

번데기 동충하초 추출물의 방사선 방호효과에 대한 효소 활성도 및 수용성 단백질 양상 분석

원광보건대학 방사선과 · 안산1대학 방사선과
유병규 · 박준철*

- Abstract -

Enzymeatical Analysis and Soluble Proteins Assays on Radioprotective Effects of *Cordyceps militaris*

Beong Gyu Yoo · Joon Chul Park*
Dept. of Radiotechnology, Wonkwang Health Science College
Dept. of Radiotechnology, Ansan 1 College*

Effect of single pre-administration of *Cordyceps militaris*(*Cm*) extract on the survival ratio, body weight and organ weight changes and blood cell counts after whole-body γ -irradiation were investigated. The single pre-administration of *Cm* extract at 24 hrs before γ -irradiation increased the 40-day survival ratio of irradiated mice from 60.1% to 71.4%. The administration of *Cm* extract completely prevented weight reductions of spleen and thymus produced by γ -irradiation ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Similar but somewhat less radioprotective effect was also found in the testis of the *Cm* treated mice. The administration of *Cm* extract retarded the reduction of both leukocyte and lymphocyte counts occurred during the first 7 days and accelerated the recovery of the counts thereafter. The extract also accelerated the recovery of the erythrocyte counts occurred after the day 21th. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the soluble proteins extracted from various organs did not reveal differences to any extent in all groups except in the livers of the irradiated and extract treated groups, in which some proteins were missing or less present.

Also, the result of general intra and extra mycelial enzyme assays with *Cm*, extramycelial enzyme activity was relatively higher than the intramycelial enzyme, *Cm* appeared to indicate that α -amylase was the highest among the enzymes and gluosidase and chitinase were followed.

Since the spleen, thymus and testis have been well known as radiosensitive organs, the protective action of *Cm* extract on irradiated mice may be responsible for its enhancing recovery of these organs. Although the exact mechanism in protective effect of *Cm* extract on irradiated mice is not clear yet, the present study is the first report regarding the *Cm* which was tested and found to be a potential radioprotective agent.

I. 서 론

동충하초는 겨울철에는 균의 형태로 곤충체 내에서 기생하다가 여름에는 곤충으로부터 자실체(버섯)를 형성하는 특이한 버섯이다. 분류학적으로 자낭균류의 맥각균과에 속하는 것으로 알려져 있다^{1~5)}.

현재 동충하초는 전세계적으로 약 300여종이 보고되

고 있고 우리나라에서도 약 100여종이 보고되고 있다^{6, 7)}. 이 균속에 관한 연구는 18세기부터 분류학적인 연구로서 시작되어 20세기 중엽부터 이용성을 기초로 한 다양한 연구가 활발히 이루어져 왔고, 최근에는 의학용으로서의 개발가능성에 대한 실험이 집중적으로 이루어지고 있다^{8, 9)}.

임상연구에 의하면 여러 동충하초 중 인시목의 번데기를 기주로 하는 번데기 동충하초(*Cordyceps militaris*)는

이 논문은 2001학년도 원광보건대학 교내 연구비 지원에 의해 연구되었음.

항암, 면역증가, 항피로, 노화방지, 연쇄상구균, 포도상구균, 피부진균 등에 탁월한 효능이 있는 것으로 밝혀지고 있고 박쥐나방 유충을 기주로 하는 동충 하초에는 대단히 우수한 항암성분이 있음이 발견되기도 하였다^{10~12)}.

항암효과를 나타내는 성분은 동충하초의 성장도중에 만들어지는 Cordycepin이라는 물질로 사용 후 인체에 전혀 부작용이 없고 체내 면역능력을 증가시키며 세균이나 바이러스 감염에도 뛰어난 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다^{13, 14)}.

전리방사선은 특정한 수산기(hydroxyl radical)에서 추출되어지는 산소 유리기(free radical)의 발생을 통하여 독성 효과 대부분의 영향을 미친다¹⁵⁾. 그러한 유리기는 또한 호기성세균의 신진대사를 하는 동안 부산물을 만들게 된다¹⁶⁾. 그 결과 효과적인 유리기의 발달로 인하여 찾아낸 혼합물은 방사선생물학과 노인학의 관점에서 볼 때 주요한 유출물이 아닐 수 없다. 그러므로 thiol complex, interleukin-1, 중앙 피사 요인과 과립성백혈구 colonystimulating 요인들과 같은 방사선 방호에 도움이 되는 혼합물에 관한 연구가 수행되어 왔으나 그런 추출물들은 부가적인 독성 때문에 실제로 사용되지는 않았다¹⁷⁾. 최근 방사선에 저항성인 천연물(natural product : herb)과 같은 자연생성물의 보호효과에 관한 연구가 중요한 관심사가 되었다^{18, 19)}.

따라서 본 연구는 다른 동충하초와 비교하여 효과가 탁월하다고 알려진 중국산 번데기 동충하초에서 분리된 분리균의 배양 균사체에 대한 약리 효과를 검증하기 위하여 이들로부터 유효성분인 다당류를 추출하고 효소의 활성도를 분석하였으며 이 추출물을 통하여 생쥐 전신에 γ -선을 조사한 후 생존률과 체중 및 기관의 무게 변화 등을 관찰했다. 또한 혈액세포에 미치는 영향과 전기영동을 이용한 수용성 단백질 양상 분석을 조사하였다. 이상의 실험을 통하여 번데기 동충하초 추출물이 미치는 효과 즉, 방사선 보호효과에 대한 생물학적 활성을 보고자 본 연구를 시행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 번데기 동충하초 추출물(*Cordyceps militaris* Extract)

번데기 동충하초(*Cordyceps militaris*)의 재배된 균사체는 중국의 Anhui Agricultural 대학의 곤충 균류학 연구소에 의해 제공되었다. 이러한 동충하초(*Cordyceps militaris*)의 균사체는 8시간 동안 95°C의 물에서 끓인 후 추출하였다. 그 추출물은 용액을 여과기(Millipore, pore size 0.22 μ m, filter type GS)을 통하여 여과한 후 원심분리기(Hanil HM-160)를 사용하여 10,000 \times g에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 냉동건조기(II Sin Engineering Co.)를 사용하여 동결건조 한 후 실험에 사용하였다.

2. 효소 활성도 분석

실험에 사용한 번데기 동충하초(*Cordyceps militaris*)의 분비 효소를 검정하기 위하여 extra 및 intra 균사 효소 활성을 측정하였다. Intra 균사 효소활성을 측정하기 위하여 냉동상태에서 완전히 분리될 정도로 초음파를 사용하여 4분간 균질화 시켰다. 단백질의 모든 사항은 소 혈청 알부민을 기준으로 수행하였다²⁰⁾.

효소의 분석으로는 α -Amylase와 β -Glucosidase 활성과 그리고 CMCase 및 Protease 활성, Chitinase 활성 등을 조사하였다.

3. 동물처리

실험동물로는 Green Cross Co, Ltd(Korea)에서 제공된 ICR 계열의 2주된 수컷 생쥐로 하였으며 평균 체중은 28 g 이었다. 사육실의 조건으로는 실내온도 24°C~28°C, 습도는 60~70%, 밤낮(암기와 명기)을 교대로 12시간격으로 같은 조건하에서 사육하였다. 사료는 고품사료(삼양사)를 사용하였는데 그 성분은 조 단백질 21%, 조 지방 3.5%, 조 셀룰로오스 5.0%, 무기질 8.0% 등이었다. 모든 동물은 실험기간 동안 사료와 물을 충분하게 공급하였으며 급수는 수돗물을 사용하였다.

4. 방사선 조사

생쥐를 대조군과 방사선 처리군, 그리고 방사선 처리 24시간 전 번데기 동충하초 추출물 투여군의 3 그룹과 수용성 단백질 분석을 위한 번데기 동충하초 추출물만을 투여한 그룹을 추가하여 분류하였다. 분류된 생쥐를 다공형 종이상자 (40 \times 30 \times 3 cm)에 넣어 방사선 처리군의 경우 ⁶⁰Co γ -ray source (Nuclear Medicine Inc.)를 이용하였으며 조사범위 (field size) 45 \times 45 cm로 방사선원과 종이상자의 거리를 30 cm로 하여 분당 3.0 Gy 세기로 총 6.0 Gy 되도록 조사하고 번데기 동충하초 처리군의 경우 방사선 조사 24시간 전에 번데기 동충하초 추출물을 PBS buffer에 녹이고 0.2 μ m의 1회용 membrane filter (Greenfilter A25Y)로 투과하여 생쥐에 100 mg/kg body weight의 조건으로 번데기 동충하초 추출물을 0.5 ml 복강 투여하였다. 대조군은 주사로 인한 스트레스를 동등하게 하기 위하여 0.5 ml 식염수(0.9% NaCl)를 복강내 주입했다.

5. 혈액채취 및 대사물질과 혈액세포

실험을 위한 혈액의 채취는 생쥐의 목을 절단하여 혈액을 받는데 응고가 되지 않도록 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)를 포함하는 플라스틱 튜브에 받아 혈액을 추출하였다. 이 혈액 중 일부는 즉시 800 \times g의 배율로 10분간 원심 분리하여 혈청을 취해 대사 물질을 정량하

고 나머지 일부 혈액은 자동혈구계수기(BCT-1004, Biotek, Inc)를 이용하여 혈액세포의 정량에 사용하였다.

6. 수용성 단백질의 준비

생쥐를 해부하여 뇌, 간, 신장, 심장, 비장, 흉선, 근육을 채취하였다. 단백질 함량 및 효소 활성도 측정을 위하여 절취한 조직을 10배 부피의 차가운 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.0)에 넣어 glass-teflon homogenizer를 이용하여 1분간 분쇄하였다. 분쇄된 균등액을 4°C에서 50,000 × g로 15분간 원심 분리하고 상층액을 분리하여 분석에 즉시 사용하였다.

7. 전기영동에 의한 수용성 단백질 양상 분석

총 수용성 단백질의 분석은 Laemmli(1970)의 불연속 SDS-PAGE를 사용하여 수행했다²¹⁾. 분리젤(Separating gel)은 10% acrylamide, 0.27% bisacrylamide, 0.1% Sodium dodecyl sulfate(SDS)를 포함하며 0.025% N,N,N,N-tetramethylethylenediamine(TEMED)과 0.1% ammonium persulfate를 첨가함으로써 중합 반응을 일으켰다. 스택킹젤(Stacking gel)은 3% acrylamide, 0.08% bisacrylamide, 0.1% SDS를 포함하며 0.075% TEMED와 0.048% ammonium persulfate를 첨가함으로써 중합반응을 일으켰다. 다음에 수용성 단백질 상등액을 60 mM Tris, 25% glycerol, 12% SDS, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% bromophenol blue를 포함하는 시료전개용 완충용액과 4 : 1의 비율로 혼합하여 끓는 물에 1분간 담가 단백질을 변성시킨 후 각 well에 넣고 0.1 M Tris, 0.77 M glycine, 14 mM SDS를 포함하는 전기영동용 완충용액 pH 8.3을 전기영동 장치 상하부 수조에 채우고 염색시료가 분리젤면에 도달할 때까지 20 mA의 전류를 가하고 이후로 염색시료가 분리젤 끝면으로 부터 0.5 cm되는 거리에 도달할 때까지 50 mA의 전류를 가했다. 전기영동이 끝나면 전기영동 장치로부터 겔을 분리하여 0.125% Coomassie blue R-250, 50% methanol, 10% acetic acid를 포함한 염색용액에 넣어 1~2시간 동안 염색했다. 염색이 완료되면 5% acetic acid, 10% methanol을 포함한 탈색용액에 넣어 탈색했다.

8. 방사선 방호 효과

γ-선 조사시 번데기 동충하초 추출물의 투여군과 대조군 간의 치사율, 체중변화, 장기의 무게 변화, 혈청 내 대사산물의 변화, 조혈세포의 변화, 각 조직 내 수용성 단백질 변화 등을 조사하였다.

9. 통계처리 분석

본 실험에서 각 실험군 사이의 평균치의 유의성을 분

석하기 위하여 Kirk(1968)에 의하여 약속된 Newman-Keuls 검정법에 따라 Duncan test(1975)로 처리하여 3 집단의 유의성을 검증 비교했다²²⁾. 그리고 각 자료의 평균치는 표준 편차 또는 표준 오차로 표시했다.

III. 결 과

1. 번데기 동충하초의 효소 활성도

번데기 동충하초를 통한 intra 및 extra 균사 효소활성 측정결과는 extra 균사 효소활성이 상대적으로 intra 균사 효소 보다 더 높았다(Fig. 1, Fig. 2). Intra 및 extra 균사 효소활성에서 다른 효소들에 비하여 amylase가 가장 높게 나타났다.

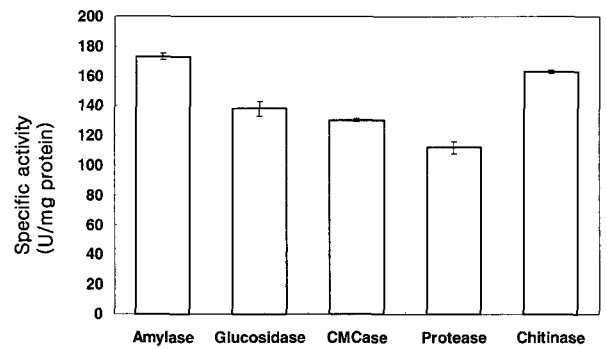


Fig. 1. The specific activities of extramycelial enzyme of *Cordyceps militaris*.

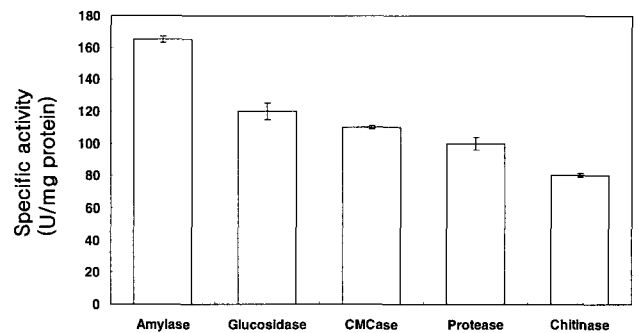


Fig. 2. The specific activities of intramycelial enzyme of *Cordyceps militaris*.

2. 생쥐의 전신 무게 변화

γ-선 전신 조사 24시간 전에 복강으로 주사된 번데기 동충하초 추출물이 생쥐의 체중에 미치는 영향을 Figure 3에서 보여 주고 있다. 방사선 처리군의 생쥐는 대조군과 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 처리군 보다 상대적으로 체중 증가가 지체되는 것을 알 수 있다(Fig. 3).

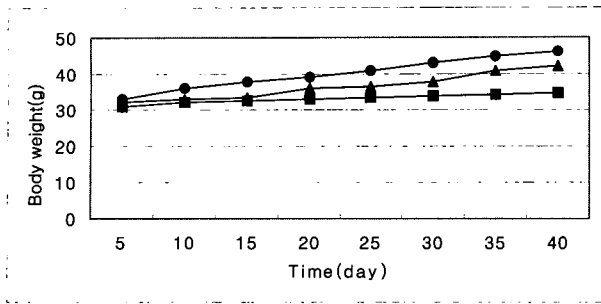


Fig. 3. Effect of the intraperitoneal administration of *Cordyceps militaris* extract prior to γ -irradiation on body weight change in mice. Administration of saline and *Cordyceps militaris* extract and γ -irradiation were described in Materials and Methods.

● : control group : ■ : irradiated group :
▲ : *Cordyceps militaris* extract treated group before γ -irradiation.

3. 생쥐의 생존율 변화

γ -선 전신 조사(6.0 Gy) 24시간 전에 복강으로 주사된 변데기 동충하초 추출물(100 mg/kg body weight)은 방사선에 조사된 생쥐의 40일째 생존율을 60.1%에서 71.4%로 증가시켰다($P < 0.05$, $P < 0.01$)(Table 1).

Table 1. Effect of *cordyceps militaris* extract on 40-day survival ratio of mice after irradiation survival ratio of mice after irradiation.

Group	Number of survived mice	40-day survival ratio (%)	Significance against control
control	10 of 10	100	----
Rad ^a	17 of 28	60.1	$P < 0.01$
Rad + Cm ^b	20 of 28	71.4	$P < 0.05$

a : Rad, irradiated group :
b : Rad + Cm, *Cordyceps militaris* treated group before γ -irradiation.

4. 생쥐의 방사선감수성 장기들의 무게변화

방사선 처리 40일 후의 각 처리군의 장기 무게를 조사한 결과 방사선 처리군의 경우 흉선(thymus)과 비장(spleen)의 무게가 대조군에 비해 현저히 감소한 것으로 나타났다($P < 0.01$, $P < 0.05$). 반면, 방사선 처리 24시간 전에 변데기 동충하초 추출물을 투여한 군의 이러한 장기 무게는 대조군과 비교하여 별다른 차이를 보이지 않았다($P < 0.01$, $P < 0.05$). 고환(testis)의 경우 방사선 처리군과 방사선 조사 전 변데기 동충하초 추출물의 처리군 모두 조

직의 무게가 현저히 감소하였는데($P < 0.01$) 그러나 방사선 조사 전 변데기 동충하초 추출물의 처리군의 감소정도가 방사선 처리군의 감소보다 현저히 적은 것을 알 수 있었다($P < 0.01$). 상기한 장기들의 무게 감소와는 대조적으로 심장(heart), 신장(kidney) 및 간(liver)의 무게는 모든 조직에서 별다른 유의성을 가지지 못하였다(Table 2).

Table 2. Effect of *Cordyceps militaris* on organ weight of mice after γ -irradiation.

Tissues	Control	Rad	Rad + Cm
Heart	0.17 ± 0.02^a	0.16 ± 0.02^a	0.16 ± 0.02^a
Kidney	0.69 ± 0.03^a	0.62 ± 0.04^a	0.60 ± 0.03^a
Liver	1.60 ± 0.16^a	1.54 ± 0.17^a	1.59 ± 0.18^a
Spleen	0.11 ± 0.01^a	0.07 ± 0.01^b	0.12 ± 0.01^a
Testis	0.34 ± 0.02^A	0.08 ± 0.01^C	0.14 ± 0.01^B
Thymus	0.05 ± 0.01^A	0.02 ± 0.00^B	0.06 ± 0.01^A

*Values are means \pm S.D. for 10 animals sacrificed on the 40th day.

Means not sharing a common superscript letter within a row are significantly different (^{A,B,C} $P < 0.01$ or ^{a,b,c} $P < 0.05$). Rad, irradiated group : Rad + Cm, *Cordyceps militaris* treated group before γ -irradiation.

5. 생쥐의 혈액 변화

1) 백혈구 변화

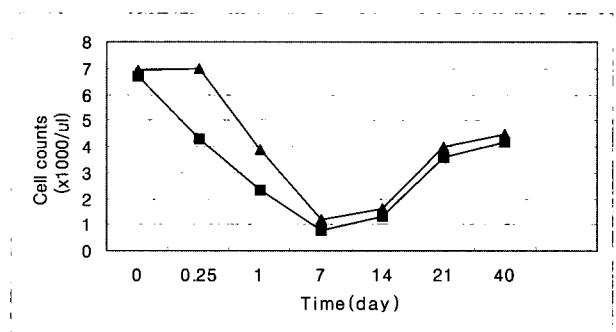


Fig. 4. Effect of the intraperitoneal administration of *Cordyceps militaris* extract prior to γ -irradiation on the leukocytes of mice.

■ : irradiated group :
▲ : *Cordyceps militaris* extract treated group before γ -irradiation.

방사선에 조사된 생쥐의 혈액 변화에서는 Fig. 4에서 나타난 바와 같이 방사선 처리군의 백혈구(leukocytes) 수가 방사선 처리 후 7일간 현저히 감소하였고 그 이후로 서서히 회복되었다. 반면, 방사선 조사 24시간 전 변

데기 동충하초 추출물 투여군의 백혈구 수와 비교하여 보면 방사선 처리군의 감소 정도보다 좀더 서서히 감소되는 양상을 보였다($P < 0.01$). 그러나 7일 이후에 나타나는 백혈구 수의 회복현상은 두 그룹간의 유의성은 없었다(Fig. 4).

2) 적혈구 변화

방사선에 조사된 생쥐의 적혈구(erythrocytes) 수의 변화는 Fig. 5에서 알 수 있다. 적혈구의 감소 경향이 두 그룹, 즉 방사선 처리군과 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초 추출물 투여군 사이에서 유사하게 나타났다. 그러나 회복 현상은 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 투여군에서 보다 신속히 일어남을 알 수 있었다(Fig. 5).

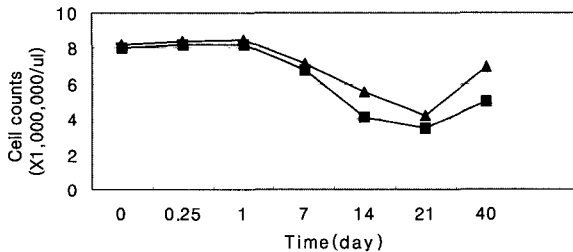


Fig. 5. Effect of the intraperitoneal administration of *Cordyceps militaris* extract prior to γ -irradiation on the erythrocytes of mice.

■ : irradiated group
▲ : *Cordyceps militaris* extract treated group before γ -irradiation.

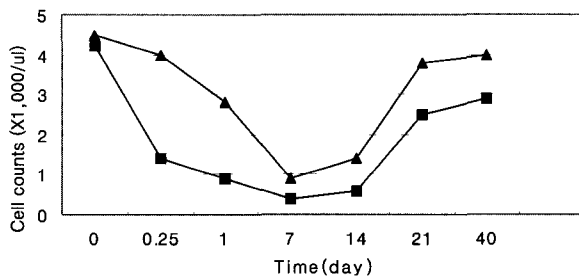


Fig. 6. Effect of the intraperitoneal administration of *Cordyceps militaris* extract prior to γ -irradiation on the lymphocytes of mice.

■ : irradiated group
▲ : *Cordyceps militaris* extract treated group before γ -irradiation.

3) 림프구 변화

방사선에 조사된 생쥐의 림프구(lymphocytes) 변화에서는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 방사선 처리군의 경우 방사선 처리 후 7일 동안 현저히 감소되었고 이후로 서서히 회복되었다. 그러나 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초 추출물 투여군의 림프구 수는 방사선만을 조사한 처리군 만큼 현저히 감소하지 않았으며 그 회복 현상도 더 신속함을 나타냈다(Fig. 6). 이상의 결과로 적혈구 수와 림프구 수의 회복이 번데기 동충하초 추출물 투여에 의해 명백히 촉진됨을 알 수 있었다.

6. 전기영동에 의한 수용성 단백질 양상

전기영동을 이용하여 수용성 단백질의 양상을 분석한 것이 Fig. 7(A, B)에 나타나 있다. 대조군, 번데기 동충하초 추출물의 투여군, 방사선 처리군 및 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초 추출물 투여군의 4 lane에 방사선 감수성이 다양한 4개의 조직(흉선, 비장, 고환, 간)으로부터 추출한 수용성 단백질의 전기영동 양상을 나타내고 있다(Fig. 7). 고환과 흉선의 경우 각 그룹간에 별다른 차이를 보이지 않았다. 반면, 간의 경우 방사선 처리군과 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 투여군의 특정 단백질

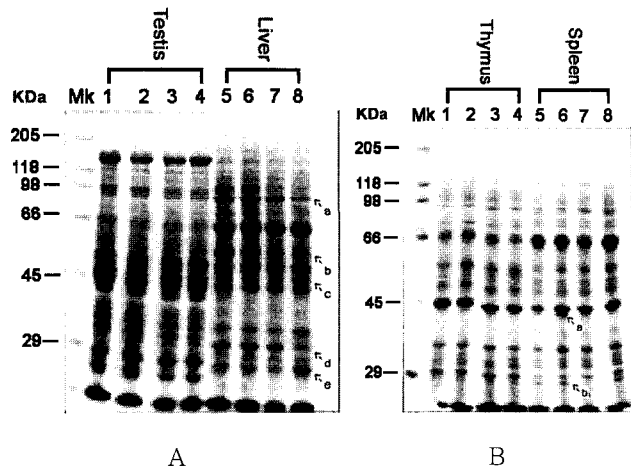


Fig. 7. 10% SDS-polyacrylamide gel electrophoretogram of soluble proteins extracted from various tissues of mice. Lane Mk, contains the molecular weight marker : myosin(200 kDa), β -galactosidase(116 kDa), phosphor-ylase b(98 kDa), bovine serum albumin(68 kDa), ovalbumin(45 kDa), carbonic anhydrase(29 kDa). The remaining lanes were the soluble proteins from various tissues of mice(lanes 1 and 5, control group ; lanes 2 and 6, *Cordyceps militaris* extract treated group ; lanes 3 and 7, irradiated group ; *Cordyceps militaris* extract treated group prior to irradiation).

A : Testis and liver, B : Thymus and spleen

양이 감소함을 확인할 수 있었다(Fig. 7-A, a, 90 kDa; b, 53 kDa; d, 32 kDa). 한편, 방사선 처리군에서는 감소 경향을 보였으나 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 투여군에서 감소되지 않은 단백질이 확인되었다(Fig. 7-A, c, 45 kDa; e, 26 kDa). 또한 비교적 방사선감수성이 큰 장기로 알려진 비장의 경우 번데기 동충하초 추출물의 투여군에서 대조군에서는 없었던 특정 단백질들이 확인되었다(Fig. 7-B, a, 43 kDa; b, 27 kDa).

IV. 고 찰

여러 동충하초 중에 다른 동충하초와 비교하여 효과가 탁월하다고 알려진 중국산 번데기 동충하초(*Cordyceps militaris*: Cm)의 추출물을 통하여 각 효소의 활성도를 분석한 후 생쥐 전신에 γ -선을 조사한 후 40일간의 생존률과 전신의 무게 및 각 조직의 무게, 변화 그리고 혈액 세포에 미치는 영향을 통한 방사선 보호효과를 조사하였다. 또한 그러한 결과를 전기영동을 이용한 수용성 단백질의 양상 분석으로 확인하여 향후 방사선 보호 물질로서의 가능성에 대한 기초자료를 제공하는데 본 실험의 목적을 두고 진행하였다.

번데기 동충하초의 효소 활성도 조사를 통하여 인공배양의 가능성을 알 수 있었다. γ -선 전신 조사(6.0 Gy) 24시간 전에 복강으로 주사된 번데기 동충하초 추출물(100 mg/kg body weight)은 방사선에 조사된 생쥐의 40일째 생존율을 60.1%에서 71.4%로 증가시켰는데($P < 0.05$, $P < 0.01$) 이와 유사한 결과가 인삼 추출물을 이용한 연구에서도 발표되었다^{23, 24}. 부분적으로 정제된 인삼 열수 추출물을 NIH-Swiss 생쥐와 JCL-ICR 생쥐에 X선 조사 전에 복강으로 단일 투여하였을 때 30일째 생존율을 현저히 증가시켰다는 보고 등이 본 연구결과와 잘 일치하는 것이었다^{4, 6, 23}. 특히 번데기 동충하초 추출물이 생쥐의 체중에 미치는 영향을 보는 실험에서 방사선 처리군의 생쥐는 대조군과 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 처리군 보다 상대적으로 체중 증가가 지체되는 것을 알 수 있었다.

생쥐의 조직 무게 변화를 알아보기 위하여 비교적 방사선 감수성이 큰 장기 3 조직(비장, 고환, 흉선)과 방사선 감수성이 작다고 알려진 3 조직(심장, 신장, 간)을 대상으로 방사선 조사 40일 후의 각 처리군의 조직 무게를 조사한 결과 방사선 처리군의 경우 방사선 감수성이 큰 장기인 흉선(thymus)과 비장(spleen)의 무게가 대조군에 비해 현저히 감소한 것으로 나타났으나($P < 0.01$, $P < 0.05$), 방사선 조사 24시간 전에 번데기 동충하초 추출물을 투여한 그룹의 같은 장기 무게는 대조군과 비교하여 별다른 차이를 보이지 않거나 오히려 증가하는 경향을 나타냈다($P < 0.01$, $P < 0.05$). 이와는 달리 비교적 방사선 감수성이 큰 장기라고 알려져 있으면서도 불구하고 고환(testis)의 경우에는 방사선 처리군과 방사선 조사 전 번

데기 동충하초 추출물의 처리군 모두 조직의 무게가 현저히 감소하였다($P < 0.01$). 그러나 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 처리군의 감소정도가 방사선 처리군의 감소보다 현저히 적은 것을 알 수 있었다($P < 0.01$). 이는 흉선과 비장보다는 고환이 방사선에 대한 감수성이 더 큰 것으로 생각할 수 있으며 반대로 흉선과 비장이 고환보다는 조직의 회복력이 더 빠르며 크다고 할 수 있다. 이러한 결과를 종합해보면 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초 추출물을 투여한 생쥐의 방사선 감수성이 큰 장기들에 있어 방사선 보호효과가 있는 것으로 추측할 수 있다.

상기한 방사선 감수성이 큰 장기들의 무게 감소와는 대조적으로 비교적 방사선 감수성이 작다고 알려진 심장(heart), 신장(kidney) 및 간(liver)의 무게 변화에서는 모든 조직에서 별다른 유의성을 가지지 못한 것으로 조사되었다. 같은 양의 방사선 조사에서도 조직간의 방사선 감수성에 따라 크게 차이가 나타나는 것으로 판단된다.

방사선에 조사된 생쥐의 혈액세포에 미치는 영향을 연구하고자 생쥐를 세 그룹으로 분류하여 감마선 조사 및 번데기 동충하초 추출물 또는 생리적 식염수를 투여하고 시간별로 도살하고 각 조직을 취하고 조직 내 여러 효소 및 단백질 양상을 조사하여 얻은 결과를 살펴보면 방사선 조사군의 백혈구(leukocytes) 수가 방사선 조사 후 7일간 현저히 감소하였으며 그 이후로 서서히 회복되는 것을 볼 수 있다. 그 반면, 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초 추출물 투여군의 백혈구 수는 방사선 조사군의 감소 정도보다는 좀더 서서히 감소되는 것을 알 수 있었다($P < 0.01$). 그러나 7일 이후에 나타나는 백혈구 수의 회복현상은 두 그룹간에 유사한 것으로 나타났다.

한편 적혈구(erythrocytes) 수의 감소경향이 두 그룹간에 유사함을 보여주고 있지만 그러나 회복 현상은 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초 추출물 투여군에서 더 빠르게 진행되는 것으로 알 수 있었다. 또한 방사선 조사군의 림프구(lymphocytes) 수는 방사선 조사 후 7일 동안 현저히 감소되었으며 그 이후로 서서히 회복되는 경향을 보였다. 그러나 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초 추출물 투여군의 림프구 수는 방사선만 처리한 그룹만큼 현저한 감소는 없었으며 그 회복 현상도 보다 더 빠르게 진행되는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 적혈구 수와 림프구 수의 회복이 번데기 동충하초 추출물 투여에 의해 명백히 촉진됨을 암시하는 것으로 추정할 수 있다. 이와 유사한 연구결과인 인삼 열수 추출물 처리에서도 명백하게 보여진 것이다^{6, 23}. 이상의 결과들은 번데기 동충하초 추출물의 투여가 그 기작은 명확히 알 수 없으나 조혈 조직의 재생을 촉진시켜 회복을 빠르게 진행시킨다는 추측을 할 수 있다²⁵. 그러나 방사선 조사에 의한 세포의 파괴는 막지 못함을 보여주었다.

전기영동을 이용한 수용성 단백질의 양상을 분석한 실험에서는 대조군, 번데기 동충하초 추출물의 투여군, 방사선 처리군 및 방사선 조사 24시간 전 번데기 동충하초

추출물 투여군의 4 lane으로 분류하고 방사선 감수성이 다양한 4개의 조직(흉선, 비장, 고환, 간)으로부터 추출한 수용성 단백질의 전기영동 양상을 나타냈다. 고환과 흉선의 경우 각 그룹간에 별다른 차이를 보이지 않았다. 반면, 간의 경우 방사선 조사군과 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 투여군의 특정 단백질 양이 감소함을 확인할 수 있었다. 한편, 방사선 처리군에서는 감소 경향을 보였으나 방사선 조사 전 번데기 동충하초 추출물 투여군에서 감소되지 않은 단백질이 확인되었다. 또한 비교적 방사선 감수성이 큰 장기로 알려진 비장의 경우 번데기 동충하초 추출물의 투여군에서 대조군에서는 없었던 특정 단백질들이 확인되었다.

이러한 결과는 방사선 조사에 의해 특정 단백질의 합성이 억제되거나 분해가 촉진됨을 시사하는 것이며 또한 번데기 동충하초 추출물이 이중 특정단백질의 감소를 막아줄 수 있다는 것을 나타내는 것이다. 이와 관련된 계속된 연구를 통하여 향후 소실된 단백질을 규명함으로써 방사선 피폭에 의한 단백질 대사변화를 좀더 구체적으로 자세하게 이해하는데 중요한 기여를 할 수 있으리라 생각되는 바이다.

결론적으로 번데기 동충하초 추출물의 투여로 인해 각 효소가 활성화되어 조혈작용과 기관들의 재생을 촉진시킬 수도 있다는 것을 암시하는 것이고 또한 어느 정도 보호작용과 관계가 있다는 것을 시사하는 것이다. 따라서 번데기 동충하초 추출물의 보호작용은 이러한 방사선 감수성이 민감한 장기들의 회복을 높여주는 신뢰할 수 있는 물질로 판단된다.

비록 방사선에 조사된 생쥐에서 번데기 동충하초 추출물의 방호효과 기전(mechanism)이 정확하게는 아직 밝혀지지 않았지만 본 연구는 잠재된 방사선 방호효과 인자를 발견하고 실험한 보고로서 향후 본 연구결과를 바탕으로 추후 더 많은 반복적 시험을 통해 효과를 검증한다면 밝혀진 이 연구의 실용적인 가치는 인간의 건강증진을 위해 응용하는데 크게 공헌할 수 있으리라 생각한다.

V. 결 론

방사선 보호효과에 따른 생물학적 활성도 및 수용성 단백질의 양상을 알아보기 위한 본 연구의 결론은 다음과 같다.

1. 번데기 동충하초의 효소활성도는 extra 군사 효소활성이 intra 군사 효소 보다 상대적으로 더 높았다.
2. γ -선 조사된 생쥐들의 40일 생존률은 번데기 동충하초 추출물을 γ -선 조사 24시간 전 미리 투여한 그룹이 γ -선만 조사된 그룹에 비하여 생존률이 60.1%에서 71.4%로 증가하였다.
3. γ -선에 조사된 생쥐들은 비장과 흉선의 평균 무게가 대조군 생쥐들보다 더 낮아 졌으나, 그러나 대조적으로 번데기 동충하초 추출물을 주입한 생쥐들의 비

장과 흉선의 무게는 거의 대조군 생쥐들과 비슷하거나 오히려 증가하였다.

4. γ -선에 조사된 생쥐들의 고환 무게는 대조군과 비교하여 현저하게 줄어들었으나, 그러나 번데기 동충하초 추출물을 주입한 생쥐들의 고환 무게 감소는 γ -선에 조사된 쥐들과 비교하여 상대적으로 약간의 변화만 있었다.
5. γ -선에 조사된 생쥐들의 백혈구 변화는 방사선 조사군에서 방사선 조사 후 7일간 현저히 감소하였고 이후로 서서히 회복되었으나, 번데기 동충하초 추출물 투여군에서는 서서히 감소되는 양상을 보였다 ($P < 0.01$).
6. γ -선에 조사된 생쥐들의 적혈구 변화는 방사선 조사군과 번데기 동충하초 추출물 투여군 사이에서 적혈구 감소가 유사하게 나타났으나, 회복 현상은 번데기 동충하초 추출물 투여군에서 더 신속히 일어났다.
7. γ -선에 조사된 생쥐들의 림프구 변화는 방사선 조사군에서 방사선 조사 후 7일간 현저히 감소하였고 이후로 서서히 회복되었으나, 번데기 동충하초 추출물 투여군에서는 서서히 감소되는 양상을 보였으며 그 회복 현상도 더 신속함을 나타냈다.
8. 전기영동을 이용한 수용성 단백질 양상의 분석은 간의 경우 방사선 조사군과 번데기 동충하초 추출물 투여군에서 특정 단백질 양이 감소하는 것을 확인하였다. 또한 방사선 조사군에서는 감소 경향을 보였으나 번데기 동충하초 추출물 투여군에서 감소되지 않은 단백질도 확인되었다. 아울러 비장의 경우 번데기 동충하초 추출물의 투여군에서 대조군에서는 없었던 특정 단백질들이 확인되었다.

참 고 문 헌

1. Benderitter M., Maingon P., Abadie C., Assam M., Maupoli V., Briot F., Horiot J. C. and Rochette L. : Effect of in vivo heart irradiation on the development of antioxidant defenses and cardiac functions in the rat. *Radiation Research* 144(1), 64, 1995.
2. 유병규, 김은중, 김재영 : 동충하초 추출물이 감마선에 조사된 생쥐에 미치는 방사선 방호효과, 대한방사선 기술학회지, 제 22 권, 제 1 호, 67-72, 1999.
3. 유병규, 박준철 : 저령 추출물이 감마선에 조사된 생쥐에 미치는 방사선 방호효과, 대한방사선기술학회지, 제 23 권, 제 1 호, 77-80, 2000.
4. Yonezawa M., Katoh N. and Takeda A. : Restoration of radiation injury by ginseng extract. *J. Ginseng Science*, Vol. 26, 436, 1985.
5. Pegler D. N., Yao Y. and Li Y. : The Chinese Caterpillar fungus, *Mycologist*, 8, 3-5, 1994.

6. Takeda, A., Yonezawa, M. and Katoh, N. : Restoration of radiation injury by ginseng. Response of X-irradiated mice to ginseng extract. *J. Ginseng Science*, Vol. 22, 323-335, 1981.
7. Salovsky P. and Shopova V. : Synergic lung changes in rats receiving combined exposure to paraquat and ionizing radiation. *Environmental, Research*, 60(1), 44-54, 1993.
8. Yamooka K., Edamatsu R. and Mori A. : Increased SOD activities and decreased lipid levels induced by low dose x irradiation in rat organs. *Free Radical Biological Med.* 11, 299-306, 1991.
9. Furuya T. M., Hirofani and Matsuzawa M. : N⁶-(2-Hydroxyethyl)adenosine, a biological active compound from cultured mycelia of *Cordyceps* and *Isaria* species. *Phytochemistry*, 22, 2509-2512, 1983.
10. Pegler D. N., Yao Y. and Li Y. : The Chinese Caterpillar fungus. *Mycologist*, 8, 3-5, 1994.
11. Li Y., Chen G. And Jiang D. : Combined traditional Chinese and western medicine. Effect of *Cordyceps sinensis* on erythropoiesis in mouse bone marrow. *Chinese Medicine J.*, 106, 313-316, 1993.
12. Liu F., Ooi V. E. C. and Chang S. T. : Free radical scavenging of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sciences*. 60(10), 763-771, 1994.
13. Chattejee R., Srinivasan K. S. and Maiti P. C. : *Cordyceps sinensis* (Berkeley) Saccharide. Structure of Cordycepic saccharic acid. *J. American Pharmaceutics Assessment*, Vol. 1, 114-118, 1957.
14. Hamada M. : Effect of *Cordyceps sinensis* (Berkeley) Saccharide. Extract upon anti-tumor activity and tumor immunity, *J. Kanazawa Medicine Univ.*, 16, 46-54, 1991.
15. Kergonou J. F., Thiriot C., Braquet M., Ducouso R. and Rocquet G. : Influence of whole-body gamma-irradiation upon rat erythrocyte : lipid peroxidation and osmotic fragility. *Biochemistry*, 68(2), 311-318, 1986.
16. Hutchinson F. : Chemical changes induced in DNA by ionizing radiation. *Progress Nucleic Acid Research, Molecular Biology*, Vol. 32, 115, 1985.
17. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. : Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *J. Biochemistry*, Vol. 219, 1-14, 1984.
18. Emerit J. and Chaudiere J. : *CRC Hand Book of Free Radical and Antioxidants in Biomedicine*, Miquel J., Quintailha A. T. and Weber H.(eds.) vol. 1, CRC Press, Florida, pp. 177, 1985.
19. Esterbauer. : In *Free Radical in Liver Injuri*(edited by Poli G., Cheeseman K. H., Dianzani M. U. and Slater T. F.). IRL Press, Oxford, pp. 29-48, 1985.
20. Bradford M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytic Biochemistry*, 72, 248-254, 1976.
21. Laemmli U. K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 680-684, 1970.
22. Kirk R. E. : *Experimental design : Procedures for the behavior sciences*, pp. 91(Seligson, D. ed.) Vol. 2, Academic Press, New York, 1959.
23. 박영순, 김영곤, 장재철, 김동윤 : Radioprotective effects of red ginseng extracts on antioxidants and lipid peroxidation of the liver in γ -irradiated mice. *Korean Biochemistry. J.* 26(2), 184-191, 1993.
24. 고성진, 김재영, 이천복 : Radioprotective effect of S-2 (3-aminopropylamino) Ethyl phosphorothioic acid (WR-2721)가 방사선에 조사된 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향. *대한방사선기술학회지*, 제 20 권, 제 1 권, 91-96, 1997.
25. Yoshida J., Takamura S., Suzuki S. and Koshimura S. : Potentiating effect of an extract of *Cordyceps sinensis* (Berkeley) Saccharide on cytostatic activity of mouse effector cells against tumor cells, *J. Kanazawa Medicine Univ.*, 17, 330-335, 1992.