japan)로 측정하였다.

Comet assay

DNA 손상 정도를 측정하기 위하여 Singh 등(23)의 방법에 따라 comet assay를 행하였다. 실험식이를 공급한 지 2주, 4주 및 8주째에 채혈하여 Histopaque 1077로 분리한 림프구를 시료로 다음과 같이 측정하였다. 슬라이드에 1% high melting point agarose(100 μ L), 림프구(슬라이드 당 약 10,000개)와 1% low melting point agarose의 현탁액, 그리고 1% low melting point agarose의 순으로 도포한 후 4°C에 10분간 방치한다. 림프구가 도포된 슬라이드를 phosphate-buffered saline(unstressed lymphocytes) 또는 50 μ M H₂O₂가 함유된 phosphate-buffered saline(stressed lymphocytes)에 5분간 방치(4°C)한다. 슬라이드를 lysis buffer(pH 10)에 1시간 방치(4°C)한 후, unwinding buffer(pH 13)에 30분간 두었다가 저온 암실에서 전기영동(25 V/300 mA, 20분)한다. 중화시킨 후 ethidium bromide로 염색하여 형광현미경(DM IL, Leica)으로 DNA의 손상 정도를 관찰하고, 'Komet 5.0' software(Kinetic Imaging, UK)로 image를 분석하여 Tail Extent Moment(TEM=tail length \times % tail DNA)로 나타내었다. 각 처리구에 2개씩의 슬라이드를 만들고 슬라이드 당 50개씩의 림프구를 임의로 선정하여 DNA image를 분석하였다.

통계처리

실험결과는 SPSS 14.0 통계 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 구하고 일원배치분산분석을 실시하였으며, 사후 검정은 Duncan's multiple range test로 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

상황버섯 메탄올 추출물의 췌장 지방산화효소 활성 저해능

상황버섯 메탄올 추출물의 췌장 지방산화효소 활성 저해능을 Fig. 1에 나타내었다. 췌장 지방산화효소 활성이 농도 의존적으로 저해되어 50 μ g/mL에서 56%, 250 μ g/mL에서 74%, 그리고 500 μ g/mL에서 87%의 높은 저해율을 보였고, 지방산화효소 활성을 50% 저해하는 농도(IC₅₀)는 36.3 μ g/mL로 나타났다. 양성대조구인 orlistat이 같은 농도에서 거의 100% 저해능을 보이는 것(IC₅₀: 3.9 ng/mL)과 비교하면 상황버섯의 지방산화효소 저해활성은 낮다고 할 수 있지만 메탄올 추출물임을 감안하면 비교적 높은 활성을 갖고 있는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 상황버섯 메탄올 추출물에 함유된 췌장 지방산화효소 저해 활성 물질을 규명하는 연구

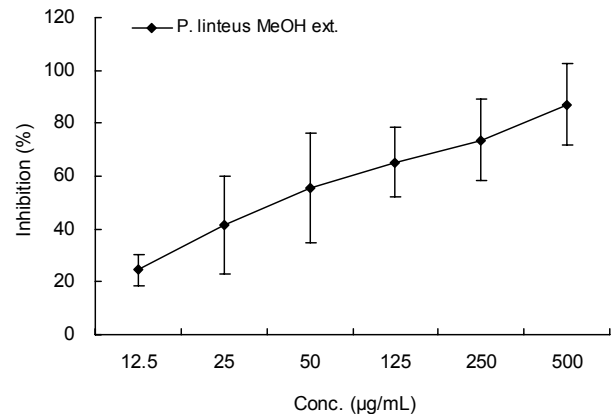


Fig. 1. Inhibition of porcine pancreatic lipase by the methanol extract of *Phellinus linteus*.

가 앞으로 수행되어야 할 필요성이 있다고 생각된다.

상황버섯 메탄올 추출물의 DPPH 소거능

상황버섯 메탄올 추출물의 농도별 DPPH 라디칼 소거능을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. DPPH 라디칼 소거능이 추출물의 농도 의존적으로 증가하여 5 μ g/mL에서 17.2%, 10 μ g/mL에서 34.7%, 그리고 40 μ g/mL에서 85%의 소거율을 보였고, 라디칼을 50% 소거하는 농도(IC₅₀)는 20.1 μ g/mL로 나타났다. 이는 양성대조구인 비타민 C의 IC₅₀ 18.3 μ g/mL와 거의 비슷한 활성을 가지고 있음을 나타낸다. Song 등(11)은 상황버섯 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 10 μ g/mL에서 30%, 300 μ g/mL에서 85.5%였으며, IC₅₀가 22.07 μ g/mL였다고 보고하였고, Kwoen 등(12)의 연구에서도 상황버섯 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀를 17.14~21.37 μ g/mL로 보고한 바 있다. Shon 등(13)은 상황버섯 메탄올 추출물의 과산화수소 소거능이 10 μ g/mL에서 80%로서 대조구로 사용한 토코페롤의 83.1%와 비슷하게 나타났으며, 이는 메탄올 추출물의 페놀화합물 함량(33.3 mg/dL)이 높은 것에 기인한다고 보고하였으며, Hwang 등

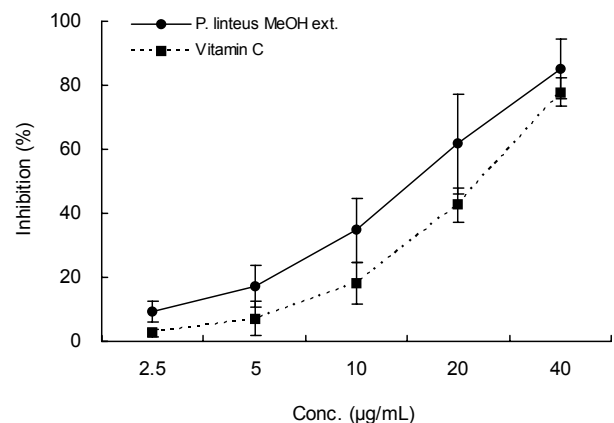


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of the methanol extract of *Phellinus linteus*.

Table 3. Body weight change, food intake, food efficiency ratio and body fat of rats fed with *Phellinus linteus* (PL) powder in the high-fat diet for 8 weeks

	Body weight change (g)		Food intake (g)		FER (%) ¹⁾		Body fat	
	4 wk	8 wk	4 wk	8 wk	4 wk	8 wk	g	%
Control	146.4±21.5 ^{2)ns3)}	192.7±31.5 ^{ns}	360.5±19.6 ^{a4)}	701.6±36.0 ^a	40.5±4.0 ^{ns}	27.4±3.3 ^{ns}	38.6±9.4 ^{ns}	9.0±1.7 ^{ns}
2% PL	147.9±18.7	200.6±22.6	389.4±28.6 ^b	775.2±53.7 ^b	37.9±3.8	25.8±1.7	38.1±8.2	8.7±1.4
5% PL	145.8±14.2	197.6±19.1	393.3±13.7 ^b	776.3±35.7 ^b	37.1±3.7	25.5±2.5	38.4±4.2	8.8±1.0

¹⁾FER: food efficiency ratio, body weight gain (g)/ food intake (g)×100.

²⁾Each value is the mean±SD (n=6). ³⁾ns: not significant.

⁴⁾Values with different superscripts within a column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

(24)은 상황버섯 추출물의 DPPH 소거능(IC₅₀: 1.7 μM)이 대표적인 DPPH 소거제인 trolox(IC₅₀: 18.6 μM)의 10배 정도로서 매우 강력한 항산화력을 나타내는 것으로 보고하였다. 이상의 결과들로부터 상황버섯은 강력한 항산화력을 지닌 물질을 함유하고 있는 것으로 생각된다.

식이섭취량, 체중증가량 및 체지방량

실험식이를 섭취하고 4주와 8주에서의 체중변화량, 식이섭취량, 식이효율 및 체지방량을 Table 3에 나타내었다. 식이섭취량은 상황버섯 2%와 5% 첨가군에서 대조군에 비해 4주에는 각각 8.0%와 9.1%, 8주에는 10.5%와 10.6% 많은 것으로 조사되었으나, 체중증가는 대조군과 차이가 없는 것으로 나타나, 상황버섯 첨가군의 식이효율이 대조군에 비해 낮았으나 통계적인 유의성은 없었다. 체지방량과 체지방율에 있어서도 대조군과 상황버섯 첨가군 간에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 Jung 등(25)이 고지방식이와 함께 상황버섯 메탄올 추출물을 음용수에 혼합하여(50 mg/kg body weight) 4주간 공급하였을 때 상황버섯 추출물을 공급 받은 동물의 식이섭취량은 증가하였으나 체중증가는 대조군과 차이가 없음을 보고한 결과와 유사하다. 이상의 결과로부터 상황버섯 메탄올 추출물의 췌장 지방산화효소 억제 활성이 in vitro에서는 확인되었으나, 상황버섯 분말을 2%와 5% 첨가한 사료를 8주간 공급한 동물에서는 지방흡수 감소를 통한 체중조절효과가 아주 미약한 것으로 보인다. 따라서 상황버섯의 지방산화효소 활성 억제를 통한 체중조절효과를 확인하기 위해 8주 이상의 장기간 섭취를 통한 변화를 관찰할 필요성이 있는 것으로 생각된다.

분변의 지질 함량

상황버섯 첨가 식이를 공급하고 8주째에 3일 동안 분변을

Table 4. Fecal fat excretion of rats fed with *Phellinus linteus* (PL) powder in the high-fat diet for 8 weeks

	Control	2% PL	5% PL
Total fat excretion (mg/day)	71.4±19.1 ^{1)a2)}	96.0±24.0 ^{ab}	145.4±83.6 ^b

¹⁾Each value is the mean±SD (n=6).

²⁾Values with different superscripts within a row are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

수거하여 동결건조한 후 총 지질 배설량을 측정된 결과를 Table 4에 제시하였다. 분변으로의 총 지질 배설량은 상황버섯 첨가로 인해 증가하였으며, 5% 첨가군에서는 고지방식이만 섭취한 대조군에 비해 배설량이 2배 정도 유의성 있게 증가한 것으로 조사되었다. 이는 상황버섯의 췌장 지방산화효소 활성 저해로 인해 식이 지질의 흡수가 감소되었음을 나타낸다. 따라서 상황버섯을 8주간 공급한 본 실험에서는 체중과 체지방량에 유의적인 변화가 확인되지 않았으나, 8주 이상 장기간 섭취한다면 지속적인 지방 흡수 억제를 통해 체중과 체지방의 감소 효과가 확인될 수 있을 것으로 사료된다.

혈장과 간의 지질 농도

고지방식이에 상황버섯 2% 또는 5% 첨가한 식이로 8주간 사육한 동물의 혈장 지질 농도를 Table 5에 나타내었다. 혈장 총콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤은 고지방식이만을 공급한 대조군(113.4 mg/dL과 80.9 mg/dL)에 비해 상황버섯 2% 첨가군(97.3 mg/dL과 66.7 mg/dL)에서 각각 14%와 18% 유의적으로 감소하였으며, HDL 콜레스테롤과 중성지방은 상황버섯 첨가로 인한 변화가 관찰되지 않았다. 따라서 상황버섯 첨가로 인한 혈장 총콜레스테롤의 감소는 LDL 콜레스테롤의 감소에 기인한 것으로 사료된다. 총콜레스테롤

Table 5. Plasma lipid profiles of rats fed with *Phellinus linteus* (PL) powder in the high-fat diet for 8 weeks

	Control	2% PL	5% PL
Triglyceride (mg/dL)	78.6±54.0 ^{1)ns2)}	61.2±30.0	63.4±16.9
Total cholesterol (mg/dL)	113.4±15.1 ^{a3)}	97.3±11.1 ^b	102.1±7.2 ^{ab}
HDL cholesterol (mg/dL)	16.8±3.3 ^{ns}	18.3±2.9	18.8±2.8
VLDL cholesterol (mg/dL)	15.7±10.8 ^{ns}	12.2±6.0	12.7±3.4
LDL cholesterol (mg/dL)	80.9±14.1 ^a	66.7±8.3 ^b	70.7±5.0 ^{ab}
AI ⁴⁾	5.97±1.55 ^a	4.39±0.88 ^b	4.50±0.64 ^b

¹⁾Each value is the mean±SD (n=6). ²⁾ns: not significant.

³⁾Values with different superscripts within a row are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple-range test.

⁴⁾AI: atherogenic index=(total cholesterol-HDL cholesterol)/ HDL cholesterol.

Table 6. Liver lipid profiles of rats fed with *Phellinus linteus* (PL) powder in the high-fat diet for 8 weeks

	Control	2% PL	5% PL
Liver weight (g)	12.3±2.1 ^{1ns2)}	11.7±1.3	11.5±0.4
	(mg/g liver)		
Total lipid	44.9±10.8 ^{a3)}	41.5±9.4 ^{ab}	37.4±7.9 ^b
Triglyceride	15.5±1.4 ^{ns}	13.5±3.5	13.3±2.8
Total cholesterol	8.41±1.76 ^a	6.54±1.68 ^b	6.06±1.61 ^b

¹⁾Each value is the mean±SD (n=6). ²⁾ns: not significant.

³⁾Values with different superscripts within a row are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

과 HDL 콜레스테롤로부터 구한 동맥경화지수(AI)의 경우, 대조군의 5.97에 비해 상황버섯 2%와 5% 첨가군에서 각각 4.39와 4.50으로 유의적으로 감소하였다. 상황버섯 다당체 투여로 인해 혈장 총콜레스테롤과 중성지방 농도가 저하하였으며(26), 상황버섯 추출물에 의해 LDL 콜레스테롤의 산화가 강하게 억제되었다는 보고와 일치한다(24).

간 무게와 간지질 농도(Table 6)를 보면, 상황버섯 첨가군에서 대조군에 비해 간 무게가 감소하는 경향은 있으나 유의성은 없었다. 반면, 간의 총 지질 함량은 5% 첨가군(37.4 mg/g)에서 대조군(44.9 mg/g)에 비해 17% 감소하였으며, 총 콜레스테롤 함량은 2%(6.54 mg/g)와 5%(6.06 mg/g) 첨가군 모두 대조군(8.41 mg/g)에 비해 각각 22%와 28% 감소하는 것으로 나타났다. 간의 중성지방 함량은 상황버섯 첨가의 영향을 받지 않는 것으로 조사되었다. 이는 상황버섯 투여로 인해 간 무게가 감소하고, 간 지질과 콜레스테롤이 각각 25%와 17% 감소하였으며, LDL 콜레스테롤도 유의적으로 감소하였다는 Jung 등(25)의 결과와 일치한다. 이상의 결과로부터 상황버섯의 섭취가 혈액과 간의 지질 대사 개선 효능을 가지며, 항산화작용을 통해 LDL 콜레스테롤의 산화를 억제하므로 고지혈증, 동맥경화, 고혈압 등 심혈관계 질환에 대한 예방 효과가 있을 것으로 사료된다.

혈장 transaminase 활성

고지방식이에 상황버섯을 2%와 5% 첨가한 식이를 8주간 공급하여 사육한 동물의 혈장 GOT와 GPT 활성을 측정된 결과를 Table 7에 나타내었다. GOT 활성의 경우, 상황버섯 첨가군에서 대조군에 비해 감소하는 경향은 보이나 유의성

Table 7. GOT and GPT activities of rats fed with *Phellinus linteus* (PL) powder in the high-fat diet for 8 weeks

	Control	2% PL	5% PL
	Karmen unit		
GOT	67.4±19.0 ^{1ns2)}	55.7±6.37	59.0±9.56
GPT	19.9±9.2 ^{a3)}	11.4±5.0 ^b	11.0±3.9 ^b

¹⁾Each value is the mean±SD (n=6). ²⁾ns: not significant.

³⁾Values with different superscripts within a row are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

은 없었고, GPT 활성의 경우, 상황버섯 2%와 5% 첨가군에서 각각 43%와 45% 감소하는 것으로 나타났다. 사염화탄소로 인한 간 손상에 대한 상황버섯의 효과를 측정된 Jung 등(25)의 연구에서, GOT와 GPT 모두 상황버섯 투여군에서 대조군보다 각각 16%와 18% 낮은 활성을 보였고 GPT의 경우 통계적으로 유의성 있게 감소하였다고 보고하였고, Kim 등(26)은 상황버섯 다당체 투여로 인한 GOT 활성 감소 효과를 보고하였으며, Ye 등(27)은 상황버섯 에탄올 추출물을 처리한 간세포에서 lactate dehydrogenase(LDH)의 유출이 감소하는 것을 관찰하였다. 이상의 결과들로부터 상황버섯은 간 기능 상태의 지표 효소로 알려진 GOT, GPT 및 LDH 활성을 낮추는 것을 알 수 있으며 이로써 간 조직의 손상에 대한 억제 효과가 있는 것으로 사료된다.

항산화 효소 활성

혈장, 적혈구 및 간의 항산화 효소 활성을 측정된 결과를 Table 8에 나타내었다. T-SOD의 경우, 혈장, 적혈구 및 간 조직 모두에서 상황버섯 첨가로 인한 활성의 변화가 관찰되지 않았다. GSH-Px 활성의 경우, 혈장에서 2%와 5% 첨가군에서 각각 1.92와 1.93 μmole/min/mL로서 대조군의 0.97 μmole/min/mL에 비해 각각 98%와 99% 증가하였고, 간에서도 대조군의 활성이 6.43 μmole/min/mg protein인 것에 비해 2% 첨가군은 9.40 μmole/min/mg protein, 5% 첨가군은 8.48 μmole/min/mg protein로 대조군에 비해 각각 46%와 32% 활성 증가를 보였다. 반면 적혈구에서는 상황버섯 첨가로 인한 GSH-Px 활성에 변화가 없었다. 생체 내의 반응성 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)들은 체내의 항산화 물질들, 즉 비타민 C와 E, carotenoids, glutathione 및 항산화 효소들에 의해 조절된다. 항산화 효소들 중에서 su-

Table 8. Blood and liver anti-oxidative enzyme activities of rats fed with *Phellinus linteus* (PL) powder in the high-fat diet for 8 weeks

	Anti-oxidative enzymes	Control	2% PL	5% PL
Plasma	T-SOD (unit/min/mL)	6.66±2.45 ^{1ns2)}	6.78±2.16	7.12±2.31
	GSH-Px (μmole/min/mL)	0.97±0.09 ^{a3)}	1.92±1.14 ^b	1.93±0.49 ^b
Erythrocyte	T-SOD (unit/min/mL)	27.4±3.86 ^{ns}	25.9±6.00	26.4±5.16
	GSH-Px (μmole/min/mg Hb)	1.64±0.38 ^{ns}	1.70±0.30	1.63±0.39
Liver	T-SOD (unit/min/mg protein)	42.0±13.8 ^{ns}	44.5±10.3	44.1±11.6
	GSH-Px (μmol/min/mg protein)	6.43±1.49 ^a	9.40±1.58 ^b	8.48±1.87 ^b

¹⁾Each value is the mean±SD (n=6). ²⁾ns: not significant.

³⁾Values with different superscripts within a row are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

peroxide dismutase(SOD)는 superoxide anion을 hydrogen peroxide로 전환시키며, 생성된 hydrogen peroxide는 catalase(CAT)와 glutathione peroxidase(GSH-Px)에 의해 분해되는데, 분해되지 못한 여분의 hydrogen peroxide는 Fe²⁺와 반응하여 세포에 매우 강한 독성을 주는 hydroxyl radical로 전환되고, 세포 내 단백질, 세포막, DNA 등에 손상을 주어 세포의 노화와 괴사 등을 초래한다(28-30). 상황버섯의 암 예방과 항암효과가 상황버섯 섭취로 인한 glutathione과 glutathione S-transferase의 활성 증가에 기인하며(31), 상황버섯 에탄올 추출물을 처리한 간세포에서 지질과산화물과 carbonyl 화합물의 생성이 감소하고, glutathione의 증가와 함께 glutathione reductase와 GSH-Px 활성이 증가하여 세포 내 ROS의 생성을 억제하는 효과가 있음을 보고하였다(27). 이상의 결과들로부터 상황버섯은 생체 내 항산화 효소계의 활성을 유도함으로써 체내 ROS의 신속한 제거를 통해 ROS에 의한 세포 손상을 억제하는 효과가 있으며, 본 실험 결과로는 ROS의 제거가 혈장과 간의 GSH-Px의 활성화에 기인한 것으로 사료된다.

림프구 DNA 손상

DNA 손상 정도는 생체의 산화스트레스 정도를 말해 주는 매우 신뢰성이 높은 측정 지표이다. 상황버섯의 섭취가 림프구 DNA 손상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실험식이를 공급하고 2주와 4주, 그리고 8주간의 사육이 끝난 후 채혈하여 림프구를 분리하고 comet assay로 림프구의 DNA 손상 정도를 측정한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 손상 정도는 Tail extent moment(TEM=tail length×% tail DNA)로 나타내었다. 분리한 림프구를 시기별로 이등분하여, 반은 상황버섯 섭취 자체가 림프구 DNA 손상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 림프구를 phosphate-buffered saline에 5분간 담구어 처리하였으며(unstressed lymphocytes), 나머지 반은 상황버섯을 섭취한 동물의 림프구에 산화스트레스를 가한 후 DNA 손상에 대한 상황버섯의 DNA 손상 억제 정도

를 알아보기 위해 림프구를 50 μM H₂O₂에 5분간 담구어 처리하였다(stressed lymphocytes).

산화스트레스를 주지 않은 림프구(unstressed lymphocytes)의 경우, 상황버섯을 2주간 섭취하였을 때 TEM이 2%와 5% 첨가군에서 대조군에 비해 각각 6.9%와 31.0% 증가한 것으로 조사되었으나, 4주간 섭취한 후의 림프구에서는 상황버섯 첨가군과 대조군의 TEM에 유의적인 차이가 없었으며, 8주간 섭취한 동물에서는 2%와 5% 첨가군 모두 TEM이 각각 대조군의 61.5%와 48.3%인 것으로 조사되어 DNA 손상 억제 효과가 있는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터 상황버섯의 섭취가 초기에는 실험동물에게 산화스트레스를 주지만 장기간 섭취할수록 생체 항산화력의 활성화를 통해 DNA 손상이 억제되는 양상을 보이는 것을 알 수 있었다.

H₂O₂로 산화스트레스를 가한 림프구(stressed lymphocytes)의 경우, 상황버섯을 2주간 섭취한 동물의 림프구에서는 TEM이 대조군에 비해 낮았으나 유의성은 없었다. 그러나 상황버섯 2% 첨가 식이를 4주와 8주 동안 섭취한 군의 TEM은 대조군에 비해 각각 29%와 33% 낮은 것으로 조사되어 상황버섯의 섭취가 산화스트레스로 인한 DNA 손상에 대해 강한 억제력을 발휘하는 것으로 나타났다. 상황버섯 투여가 catalase 활성을 유도하여 H₂O₂를 신속히 제거함으로써 생체의 산화적 스트레스를 완화시켜주며(32), 상황버섯에서 분리한 Phellinsin A가 체내에서 superoxide anion을 생성하는 xanthine oxidase의 활성을 강력하게 억제한다고 하였으며(24), 상황버섯 추출물 자체는 돌연변이원성이 없으며 상황버섯은 강한 항돌연변이 효과가 있음을 Ames test로 확인한 연구도 있다(33,34). 이상의 결과들로부터 상황버섯은 체내 ROS의 생성 억제와 항산화 효소계의 활성 유도를 통해 ROS를 신속히 제거하여 ROS에 의한 세포의 산화적 손상을 방어한다는 것을 알 수 있었다.

요 약

상황버섯의 지방소화효소 억제와 항산화 활성을 구명하기 위해 상황버섯 메탄올 추출물의 췌장 lipase 억제 활성과 항산화 활성을 in vitro에서 측정하고, 흰쥐에 고지방식이와 함께 상황버섯 분말을 투여하여 지방소화효소 활성 저해를 통한 지방 흡수 억제와 항산화 효과를 in vivo에서 관찰하였다. 메탄올 추출물의 췌장 지방소화효소 활성 저해능과 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과, IC₅₀가 각각 36.3 μg/mL와 20.1 μg/mL로 나타났으며, DPPH 소거능은 비타민 C의 IC₅₀인 18.3 μg/mL와 비슷하였다. 상황버섯 분말을 고지방식이에 각각 2%와 5% 첨가한 식이를 공급하고 8주간 사육한 결과, 상황버섯 첨가로 인해 식이섭취량은 증가하였으나 체중과 체지방량에는 차이가 없었으며 따라서 식이효율은 낮았지만 유의적이지는 않았다. 그러나 상황버섯 섭취로 인해 지질의 흡수가 감소되어 분변으로의 지질 배설량이 증

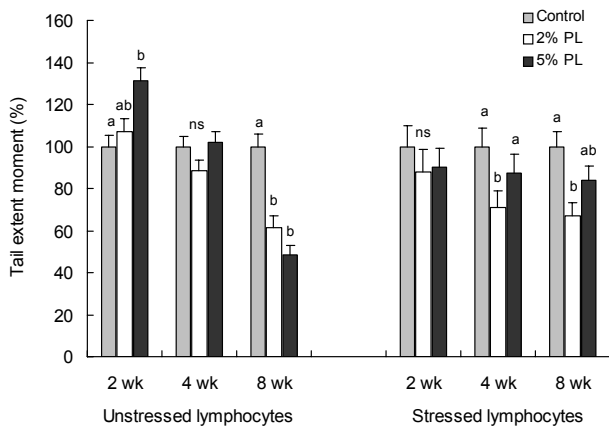


Fig. 3. Lymphocyte DNA damage measured by the comet assay in rats fed with *Phellinus linteus* (PL) powder in the high-fat diet for 8 weeks.

가한 것으로 조사되었다. 혈장 지질의 경우, 상황버섯 첨가군에서 혈장 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤, 간의 총 지질과 총 콜레스테롤 함량이 대조군에 비해 낮아진 것으로 조사되었다. 혈장 GPT 활성은 상황버섯 2%와 5% 첨가군에서 각각 대조군에 비해 43%와 45% 감소하였다. 혈장, 적혈구 및 간의 항산화 효소 활성을 측정한 결과, 상황버섯의 첨가로 T-SOD 활성은 영향을 받지 않았으나, GSH-Px는 간과 혈장에서 활성이 증가하였다. 실험식이를 공급하고 2주, 4주 및 8주에 림프구를 분리하여 DNA 손상 정도를 측정한 결과, 상황버섯을 2주간 섭취한 후의 림프구 DNA 손상이 대조군에 비해 큰 것으로 조사되었으나, 4주간 섭취한 군에서는 차이가 없었고, 8주에서는 DNA 손상이 억제되었으며 2% 첨가군에서 DNA 손상 억제 정도가 가장 크게 나타났다. 림프구에 H₂O₂로 산화스트레스를 가하고 DNA 손상 정도를 측정한 결과, 상황버섯 첨가군의 DNA 손상이 대조군에 비해 식이섭취기간에 비례해서 낮아졌고, 5% 첨가보다는 2% 첨가군에서 억제 효과가 더 높은 것으로 조사되었다. 이상의 결과들로부터, 상황버섯은 생체 내 항산화 효소계의 활성 유도와 산화스트레스로 인해 생성된 라디칼의 활발한 소거를 통해 세포의 산화적 손상을 억제하는 효과가 있는 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 안동대학교 연구교수 지원에 의해 수행되었습니다.

문헌

- Ministry of Health and Welfare. 2006. The Third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES III), Nutrition Survey (1), 2005. p 229.
- Ministry of Health and Welfare. 2006. The Third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES III), Health Examination, 2005. p 38-44.
- Bray GA, Ryan DH. 2007. Drug treatment of the overweight patient. *Gastroenterology* 132: 2239-2252.
- Vincent HK, Innes KE, Vincent KR. 2007. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab* 9: 813-839.
- Carantoni M, Abbasi F, Warmerdam F, Klebanov M, Wang PW, Chen YD, Azhar S, Reaven GM. 1998. Relationship between insulin resistance and partially oxidized LDL particles in healthy, nondiabetic volunteers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 762-767.
- Hirai N, Kawano H, Hirashima O, Motoyama T, Moriyama Y, Sakamoto T, Kugiyama K, Ogawa H, Nakao K, Yasue H. 2000. Insulin resistance and endothelial dysfunction in smokers: effects of vitamin C. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279: H1172-1178.
- Ikegawa T, Nakanishi M, Uehara N, Chihara G, Fukuoka F. 1968. Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann* 59: 155-157.
- Song KS, Cho SM, Lee JH, Kim HM, Han SB, Ko KS, Yoo ID. 1995. B-lymphocyte stimulating polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Chem Pharm Bull* 43: 2105-2108.
- Lee JH, Cho SM, Song KS, Han SB, Kim HM, Hong ND, Yoo ID. 1996. Immunostimulating activity and characterization of polysaccharide from mycelium of *Phellinus linteus*. *J Microbiol Biotechnol* 6: 213-218.
- Han SB, Lee CW, Jeon YJ, Hong ND, Yoo ID, Yang KH, Kim HM. 1999. The inhibitory effect of polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* on tumor growth and metastasis. *Immunopharmacology* 41: 157-164.
- Song YS, Kim SH, Sa JH, Jin C, Lim CJ, Park EH. 2003. Anti-angiogenic, antioxidant and xanthine oxidase inhibition activities of the mushroom *Phellinus linteus*. *J Ethnopharmacol* 88: 113-116.
- Kwoen DJ, Youn SJ, Cho JG, Choi UK, Kang SC. 2006. Antioxidant activities and biological properties of *Phellinus linteus* extracts according to different extraction methods. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 91-96.
- Shon MY, Seo KI, Chio SY, Sung NJ, Lee SW, Park SK. 2006. Chemical compounds and biological activity of *Phellinus baumii*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 524-529.
- Atsumi S, Nosaka C, Ochi Y, Iinuma H, Umezawa K. 1993. Inhibition of experimental metastasis by an α -glucosidase inhibitor, 1,6-epi-cyclophellitol. *Cancer Res* 53: 4896-4899.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
- Prosky L, Asp NG, Furda I, DeVries JW, Schweizer TF, Harland BF. 1985. Determination of total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 68: 677-679.
- Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K. 1997. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and *Pseudomonas*. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 102-104.
- Bitou N, Ninomiya M, Tsujita T, Okuda H. 1999. Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids* 34: 441-445.
- Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T. 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem Pharm Bull* 36: 2090-2097.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
- Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169.
- Flohe L, Otting F. 1984. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol* 105: 93-104.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1998. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191.
- Hwang EI, Kim JR, Jeong TS, Lee S, Rho MC, Kim SU. 2006. Phellinsin A from *Phellinus* sp. PL3 exhibits antioxidant activities. *Planta Med* 72: 572-575.
- Jung ME, Ham SS, Nam SM, Kang IJ, Kim SJ, Chung CK. 2001. Biochemical and histological effects of *Phellinus linteus* methanol extract on liver lipid metabolism of rats fed CCl₄ and high fat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 331-337.
- Kim HM, Han SB, Oh GT, Kim YH, Hong DH, Hong ND, Yoo ID. 1996. Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int J Immunopharmacol* 18: 295-303.
- Ye SF, Hou ZQ, Zhang QQ. 2007. Protective effects of

- Phellinus linteus* extract against iron overload-mediated oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Phytother Res* 21: 948-953
28. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B. 1991. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem* 37: 1932-1937.
29. Fridovich I. 1978. The biology of oxygen radicals. *Science* 201: 875-880.
30. Emerit J, Beaumont C, Trivin F. 2001. Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. *Biomed Pharmacother* 55: 333-339.
31. Shon YH, Nam KS. 2001. Antimutagenicity and induction of anticarcinogenic phase II enzymes by basidiomycetes. *J Ethnopharmacol* 77: 103-109.
32. Park J, Lee BR, Jin LH, Kim CK, Choi KS, Barn JH, Lee KS, Kwon HY, Chang HW, Baek NI, Lee EH, Kang JH, Cho SW, Choi SY. 2001. The stimulatory effect of *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus* on the anti-oxidant enzyme catalase. *J Biochem Molecul Biol* 34: 144-149.
33. Ji JH, Kim MN, Chung CK, Ham SS. 2000. Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 322-328.
34. Ji JH, Kim MN, Chung CK, Ham SS. 2000. Antigenotoxic effects of *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei* Murill extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 513-517.

(2007년 11월 19일 접수; 2007년 12월 31일 채택)