

영지(靈芝)가 알코올 섭취한 흰쥐의 간기능 및 지질대사에 미치는 영향*

이 준 호 · 박 광 순

충남대학교 가정대학 가정교육과

Effect of Ganoderma Lucidum on the Liver Function and Lipid Metabolism in Alcohol-Consuming Rats

Lee, Joon Ho · Park, Kwang Soon

Department of Home Economics Education, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

ABSTRACT

The effects of Ganoderma Lucidum consumption (GL) on the liver function and lipid metabolic disorder induced by alcohol consuming were studied in rats using GL powder (1%, 2%, 4%) and 10% ethyl alcohol. Thirty-five rats (Sprague-Dawley, male) were divided into five groups and fed experimental diets for seven weeks. The concentrations of serum cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride were the highest in the alcohol group, while the levels were apparently reduced by in groups fed GL. The atherogenic indices (AI) also tended to be higher in the alcohol group. Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) activities were significantly lower in both alcohol + 2% GL and alcohol + 4% GL groups, and glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities lower only in the alcohol + 2% GL compared with the alcohol group. Alkaline phosphatase (ALP) activities were not significantly different among the groups. The elevated levels of liver cholesterol and triglyceride due to alcohol consumption, were apparently reduced by GL supplementation. On microscopic observation of liver tissues, fat droplets appeared extensively on the liver-lobule in the alcohol group, while fat droplets appeared only on the central vein in the alcohol + 1% GL group. However, in groups administered 2% and 4% GL, fat droplets appeared similar to the alcohol group. The concentrations of fecal bile acid were significantly increased in groups fed GL. These results indicate that GL exerted some beneficial effects on lipid metabolic disorder caused by long-term alcohol consumption. Thus, it seems that GL may be effective in preventing or curing some aspects of alcohol toxicity. More detailed studies are needed in order to determine proper dietary levels of GL for combating alcohol toxicity. (*Korean J Nutrition* 32(5) : 519~525, 1999)

KEY WORDS : Ganoderma lucidum, GOT, GPT, bile acid, histopathology.

서 론

알코올은 체내에서 주로 alcohol dehydrogenase (ADH)를 통하여 대사를 하지만 이외에도 microsome의 ethanol 산화계와 peroxisome의 catalase를 이용하는 경로로 체내에서 대사되고 있다.¹⁾ 그런데 어떤 경로이든 알코올이 산화되어 생성된 acetaldehyde는 그 자체가 매우 반응성이 높은 물질로 세포내 여러 단백질과 쉽게 결합하여 단백질의 기능을 변조시키고 세포에 독성을 초래하는데 특히 단백질의 lysine 잔기와 Schiff 염기를 형성하게 되며 단백질에는 각종 혈장 단백질, 적혈구막단백, 간세포 단백질, hemoglo-

bin 등이 있으며 이와같은 결합은 세포기능을 크게 저해하게 된다.²⁾ 또한 알코올의 산화과정에 참여하는 ADH나 aldehyde dehydrogenase는 모두 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)의 의존성 효소들이므로 알코올 산화에 조효소인 NAD가 절대적으로 필요하다. 그런데 NAD는 수소 수용체로 작용하여 NADH로 전환되어 간의 redox state에 변화를 초래하게 되는데 이로 인하여 증가된 수소가 지방산대신 에너지원으로 사용되어 triglyceride의 간내 축적을 일으키거나 citric acid cycle의 활성도 감소로 지방산의 산화감소, lipoprotein 합성의 증가를 초래하게 되며³⁾ Paolo 등⁴⁾은 정상인에게 알코올을 섭취시켰을 때 지질의 산화가 36% 감소되었다고 했다. 또한 알코올은 간의 단백질 합성의 감소와 lipid peroxidation의 증가를 나타내고⁵⁾ 알코올의 대사과정에서 비롯되는 NADH의 증가는 간의 산소소모를 항진시켜 hepatic venule 주위의 괴사가 동반될수

채택일 : 1999년 4월 23일

*This work was supported by Grant No. KOSEF 51-0602-074-1 from the Korea Science and Engineering Foundation.

도 있다.⁶⁾ 따라서 알코올의 지속적인 과량섭취는 지질대사의 장애 및 지방간, 급성간염, 간경변증 등의 간질환의 발현을 촉진시킬 수 있다. 그러므로 알코올을 지속적으로 과량섭취하는 사람들은 정상적인 건강상태를 유지하기 위해서는 알코올성 증후를 예방할 수 있는 적절한 섭식이 매우 중요하다. 여기에 유효성이 있을 건강식품으로써 최근 관심이 집중되고 있는 영지버섯이 있다.

영지(*Ganoderma lucidum*)는 구멍장이 버섯과(*polyporaceae*)에 속하는 버섯으로서 赤芝, 黑芝, 靑芝, 白芝, 黄芝, 紫芝의 6종으로 분류되어 있으며 우리나라에서 재배되는 것은 주로 赤芝(*Ganoderma lucidum* Karst)이며 오래전부터 민간요법으로 자양강장, 진정, 진통, 항종양, 혈압강하제로써 그리고 동맥경화, 기관지염, 만성관절염, 급만성간염 등의 치료에 만병통치의 약제로 쓰여져 왔다.⁷⁾ 영지에 대한 약효는 1970년경부터 과학적으로 입증하는 연구가 활발해졌고 영지의 인공재배도 이때부터 성공적으로 실시되어 많이 보급되고 있다. Park⁸⁾는 영지의 첨가가 실험적 고지혈증을 유발시킨 흰쥐에서 혈청중 지방성분 증가에 대한 억제효과가 현저하였다고 하였으며 Lee⁹⁾는 사염화탄소에 의해 실험적 간장중독이 유발된 흰쥐에 영지 추출액을 투여했을 때 혈청중의 간기능 효소활성도가 영지 첨가량에 따라 현저하게 회복되었다고 했다. 영지 열수추출액 100mg/kg을 흰쥐에게 투여했을 때 cholesterol, triglyceride, β -lipoprotein의 저하작용에 대한 유효성이 인정되었고 항고혈압 성분은 영지 열수추출액 중 fucose, fructose 및 glucose를 함유한 분자량 10만 이하의 polysaccharide-protein complex라고 했으며 또한 영지자실체의 약효성분은 lanostane형의 苦味성분에서 분리된 ganoderic acid A 및 ganoderic acid B라고 명명하였다.¹⁰⁾ 이와 같이 영지의 약효성분 혈압강하작용과 동맥경화억제, 고지혈증 및 고cholesterol혈증의 저하 그리고 급만성 간염에 대한 효용성들을 고려할 때 알코올성 중독증세의 예방 및 치료에 유용할 것으로 추측된다. 그런데 영지의 효과에 대한 연구는 많이 되어 있으나 현재 알코올섭취와 관련시킨 연구가 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 알코올 섭취에 의한 간기능 및 지질대사성 병변에 대한 영지의 효과를 알아보고자 흰쥐(Sprague-Dawley, 수컷)에게 알코올을 공급하면서 영지를 수준 별로 섭취시켜 동물실험을 하였다. 간기능에 관여하는 효소를 분석하였고 간조직의 변화를 현미경적으로 관찰해 보았다. 그리고 혈청 및 간의 지질수준과 분종의 담즙산을 분석하였다. 또한 혈청 HDL-cholesterol 함량을 측정하여 총 cholesterol 함량과 비교하여 동맥경화성지수를 구해 보았다.

실험재료 및 방법

1. 식이조성 및 동물사육

실험동물로 Sprague-Dawley(male)의 4주령 35마리를 대한실험동물센터에서 구입하여 사육되는 고행사료로 1주일간 적응시킨 후 실험식이를 7주간 투여하였다. 실험식의 조성은 AIN formula¹¹⁾를 기본으로 하여 casein 20%, fat(corn oil) 10%, mineral mixture(AIN¹²⁾) 3.5%, vitamin mixture(AIN¹³⁾) 1%, choline bitartrate 0.2%, DL-methionine 0.3%, cellulose powder 5%, sucrose 45%, corn starch 15%로 하였고 영지의 첨가에 따른 조절은 corn starch함량에서 대체하였다. 실험군은 대조군, 알코올군, 알코올 + 1%영지군, 알코올 + 2%영지군, 알코올 + 4%영지군으로 5군으로 하여 각군에 7마리씩 분배하였다. 알코올 투여는 ethyl alcohol을 처음 3주간은 5%로 적응시킨 후 4주부터 7주까지는 10%로 하여 증류수에 희석시켜 음료로써 자유로이 공급하였으며 알코올의 휘발을 우려하여 매일 새로 조성하여 같이주었다. 대조군은 알코올 대신 glucose로 ethyl alcohol의 열량에 상응되도록 계산하여 증류수에 희석시켜 음료로써 공급하였다. 사용한 영지는 충북 옥천군 안내면 답양리 일대(일명 佳山)에서 인공재배한 것으로 참나무를 원목으로 이용하여 원목 비닐 포트식, 톱밥종균 방식으로 재배한 것을 분말로 한 것이었다. 사육실은 12시간 명암주기로 하고 온도는 $23 \pm 1.0^\circ\text{C}$, 습도는 60~70%를 유지하였다. 식이공급은 자유로이 제공하고 사료 섭취량과 체중은 매 2일에 1번씩 일정한 시간에 측정하였고 알코올 희석수의 소비량도 매일 일정한 시간에 측정하였다. 분은 실험 종료전 3일부터 매일 일정시간에 채취하여 혈장물을 제거한 후 동결건조하여 秤量하였다. 사육 7주의 마지막날 동물을 14시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하여 심장에서 혈액을 채취하고, 얼음물에서 자연응고시킨 후 원심분리하여 혈청을 얻었다. 채혈직후 간, 심장, 비장, 그리고 부고환의 지방조직을 적출하여, 즉시 냉각된 생리적 식염수로 세척하고 여과지로 표면의 물기를 제거한 다음 간은 조직학적 검사를 하기 위해 적출직후에 일부($1 \times 1 \times 0.5\text{cm}$)를 절편하여 10% 중성 formalin액에 고정시켰고 간의 나머지 적출된 장기는 모두 혈청과 함께 분석시까지 냉동저장(-60°C)하였다.

2. 혈청 및 간의 지질 분석

간과 혈청의 cholesterol 정량 분석을 위해 Folch 등¹²⁾의 방법으로 지질을 chloroform:methanol(2:1)의 용매에 의

해 추출한 뒤, Sperry-Webb 방법¹³⁾을 이용하여 측정하였고, triglyceride는 Fletcher¹⁴⁾의 방법에 의해 측정하여 각각 표준검량선을 기준하여 함량을 산출하였다. 혈청 HDL-cholesterol의 측정은 Heparin-Mn 결합 침전법에 의한 kit (Wako, Co. Japan)를 이용하여 505nm 에서 흡광도를 측정 후 표준 용액의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다. 한편, 동맥경화성지수는 총cholesterol-HDL-cholesterol / HDL-cholesterol 의 값으로 구하였다.

3. 혈청 GOT, GPT 및 ALP의 활성치 측정

혈청중의 glutamic oxalacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)활성치는 Reitman-Frankel법에 의한 kit(아산제약)로 측정하였고, 혈청중의 Alkaline phosphatase(ALP)활성치 측정은 Kind-King법에 의한 kit(아산제약)로 측정하였다. 이들 활성치는 모두 505nm에서 흡광도를 측정하였고 표준용액의 검량선에 기준하여 활성치를 산출하였다.

4. 분 중의 담즙산 측정

분 중의 담즙산 분리는 Mittinen 등의 방법¹⁵⁾을 수정하여 냉동건조된 분을 분말화하여 100mg을 Ethyl alcohol로 추출한 후 95℃ 항온수조에서 증발시키고 1.25N NaOH를 소량 첨가하여 120℃에서 6시간 동안 Autoclaving하여 검화시켰다. 이것을 ether에 의해 중성 sterol을 추출 제거한 후 2N HCl로 산성화시켜서 다시 ether로 담즙산을 추출하여 건조시킨 후 ethyl alcohol 소량으로 용해하여 분석용 시료로 사용하였다. 담즙산의 정량은 Kyokudo사(일본제)의 담즙산 kit(Code No. 40140)를 이용하여 560nm에서 흡광도를 측정하였다. 담즙산의 함량 계산은 kit에서 제시된 계산법에 준하였으며 1일분 배설량을 고려하여 mg / 1일분 배설량으로 산출하였다.

5. 간의 조직학적 관찰

간을 생리적 식염수에 깨끗이 수세한 후右中葉, 左中葉에서 각각 크기 1 × 1 × 0.5cm의 절편을 10%의 중성 formalin에 48시간 고정한 다음 paraffin 包埋를 거쳐 4~5µ의 두께로 박절하여 hematoxylin eosin 염색을 시행하여 세포병리학적 소견을 검정하였으며 관독방법에서는 지방변화가 주로 관찰 되었는데, 그 정도는 범위에 따라서 간소엽의 중심대에 아주 경미하게 나타날 때 +, 정도일 때 ++, 중심대에서 중간대에 걸쳐 나타날 때 +++, 그리고 간소엽 전역에 걸쳐 광범위하고 심하게 나타날 때 ++++로 표기하였다¹⁶⁾.

6. 통계 처리

모든 측정치들은 SAS package를 이용하여 실험결과로부터 각 군별 평균과 표준편차를 산정하였다. 각 군간의 지질 수준의 평균치의 비교와 유의적차이는 Duncan의 multiple-range test에 의해 one-way 분산분석을 이용하여 p < .05수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 동물의 성장과 사료 섭취량

실험동물 Sprague-Dawley(수컷)의 7주동안의 성장과 사료섭취량 및 간중량의 변화는 Table 1과 같다. 체중증가에서 그룹간의 유의적인 차이는 없었으나 대조군보다 알코올 섭취군들에서 약간 낮은 경향이였다. Pirola와 Lieber¹⁷⁾도 쥐에게 당질 대신 알코올을 섭취시켰을 때 체중증가가 저하되었다고 하였으며, 사람이 전체 에너지중 50%를 당질 대신 알코올을 섭취하면 체중이 감소하였다는 보고¹⁸⁾도 있었다. 이와같이 알코올 섭취로 인하여 체중증가가 감소하는 이유는 알코올 섭취로 산소의 소비를 증가시키고 대사율을 증가시키며 microsome에서 알코올 산화기구의 ATP 생성이 저하되기 때문인 것으로 고려되었다.¹⁹⁾ 1일 평균 식이 섭취량은 알코올 급여군들이 대조군보다 유의적으로 많이 섭취하였다. 그런데 Kim 등²⁰⁾의 논문에서는 알코올이 식이 섭취량에 유의적인 영향을 주지 않았다. 실험동물의 체중 100g당 간중량은 그룹간의 유의적인 차이가 없었다.

2. 혈청 지질함량

Table 2에서 보면 혈청 총 cholesterol함량이 다른 군에 비하여 알코올섭취군에서 유의적으로 높게 나타났는데 이것은 장기간 알코올의 투여가 혈청 총 cholesterol 증가를 수반한다는 Pikaar 등²¹⁾의 결과와 일치하였다. 한편 알코올과 함께 영지를 섭취한 군에서는 혈청 총 cholesterol함량이 유의적으로 감소되었으며 특히 영지를 4%첨가한 경

Table 1. Growth parameters and liver weights

Groups	Body weight		Food initial	Liver weight
	Intake	Gain		
	(g)	(g / 7 weeks)	(g / day)	(g / 100gBW)
Control	118 ± 3	224 ± 12	13.4 ± 0.6 ^a	3.08 ± 0.1
Alcohol	120 ± 2	196 ± 5	15.3 ± 0.7 ^b	2.94 ± 0.2
Alcohol + 1%GL	118 ± 4	207 ± 8	15.1 ± 0.2 ^b	2.97 ± 0.1
Alcohol + 2%GL	119 ± 4	198 ± 10	14.3 ± 0.3 ^{ab}	3.01 ± 0.1
Alcohol + 4%GL	119 ± 4	210 ± 6	15.4 ± 0.2 ^b	2.99 ± 0.1

Values were mean ± SE of 6 to 7 rats per group. a, b: Values with different superscript letters are significantly different at P < .05, GL: Ganoderma lucidum

Table 2. Concentration of serum lipid

Groups	Total cholesterol(mg / dl)	HDL-cholesterol(mg / dl)	Triglyceride(mg / dl)	AI
Control	51.5 ± 3.2 ^b	38.4 ± 3.3 ^{ab}	157 ± 17.4 ^b	0.34 ± 0.09
Alcohol	70.2 ± 3.6 ^a	45.2 ± 3.8 ^a	218 ± 21.5 ^b	0.72 ± 0.13
Alcohol + 1%GL	43.0 ± 4.2 ^{bc}	37.1 ± 2.5 ^{ab}	170 ± 8.5 ^{ab}	0.43 ± 0.18
Alcohol + 2%GL	43.2 ± 5.1 ^{bc}	32.3 ± 2.2 ^b	161 ± 23.0 ^a	0.57 ± 0.19
Alcohol + 4%GL	37.9 ± 5.6 ^c	34.7 ± 1.7 ^b	131 ± 8.7 ^a	0.52 ± 0.29

Values were mean ± SE of 6 to 7 rats per group, a,b,c: Values with different superscript letters are significantly different at P < .05
GL: Ganoderma lucidum, AI: Atherogenic Index

우에는 대조군보다도 유의적으로 낮게 나타났다. 이 결과는 정상식이에 영지 분말을 0.2, 1, 5%로 흰쥐에게 첨가한 Shin²²⁾의 연구나 정상 식이에 영지 추출액을 투여한 Chung⁷⁾의 보고와 일치하였다. 이에 대하여 영지에 다량 함유되어 있는 섬유소가 많은 영향을 주었으리라고 짐작되며, Shin²²⁾은 영지의 주성분인 polyglycan이 담즙산과 결합하여 담즙산의 배설이 증가되고 이를 보충하기 위해 cholesterol에서 담즙산으로의 전환이 증가됨에 기인될 것으로 제시된 바 있다. 혈청 HDL-cholesterol 함량은 총 cholesterol 함량과 유사한 경향으로 알코올군이 유의적으로 높고 알코올에 영지를 첨가함에 의해 저하되는 경향이며 특히 영지를 2%, 4% 첨가한 군에서는 알코올군에 비해 현저히 낮게 나타났다(Table 2). 혈청의 triglyceride 함량은 대조군에 비하여 알코올군에서 크게 상승하였는데 이 결과는 알코올을 장기간 섭취하게 하면 고지혈증을 일으킨다는 보고물^{23,24)}과 유사하였다. 그런데 알코올에 영지를 첨가함에 따라 혈청 triglyceride가 감소되어 영지 2%, 4% 첨가한 군에서는 유의적으로 감소하였다(Table 2). Lee⁹⁾의 연구에서도 흰쥐에게 영지 추출액 300, 500mg/kg을 투여했을 때 혈청 triglyceride 함량이 현저하게 억제되었다고 보고하였다. 혈청의 동맥경화성 지수는 알코올군이 가장 높았고 알코올에 영지를 첨가함으로써 알코올에 의한 상승작용이 억제되는 경향을 보였다(Table 2).

3. 혈청 GOT, GPT 및 ALP의 활성치 측정

혈청중의 GOT, GPT 및 ALP의 활성치는 간질환의 판정 효소로 그활성치가 증가하면 간기능이 저하됨을 알려주는데 그 결과는 Table 3과 같았다. GOT, GPT 및 ALP의 활성치가 모두 알코올 섭취에 의한 유의적인 증가를 보이지는 않았으나 GOT의 경우 알코올에 영지를 2%, 4%첨가한 군들에서, GPT는 영지 2%첨가군에서 대조군과 알코올군에 비하여 유의적으로 감소되었다. Lee⁹⁾의 보고에서도 사열화탄소에 의한 간중독에 영지 추출물(300, 500mg/kg/day)을 투여했을 때 GOT, GPT, ALP 활성치가 모두 현저히 저하되어 간기능 개선에 유효했다고 하였다. 본 연구에서 ALP

Table 3. Enzyme activity of GOT, GPT and ALP in serum (unit / ml)

Groups	GOT	GPT	ALP
Control	171 ± 6.6 ^a	48.4 ± 2.1 ^a	22.1 ± 1.9
Alcohol	174 ± 8.1 ^a	45.1 ± 4.0 ^{ab}	24.4 ± 3.0
Alcohol + 1%	166 ± 7.3 ^{ab}	39.2 ± 3.2 ^{bc}	24.1 ± 2.2
Alcohol + 2%	148 ± 4.5 ^{bc}	33.2 ± 2.0 ^c	22.6 ± 1.8
Alcohol + 4%	140 ± 7.3 ^c	36.8 ± 4.4 ^{bc}	22.5 ± 1.5

Values were mean ± SE of 6 to 7 rats per group, a,b,c: Values with different superscript letters are significantly different at P < .05
GL: Ganoderma lucidum

Table 4. Concentration of liver lipid (mg / g)

Groups	Cholesterol	Triglyceride
Control	2.47 ± 0.12 ^a	7.78 ± 0.79 ^a
Alcohol	3.49 ± 0.21 ^c	13.9 ± 1.0 ^c
Alcohol + 1%GL	3.12 ± 0.11 ^{bc}	7.49 ± 0.47 ^a
Alcohol + 2%GL	2.75 ± 0.13 ^{ab}	10.7 ± 0.89 ^b
Alcohol + 4%GL	3.16 ± 0.20 ^{bc}	9.58 ± 0.61 ^{ab}

Values were mean ± SE of 6 to 7 rats per group, a,b,c: Values with different superscript letters are significantly different at P < .05
GL: Ganoderma lucidum

의 활성치는 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이상의 연구를 종합하여 볼 때 간기능효소의 활성치에 대하여 알코올투여에 의한 뚜렷한 상승은 보이지 않았으나 영지가 이들 효소의 활성치를 낮추어 줄 수 있음을 보여주었다.

4. 간장 지질의 함량

Table 4에 의하면 간장 cholesterol 함량이 알코올 급여군에서 대조군에 비하여 유의적으로 높게 나타났으며 알코올에 영지를 첨가한 군에서 낮아지는 경향을 보였고 특히 영지를 2% 첨가한 군에서는 알코올군에 비하여 유의적으로 감소되었다. 따라서 영지는 간장의 cholesterol 농도 저하작용이 있는 것으로 사료되는데 이에 대하여 영지에 함유되어 있는 다당류가 간장 cholesterol 농도 저하작용이 있다고 한 보고⁷⁾가 있으며, 그 유효성분을 fucose, fructose 및 glucose를 함유한 polysaccharide protein complex라고 하였다.¹⁰⁾ 간장 triglyceride 함량은 알코올 급여군이 다른 군에 비하여 유의적인 차이로 높게 나타났(Table 4). 이

상의 결과로 미루어 보아 알코올 섭취는 간의 triglyceride 함량을 현저히 축적시킴을 알 수 있었다. Cutta 등²⁵⁾은 만성적 알코올 섭취는 지방간을 초래하는데 이것은 영양불량이 주요원인으로 알코올 섭취로 인한 음식물의 섭취 감소, 특히 단백질, methionine, choline, 비타민 E, Se 등의 항지방간 인자들의 결핍이라고 하였으며 Situnayake 등⁹⁾은 알코올의 장기적인 섭취의 경우 알코올 산화과정에 참여하는 ADH 나 ALDH는 모두 NAD의존성 효소이므로 알코올 산화에 절대적으로 필요한데 이 NAD가 NADH로 전환되어 간의 redox state에 변화를 초래함으로써 triglyceride의 간내 축적을 일으킨다고 하였고 paolo 등⁴⁾도 알코올 섭취에 의해 지질의 산화가 크게 감소되었다고 하였다. 그런데 알코올과 함께 영지를 첨가한 군에서 알코올군에 비하

여 triglyceride 값이 모두 유의적으로 낮은 수준을 나타내어 영지가 간내 triglyceride 축적을 감소시킬 수 있음이 보여졌다.

5. 간의 조직학적 관찰

간조직의 해부학적 관찰에서는 Fig. 1에서와 같이 사진상으로 지방구가 보이므로써 지방간 형성을 중심으로 관독해 볼때 Table 5 에서와 같이 각 개체간에는 차이가 다양하나 평균적으로 고려하면 알코올 섭취군은 간소엽 전역에 걸쳐 병변이 나타나는 정도인데 알코올에 영지를 1% 첨가한 그룹에서는 그 병변이 많이 해소되어 간소엽의 중심대에 경미하게 나타났으며 영지 2%와 4% 첨가한 군에서는 다시 간소엽의 전역에 나타났다. 따라서 Fig 1의 사진상으로는

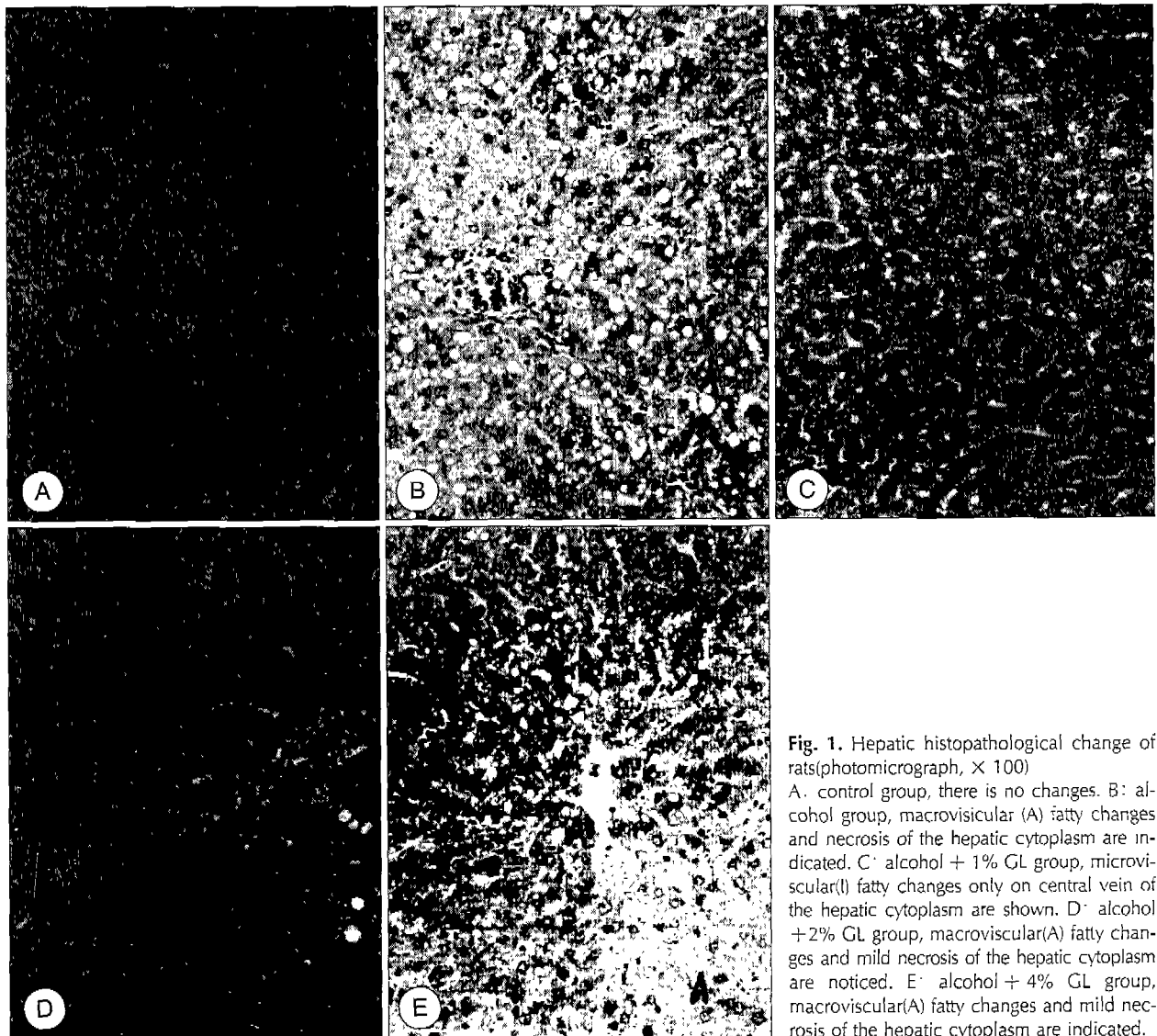


Fig. 1. Hepatic histopathological change of rats(photomicrograph, X 100)
 A. control group, there is no changes. B: alcohol group, macrovisceral (A) fatty changes and necrosis of the hepatic cytoplasm are indicated. C: alcohol + 1% GL group, microvisceral(I) fatty changes only on central vein of the hepatic cytoplasm are shown. D: alcohol + 2% GL group, macrovisceral(A) fatty changes and mild necrosis of the hepatic cytoplasm are noticed. E: alcohol + 4% GL group, macrovisceral(A) fatty changes and mild necrosis of the hepatic cytoplasm are indicated.

간조직에 대한 영지의 효과는 1%가 적당하며 너무 많은 양은 그 역효과가 나타날 수도 있음이 시사되었다. Shin²²⁾의 연구에서도 간조직의 현미경적 관찰의 경우 영지분말 5% 첨가한 군에서 간소엽 중심부에 경미한 공포변성을 나타내었다고 하였다.

6. 분 중의 담즙산 함량

분 배설량 및 분 중의 담즙산 함량은 Table 6와 같다. 분 배설량이 대조군과 알코올군에 비하여 알코올에 영지를 첨가한 그룹에서 유의적으로 높은 수준을 나타내었는데 이것은 영지분말에 함유된 폴리글리칸이 담즙산과 결합하여 담즙산의 배설을 증가시킨 것이라고 Shin²²⁾이 보고한 바 있으며 한편 담즙산은 cholesterol의 대사산물이므로 담즙산 배설의 증가는 그 보상작용에 의해 체내 cholesterol함량의 감소를 초래하게 되는데 실제로 본 연구의 경우 영지를 첨가한 그룹에서 담즙산 배설량이 증가하고 혈청 총 cholesterol함량이 현저히 감소되었으므로 (Table 2) 이 결과는 영지에 대한 혈중 cholesterol저하효과의 기전을 이해하는데 중요한 기초자료가 될 것으로 사료된다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 혈청 및 간의 cholesterol, triglyceride 수준과 간기능에 관여하는 효소의 활성치에서 알코올 섭취에 의해 정상치보다 상승된 수준이 영지 2%, 4%

첨가에 의해 하강됨을 보여 주었고 분 중의 담즙산 배설량은 영지에 의해 증가되었으며 또한 간조직의 현미경 관찰에서 알코올 섭취에 의한 지방간 형성이 영지1% 첨가군에서 효과적으로 억제되었음을 고려해 볼 때 영지가 알코올 섭취에 의한 간기능 및 지질대사성 병변에 대한 예방과 치료에 유용함을 확인 할 수 있었으며 실생활의 적용에 있어서는 영지의 유효적정량 사용이 중요하므로 이를 뒷받침하기 위해 더욱 구체적인 연구가 필요함이 시사되었다.

요약 및 결론

알코올 섭취에 의한 간기능 및 지질대사성 병변에 대한 영지의 효과를 알아보기 위하여 4주령의 35마리 흰쥐(Sprague-Dawley, 수컷)에게 알코올을 공급하면서 영지를 1%, 2%, 4%로 섭취시켜 7주간 동물실험을 하였다. 간기능에 관여하는 효소인 GOT, GPT, ALP를 분석하였고 간조직의 변화를 현미경적으로 관찰해 보았다. 그리고 혈청 및 간의 지질 함량과 동맥경화성지수를 산출하였고 분 중의 담즙산 함량을 분석하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 실험동물의 체중 증가는 대조군이 가장 높은 경향이었으나 각 군간의 유의적인 차이는 없었다. 1일 평균 식이 섭취량은 알코올 급여군들이 대조군보다 유의적으로 많이 섭취하였으나 체중 증가가 적게 나타났다. 실험동물의 체중 100g당 간중량은 그룹간의 유의적인 차이가 없었다.

2) 혈청 지질 함량중 총 cholesterol 함량은 알코올군에서 유의적으로 높게 나타났으며 알코올에 영지를 첨가함에 의해 현저히 저하되어 영지를 4% 첨가한 군에서는 대조군보다도 유의적으로 낮게 나타났다. 혈청 HDL-cholesterol 함량은 총 cholesterol 함량과 유사한 경향으로 알코올군이 가장 높고 알코올에 영지를 첨가함에 따라 감소되어 영지를 2%, 4% 첨가한 군에서는 알코올군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 혈청의 triglyceride 함량은 알코올 섭취에 의해 크게 상승하였는데 알코올에 영지를 2%, 4% 첨가한 군에서 유의적으로 triglyceride 함량이 저하되었다. 동맥경화성 지수는 알코올섭취에 의해 상승되었다가 알코올에 영지를 첨가함으로써 알코올에 의한 상승작용이 저하되었는데 유의적인 차이는 없었다.

Table 5. Hepatic histopathological change

Samples	Control	Alcohol	Alcohol +		
			1% GL	2% GL	4% GL
1	0	++++	++	++++	++++
2	0	-	+	+	+
3	0	++	++	++++	++++
4	0	+++	+	++++	++++
5	0	++++	IFC	++++	+++
6	0	++(ID)	++	IFC	+++
7	0	+++	++	FFC	++

+: Mild positive, ++: Moderate positive, +++: Marked positive, ++++: More marked positive, -: death, ID: Inflammation and degeneration, FFC: Focal fatty change, IFC: Inflammation and fatty change, GL: Ganoderma lucidum

Table 6. Concentration of fecal bile acid

	Control	Alcohol	Alcohol+		
			1% GL	2% GL	4% GL
Dry feces (g / day)	1.03 ± 0.04 ^a	1.04 ± 0.01 ^a	1.29 ± 0.03 ^b	1.29 ± 0.06 ^b	1.65 ± 0.05 ^c
Bile acids (mg / day)	1.41 ± 0.17 ^a	1.79 ± 0.07 ^{ab}	2.01 ± 0.17 ^b	2.06 ± 0.25 ^b	2.30 ± 0.16 ^b

Values were mean ± SE of 6 to 7 rats per group, a,b,c: Values with different superscript letters are significantly different at P < .05, GL: Ganoderma lucidum

3) 간기능에 관여하는 효소 즉 GOT, GPT 및 ALT의 활성치가 모두 알코올 섭취에 의한 유의적인 상승은 보이지 않았으나 GOT는 알코올에 영지를 2%, 4%첨가한 군에서, GPT는 영지 2%첨가군에서 대조군과 알코올군에 비하여 유의적으로 감소하여 영지가 이들 효소의 활성치를 낮출 수 있음이 제시되었다.

4) 간장 지질의 함량 중 cholesterol 함량은 알코올 섭취군이 대조군에 비하여 유의적으로 높게 나타났으며 알코올에 영지를 첨가한 군에서 낮아지는 경향으로 영지를 2%첨가한 군에서 유의적으로 감소되었다. 간장 triglyceride 함량은 알코올 섭취군이 다른 군에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나 알코올에 영지를 첨가함으로써 알코올에 의한 triglyceride 상승작용이 뚜렷하게 저하되었다.

5) 간 조직의 해부학적 관찰에서는 각 개체간에 차이가 다양하나 대체로 알코올 섭취군에서 간소엽 전역에 병변이 나타났는데 알코올에 영지1% 첨가한 그룹에서는 그 병변이 많이 해소되어 간소엽의 중심대에 경미하게 나타났으며 영지2%와 4% 첨가한 군에서는 다시 간소엽의 전역에 나타났다.

6) 분배설량과 함께 분 중의 담즙산 함량이 대조군과 알코올군에 비하여 알코올 급여와 함께 영지를 첨가한 그룹에서 유의적으로 증가하였으므로 영지가 담즙산배설을 촉진시키고 있음을 알 수 있었다.

본 연구의 결과를 비추어 볼 때 혈청 및 간의 지질 수준과 분 중의 담즙산 함량, 그리고 간기능에 관여하는 효소의 활성치 및 간의 조직학적 관찰에서 흰쥐의 장기적인 알코올 섭취에 의한 지질대사성 병변에 대하여 영지의 약효가 나타나고 있어 영지가 알코올 중독증에 대한 예방과 치료에 유용할 것임을 확인할 수 있었으며 실생활에 적용하기 위한 영지의 유효적정량에 대하여는 좀 더 많은 연구가 뒷받침되어야 함이 시사되었다.

Literature cited

- 1) Sherlock S. Disease of the Liver and Biliary System. 8th pp.370-389, Oxford, Blackwell, 1993
- 2) Teschke R, Hasumura Y, Lieber CS. Hepatic ethanol metabolism: Respective roles of alcohol dehydrogenase, the microsomal ethanol oxidizing System and Catalase. *Arch Biochem Biophys* 175: 635-643. 1976
- 3) Lieber CS. Biochemical and molecular basis of alcohol-induced injury to liver and other tissues. *N Engl J Med* 319: 1639-1650, 1988
- 4) Paolo M, Suter MD, Yves S, Eric J. The effect of ethanol on fat storage in healthy subjects. *N Engl J Med* 326: 983-987, 1992
- 5) Situnayake RD, Crump BJ, Thurnhem DI. Lipid peroxidation and hepatic antioxidants in alcoholic liver disease. *Gut* 31: 1311, 1990
- 6) Orrego H, Israel Y, Blendis LM. Alcoholic liver disease: information in search of knowledge? *Hepatology* 1: 267, 1981
- 7) Chung SY, Kim SA, Kim SH, Kim HS, Kim GJ, Kim HS and Cheong HS. Effect of Ganoderma Lucidum on lipid metabolism in dietary hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 19 (2): 180-186, 1990
- 8) Park SJ. The influence of Ganoderma Lucidum Added to high lipid diet on adult rat's body content. master's thesis of Keimyung Univ, pp.15-16, 1988
- 9) Lee MJ. Effect of Young-Jii(Ganoderma lucidum) extract on experimentally induced hepatic damage and hyperlipemia in rats. master's thesis of Chosun Univ, pp.13-16, 1985
- 10) Kubota T, Asaka Y, Miura I, Miura I, Mori H. Structure of ganoderic A & B, two new lanostane type bitter triterpens from Ganoderma lucidum, Karst. *Helv Chim Acta* 65: 611-619, 1982
- 11) American Institute of Nutrition, Report of AIN Ad.Hoc Committee on Standard S for Nutrition studies. *J Nutr* 107: 1340, 1977
- 12) Folch J, Lees M and Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957
- 13) Sperry WM and Webb M. A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J Biol Chem* 187: 97-106, 1950
- 14) Fletcher MJ. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin Chim Acta* 22: 393-397, 1968
- 15) Mittinen TA, Ahrens EH Jr, Grundy SM. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids. *J Lipid Res* 6: 411-424, 1965
- 16) Jeong HS. Histopathological studies on effects of Phenobarbital and artemisia treatment upon acute hepatic lesions induced by carbon tetrachloride. master's thesis of Chungnam Natl. Univ, pp.1-3, 1984
- 17) Pirola RC and Lieber CS. Energy wastage in rats given drugs that induce microsomal enzymes. *J Nutr* 105: 1544-1548, 1975
- 18) Pirola RC and Lieber CS. The energy cost of the metabolism of drugs, including ethanol. *Pharmacology* 7: 185, 1972
- 19) Gruchow HW, Sobocinski KA, Barboriak JJ and Scheller JG. Alcohol consumption, nutrient intake and relative body weight among U.S. adults. *Am J Clin Nutr* 42: 289-295, 1985
- 20) Kim MH and Sung CJ. The effect of the levels of dietary zinc and alcohol consumption on lipid metabolism in the rats. *Korean J Nutr* 24 (2): 87-96, 1991
- 21) Pikaar NA, Wedel M, Van der Beek ET, Van Dokkum W, Kempen HJ, Kluff C, Ockhuizen T, Hermus RJ. Effect of moderate alcohol consumption on platelet aggregation fibrinolysis and blood lipids. *Metabolism* 36: 538-548, 1987
- 22) Shin KD. Effect of Ganoderma Lucidum on the composition of serum and liver in rats. master's thesis of Yeungnam Univ, pp.20-25, 1985
- 23) Woollett LA, Baldner-Shank GL, Aprahamian S, Engen R L, Beitz DC. Adaptation of lipogenesis and lipolysis to dietary ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 11: 336, 1987
- 24) Savolainen MJ, Baranona E, Leo MA and Lieber CS. Pathogenesis of the hypertriglyceridemia at early stages of alcoholic liver injury in the baboon. *J Lipid Res* 27: 1073, 1986
- 25) Cutta SK, Miller PA, Greenberg LB, Levander OA. Selenium and acute alcoholism. *Am J Clin Nutr* 38: 713-718, 1983
- 26) Lee SK. Studies on the Chemical components in Ganoderma Lucidum. master's thesis of Dongguk Univ, pp.16-17, 1986