

말굽버섯 추출물이 Streptozotocin으로 유발된 당뇨 흰쥐의 혈당, 지질대사 및 면역세포에 미치는 영향

김나영¹ · 정호금¹ · 박명주¹ · 김석지¹ · 김석환¹ · 최종원² · 이정숙^{3†}

¹동아대학교 식품영양학과

²경성대학교 약학과

³고신대학교 식품영양학과

Effects of *Fomes fomentarius* Extract on Blood Glucose, Lipid Profile and Immune Cell in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Na-Young Kim¹, Ho-Kum Jung, Myoung-Ju Park¹, Seog-Ji Kim¹,
Seok-Hwan Kim¹, Jong-Won Choi² and Jeong-Sook Lee^{3†}

¹Dept. of Food and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

²Dept. of Pharmacy, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Kosin University, Busan 606-701, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of extract of *Fomes fomentarius* (FF) on blood glucose, lipid profile, antioxidant enzymes and immune cells in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Male Sprague-Dawley rats were divided into control, STZ-induced diabetic group (DM), STZ plus FF water extract treated group (DM-FW 200) and STZ plus FF methanol extract treated group (DM-FM 200). FW (200 mg/kg BW) and FM (200 mg/kg BW) were orally administered once a day for 14 days. Administering FW and FM to STZ-induced diabetic rats lowered the blood glucose level. The supplementation of FW and FM suppressed the increase in the total cholesterol and triglyceride levels in the serum and liver of the diabetic rats. The high density lipoprotein-cholesterol level and glutathione peroxidase activity were higher in the FF-supplemented group compared to the diabetic group. Administering FW and FM increased the suppress in the serum complement component C3, whole blood B-cell, T-cell, helper T cell and suppressor T cell of the diabetic rats. Therefore, it could be suggested that FW and FM are alleviated the diabetic complication through enhancing the hyperglycemia and preventing diabetic complications.

Key words: *Fomes fomentarius*, diabetes, lipid profile, immune cell

서 론

'국민건강영양조사보고서(1)'에 의하면 2001년 한국인의 1일 평균 식품섭취량은 1,314.7 g으로 1990년도와 비교하여 266.7 g의 증가하였고, 1998년도와 비교해서는 24.7 g이 증가하였다. 또한 식품섭취량에 대한 동물성 식품 섭취비율도 1969년의 3%, 1980년의 9.2%, 1990년의 18.9%, 2001년 19.9%로 계속 증가하고 있어 식생활이 서구화되는 추세이다. 그로 인해 당뇨병, 심순환계 질환, 암 등의 발병률이 점차 증가하고 있으며, '2002년 사망원인통계조사'(2) 결과에 따르면 한국인의 주요 사망원인은 암, 뇌혈관질환, 심장질환, 당뇨병, 만성하기도 질환 순으로 당뇨병 발병은 우리나라 4대 사망원인으로 나타나 심각한 사회, 보건문제가 되고 있

다. 당뇨병이 발병되면 인슐린의 분비가 감소되거나 인슐린의 작용에 문제가 생겨 혈액내의 영양소가 조직 속으로 들어갈 수 없어 여러 대사성 질환이 발생하게 된다. 인슐린 부족이 오면 당대사뿐만 아니라 단백대사, 지질대사, 물, 전해질 대사까지 변화되어 그 합병증으로 당뇨병성 혈관장애, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신증, 신경장애, 감염증 등이 나타나고 이러한 영양대사의 변화는 면역능력에 영향을 미치는데 특히 체액성 면역보다 세포 매개성 면역에 더 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(3). 당뇨병 치료법으로는 운동요법과 식이요법, 약물요법이 있는데, 현재 사용되는 항당뇨 치료 약물요법의 경우는 대부분 부작용이 존재한다. 그러므로 사용에 제약이 있어(4,5) 천연식물을 이용한 약물 개발이 이루어지고 있는 추세이다(6).

[†]Corresponding author. E-mail: jslee@kosin.ac.kr
Phone: 82-51-990-2328, Fax: 82-51-403-3760

Bose(7)에 의해 여러 종류의 버섯류에서 분리한 물질의 항균성분과 다양한 생리활성에 관한 연구가 시작되었고, Chihara 등(8)에 의해 버섯의 항암작용, 생체기능조절 및 뇌졸중, 심장병 등과 같은 성인병에 대한 예방과 개선 효과가 연구된 바 있으며, 이후 버섯에 관한 연구가 다방면에서 수행되었다(9,10). 북반구 온대 이북에 널리 분포하는 것으로 알려진 말굽버섯(*Fomes fomentarius*)은 구멍장이버섯과 (*Polyporaceae*) 말굽버섯속(*Fomes*)에 속하는 버섯으로 활엽수의 고목 또는 생목(生木)에 발생하여 여러 해 동안 자란다. 것은 반원형에서 종(鐘) 모양 또는 말굽 모양으로 표면은 회색으로 두꺼우며, 단단한 껍질로 덮여 있고, 회황갈색이나 흑갈색 물결무늬 또는 가로로 심한 흠줄이 나 있다. 민간에서는 항종양, 항그람양성균, 항산화, 해열, 이뇨 및 항당뇨 등의 효능이 알려져 있으나(11), 체계적인 연구는 미흡한 실정이다. 이에 본 연구에서는 말굽버섯의 항당뇨 효과 규명의 일환으로 streptozotocin으로 당뇨를 유발한 실험동물에 말굽버섯 추출물을 투여하여 혈당, 지질대사 및 면역세포에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

시료의 추출

본 실험에 사용한 말굽버섯은 영진무역(주)에서 제공 받았다. 말굽버섯 1 kg을 환류 하에서 3회 걸쳐 각각 메탄올과 물로 추출하였다. 추출물을 여과하여 진공농축기에서 증발시킨 후 동결건조하여 고체상의 말굽버섯 메탄을 추출물 46.2 g과 물 추출물 56.6 g을 얻었다.

당뇨유발 및 실험동물 계획

실험동물은 (주)대한 바이오 링크로부터 분양 받아 일정한 조건(온도 $22\pm1^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm3\%$, 명암 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 적응시킨 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(평균체중 $200\pm10\text{ g}$)를 사용하였다. 실험식이는 AIN-76(12)의 식이조성에 준하여 제조하여 사용하였다. Streptozotocin(STZ) 50 mg/kg을 0.01 M citrate buffer(pH 4.5)에 용해하여 꼬리정맥에 주사하여 당뇨를 유도하였다. 1주일 경과 후 꼬리정맥에서 혈액을 채혈하였고, 혈당이 300 mg/dL 이상인 것을 당뇨 유발로 간주하여 실험대상으로 하였다. 예비 실험 결과에 준하여 본 연구에서는 그룹 당 7마리씩 나누어 Table 1과 같이 사육하였다. 대조군(Control)은 생리식염수를 1일 1회 2주간 경구투여하고, 당뇨군(DM)은 당뇨 유발 후 생리식염수를 1일 1회 2주간 투여하였다. 말굽버섯 추출물 투여군은 당뇨 유발 후 말굽버섯 추출물을 1일 1회 2주간 경구 투여하였다. 이때 말굽버섯 추출물 투여군은 말굽버섯 물 추출물 200 mg/kg body weight 투여군(DM-FW 200)과 말굽버섯 메탄을 추출물 200 mg/kg body weight 투여군(DM-FM 200)으로 나누어 사육하였다.

Table 1. Experimental design (mg/kg body weight)

| Group ¹⁾ | Dose | Streptozotocin |
|---------------------|------|----------------|
| Control | - | - |
| DM | - | 50 |
| DM-FW 200 | 200 | 50 |
| DM-FM 200 | 200 | 50 |

¹⁾DM: Streptozotocin treatment.

DM-FW 200: Water extract of *Fomes fomentarius* injection after streptozotocin treatment.

DM-FM 200: Methanol extract of *Fomes fomentarius* injection after streptozotocin treatment.

시료 채취 및 효소원의 제조

실험동물은 처치 전 12시간동안 절식시켰고, CO₂ gas로 가볍게 마취시킨 후, 복부 정중선을 따라 개복하고 복부 대동맥에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하고 혈액의 일부는 EDTA tube에 넣어 전혈을 얻고, 나머지 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 원심분리기로 $700\times g$ 에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리시켜 즉시 사용하였다. 간장은 생리식염수로 관류시켜서 조직내 혈액을 제거하고 적출하여 생리식염수로 씻고 여지로 조직에 남아있는 혈액 및 기타 이물질을 제거하였다. 간조직 g 당 4배양의 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 냉장고에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄액은 $600\times g$ 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거하고 다시 $10,000\times g$ 에서 20분간 원심분리하여 그 침전물에 동량의 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 용액을 가하고 혈탁시켜 mitochondria 분획으로 하였다. 상정액을 다시 $105,000\times g$ 에서 1시간동안 초원심분리하여 얻은 상정액을 cytosol 분획으로 하였다. Mitochondria 분획에서는 catalase 활성을 측정하였고, cytosol 분획에서는 glutathione peroxidase와 superoxide dismutase의 활성을 측정하였다. 이상의 모든 조작을 따로 규정이 없는 한 4°C 에서 행하였고, 효소원은 사용 전까지 -70°C 에서 보관하였다.

혈액 중의 성분 및 활성 측정

혈당은 Lifescan One Touch Test(Lifescan, USA)로 측정하였다. 혈청 albumin 함량은 Hitachi 7600-020/7170용 kit(아산제약), total bilirubin 함량은 Hitachi 7600-020/7170 용 kit(Eiken사), creatinine 함량은 Hitachi 7600-020/7170 용 kit(Daiichi사) 및 blood urea nitrogen(BUN) 함량은 Hitachi 7600-020/7170 용 kit(Eiken사)를 사용하여 automatic analyzer(Hitachi 7600-020, Hitachi Co., Japan)로 측정하였다. 혈청의 중성지방과 총 콜레스테롤 함량은 표준 효소법에 의한 kit(아산제약)를 사용하여 측정하였다. 간조직 중의 지질은 Folch 등의 방법(13)에 준하여 추출한 후 혈청 지질농도 측정과 동일한 방법으로 실시하였다. Superoxide dismutase (SOD) 활성을 Marklund과 Marklund의 방법(14)에 준하여 0.2 M potassium phosphate buffer(20 μM cytochrome C,

100 μM EDTA 함유 pH 8.6) 1.0 mL에 효소액 200 μL 를 가하여 ice bath상에서 20분간 방치하였다. Test에는 alkaline dimethyl sulfoxide(DMSO) 용액 0.5 mL, blank에는 non-alkaline DMSO 용액 0.5 mL를 각각 가하였다. 37°C에서 30분간 반응시키고 파장 550 nm에서 감소되는 cytochrome C의 흡광도를 측정하였다. Catalase 활성은 Aebi의 방법(15)에 준하여 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 중에 기질인 10 mM H_2O_2 의 환원되는 정도를 파장 240 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 분자흡광계수 0.041 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 을 이용하여 활성도를 산정하였으며, 효소활성의 단위는 1분당 1 mg protein이 분해하는 hydrogen peroxide의 양을 μmole 로 표시하였다. Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성은 Paglia와 Valentine의 방법(16)에 준하여 hydrogen peroxide 및 glutathione이 함유된 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.2) 중에 효소액을 가하여 37°C에서 파장 340 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 분자흡광계수 6.22 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 을 이용하여 활성도를 산정하였으며, 효소활성 단위는 1분당 1 mg protein이 분해하는 NADPH의 양을 nmole로 표시하였다. 혈청의 보체 C3의 측정은 Latex 응집반응을 응용하여 면역화학 분석 장치를 이용한 광학적 측정법으로 시행되었다. 항 C3의 항체를 polyethylen latex 입자에 감작시켜 제조된 latex 시약과 검체를 cell내에서 혼합 반응시키면 latex 입자에 감작시킨 항 C3 항체와 검체중의 C3가 반응하여 latex 응집반응이 일어난다. 이상의 응집반응을 nephelometry 분석장치(LX-2200, Aloka Co., Japan)를 이용하여 파장 660 nm에서 탁도(산란광강도) 변화량을 측정하였다. 단클론 항체(monoclonal antibody)를 이용하여 면역세포의 분획을 측정하였다. Rat whole blood에 total T cell의 antibody는 MOUSE ANTI RAT CD3:FITC, helper T cell의 antibody는 MOUSE ANTI RAT CD4:RPE, suppressor T cell의 antibody는 MOUSE ANTI RAT CD8:RPE, B cell의 antibody는 MOUSE ANTI RAT CD45RA:RPE을 사용하였고, control은 Mouse IgG 1 R-PE/Cy5(PE)와 Mouse IgM을 혼합하였다. 암소에서 incubation 시킨 후 opto-lysing solution을 첨가하여 다시 암소에서 incubation 하였다. Phosphate buffer saline을 첨가하고 원심분리하여 상층을 제거하고 다시 phosphate buffer saline 혼합 후 재원심분리하여 상층을 제거하고 다시 phosphate buffer saline을 혼합하여 flow cytometer(COULTER EPICS XL, COULTER사 제품, USA)를 이용하여 측정한 후 백분율로 나타내었다. 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법(17)에 준하여 bovine serum albumin(Sigma)을 표준품으로 하여 측정하였다.

통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성은 5% 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

결과 및 고찰

혈당 함량 변화

말굽버섯 추출물이 당뇨 유발 흰쥐의 혈당 함량 변화에 미치는 영향은 Fig. 1과 같다. DM군의 혈당 함량은 $847.4 \pm 33.18 \text{ mg/dL}$ 로 대조군 $191.0 \pm 27.22 \text{ mg/dL}$ 에 비해 유의적인 증가를 보였다. DM-FW 200군과 DM-FM 200군은 각각 $518 \pm 48.23 \text{ mg/dL}$, $442.8 \pm 26.86 \text{ mg/dL}$ 로 대조군 수준에는 미치지 못하였으나 DM군과 비교하여 현저한 감소를 보였다. 당뇨를 유발하기 위하여 사용한 STZ는 체장 β -cell에서 절대적인 인슐린 부족을 유발하기보다는 초기단계에서 포도당에 대한 신속한 인슐린 분비반응을 손상시켜 고혈당을 유발시키는 것으로 알려져 있는데(18), 이는 STZ 투여로 체내에 생성된 nitric acid가 superoxide anion과 반응하여 peroxinitrite가 생성되었기 때문이다(19). 본 실험의 결과 말굽버섯 추출물의 급여가 STZ로 손상된 체장 β -cell의 인슐린 반응 가능성을 회복시켜 혈당 증가를 억제시키는 것으로 사료된다.

혈청 중 albumin과 total bilirubin의 함량

혈청 중 albumin과 total bilirubin의 함량에 미치는 영향을 Table 2에 나타내었다. 혈청 중의 albumin 함량의 경우 DM군은 대조군에 비하여 유의적으로 감소되었으며, 말굽버섯 추출물 투여로 대조군 수준에는 미치지 못하였으나 DM군에 비하여 유의적인 증가를 보였다. 혈청 중의 albumin 함량은 당뇨 신증후군의 임상인자로 단백 이화작용의 증가를 확인하는 요소로 알려져 있다(20). 본 실험의 결과로 볼 때 당뇨가 유발된 흰쥐의 인슐린 함량의 저하로 인하여 당신생을 위해 단백이화를 촉진시켜 albumin의 신장배설을 증가시킴으로써 혈청 중의 albumin 함량이 감소되었으나, 말굽버섯 추출물의 급여로 단백질 이화작용이 감소되어 조

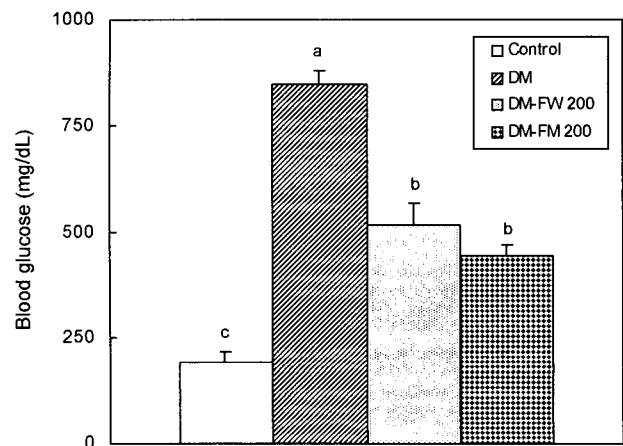


Fig. 1. Effect of *Fomes fomentarius* on the blood glucose level (mean \pm SD) in STZ-induced diabetic rats. The means sharing a common letter are not significantly different ($p < 0.05$) between groups.

Table 2. Effect of *Fomes fomentarius* on the serum albumin and total bilirubin in STZ-induced diabetic rats (mg/dL)

| Group ¹⁾ | Albumin | Total bilirubin |
|---------------------|----------------------------|------------------------|
| Control | 4.08±0.08 ^{2)a3)} | 0.18±0.08 ^c |
| DM | 3.02±0.29 ^c | 3.10±2.88 ^a |
| DM-FW 200 | 3.32±0.26 ^b | 1.38±1.02 ^b |
| DM-FM 200 | 3.48±0.13 ^b | 0.40±0.17 ^c |

¹⁾Groups are the same as Table 1.²⁾Values are mean±SD of seven rats from each group.³⁾Data followed by different superscripts are significantly different by Duncan's new multiple range test ($p<0.05$).

직보호에 기여하는 것으로 여겨진다.

혈청 중 total bilirubin 함량은 DM군이 대조군에 비해 유의적으로 증가되었는데, 이것은 Shou 등(21)과 비슷한 결과를 보였다. DM-FW 200군과 DM-FM 200군은 DM군과 비교하여 현저한 감소를 보였고, 특히 DM-FM 200군은 대조군 수준으로 감소되었다. 혈청 total bilirubin 함량은 간질환(간염, 간경변, 간암), 담도계 질환, 용혈성 질환 및 체질성 황달 등의 증상에서 증가하는 것으로 알려져 있으며(22), 말굽버섯 메탄을 추출물의 투여로 STZ 유도 당뇨 흰쥐에 발생되는 산화적 스트레스로 인한 간손상을 억제시키는 것으로 사료된다.

혈청 중 creatinine과 blood urea nitrogen(BUN)의 함량

혈청 중 creatinine과 BUN 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과(Table 3), DM군의 creatinine의 함량은 대조군과 비교하여 증가하는 경향은 보였으나 통계적 유의성은 없었다. 이는 당뇨가 유발된 흰쥐의 혈청 중 creatinine의 함량이 증가한다고 보고한 Yun 등(23)과 Kwack 등(24)의 결과와는 다르게 나타났다. 말굽버섯 추출물 투여군의 경우 DM군에 비해 creatinine의 함량이 감소하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 혈청 중 BUN 함량은 대조군에 비하여 DM군에서 현저히 증가되었고, DM-FW 200군 및 DM-FM 200군은 대조군 수준에는 미치지 못하였으나 DM군에 비해 유의적 감소를 보였다. 혈중 creatinine과 BUN은 신장 질환과 관계가 대단히 커서 신장기능의 지표로 중요시 되고, creatinine은 근육단백의 최종 대사산물로서 근육의 수축에

Table 3. Effect of *Fomes fomentarius* on the serum creatinine and blood urea nitrogen (BUN) in STZ-induced diabetic rats (mg/dL)

| Group ¹⁾ | Creatinine | BUN |
|---------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Control | 0.42±0.05 ^{2)NS3)} | 22.6±1.52 ^{d4)} |
| DM | 0.50±0.07 | 61.6±6.50 ^a |
| DM-FW 200 | 0.50±0.00 | 51.0±5.34 ^b |
| DM-FM 200 | 0.48±0.08 | 45.6±3.78 ^c |

¹⁾Groups are the same as Table 1.²⁾Values are mean±SD of seven rats from each group.³⁾NS: Not significantly different at 5% level.⁴⁾Data followed by different superscripts are significantly different by Duncan's new multiple range test ($p<0.05$).

너지로 creatine phosphate에서 생성된 creatine이 탈수되어 생긴 것으로 외인성 또는 신장 이외의 영향을 받지 않고 신사구체로 여과되어 재흡수 과정 없이 신세뇨관에서 대부분 소변으로 배설된다. 그러므로 creatinine은 사구체 여과율 측정 물질로 사용되고, 요독증, 만성신장염, 당뇨병 및 갑상선 기능 항진증 등에서 혈청 중의 농도가 증가하는데 알려져 있다. BUN은 아미노산의 탈 아미노반응으로 생성된 암모니아로 주로 간의 요소회로를 거쳐 생성되는데 단백 이화작용이 항진될 때, 즉 간경변, 장관출혈, 당뇨병성 acidosis 및 당뇨병성 신증, 탈수, 급만성 신장염 등과 같이 조직단백의 붕괴가 발생할 때 과잉으로 생성되거나 중증 심부전으로 신장 혈류량이 감소되거나 신부전으로 신장 배설기능 장애가 일어날 때 증가하는 것으로 알려져 있다(25). 본 실험의 결과로 볼 때 말굽버섯 추출물의 투여는 당대사 장애를 회복시켜 단백 이화작용을 감소시키고, 당뇨합병증인 acidosis를 완화 시킬 수 있을 것으로 사료된다.

혈청 및 간의 지방함량

말굽버섯 추출물이 혈청 및 간의 지방함량에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 혈청과 간의 총콜레스테롤 함량과 중성지방 함량은 대조군에 비하여 DM군에서 유의적인 증가를 보였으나, 말굽버섯 추출물 투여로 뚜렷한 감소를 나타내었다. HDL-콜레스테롤 함량은 DM군에서 현저한 감소를 보였으나, 말굽버섯 추출물 투여군에서 유의한 증가가 나타났다. 당뇨가 잘 조절되지 않은 상태에서는 간에서 very low density lipoprotein(VLDL)의 생성이 증가되어 혈중 VLDL

Table 4. Effect of *Fomes fomentarius* on the serum and liver lipid content in STZ-induced diabetic rats (mg/dL)

| Group ¹⁾ | Serum | | | Liver | |
|---------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| | TC ²⁾ | HDL-C | TG | TC | TG |
| Control | 101.6±9.34 ^{3)b4)} | 82.1±5.31 ^a | 111.0±33.4 ^b | 3.92±0.27 ^c | 24.8±2.65 ^c |
| DM | 132.2±22.38 ^a | 41.3±5.27 ^c | 201.0±16.0 ^a | 6.94±0.41 ^a | 46.7±3.52 ^a |
| DM-FW 200 | 106.3±8.28 ^b | 65.7±6.35 ^b | 115.0±13.2 ^b | 4.81±0.31 ^b | 28.9±3.17 ^b |
| DM-FM 200 | 108.9±9.34 ^b | 67.9±5.81 ^b | 121.0±15.1 ^b | 5.06±0.39 ^b | 29.2±3.22 ^b |

¹⁾Groups are the same as Table 1.²⁾TC: Total cholesterol, HDL-C: HDL-cholesterol, TG: Triglyceride.³⁾Values are mean±SD of seven rats from each group.⁴⁾Data followed by different superscripts are significantly different by Duncan's new multiple range test ($p<0.05$).

과 low density lipoprotein(LDL)의 농도를 증가시켜 콜레스테롤 함량이 증가된다(26)고 하는데, 본 실험의 결과 말굽버섯의 추출물이 혈청과 간의 콜레스테롤 함량을 낮추는데 효과가 있는 것으로 보인다. O'Meara 등(27)은 고혈당일 때 혈청의 중성지방이 증가되었다고 보고하면서, 당뇨 발생 시 혈청의 중성지방의 함량이 증가된 것은 간의 리파아제 활성이 저하되고, 당대사 이상으로 acetyl-CoA 축적으로 지방합성이 증가하기 때문으로 설명하였다. 또한 당뇨성 고지혈증은 정상인보다 혈중 지방산이 중성지방으로 전환되는 속도에 의한 것으로 알려져 있다(28,29). 말굽버섯 추출물의 투여는 혈청 중의 중성지방의 함량을 감소시킴으로서 당뇨 합병증인 고지혈증 개선에 기여하는 것으로 생각된다.

간조직 중 항산화효소 활성

Table 5는 간조직 중 항산화효소인 superoxide dismutase (SOD), catalase 및 glutathione peroxidase(GSH-Px)의 활성에 미치는 영향을 나타내었다. SOD, catalase 및 GSH-Px의 활성은 DM군이 대조군에 비하여 유의적인 감소를 보였다. 이는 STZ 유발 당뇨 흰쥐의 SOD, catalase 및 GSH-Px의 효소 활성이 감소한다는 L'Abbe와 Trick(30) 및 Matkovics 등(31)의 연구 결과와 일치하였다. 이러한 현상은 당뇨유발 초기에는 superoxide radical을 제거하기 위해 그 활성이 증가하지만 시간이 길어지면 세포의 항상성 능력을 초과하게 되고 그 결과 지질과산화가 촉진되어 세포 소기관들의 파산화적 손상이 가속화됨으로써 효소활성이 저하된 것으로 보고 있다(32). 말굽버섯 추출물 투여군의 catalase의 활성은 DM군에 비하여 증가하는 영향을 보였으나 통계적 유의성은 관찰되지 않았다. GSH-Px의 활성은 DM군에서 감소하였으나 DM-FW 200군과 DM-FM 200군은 DM군과 비교하여 유의한 증가를 보였다. 생체에는 oxidation stress에 의해 생성된 free radical이나 peroxide의 독작용을 저지하는 free radical scavenging system이 존재하고 있어(33) 여러 가지 손상으로부터 생체를 보호할 수 있다. 그러나 어떠한 원인에 의해 free radical generating system과 scavenging system 사이의 불균형이 초래되어질 때에는 조직의 손상, 발암, 염증, 성인병 및 노화 등과 같이 여러 가지 독작용을 유발한다.

Table 5. Effect of *Fomes fomentarius* on the hepatic superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in STZ-induced diabetic rats

| Group ¹⁾ | SOD | | Catalase | | GSH-Px | |
|---------------------|--------------------------------|--|--|--|-------------------------------------|--|
| | Unit ²⁾ /mg protein | | Decreased H ₂ O ₂ nmole/mg protein/min | | Oxidized NADPH nmole/mg protein/min | |
| Control | 7.79±0.75 ^{3)(a4)} | | 35.76±5.01 ^a | | 3.03±0.46 ^a | |
| DM | 5.06±0.94 ^b | | 13.96±2.14 ^b | | 1.27±0.46 ^c | |
| DM-FW 200 | 5.67±1.16 ^b | | 14.88±7.40 ^b | | 2.65±0.60 ^{ab} | |
| DM-FM 200 | 5.47±0.47 ^b | | 17.60±2.15 ^b | | 2.14±0.52 ^b | |

¹⁾Groups are the same as Table 1.

²⁾One unit superoxide dismutase activity was defined as the which inhibited the reduce of alkaline DMSO-mediated cytochrome C by 50%.

³⁾Values are mean±SD of seven rats from each group.

⁴⁾Data followed by different superscripts are significantly different by Duncan's new multiple range test ($p<0.05$).

(34). Free radical scavenging systeme 중 SOD는 생체이물질로 인하여 생성된 superoxide anion을 H₂O₂로 전환시키는 효소로 생체 내 해독과정에 관여하는 효소중 하나이다. Catalase는 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생기는 H₂O₂를 H₂O와 O₂로 분해하여 무독화시키는 radical scavenging enzyme(35)이다. GSH-Px는 cytosol과 mitochondria 내에 존재하는 효소로서 지질과산화와 H₂O₂가 일으키는 산화적 손상에 방어하는 일차적인 역할을 수행한다. 또한 GSH-Px는 catalase와는 달리 세포내에서 H₂O₂뿐만 아니라 지질과산화의 분해를 촉매하여 손상된 세포막 보호에 중요한 역할을 한다(36). 본 실험 결과로 볼 때 STZ 투여로 인한 조직의 과산화적 손상을 말굽버섯 추출물 투여로 GSH-Px의 활성을 증가시켜 H₂O₂와 지질과산화를 억제함으로서 조직손상을 완화시키는 것으로 사료된다.

보체 C3의 함량

혈청 보체 C3의 함량은 Fig. 2에서와 같이 대조군 8.2±0.45 μg/mL에 비하여 DM군 4.0±0.71 μg/mL로 유의한 감

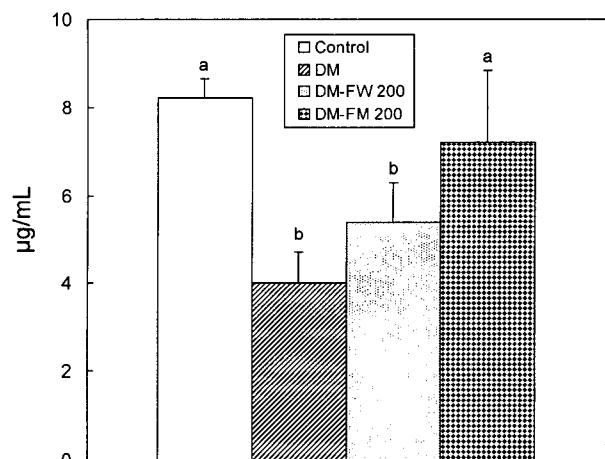


Fig. 2. Effect of *Fomes fomentarius* on the serum complement component C3 (mean±SD) in STZ-induced diabetic rats.

The means sharing a common letter are not significantly different ($p<0.05$) between groups.

소를 보였고, DM-FM 200군은 $7.2 \pm 1.64 \mu\text{g}/\text{mL}$ 로 대조군 수준으로 회복되었다. 보체계(complement system)는 약 20여 가지 구성 단백으로 이루어진 일련의 효소반응계로 염증을 유도하며 숙주의 방어기전에 중요한 역할을 한다. 보체 활성의 가장 중요한 과정은 C3 convertase에 의한 C3b의 형성이다. 축적된 C3b가 다른 보체성분과 결합하여 membrane attack complex(MAC)를 이루거나 세포표면의 보체 수용체와 결합하여 생물학적 기능을 발휘하게 된다. 보체 활성의 생체 내 역할은 병원균에 보체계의 활성 산물을 부착시켜 탐식구에 의한 탐식을 촉진하거나 병원균 세포막에 MAC를 형성하여 병원균을 직접 파괴하고 anaphylatoxin을 생성하여 지역적 염증반응을 유도하며 항원-항체 복합체의 결정체 형성을 방해하고 혈중에서 제거하여 조직 내 침착을 억제한다. 또한 면역반응을 보여야 하는 항원을 C3b 및 그 유도체로 표지하여 체액성 A면역계 세포에 전달함으로써 특이면역반응을 유도하며 골수에서 self reactive B cell 제거에 기여하여 자가면역 발생을 방지하여 면역반응에서 중요한 역할을 한다. 만성 간질환, 간경변, 급성 중증간염, 막성 증식성 사구체신염, 급성 사구체신염, 지방이영양증(lipodystrophy) 등과 같은 질병 발생시 C3의 감소를 보이는 것으로 알려져 있다(25). 본 실험에서 STZ 투여로 인한 C3의 감소는 당뇨로 인한 신장 및 간의 이상을 의심할 수 있는데 DM 군에서 신장질환의 이상 징후를 나타내는 BUN의 증가와 간장의 이상 징후인 total bilirubin 증가와 관련된다고 여겨진다. STZ에 의한 당뇨 발생으로 생체기능이 저하되는 것을 말굽버섯 추출물을 투여함으로서 간과 신장의 기능을 회복하는데 기여하는 것으로 사료된다.

B cell과 T cell 분포

B cell과 T cell의 분포에 미치는 영향을 관찰한 결과는 Table 6과 같다. B cell과 T cell 모두 대조군에 비하여 DM 군에서 유의한 감소를 보였고, 말굽버섯 추출물 투여군으로 대조군 수준에는 미치지 못하였으나 DM 군에 비해 유의하게 증가하였다. 인체에서 면역기능을 담당하는 세포는 T cell과 B cell 이외에도 대식구 자연 살해 세포 등 다양한 것들이 있으나 T cell과 B cell은 유전자의 재조합에 의하여 clonal distribution을 보이는 수용체를 가지고 각종 병원체에 대해

Table 6. Effect of *Fomes fomentarius* on the whole blood B cell and T cell in STZ-induced diabetic rats (%)

| Group ¹⁾ | B cell | T cell |
|---------------------|--------------------------|--------------------|
| Control | $39.98 \pm 4.83^{2)a3)}$ | 47.56 ± 6.74^a |
| DM | 25.28 ± 2.97^c | 35.40 ± 4.15^c |
| DM-FW 200 | 29.38 ± 3.58^b | 41.12 ± 5.00^b |
| DM-FM 200 | 30.42 ± 4.94^b | 42.60 ± 6.94^b |

¹⁾Groups are the same as Table 1.

²⁾Values are mean \pm SD of seven rats from each group.

³⁾Data followed by different superscripts are significantly different by Duncan's new multiple range test ($p < 0.05$).

특이적으로 대처하는 점에서 면역계에서 가장 큰 몫을 하는 세포들이다(37). 체액성 면역 반응을 나타내는 항체 생성에 관여하는 B-cell은 조혈 간세포로부터 유래되어 항원 또는 사이토카인 등의 자극에 의한 휴지기 단계로부터 활성, 증식 및 분화의 복잡한 과정을 거친 후 최종 분화단계인 혈장 세포가 되어서 항체를 분비하는 세포이다(38). T cell은 흥선에서 유래하는 림프구로 T cell의 수와 비율은 열량과 단백질 섭취수준이 매우 낮을 경우 모두 감소하고 이러한 변화는 영양적 치료로 빠르게 전환될 수 있어서 T cell은 영양상태 판정의 중요한 지표로 알려져 있다(39). T cell의 현저한 감소는 흥선 저형성이나 중증 복합면역부전증, 면역억제제 투여나 방사선 조사 시에 감소하고 악성종양이나 중증감염증에서 나타난다(24). 그리고 당뇨병의 합병증으로 나타나는 만성 심부전증 환자들에서 정상인에 비하여 면역체계에 이상이 초래되어 면역기능이 현저하게 저하된다. 특히 세포성 면역장애로 감염성 질환이 동반되고 악성종양의 발생빈도가 증가하며 특이 항체반응이 감소한다(40,41). 본 실험 결과로 보아 당뇨로 인한 대사 이상으로 산화적 스트레스로 인한 면역의 기능이 저하되었으나 말굽버섯 추출물의 긍정적 B cell과 T cell을 증가시켜 면역기능 회복에 도움을 주는 것으로 여겨진다.

Helper T cell과 suppressor T cell 분포

Helper T cell과 suppressor T cell 분포에 미치는 영향을 관찰한 결과를 Table 7에 나타내었다. Helper T cell의 분포는 DM 군에서 유의하게 감소하였고, 말굽버섯 추출물 투여로 현저히 회복되었다. Suppressor T cell 분포는 DM 군에서 유의하게 감소되었으나, DM-FW 200군과 DM-FM 200군에서는 대조군 수준으로 회복되었다. Helper T cell과 suppressor T cell은 T cell의 subset로 서로 정반대의 기능을 가지고 있다. Helper T cell은 항원을 인식하고 T cell을 활성화하여 다양한 사이토카인들을 분비시키고 세포성 면역반응을 매개하는 역할을 담당하고, helper T cell에 의해 분비된 사이토카인은 B cell과 상호작용하여 항체 형성을 유도한다(42). Suppressor T cell 활성화는 바이러스에 감염된 세포와 암세포를 분해하고 이러한 반응이 과잉으로 진행되지 않

Table 7. Effect of *Fomes fomentarius* on the whole blood helper T cell and suppressor T cell in STZ-induced diabetic rats (%)

| Group ¹⁾ | Helper T cell | Suppressor T cell |
|---------------------|--------------------------|--------------------|
| Control | $27.18 \pm 3.85^{2)a3)}$ | 10.44 ± 1.41^a |
| DM | 21.98 ± 2.55^c | 5.02 ± 0.28^b |
| DM-FW 200 | 24.04 ± 2.93^b | 12.10 ± 3.17^a |
| DM-FM 200 | 26.24 ± 4.26^{ab} | 12.30 ± 2.01^a |

¹⁾Groups are the same as Table 1.

²⁾Values are mean \pm SD of seven rats from each group.

³⁾Data followed by different superscripts are significantly different by Duncan's new multiple range test ($p < 0.05$).

도록 세포성 면역반응을 억제하는 역할을 한다(43). 일반적으로 안정 상태에서 suppressor T cell이 증가하는 경우에는 면역기능이 저하되는 것으로 알려져 있다(44). 그러나 Hong 과 Ann(45)은 장기간 체중감량 시에 suppressor T cell이 유의적으로 감소한다고 보고하였고, Tanaka 등(46)은 지질 성분의 증가 시 면역기능이 감소되어 helper T cell과 suppressor T cell이 감소한다고 보고한 바 있다. STZ의 투여로 인한 당뇨 유발로 혈중 지질성분 증가와 만성적 스트레스로 인해 helper T cell과 suppressor T cell이 감소되었으나, 말굽버섯 추출물의 투여로 면역 기능이 활성화될 수 있는 것으로 사료된다.

요 약

말굽버섯(*Fomes fomentarius*)이 당뇨에 미치는 영향을 연구할 목적으로 실험동물에 STZ를 투여하여 당뇨를 유발시킨 후 말굽버섯 물추출물과 메탄올 추출물을 2주간 투여하여 혈당, 지질함량 및 면역에 미치는 영향을 검토한 결과는 다음과 같다. 혈당은 당뇨로 인해 증가하였으나 말굽버섯 추출물 투여군에서 유의적으로 감소를 보였다. 혈청과 간의 총콜레스테롤과 중성지방 함량은 말굽버섯 추출물 굽여로 DM군에 비하여 현저한 감소를 나타내었다. HDL-콜레스테롤 함량과 GSH-Px의 활성을 말굽버섯 추출물 굽여 시에는 DM군과 비교하여 유의한 증가가 나타났다. 혈청 보체 C3의 함량은 대조군에 비하여 DM군에서 유의한 감소를 보였고, DM-FM 200군에서 대조군 수준으로 회복이 관찰되었다. B cell과 T cell은 DM군에서 유의한 감소를 보였고, 말굽버섯 추출물 투여로 유의적으로 증가되었다. Helper T cell과 suppressor T cell의 분포는 DM군에서 유의하게 감소되었으나, 말굽버섯 추출물 투여로 유의한 증가를 나타내었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 말굽버섯의 물 추출물과 메탄올 추출물은 혈당조절 기능, 지질대사 개선 및 면역작용을 활성화시킴으로서 STZ의 투여로 인한 당뇨의 증상을 완화시키는 것으로 사료된다.

문 헌

- Korea Ministry of Health and Welfare. 2004. Annual report on statistics of health and welfare. Seoul, Korea. p 2.
- Korea National Statistical Office. 2003. Annual report on the cause of death statistics. Seoul, Korea. p 4-8.
- Kim HY. 1992. Nutrition state and immunity ability. *Kor J Nutr* 25: 312-320.
- Lee JC. 1995. *Therapy of diabetes mellitus*. Shinil Books Company, Seoul. p 75-136.
- Choi YG, Lee TH. 1995. *Diabetes mellitus and hyperlipidemia*. Eui-Hak Printing Company, Seoul. p 111-134.
- Laybutt DR, Kaneto H, Hasenkamp W, Grey SJ, Jonas JC, Sgroi DC, Groff A, Ferran C, Bonner-Weir S, Sharma A, Weir GC. 2002. Increased expression of antioxidant and antiapoptotic genes in islets that may contribute to beta-

- cell survival during chronic hyperglycemia. *Diabetes* 51: 413-423.
- Bose SR. 1955. Campestrin, the antibiotic of *Psalliota campestris*. *Nature* 175: 468.
- Chihara G, Maeda Y, Hamura T, Sasaki T, Fukuoka F. 1969. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes*. *Nature* 17: 222-228.
- Bano Z, Rajarathnam S. 1988. Pleurotus mushroom. Part II. Chemical composition, nutritional value, postharvest physiology, preservation, and role as human food. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 27: 87-158.
- Chihara G, Hamuro T, Maeda Y, Ara Y, Fukuoka F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing (an edible mushroom). *Cancer Res* 30: 2776-2781.
- Park YH, Lee HD. 1999. *Coloured Korea medical mushrooms*. Kyohaksa, Seoul. p 484.
- American Institute of Nutrition. 1977. Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Aebi H. 1974. Catalase. In *Method of enzymatic analysis*. Vergmeyer MU, ed. Academic Press, New York. Vol 2, p 673-698.
- Pagila ED, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169.
- Lowry OH, Rodebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Bruce DG, Chisholm DJ, Storlien LH, Kraegen EW. 1988. Physiological importance of deficiency in early prandial insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 37: 736-744.
- Matkovics B, Kotorman M, Varga IS, Hi DQ, Varga C. 1988. Oxidative stress in experimental diabetes induced by streptozotocin. *Acta Physiol Hung* 85: 29-38.
- Mansour HA, Newairy AA, Yousef MI, Sheweita SA. 2002. Biochemical study on the effect of some Egyptian herbs in alloxan induced diabetic rat. *Toxicol* 170: 221-228.
- Shou Q, Pawel MK, Liming Y, Toshisuke M, Munroe I, Susumu I, Alvin IG, Michael SW, Nader GA. 2004. Heme oxygenase-1 prevents superoxide anion-associated endothelial cell sloughing in diabetic rats. *Biochem Biophys Res Commun* 315: 509-516.
- Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SJ. 1984. *The laboratory rat*. Academic Press, New York. Vol 2, p 123-124.
- Yun YG, Kang JS, Seo DG. 1991. An experimental study on the effect streptozotocin upon the kidney in rats. *J Hangyang Med Coll* 11: 155-173.
- Kwack KH, Kim SH, Song HJ. 1993. The effects of yuk-mijihwangtang and discoreae radix on the change of blood glucose and serum in diabetic rats induced by alloxan. *Kyunghee Med* 8: 388-398.
- Kui NY, Oh HK. 2000. *Clinical pathology file*. 3th ed. Eui-Hak Publishing & Printing Company, Seoul. p 95-98, 101-102, 1478-1482, 1546-1550.
- Kahn CR. 1985. The molecular mechanism of insulin action. *Ann Rev Med* 36: 249-251.

27. O'Meara NM, Devery RA, Owens D, Collins PB, Johnson AH, Tomkin GH. 1990. Cholesterol metabolism in alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes* 39: 626-633.
28. Villa A, Paya H, Hortiguela MD, Cortes D. 1986. Tormentic acid, a new hypoglycemic agent from poterium ancistroioes. *Planta Med* 52: 43-45.
29. Nikkila EA, Kekki M. 1973. Plasma triglyceride transport kinetics in diabetes mellitus. *Metabolism* 22: 1-22.
30. L'Abbe MR, Trick KD. 1994. Changes in pancreatic glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in the pre-diabetic diabetic-prone BB rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 207: 206-212.
31. Matkovics B, Varga SI, Szabo L, Witas H. 1982. The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes. *Horm Metab Res* 14: 77-79.
32. Rhee SJ, Yang JA, Kim SO, Cheo JA, Sine JY, Chai YM, Gha BK. 1997. Change of physiological antioxidative system according to the period in streptozotocin induced diabetic rats. *Hyosung J Sci Appl* 5: 117-125.
33. Halliwell B. 1978. Biochemical mechanism accounting for the toxic action of oxygen on living organisms. the key role of superoxide dismutase. *Cell Biol Int Rep* 2: 113-128.
34. Bolt HM, Laib RJ, Filser JG. 1982. Reactive metabolites and carcinogenicity of halogenated ethylenes. *Biochem Pharmacol* 31: 1-4.
35. Chow CK. 1979. Nutritional influence on cellular antioxidation defence systems. *Am J Clin Nutr* 32: 1066-1081.
36. Awasthi YC, Beutler E, Srivastava SK. 1975. Purification and properties of human erythrocyte glutathione perox-
- idase. *J Biol Chem* 250: 5144-5149.
37. Kim SJ. 1994. *Immunology*. Korea Medical Book Publisher, Seoul. p 24-32.
38. Howard M, Paul WE. 1983. Regulation B-cell growth and differentiation by soluble factor. *Ann Rev Immunol* 1: 307-333.
39. Marcos A. 1993. Evaluation of immunocompetence and nutritional status in patients with bulimia nervosa. *Am J Clin Nutr* 57: 65-69.
40. Merrill JP. 1968. The immunologic capability of uremic patients. *Cancer Res* 28: 1449-1451.
41. Quadracci LJ, Ringdén O, Krzymanski M. 1976. The effect of uremia and transplantation on lymphocyte subpopulations. *Kidney Int* 10: 179-184.
42. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. 2000. *Cellular and molecular immunology*. 4th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia. p 161-180.
43. Chandra S, Chandra RK. 1986. Nutrition, immune response, and outcome. *Prog Food Nutr Sci* 10: 1-65.
44. Lim BO, Yamada K, Nonaka M, Kuramoto Y, Hung P, Sugano M. 1997. Dietary fibers modulate indices of intestinal immune function in rats. *J Nutr* 127: 663-667.
45. Hong Y, Ann ES. 2001. Effects of iron supplement and gradual weight loss on blood components, immune cells, exercise capacity in wrestling athletes. *Kor J Phys Edu* 40: 777-789.
46. Tanaka S, Isoda F, Yamakaya T, Ishidara M, Sekihara H. 1998. T lymphopenia in genetically obese rats. *Clin Immunol Immunopathol* 86: 219-225.

(2005년 3월 14일 접수; 2005년 5월 17일 채택)