

## 유용버섯 *Lentinus tuber-regium*이 산화적 스트레스 및 방어체계에 미치는 영향

최진호\* · 박수현 · 김대익 · 김정민 · 김창목<sup>1</sup> · 김광포<sup>2</sup>

부경대학교 식품생명공학부 생화학연구실, <sup>1</sup>한국산업정보기술연구원 생화학실  
<sup>2</sup>농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과

### Effects of Edible *Lentinus tuber-regium* on Oxidative Stress and Defense System in Serum of SD Rats

Jin-Ho Choi\*, Soo-Hyun Park, Dae-Ik Kim, Jeung-Min Kim,  
Chang-Mok Kim<sup>1</sup> and Gwang-Po Kim<sup>2</sup>

Lab. of Biochemistry, Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Korean Institute of Industry and Technology Information

<sup>2</sup>Department of Applied Microbiology, National Institute of Agricultural Science & Technology,  
RDA, Suwon 441-707, Korea

**ABSTRACTS:** Oxidative stress and defense system of SD-rats were studied with an edible Nigerian mushroom, namely, *Lentinus tuber-regium* (Fries) Singer. Experimental diets prepared with *Lentinus tuber-regium* (LTR) instead of carbohydrates were fed to SD rats for 6 weeks. Hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) formations were significantly inhibited (21.7% and 16.4%, respectively). In LTR-50 and LTR-100 groups used instead of carbohydrates, and hydrogen peroxide and nitric oxide (NO) were also significantly inhibited by 10%, and 6~10%, respectively compared with control group, but there was no significant changes in superoxide radical ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) formations in these groups. Lipid peroxide (LPO) and oxidized protein (OP) levels as an oxidative stress were desirably inhibited (6~12% and 5~13%, respectively) in these LTR groups compared with control group. Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSHPx) and catalase (CAT) activities were significantly increased (15~50%, 10~25% and 60~90%, respectively) in these LTR groups. These results suggest that an edible mushroom, *Lentinus tuber-regium* may inhibit an oxygen radicals and oxidative stresses, but may also effectively modulate an aging processes.

**KEYWORDS:** *Lentinus tuber-regium* (Fries) Singer, Hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ), Lipid peroxide (LPO), Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GSHPx)

## 서 론

아프리카 중서부에 위치한 나이지리아는 고온·다습하기 때문에 여러 가지 버섯이 식용으로 사용되고 있다. 그 중에서 가장 많이 사용되면서 경제성이 높은 버섯으로서는 *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing이라는 버섯은 열대성지방에 자생하는 딱딱한 담자균(擔子菌)으로 알려져 있지만 (Oso, 1975; 1977), 이 버섯은 세계의 열대 및 아열대지역에서 널리 분포되고 있다(Singer, 1961; Zoberi, 1972; 1973). 그러나 나이지리아에서 이와 유사한 새로운 종류의 버섯으로 발견된 것이 *Lentinus tuber-regium* (Fries) Singer라는 버섯으로 알려져 있다.

본 연구에서는 지금까지 식용(食用)으로 알려지지 않았던 새로운 종류의 유용버섯으로 알려진 *Lentinus tuber-regium*(LTR)의 개발 및 이용에 관한 연구의 일환으로서 본 실험종의 버섯류에 대한 생리활성연구를 통하여 기능성을

확인하고 부가가치가 높은 기능성 신제품의 개발 가능성을 타진하기 위하여 연구를 수행했다. 지금까지 알려진 식용버섯은 독성이 거의 없을 뿐만 아니라 항암작용 등 여러 가지 생리활성을 갖는 것으로 알려져 있다(Fasidi and Kadiri, 1995). 본 연구에서는 이 실험종의 유용버섯의 생리활성연구로서, 사용한 유용버섯이 강력한 세포독성으로 알려진 활성산소(oxygen free radicals)의 생성 및 산화적 스트레스의 억제효과, 그리고 방어체제로서 활성산소의 제거효소(scavenger enzymes) 활성의 상승효과를 평가하여 유의적인 연구결과를 얻었기에 보고한다.

## 재료 및 방법

### LTR 버섯의 제조

본 연구에 사용한 버섯은 지금까지 전혀 식용(食用)으로 알려지지 않은 새로운 종류의 버섯으로서 *Lentinus tuber-regium*로서 농업과학기술원 응용미생물과에서 배양하여 제조한 LTR 버섯분말을 할애 받아 이들 버섯의 기능성 및

\*Corresponding author <E-mail: jhchoi@pknu.ac.kr>

생리활성연구에 사용하였다.

### 실험동물의 사료 조제

사료의 조성은 탄수화물 57.3%(corn starch 45.3% + sucrose 12.0%), 단백질 18.0%(skim milk 18.0%), 지질 15.0%(lard)로 하고, 여기에 cellulose 3.0%, 비타민과 무기질 혼합물(AIN mixture)을 각각 1.5% 및 3.5%를 첨가하여 사용한다. 여기에 DL-methionine 0.3%와 choline chloride 0.2%를 첨가하고 고콜레스테롤혈증을 유도하기 위하여 cholesterol 0.5% 및 sodium cholate 0.2%를 첨가하여 실험용 사료를 조제하였다. 이상의 조제사료를 대조그룹(control group)으로 하고, LTR 버섯 투여그룹은 두 그룹으로 나누어 LTR-50그룹은 탄수화물 57.3%의 절반인 28.65%를 LTR 버섯분말로 대체하고, 또 LTR-100 그룹은 탄수화물 57.3%의 전부를 LTR 버섯분말로 대체하여 실험용 사료를 조제하여 동물실험에 투여하였다.

### 모델동물 및 사육조건

본 실험에 사용하는 실험동물모델은 Sprague-Dawley계 랫트로서, SD계 랫트(male rats : 160±10 g)를 한국화학연구소에서 구입하여 그룹당 7마리씩을 사용하여 6주 동안 사육실험을 하였다. 사육 및 실험조건은 매일 18:00에 체중의 측정과 함께 평량된 사료를 제공하고 다음 날 사료 잔량을 평량하여 사료 섭취량을 계산하였다. 동물사육실은 자동조절(22±2°C; 65±2% RH)되며 명암은 12시간 사이클(18:00-06:00)로 조절된다.

### 혈청의 분리 및 단백질의 정량

전보(Choi *et al.*, 1997)에 따라 심장에서 채혈한 다음, 저온실에서 2시간 방치하였다가 상법에 따라 혈청을 분리하여 사용하였다. 단백질의 함량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 표준 단백질로서 BSA(bovine serum albumin)를 사용하여 분광광도계로 측정하여 정량하였다.

### 활성산소종(ROS) 생성능의 측정

#### • 히드록시 라디칼의 함량 측정

Deoxyribose의 파괴 정도로 hydroxyl radical 생성 정도를 측정하는 방법으로서 반응성 산소대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobarbituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등(1981)의 방법에 따라 측정하였다. 혈청의 히드록시 라디칼(hydroxyl radical)측정은 먼저 0.1 M의 인산완충용액(pH 7.4), 10 mM의  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , 7 mM의 deoxyribose, 5 mM의 ferrousammonium sulfate, 0.54 M NaCl 시약을 각각 33.3  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하고 검체군은 시료(15  $\mu\text{l}$ )와 물(185  $\mu\text{l}$ )을 합하여 200  $\mu\text{l}$ 되게 하여 이 혼합된 용액을 37°C 항온수조에서 15분간 가온한다. 그러나 대조군은 가온과정을 생략하고 시료(30  $\mu\text{l}$ )를 시험관에 넣는다. 그리고 모든 시험관에 물(185  $\mu\text{l}$ )을 넣고 잘 혼합한다. 이 반응액에

8.1% SDS 용액 75  $\mu\text{l}$ 와 20%의 acetic acid 500  $\mu\text{l}$ , 물 25  $\mu\text{l}$ 를 추가하여 넣고 1.2% TBA용액 333  $\mu\text{l}$ 를 넣어 잘 섞는다. 그 후 30분간 끓인 다음 실온에서 식힌 후, 800×g에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 분광광도계를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량곡선에 의하여 검체군과 대조군의 흡광도 차이를 이용하여 히드록시 라디칼(nmol/mg protein/min)의 생성량을 계산하였다.

#### • 슈퍼옥시드 라디칼의 함량 측정

슈퍼옥시드 라디칼(superoxide radical)의 생성은 McCord 등(1969)과 Chan 등(1974)의 방법에 따라 superoxide dismutase를 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 즉 혈청을 사용하여 0.1 mM EDTA를 함유한 인산완충용액(pH 7.8) 420  $\mu\text{l}$ 에 cyanide의 농도가 50  $\mu\text{M}$ 이 되도록 20 mM cyanide 용액을 가한 후 37°C에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 시토콜 300  $\mu\text{l}$ 와 0.1 mM cytochrome C 50  $\mu\text{l}$ 를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이 때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500  $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 를 사용하여 계산하였다.

#### • 과산화수소의 함량 측정

과산화수소(hydrogen peroxide)의 생성량은 Thurman 등(1972)의 방법에 따라 혈청중에서 생성된 hydrogen peroxide에 의하여 생성되는 붉은 색의 ferrithiocyanate 복합체를 기초로 400 mM 인산완충용액(pH 7.4) 400  $\mu\text{l}$ , 200 mM nicotinamide 200  $\mu\text{l}$ , 100 mM  $\text{MgCl}_2$  200  $\mu\text{l}$ , 50 mM  $\text{NaN}_3$  200  $\mu\text{l}$ 와 시료 64.1  $\mu\text{l}$ , 물 735.9  $\mu\text{l}$  첨가·혼합한 뒤 60 mM NADPH 200  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 총 2 ml가 되게 하여 37°C 항온수조에서 15분간 가온시킨 후에 1.2 M TCA(trichloroacetic acid)를 1.0 ml 첨가, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 1.0 ml 취하였다. 상층액에 ferrous ammonium 200  $\mu\text{l}$  첨가 후 2.5 M KSCN(potassium thiocyanate)을 100  $\mu\text{l}$  넣어 혼합하여 실온에 10분 방치하였다. 분광광도계를 이용하여 파장 480 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 과산화수소(nmol/mg protein/min)의 함량을 정량하였다.

#### • Nitric oxide(NO)의 측정

산화질소(NO)는 순간적으로 존재하는 기체성분으로서, 자발적으로 산화되어  $\text{NO}_2$ 와  $\text{NO}_3$  상태로 전환되어 측정된다. 따라서 생성되는 양은  $\text{NO}_3$ 는 환원시켜  $\text{NO}_2$ 로 전환시켜 총 NO의 함량을 Miesel 등(1996)의 방법을 이용하여 정량하였다. 즉 혈청 100  $\mu\text{l}$ 를 준비한 시험관에 6.5 M HCl 25  $\mu\text{l}$ , 37.5 mM sulfanilic acid 25  $\mu\text{l}$ 를 각각 첨가하였다. 10분간 방치한 후 12.5 mM N-(1-naphtyl)-ethylenediamine 25  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후 실온에서 30분간 방치한 후에 10,000×g에서 5분간 원심분리하였다. 단백질성분이 제거된 상층액을 540 nm에서 흡광도를 측정하여 sodium nitrate에 의한 표준검량선으로 정량하였다.

### 산화적 스트레스의 분석

#### • 과산화지질의 측정

혈청중의 과산화지질의 함량은 Choi 등(1990)이 사용한

방법에 따라 TBA법으로 malondialdehyde 함량을 측정하는 것이다. 혈청 20  $\mu$ l에 증류수 180  $\mu$ l을 혼합한 것을 각 시험관에 취하고 8.1% SDS(sodium dodecyl sulfate) 용액 200  $\mu$ l를 가하여 약 5초간 혼합한 후 20% 초산 1.5 ml를 넣어 다시 5초간 혼합하고, 1.2% TBA (thiobarbituric acid) 시약 1.0 ml 첨가하여 깨끗한 구슬로 마개한 뒤 30분간 수조에서 가열한다. 이 반응액을 800 $\times$ g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분광광도계를 사용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 따라 과산화지질의 함량 (nmol/ml serum)을 정량하였다.

#### • 산화단백질의 정량

혈청중의 산화된 단백질의 함량은 Levine 등(1990)의 방법에 따라 carbonyl group의 생성량을 측정하였다. 0.1 ml의 시료에 30% TCA(trichloroacetic acid)를 0.5 ml 혼합, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 뒤 잔사에 10 mM DNPH(dinitrophenyl hydrazine) 0.5 ml 첨가, 15분마다 혼합하며 1시간 동안 실온에 방치 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate(1:1, v/v) 3.0 ml를 첨가하여 실온에서 10분 방치한다. 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 잔사를 얻은 뒤, 6 M guanidine(20 mM potassium phosphate buffer, pH 2.3) 1.0 ml 첨가·혼합하여 37°C의 항온 수조에서 15분간 가온한 후, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm 사이에 있는 흡광도의 파장에서 분자흡광계수( $E = 22,000$ )를 사용하여 계산하였다.

#### 생체 방어효소의 활성 측정

##### • 수퍼옥시드 디스무타아제의 활성 측정

Oyanagui 등(1984)의 방법에 따라 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase : SOD)의 활성은 혈청을 인산완충용액(pH 8.2)으로 30배로 희석한 용액 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약(52.125 mg of hydroxylamine + 102.1 mg of hypoxanthine/250 ml D.W) 0.2 ml, B시약(20  $\mu$ l of xanthine oxidase + 0.9939 mg ethylene diaminetetraacetic acid/26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가·혼합하여 37°C 항온수조에서 40분간 가온한 후 C시약(300 mg of sulfanilic acid + N-1-naphthylethylene diamine acid/500 ml of 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가·혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 수퍼옥시드 디스무타아제(unit/mg protein)를 정량했다.

##### • 글루타치온 퍼옥시다아제의 활성 측정

Lawrence 등(1978)의 340 nm에서 NADPH의 감소를 측정하기 위한 방법으로 세포획분중의 시토졸에서 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase: GSHPx)의 활성의 측정은 인산완충용액(0.3 M/4.0 mM EDTA)으로 10배 희석하여 사용한다. 시험관에 인산완충용액(0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1 ml, 증류수 1.295 ml,

26.56 mM sodium azide 용액(86.33 mg of NaN<sub>3</sub>/50 ml of D.W) 0.5 ml, 294.37 mM GSH 용액(452.34 mg of glutathione/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 60  $\mu$ l, 8.4 mM NADPH(35.0 mg NADPH/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 110  $\mu$ l, glutathione reductase (5 mg of GSH-Re/1.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 5  $\mu$ l, 1.0 mM hydroperoxide 320  $\mu$ l와 희석된 시토졸 30  $\mu$ l를 첨가하여 5초간 잘 혼합한 후 즉시 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준검량선에 의해 GSHPx( $\mu$ mol/min/g protein)의 활성을 계산하였다.

##### • 카탈라아제의 활성 측정

Rigo 등(1977)의 방법에 의해 혈청에서 카탈라아제(catalase : CAT) 활성의 측정은 시험관에 인산완충용(130 mM, pH 7.0) 250  $\mu$ l, 증류수 330  $\mu$ l, 혈청 20  $\mu$ l에 15 mM의 과산화수소용액 900  $\mu$ l를 첨가, 5초간 잘 섞은 다음, 즉시 분광광도계를 사용하여 240 nm에서 시간에 대한 흡광도의 변화를 2분간 측정하여 정량하였다.

#### 분석결과와 처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Steel 등(1960)의 방법에 따라 Student's t-test로 실시하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 활성산소의 생성 억제효과

생체내에서 생성되는 활성산소는 오염과 공해, 흡연, 합성의약품, UV나 X-ray의 조사뿐만 아니라 체내 대사과정 중에도 생성되는 것으로 알려져 있다. 이들 활성산소로 알려진 히드록시 라디칼( $\cdot$ OH), 수퍼옥시드 라디칼( $O_2^-$ ), 과산화수소나 산화질소(NO) 같은 활성산소(oxygen radical)는 매우 강력한 독성산소로서 생체내의 지질이나 단백질 및 핵산을 공격하여 폐기종, 성인병으로 알려진 혈관관련 질병, 노화, 암, 치매 같은 신경장해를 유발하고 있다(Choi *et al.*, 1989; 1990; 1991; Singh *et al.*, 1992).

LTR-첨가사료의 투여가 혈청중의  $\cdot$ OH 라디칼,  $O_2^-$  라디칼,  $H_2O_2$  및 NO의 생성량에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 1과 같다.  $\cdot$ OH 라디칼의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의  $\cdot$ OH 라디칼의 생성량은  $1.48 \pm 0.10$  및  $1.58 \pm 0.03$  nmol/mg protein으로서 대조그룹의  $\cdot$ OH 라디칼의 생성량( $1.89 \pm 0.05$  nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 78.3% 및 83.6%로서 대조그룹에 비해 21.7% 및 16.4%의 매우 유의적인  $\cdot$ OH 라디칼의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한  $H_2O_2$ 의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의  $H_2O_2$ 의 생성량은 이들 투여그룹 모두  $0.21 \pm 0.10$  nmol/mg protein/min으로서 대조그룹의  $H_2O_2$  생성량( $0.23 \pm 0.01$  nmol/mg protein/min : 100%) 대비 91.3%로서 약 10%의  $H_2O_2$ 의 생성 억

**Table 1.** Effects of *Lentinus tuber-regium* (LTR) on oxygen radical formations in serum of SD rats after 6 weeks

Oxygen radical	Control		LTR-50		LTR-100	
Hydroxyl radical (nmol/mg protein)						
·OH radical	1.89±0.05 <sup>a</sup>	-	1.48±0.10***	78.3% <sup>b</sup>	1.58±0.03***	83.6%
Superoxide radical (nmol/mg proetin)						
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> radical	301.18±15.57	-	299.24±19.48	99.4%	297.26±14.05	98.7%
Hydrogen peroxide (nmol/mg protein/min)						
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.23±0.01	-	0.21±0.01*	91.3%	0.21±0.01*	91.3%
Nitric oxide (nmol/mg protein)						
NO	1.36±0.06	-	1.31±0.04*	94.1%	2.48±0.06**	91.2%

LTR-50 and LTR-100 : *Lentinus tuber-regium* of 50 and 100% as a carbohydrate source added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean±SD with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values; \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 compared with control group.

**Table 2.** Effects of *Lentinus tuber-regium* (LTR) on oxidative stress in serum of SD rats after 6 weeks

Oxidative stress	Control		LTR-50		LTR-100	
Lipid peroxide (nmol/mg protein)						
LPO level	0.17±0.01 <sup>a</sup>	-	0.15±0.10**	88.2% <sup>b</sup>	0.16±0.01*	94.1%
Oxidized protein (nmol/mg proetin)						
>C=O group	39.72±3.10	-	37.73±3.55	95.0%	34.63±2.98**	87.2%

LTR-50 and LTR-100 : *Lentinus tuber-regium* of 50 and 100% as a carbohydrate source added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean±SD with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values; \*p<0.05, \*\*p<0.01 compared with control group.

제효과가 인정되었다.

생체내에서 gas 상태로 여러 가지 장해를 유발할 수 있는 또하나의 활성산소로 알려진 NO의 생성에 미치는 LTR-첨가사료의 투여효과를 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의 NO의 생성량은 1.31±0.04 및 2.48±0.06 nmol/mg protein으로서 대조그룹의 NO의 생성량(1.36±0.06 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 94.1% 및 91.2%로서 대조그룹에 비해 약 6~10% 정도의 바람직한 NO의 생성 억제 효과가 인정되었다. 그렇지만, Table 1에서 보는 바와 같이 LTR-첨가사료의 투여에 의하여 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 라디칼의 생성 억제 효과는 인정할 수 없었다. 이러한 사실은 LTR의 유효성분의 활성산소에 대한 작용점이 서로 다르다는 사실을 의미한다. 어떠한 농진청 농업과학연구원 미생물연구실에서 이용 및 개발연구중에 있는 새로운 식용버섯 *Lentinus tuber-regium* (LTR)는 활성산소의 생성을 매우 효과적으로 억제할 수 있다는 사실은 매우 의미있는 연구라 평가할 수 있다.

#### 산화적 스트레스의 평가

생체내의 지질성분이 히드록시 라디칼(·OH), 수퍼옥시드 라디칼(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), 과산화수소 같은 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병과 노화의 지표물질로 알려져 있다. 또한 이들 활성산소가 단백질이나 핵산성분을 공격하여 생성되는 산화단백질(oxidized protein : OP)이나 핵산산화물은 생체내에서 바람직하지 못한 여러 가지 증상을 일으키는 이들 활성산소 산화물들은 결국 노화를 촉진하는 것으로 밝혀지고 있다(Yagi, 1987; Choi, 1990; 1995; Nilakantan *et al.*, 1998). 노화의 가장 중요한 학설로 밝혀진 Harman(1956)의 <Free

Radical Theory>을 비롯하여 최근 제안된 Yu(1996), Yu 및 Yang(1996)의 <Oxidative Stress Theory>에 따라 혈청중의 지질성분의 활성산소로서 히드록시 라디칼(·OH)에 미치는 과산화지질(lipid peroxide : LPO) 생성에 미치는 LTR투여효과를 비교하여 보면 Table 2와 같다.

LPO의 생성에 미치는 LTR투여의 영향을 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의 LPO의 생성량은 0.15±0.01 및 0.16±0.01 nmol/mg protein으로서 대조그룹의 LPO의 생성량(0.17±0.01 nmol/mg protein : 100%) 대비 6~12%의 유의적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다.

또한 OP의 생성에 미치는 LTR투여의 영향을 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의 OP의 생성량은 37.73±3.55 및 34.63±2.98 nmol/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(39.72±3.10 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 5.0% 및 12.8%의 생성 억제효과가 나타나서 LTR-100투여 그룹에서만 매우 높은 유의성이 인정되었다. 이상의 결과에서 볼 때 전항에서의 활성산소의 생성 억제효과와 마찬가지로 활성산소의 공격으로 생성되는 LPO 및 OP의 생성 등 산화적 스트레스도 LTR-첨가사료의 투여에 의하여 매우 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 제거효소의 활성 평가

활성산소의 생성 및 이들 활성산소의 공격에 의한 독성물질인 LPO 및 OP의 생성 등의 방어효소로서 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD), 글루타치온 퍼옥시다아제(GSHPx) 및 카탈라아제(CAT) 등의 제거효소(scavenger enzymes) 등이 알려져 있다(Choi *et al.*, 1991; 1995; Singh, 1992). 이들 활성산소 및 이들의 공격에 의하여 생성되는 산화생성물

**Table 3.** Effects of *Lentinus tuber-regium* (LTR) on scavenger enzyme activities in serum of SD rats after 6 weeks

Scavenger enzyme	Control		LTR-50		LTR-100	
Superoxide dismutase (unit/mg protein)						
SOD	2.30±0.08 <sup>a</sup>	-	2.61±0.02 <sup>**</sup>	113.5% <sup>b</sup>	3.46±0.11 <sup>***</sup>	150.4%
Glutathione peroxidase (IU/g proetin)						
GSHPx	38.27±4.21	-	42.16±1.85 <sup>*</sup>	110.2%	47.29±3.04 <sup>***</sup>	123.6%
Catalase (umol/mg protein/min)						
CAT	0.23±0.02	-	0.36±0.05 <sup>***</sup>	156.5%	0.38±0.05 <sup>***</sup>	190.0%

LTR-50 and LTR-100 : *Lentinus tuber-regium* of 50 and 100% as a carbohydrate source added to basic control diet; <sup>a</sup>Mean±SD with 7 rats per group; <sup>b</sup>Percent of control values; <sup>\*</sup>p<0.05, <sup>\*\*</sup>p<0.01, <sup>\*\*\*</sup>p<0.001 compared with control group.

의 방어시스템으로 알려진 제거효소의 활성에 미치는 LTR 투여효과의 영향을 비교하여 보면 Table 3과 같다.

SOD의 활성에 미치는 LTR투여의 영향을 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의 SOD의 활성은 2.61±0.02 및 3.46±0.11 unit/mg protein으로서 대조그룹의 SOD의 활성(2.30±0.08 unit/mg protein : 100%) 대비 각각 113.5% 및 150.4%의 활성 증가효과로서 대조그룹에 비해 15~50%의 매우 유의적인 SOD의 활성 증가효과가 인정되었다. 또한 GSHPx의 활성에 미치는 LTR 투여그룹의 영향을 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의 GSHPx의 활성은 42.16±1.85 및 47.29±3.04 IU/mg protein으로서 대조그룹의 GSHPx의 활성(38.27±4.21 IU/mg protein : 100%) 대비 각각 110.2% 및 123.6%의 활성 증가효과로서 대조그룹에 비해 약 10~25%의 매우 유의적인 GSHPx의 활성 증가효과가 인정되었다. 한편 CAT의 활성에 미치는 LTR투여의 영향을 비교하여 보면 LTR-50 및 LTR-100 투여그룹의 CAT의 활성은 0.36±0.05 및 0.38±0.05 umol/mg protein/min으로서 대조그룹의 CAT의 활성(0.23±0.02 umol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 156.5% 및 190.0%의 현저한 활성 증가효과로서 대조그룹에 비해 약 60~90%의 매우 유의적인 CAT의 활성 증가효과가 인정되었다. 따라서 LTR의 투여는 SOD, GSHPx 및 CAT 같은 생체의 방어효소로서 제거효소의 활성을 매우 효과적으로 증가시키기 때문에 생체내의 대사과정중에 생성되는 활성산소의 생성 및 그 산화적 스트레스를 매우 효과적으로 억제하여 노화를 효과적으로 방어할 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

SD계 랫트를 사용하여 6주 동안 탄수화물 대용으로 50% 및 100%의 *Lentinus tuber-regium*(LTR)-첨가 투여그룹의 산화적 스트레스 및 방어체계에 미치는 영향을 평가하였다. LTR-50 및 LTR-100 투여그룹은 대조그룹 대비 21.7% 및 16.4%의 매우 유의적인 ·OH 라디칼의 생성 억제효과가 인정되었고, 이들 두 투여그룹은 대조그룹 대비 약 10%의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 생성 억제효과 및 6~10% 정도의 바람직할 NO의 생성 억제효과가 인정되었다. 그렇지만, 이들 LTR 투여에 의하여 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 라디칼의 생성 억제효과는 인정할 수

없었다. 이들 활성산소의 공격에 의한 산화적 스트레스로서 LPO의 생성은 LTR 투여에 의하여 대조그룹 대비 6~12%의 유의적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었고, OP의 생성은 이들 LTR의 투여에 의하여 대조그룹 대비 5.0% 및 12.8%의 생성 억제효과가 인정되었다. 이들 LTR-50, LTR-100 투여그룹은 대조그룹에 비해 15~50%의 매우 유의적인 SOD의 활성 증가효과가 인정되었고, 또한 이들 LTR투여그룹의 GSHPx은 대조그룹 대비 10~25%의 매우 유의적인 GSHPx의 활성 증가효과가 인정되었다. 한편 CAT의 활성에 미치는 LTR투여의 영향도 대조그룹 대비 60~90%의 매우 유의적인 CAT의 활성 증가효과가 인정되었다. 이상의 결과에서 탄수화물 대용으로 사용된 유용버섯 LTR의 투여는 ·OH 라디칼, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 및 NO의 생성 및 그로 인한 LPO 및 OP 같은 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 수 있을 뿐만 아니라 SOD, GSHPx 및 CAT 같은 방어효소의 활성을 매우 효과적으로 증가할 수 있기 때문에 노화를 매우 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 1999년도 농림기술개발과제의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 연구비를 지원해 주신 농촌진흥청 농업과학기술원장에게 깊은 감사를 드립니다.

## 참고문헌

- Chan, P. C. and Bielski, B. H. T. 1974. Enzymes catalyzed free radical reactions with nicotinamide adenine nucleotide. *Chem. J. Biol.* **249**: 1317-1320.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. 1989. The effect of food restriction on kidney membrane structures of aging rats. *Age* **12**: 133-136.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* **13**: 61-64.
- Choi, J. H. 1991. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.* **23**(1): 61-70.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. 1995. Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. &*

- Med.* **18**(2), 133-139.
- Choi, J. H. and Kim, D. W. 1997. Effect of alginic acid-added seaweed drink (Haezomiin) in brown algae (*Undaria pinnatifida*) on obesity and biological activity of SD rats. *Korean J. Life Sci.* **7**(4): 361-370.
- Fasidi, I. O. and Kadiri, M. 1995. Toxicological screening of seven Nigerian mushrooms. *Food Chemistry* **52**: 419-422.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1981. Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts. *FEBS Lett.* **128**: 347-350.
- Lawrence, R. A. and Burk, R. F. 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Lipid* **19**: 444-452.
- Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., Ahn, B., Shaltiel, S. and Stadtman, E. R. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **186**: 464-478.
- Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, L. A. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- McCord, J. M. and Fridovch, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. B. Chem.* **244**(22): 6049-6055.
- Miesel, R., Kurpisz, M. and Kroger, H.. 1996. Suppression of inflammatory arthritis by simultaneous inhibition of nitric oxide synthase and NADPH oxidase. *Free Rad. Biol. & Med.* **20**(1): 75-81.
- Nilakantan, V., Spear, B. T. and Glauert, H. P. 1998. Effect of the peroxisome proliferator ciprofibrate on lipid peroxidation and 8-hydroxydeoxyguanosine formation in transgenic mice with elevated hepatic catalase activity. *Free Rad Biol & Med.* **24**(9): 1430-1436.
- Oso, B. A. 1975. Mushrooms and the Yoruba people of Nigeria. *Mycologia* **67**: 311-319.
- Oso, B. A. 1977. *Pleurotus tuber-regium* from Nigeria. *Mycologia* **69**: 271-279.
- Oyanagui, Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem* **42**: 290-296.
- Rigo, A. and Rotilio, G. 1977. Simultaneous determination of superoxide dismutase and catalase in biological materials by polarography. *Anal. Biochem.* **81**: 157-166.
- Singer, R. 1961. *Mushrooms and truffles*. Leonard Hill (Books) Ltd. London. Interscience Publishers Inc., New York. pp. 272.
- Singh, V. A. 1992. A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* **122**(3S): 760-765.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill. New York.
- Thurman, R. G., Ley, H. G. and Scholz, R. 1972. Hepatic microsomal ethanol oxidation. *Eur. J. Biochem.* **25**: 420-430.
- Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids* **45**, 337-351.
- Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.* **21**: 651-668.
- Yu, B. P. and Yang, R. 1996. Critical evaluation of free radical theory of aging : A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **786**: 1-11.
- Zoberi, M. H. 1972. Tropical macrofungi. Macmillian Press Ltd., London. pp. 158.
- Zoberi, M. H. 1973. Some edible mushrooms from Nigeria. *Nigerian Field* **38**: 81-90.