고지혈증 동물모델에서 표고버섯 추출물의 항고지혈증 효과

김계엽 · 정현우[1] · 김은정[2]*

동신대학교 물리치료학과, 1 : 동신대학교 한의과대학, 2 : 남부대학교 물리치료학과

Anti-hyperlipidemic Effect of Shiitake Mushroom Extract in Hyperlipidemic Rats Induced by Poloxamer-407

Gye Yeop Kim, Hun Woo Jung[1], Eun Jung Kim[2]*

Department of Physical Therapy, Dongshin University, 1 : Department of Korean Medicine, Dongshin University, 2 : Department of Physical Therapy, Nambu University

We attempted to determine the action target of Shiitake mushroom extract with a known anti-hyperlipidemic effect in poloxamer(P) 407-induced hyperlipidemia model. We investigated the anti-hyperlipidemic effects of the water extract from Shiitake mushroom on the progress of high fat diet for 4 weeks. Experimental rats were divided into 5 different experimental groups including an normal group (normal diet ; n=10), control group (hyperlipidemia; n=10), Experimental group I (hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (100 ㎎/㎏, PO), n=10), Experimental group II (hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (300 ㎎/㎏, PO), n=10), and Experimental group III (hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (500 ㎎/㎏, PO), n=10). It is to analysis changes in body weight, visceral fat weight, blood lipid profiles, HMG-CoA reductase and histological findings. Body weight and epididymal fat weight was not significantly change in experimental groups ($p>0.05$). The level of total cholesterol, TG, arthrogenic index, and HMG-CoA reductase were significantly lower in experimental groups than control group ($p<0.05$). These results suggested that the Shiitake mushroom extract administration may act by inhibitory the release of cholesterol related factors and HMG-CoA from the hepatocyte without liver and kidney cell damage in hyperlipidemia rats.

Key words : HMG-CoA reductase, Hyperlipidemia, Shiitake mushroom

서 론

고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)은 혈액 내 콜레스테롤의 농도가 특징적으로 높은 상태로써, 콜레스테롤의 혈중 농도가 높은 것이 질병은 아니지만 오래 지속될 경우 세포 및 기관 내 대사교란을 가져온다[1,2]. 콜레스테롤은 연령 증가, 고혈당, 혈압 상승, 흡연, 비만, 가족력 등의 인자들이 혈중 콜레스테롤의 수준을 높게 유지시키며[3], 이것들은 심장, 뇌졸중 등의 질병에서도 일반적인 위험 요인으로 작용한다. 미국 내 2005-2006년도 국민건강영양조사(national health and nutrition examination survey, NHANES)에서 20세 이상 미국인의 혈중 콜레스테롤이 199 ㎎/㎗로 나타났으며, 혈중 콜레스테롤 함량이 240 ㎎/㎗ 이상인 경우 성인의 16%가 심혈관질환이 발생될 위험이 2배 이상 증가한다고 하였다[4,5].

혈액 내 콜레스테롤 대사의 항상성을 유지하고, 중심적인 역할을 하는 기관은 간이며, 콜레스테롤 복합체는 주로 고밀도지단백(high density lipoprotein; HDL)과 저밀도지단백(low density lipoprotein; LDL)의 주요한 두 형태를 가진다. 고콜레스테롤은 이들 인자들 중 특히 LDL과 총콜레스테롤의 증가 또는 낮은 HDL 수치가 중요한 임상적 의미를 가지고 있으며, 혈당상승과 함께 질환과 관련되어진다[6,7]. 이러한 지질 대사 관련 인자들의 수치 증가 및 감소는 관상동맥질환(atherosclerosis)의 주요한 인자로서 콜레스테롤의 지속적 상승은 심혈관질환의 위험성 증가와 아주 밀접한 상관성이 있다[8,9].

콜레스테롤은 간에서 VLDL (very low density lipoprotein)

* 교신저자 : 김은정, 광주시 광산구 월계동 남부대학교 첨단관 3층 5303호
· E-mail : ddosuny@hanmail.net, · Tel : 062-970-0235
· 접수 : 2013/03/17 · 수정 : 2013/05/22 · 채택 : 2013/06/27

형태로 분비되어 lipoprotein lipase에 의해 중성지방이 분해된 후 LDL로 전환되어지며, VLDL 분비 감소는 혈중 콜레스테롤 농도의 감소를 가져온다[10,11]. 또한 세포수준에서 Acetyl CoA는 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA(HMG-CoA) reductase에 의해 콜레스테롤을 합성한다. 따라서 HMG-CoA reductase 활성도 억제가 콜레스테롤 억제 기전에 관여한다고 볼 수 있다[12,13].

고지혈증의 일반적 치료 지침은 저콜레스테롤 섭취, 체중 조절, 운동 등의 생활요법과 약물 치료로 분류하여 치료를 하고 있으며, 약물치료로는 고콜레스테롤 치료를 위해 HMG-CoA reductase 억제제인 statin 계열의 simvastatin, lovastatin, pravastatin, fluvastatin 등을 사용하고 있다[14]. 그러나, 이들 약제들은 콜레스테롤 수준을 낮추기에 효과가 아직 불충분하며, 고농도의 stain 투여는 간독성(hepatotoxicity)과 근육병증(myopathy)과 같은 위험을 증가시키기 때문에 이러한 점을 고려할 때 고콜레스테롤을 예방하고, 관리하기 위한 효율적인 방법들이 필요하다[15].

한의학에서 지질(lipid)은 정상 상황에서는 영양 물질이나, 지질 대사 항상성이 깨져 과다한 경우 담탁(痰濁)으로 질병이 된다. 고지혈증은 정허사실(正虛邪實)에 속하며, 주로 담음(痰飮), 어혈(瘀血), 한응(寒凝), 허로(虛勞), 기체(氣滯) 등의 범위로 알려져 있다[16]. 혈액과 혈관 내 쌓인 병리적 물질에 의해 발생하며, 질병의 인자로 정허(正虛)의 중점은 간비신(肝脾腎)에 있다[17]. 따라서, 이러한 간비신(肝脾腎)을 보호하고, 콜레스테롤을 낮출 수 있는 치료적 처방이 필요하다.

동의보감에 '마고(磨菰)'라 기록된 표고버섯(Shiitake mushroom)은 무독하며, 맛이 달고, 성질이 차다. 표고는 위기(胃氣)를 보호하는 작용이 있으며, 소화불량이나 식욕저하에 도움이 된다. 또한, 자양(滋養) 작용이 있어 몸이 피곤할 때에 복용하고, 두진(痘疹) 등의 치료에 예로부터 사용되어지던 약재이다[18]. 표고에 대한 최근 연구들을 살펴보면, 표고 균사체와 자실체의 단백다당류는 인체 내 인터페론 생성을 촉진하여, 면역력 증가 및 성인병 예방 효과 및 항암효능에 대해서도 보고되고 있다[19-21].

따라서, 본 연구에서는 표고 추출물 급여 시 고지혈증을 억제하고, 지질대사 조절과 관련한 생리학적 기능에 어떠한 영향을 미치는지 검증하고자, poloxamer-407을 이용한 고지혈증 동물 모델에서 표고버섯 급여 시 체중 및 지질대사에 관여하는 인자, HMG-CoA reductase 효소, 조직학적 변화에 대한 접근을 통해 지질대사 작용에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료의 추출

본 연구에 사용된 표고버섯(Shiitake mushroom)은 전남 장흥에서 재배된 버섯으로 동결건조한 후 32 mesh 입도로 분쇄하여 분석 시료로 사용하였다. 표고버섯 1 ㎏에 3,000 ㎖의 증류수를 첨가하여 homogenizer로 10분간 마쇄하여, 24시간 동안 상온에서 교반 침출시킨 후 1차 추출하였다. 이후 다시 증류수 3,000 ㎖를 첨가하여 1차 추출과 같은 방법으로 2차 추출 한 후 추출액을 모두 여과하였다. 이후 추출여액은 회전감압농축기로 50℃ 수욕상에서 감압 농축하여 동결건조한 후 본 실험에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

2. 실험동물

본 연구에서는 체중이 150-160 g의 Sprague-Dawley계 백서(5주령, 웅성, 다물사이언스) 50 마리를 사용하였으며, 1주일의 사육실 적응 기간을 거친 후 사용하였다. 사육실의 온도는 24~26℃로 하였으며, 습도는 50±10%를 유지하였다. 명암주기는 12시간으로 하여 사육실의 상태를 실험 기간 동안 일정하게 유지하였다. 안정을 취하는 동안 식이는 일반 고형 사료를 사용하였다. 본 실험에 사용된 실험동물은 실험동물 사육과 관리 지침에 준하여 취급하였으며, 동신대학교 실험동물 윤리위원회의 심의를 거쳐 실험하였다.

3. 고지혈증 유발

Poloxamer-407은 고지혈증(hyperlipidemia) 유도 약제로 사용되어지고 있다. Johnston & Palmer[22]의 방법에 따라 고지혈증 유도 전에 Poloxamer-407 (Sigma, St Lois, MO, USA) 300 ㎎/㎏을 생리식염수로 조제하여, 24시간 동안 4~5℃에 보관 후 복강내(intra-peritoneally) 주사하였다.

4. 실험군 분리 및 투여

본 실험을 위해 쥐를 무작위 추출하여 실험군을 나누었다. 정상 대조군은 물과 일반사료를 공급한 정상군(n=10), 대조군은 P-407을 이용하여 고지혈증을 유도한 대조군(n=10), 실험군 I은 표고버섯 추출물 100 ㎎/㎏ 투여군(n=10), 실험군 Ⅱ는 표고버섯 추출물 300 ㎎/㎏ 투여군(n=10), 실험군 Ⅲ은 표고버섯 추출물 500 ㎎/㎏ 투여군(n=10)으로 나누어 급여하였다. 실험 기간 4주 동안 주 5회 농도별 표고버섯 추출물을 투여한 후에 고지혈증을 유도하기 위하여, 실험종료 3일 전에 Poloxamer-407을 주사하였다.

5. 체중 및 고환주위조직 지방량 측정

총 4주간의 실험 기간 동안 체중 변화를 관찰하기 위해서 실험실시 전과 종료 후 전자저울(Dragon 204/S, Mettler Toledo, USA)을 사용하여 측정하였다. 또한 4주 실험 종료 후 복부를 절개 하여 부고환 주위 내장지방 조직들을 절취하여 지방의 무게를 측정하였다.

6. 혈액학적 분석 방법

실험에 사용된 흰쥐를 실험종료 후 경추탈골한 후에 약 3 ㎤의 혈액을 채취한 후 원심분리기(KM-70, Germany)로 10분간 3,500 rpm에서 원심분리하여, 혈청을 분리한 후 측정하였다. 총콜레스테롤(Total cholesterol)은 Cholesterol reagent (Bayer, USA)를 사용하였으며, 중성지방(triglyceride)은 Triglycerides reagent (Bayer, USA), 고밀도지단백(HDL-C)은 Direct HDL-Cholesterol(Bayer, USA) kit를 사용하였으며, 활성도는 생화학분

석기(RM 2060-18 Eltec. Co., Italy)를 사용하여 측정하였다. 이들 결과값을 토대로 하여, 동맥경화지수(athrogenic index)를 아래와 같은 공식에 의해 계산하였다.

$$\text{Athrogenic index} = \frac{\text{Total serum cholesterol}}{\text{Total serum HDL-C}}$$

AST (asparatate transaminase), ALT (alanine amino-transaminase) 활성도는 검사 분석 측정을 위한 시약(ELITECH, Division of SEPPIMSA. France)으로 생화학분석기(RM 2060-18, Eltec Co. Italy)를 사용하여 측정하였다.

7. 간의 HMG-CoA reductase 활성도 측정

실험 종료 후 실험군에서 간을 채취하여, 4℃에서 1 g당 buffer A (50 mM phosphate buffer, pH 7.0, 0.2M sucrose, 2 mM DTT) 2 mM을 첨가하였다. Sonicator를 이용하여 균질화하고, 15,000 ×g에서 10분간 원심분리하여 상청액을 100,000 ×g에서 60분간 다시 원심분리한 후 얻은 microsome pellet은 buffer A (50 mM EDTA)를 1 ㎖씩 첨가하여 세척하고, 다시 100,000 ×g에서 60분간 원심분리하였다. 다음, microsome pellet에 buffer B (pH 7.0, 50 mM phosphate buffer, 0.1 M sucrose, 2 mM DTT, 50 mM KCl, 30 mM EDTA)를 3 ㎖, 첨가하여 균질화한 후 반응시켰다. 이후 100,000 ×g에서 60분간 원심분리하여 상등액을 취한 후 cuvette에 0.5 mM phosphate buffer (pH 7.0)와 20 mM DTT 100 ㎕, 3 mM NADPH 100 ㎕를 첨가하였다. 37 ℃에서 10분간 pre-incubation을 실시한 후 3 mM HMG-CoA 100 ㎕를 가하여 효소 반응 시작과 동시에 340 ㎚에서 흡광도 변화를 확인하였다. HMG-CoA reductase의 활성은 다음 식에 의하여 계산하였다. HMG CoA reductase activity(%) = (Sample O.D./Blank O.D.) × 100

8. 조직 병리학적 관찰

간과 신장의 형태적 변화를 관찰하기 위하여 육안적으로 보이는 조직표면의 손상 및 크기의 변화 등을 관찰하였고, 조직 포매기를 사용하여 탈수와 청명의 과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하였다. 제작된 파라핀블록(paraffin block)은 미세절단기(Sakura 2040, Japan)를 이용하여 5 ㎛ 두께로 절단한 후에 hematoxylin과 eosin (H & E) 염색을 실시하여 슬라이드를 제작하였다. 광학현미경(Olympus Bx 50, Japan)을 이용하여 현미경에 장착된 CCD 카메라(Toshiba, Japan)로 촬영한 후 각 조직 세포의 변성정도, 형태 변화를 관찰하였다.

9. 통계처리

본 실험의 각 결과값은 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 연구의 통계학적 분석은 SPSS 18.0 ver.을 사용하였다. 다중비교검증을 통하여 통계를 실시하였고, Levene test를 통하여 분산동질성을 검증하였다. 혈액 내 지질 인자 및 간효소 수치는 등분산일 경우 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 사후검정(post hoc)은 Tukey's multiple range test를 실시하여 실험군 간의 유의성을 확인하였다. 각 실험군간 유의성 검증을 위해 유의수준은 α=0.05로 설정하였다.

결 과

1. 실험군의 체중 및 내장지방 무게 변화량

4주간 표고버섯 추출물을 농도별로 투여 후 체중과 내장지방 무게 변화를 관찰하였다. 실험군들의 체중은 실험 시작 시의 체중은 정상대조군에서 230.25±10.50 g, 실험대조군(고지혈증 유도군)에서 231.50±6.50 g, 실험군 I(표고버섯 추출물 100 ㎎/㎏ 투여군)은 229.80±9.80 g, 실험군 Ⅱ(표고버섯 추출물 300 ㎎/㎏ 투여군)는 230.74±10.55 g, 실험군 Ⅲ(표고버섯 추출물500 ㎎/㎏ 투여군)에서는 230.40±8.90 g으로 모두 비슷하였으며, 실험 종료 후의 체중은 정상대조군은 278.38±15.62 g, 실험대조군은 274.65±11.05 g, 실험군 I은 272.60±9.55 g, 실험군 Ⅱ는 272.02±6.48 g, 실험군 Ⅲ에서는 270.50±8.70 g으로 체중은 대조군에 비해 감소하였으나, 실험군 간 유의한 차이는 보이지 않았다(Table 1).

표고버섯 추출물의 농도별 투여에 따른 고환주위의 복부내장지방 무게를 비교한 결과는Table 1과 같다. 내장지방의 무게는 정상대조군은 3.25±0.45 g, 실험대조군은 3.08±0.68 g, 실험군 I은 3.02±0.50 g, 실험군 Ⅱ는 2.95±0.44 g, 실험군 Ⅲ은 2.95±0.65 g으로 내장지방 무게 역시 실험군간 유의한 차이는 보이지 않았다(Table 1).

Table 1. Effect of Shiitake mushroom extract administration on body weight and visceral fat weight in hyperlipidemic rats (g)

Groups \ Contents	Initial body weight	Final body weight	Visceral fat weight
Normal group	230.25±10.50	278.38±15.62	3.25±0.45
Control group	231.50±6.50	274.65±11.05	3.08±0.68
Experimental group Ⅰ	229.80±9.80	272.60±9.55	3.02±0.50
Experimental group Ⅱ	230.74±0.55	272.02±6.48	2.95±0.44
Experimental group Ⅲ	230.450±8.90	270.50±8.70	2.95±0.65

All data are expressed as mean±SD.

2. 혈중 지질관련 인자에 미치는 영향

고지혈증에서 표고버섯이 혈청 내 지질 관련 인자인 총콜레스테롤(TC), 중성지방(TG), 고밀도지단백(HDL)을 관찰한 결과 Table 2와 같다. 총콜레스테롤(total cholesterol)은 정상 대조군이 45.65±8.50 ㎎/㎗로, 실험대조군이 82.40±8.25 ㎎/㎗로 정상대조군에 비하여 실험대조군이 유의한 콜레스테롤 수치의 증가를 보였다($p<0.05$). 실험군 I은 68.30±5.20 ㎎/㎗, 실험군 Ⅱ는 60.84±6.30 ㎎/㎗, 실험군 Ⅲ은 52.60±4.68 ㎎/㎗로 표고버섯 추출물을 투여한 실험군들이 고지혈증을 유도한 대조군에 비해 유의성 있게 총콜레스테롤이 감소하였다($p<0.05$). 중성지방(triglycerides)은 정상대조군이 60.54±6.80 ㎎/㎗, 실험대조군이 84.42±7.54 ㎎/㎗로 정상대조군에 비하여 실험대조군에서 중성

지방 수치의 유의한 증가를 보였으며, 실험군 I이 76.50±6.80 ㎎/㎗, 실험군 Ⅱ는 69.30±4.86 ㎎/㎗, 실험군 Ⅲ은 65.82±5.92 ㎎/㎗로 중성지방 수치의 유의한 감소가 나타났다(p<0.05)(Table 2). 고밀도지단백(high density lipoprotein cholesterol)은 정상대조군이 36.50±4.60 ㎎/㎗로 나타났고, 실험대조군은 28.25±2.08 ㎎/㎗로 나타나 정상대조군에 비해서 실험대조군이 유의한 HDL 감소가 나타났다(p<0.05). 실험군 I은 30.20±4.22 ㎎/㎗로 감소하였으나, 유의한 차이가 나지 않았고, 실험군 Ⅱ는 34.38±6.94 ㎎/㎗, 실험군 Ⅲ은 38.70±4.50 ㎎/㎗로 나타나 실험대조군에 비하여 유의성 있는 HDL의 감소가 나타났다(p<0.05)(Table 2).

혈청 내 지질 관련 인자인 총콜레스테롤(TC), 고밀도지단백(HDL)의 결과 값을 토대로 하여, 고지혈증으로 유도될 수 있는 동맥경화지수(athrogenic index)를 계산하였다. 정상대조군에서는 0.25±0.06인 반면, 고지혈증을 유도한 대조군에서는 1.92±0.12로 증가하였다. 추출물을 투여한 경우 실험군 I 은 1.26±0.10, 실험군 Ⅱ는 0.77±0.14, 실험군 III은 0.36±0.02로 나타나 실험대조군에 비하여 표고버섯 추출물 투여한 실험군들에서 유의성 있는 동맥경화지수감소가 나타났다(p<0.05)(Table 2).

Table 2. Effect of Shiitake mushroom extract administration on the serum lipid level in hyperlipidemic rats (㎎/㎗)

Experimental group	Total cholesterol	Triglycerides	HDL cholesterol	Athrogenic index
Normal group	45.65±8.50	60.54±6.80	36.50±4.60	0.25±0.06
Control group	82.40±8.25[a]	84.42±7.54[a]	28.25±2.08[a]	1.92±0.12[a]
Experimental group Ⅰ	68.30±5.2[b]	76.50+6.80[b]	30.20±4.22	1.26±0.10[b]
Experimental group Ⅱ	60.84±6.3[b]	69.30±4.86[b]	34.38±6.94[b]	0.77±0.14[b]
Experimental group Ⅲ	52.60±468[b]	65.82±5.92[b]	38.70±4.50[b]	0.36±0.02[b]

All data are expressed as means±SD. Superscripts denote significant differences (p<.05) between each groups.

3. 간 효소에 미치는 영향

표고버섯 추출물 투여가 간 효소에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 혈액학적 검사를 통해 AST, ALT 및 HMG-CoA reductase 활성도를 관찰하였다. AST는 정상군이 96.2±8.4 IU/L에 비하여 대조군은 166.5±10.4 IU/L로 유의하게 증가되었으나, 실험군 I 은 132.4±8.5 IU/L, 실험군 Ⅱ는 123.5±4.9 IU/L, 실험군 Ⅲ은 99.4± 10.2 IU/L로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05). ALT는 정상군이 56.0±4.6 IU/L에 비하여 대조군은 74.2±6.8 IU/L로 유의하게 증가되었으며, 실험군 I은 65.0±9.0 IU/L, 실험군 Ⅱ는 62.8±9.6 IU/L, 실험군 Ⅲ은 60.5±7.2 IU/L로 대조군에 비해 표고버섯 추출물 투여한 실험군들에서 유의하게 감소하였다(P<0.05)(Table 3).

간의 HMG-CoA reductase의 활성도 변화를 관찰한 결과 정상군은 55.0±8.6%, 대조군은 95.4±12.0%로 정상대조군에 비하여 대조군에서 유의한 증가를 보였으며, 실험군 I은 75.8±15.6%, 실험군 Ⅱ는 65.5±14.0%, 실험군 Ⅲ은 59.2±8.2%로 대조군에 비해 HMG-CoA reductase 활성도가 유의하게 감소하였다(p<0.05)(Table 3).

Table 3. Effect of Shiitake mushroom extract administration on the liver enzyme in hyperlipidemic rats

Groups	Normal group	Control group	Experimental group Ⅰ	Experimental group Ⅱ	Experimental group Ⅲ
AST(IU/L)	96.2±8.4	166.5±10.4[a]	132.4±8.5[b]	123.5±4.9[b]	99.4±10.2[b]
ALT(IU/L)	56.0±4.6	74.2±6.8[a]	65.0±9.0[b]	62.8±9.6[b]	60.5+7.2[b]
HMG-CoA reductase activity (%)	55.0±8.6	95.4+12.0[a]	75.8±15.6[b]	65.5±14.0[b]	59.2±8.2[b]

All data are expressed as means±SD. Superscripts denote significant differences (p<.05) between each groups.

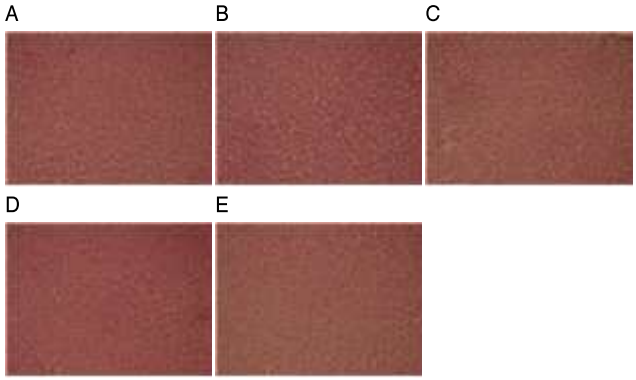

Fig. 1. Effect of Shiitake mushroom extract administration on the liver tissue in hyperlipidemic rats (H&E stain, × 200). A: Normal rats. B: Hyperlipidemic rats induced with poloxamer(P)-407. C: Hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (100 ㎎/㎏, PO)). D: Hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (300 ㎎/㎏, PO)). E: Hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (500 ㎎/㎏, PO))

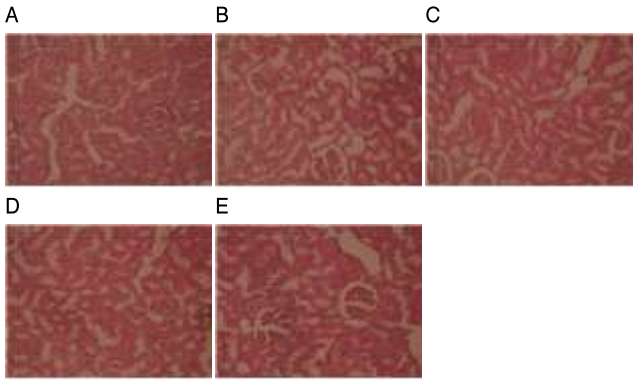

Fig. 2. Effect of Shiitake mushroom extract administration on the kidney tissue in hyperlipidemic rats (H&E stain, × 200). A: Normal rats. B: Hyperlipidemic rats induced with poloxamer(P)-407. C: Hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (100 ㎎/㎏, PO)). D: Hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (300 ㎎/㎏, PO)). E: Hyperlipidemic rats treated with Shiitake mushroom extract (500 ㎎/㎏, PO)).

4. 병리조직학적 검사

고지혈증 유도제인 Poloxamer-407은 간과 신장에 영향을 주기 때문에 간조직과 신장의사구체를 관찰하였는데, 4주간 표고버섯 추출물을 농도별로 투여한 후 간과 신장을 적출해 H&E 염색을 실시하여 관찰한 결과 실험대조군의 경우 정상군에 비해 간세포 사이에 지방질 축적과 세포질 위축 등의 소견이 관찰되었으며, 실험군 Ⅰ, 실험군 Ⅱ, 실험군 Ⅲ에서는 세포질 위축이나, 핵 응축, 지방질 소견이 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1). 또한 실험대조군의 경우 신장의 사구체 세뇨관세포 배열이 여러 부위

에 불규칙한 소견을 보였으며, 사구체 내 세포의 세포질도 위축 소견을 보였다. 실험군 Ⅰ, 실험군 Ⅱ, 실험군 Ⅲ의 경우, 세포 손상 정도가 실험대조군에 비하여 많이 감소함을 관찰 할 수 있었다(Fig. 2).

고 찰

고지혈증(hyperlipidemia)은 한의학에서 담음(痰飮)과 어혈(瘀血)이 관련되며, 혈액 내 낮은 HDL과 높은 LDL, TG 및 TC와 연관된다[23]. 이는 관상동맥 질환과 심혈관질병(cardiovascular diseases; CVD)에 밀접한 관련이 있는 위험 인자이다[24]. 미국 내 성인 인구 총 31%가 고지혈증(hyperlipidemia)을 가지고 있는 것으로 NHANES(1999-2008)에서 조사되었으며, 이러한 고지혈증에 영향을 주는 중성지방(TG) 수치는 성인의 경우 150 ㎎/㎗ 이상이면, 대사증후군이 2배 이상 증가하는 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 poloxamer-407 투여를 통한 고지혈증 동물 모델을 활용하여, 표고버섯 추출물 투여가 체중, 지질 관련 물질, 조직에 미치는 영향에 대해 조사하였다.

Poloxamer-407(P-407)을 쥐나 마우스에 투여 시 특징적으로 약물의 농도에 의존하여, 고콜레스테롤과 고지혈증을 유도하는 약물로, 특히 간의 lipoprotein lipase를 억제하여 혈중 TG 농도를 증가시키며, 간의 세포 내 지질대사 경로에 작용하여 콜레스테롤 합성을 유의하게 증가시켜, 고지혈증 연구 및 죽종형성(atherogenesis) 연구에 활용되고 있다[25].

본 연구결과에서 4주간 표고버섯 추출물 급여 시 실험군들에서 유의한 체중 감소 효과는 나타나지 않았다. 표고버섯은 분변으로 지방제거를 증가시키며, 수용성 섬유인 β-glucan을 다량 함유하고 있으며[26], 이는 장관 내 점성도를 증가시키고, 위에서 포만감을 유지시키거나 창자에서 지방 흡수를 감소시킨다[27]. 그러나, 일부 연구 보고에 의하면 체중 증가와 혈중 지질농도는 서로 상호 작용이 있어, 체중이 감소했을 때 총콜레스테롤, 중성지방, LDL 수치가 감소하며, 체중 증가 시 이들 수치가 증가한다고 하였으나[28], 본 연구결과에서는 실험군 간의 체중변화는 나타나지 않았다.

혈액 내 지질은 콜레스테롤, 중성지방, 인지질, 자유지방산(free fatty acid; FFA)으로 구성되어 있으며, 이는 지단백질의 형태로 혈관을 따라 흘러다니며, 지질 합성과 분해의 불균형으로 병태생리적인 문제를 일으키게 된다. 따라서 혈중 지질 농도를 적절히 유지하고, 초기에 고지혈증을 치료하도록 방제하는 것이 매우 중요하다[29-31]. 표고버섯의 여러 유효 물질 중 현재 eritadenine이 연구된바 있으며, 이는 표고버섯 분말에 약 0.36% 정도 함유되어 있다고 보고되고 있다[32]. Eritadenine은 간에서 생성되는 중성지방의 유리를 억제하고, 간세포 대사 시 간으로부터 phosphatidylcholine의 생성을 억제하여, VLDL과 HDL 형성에 영향을 준다[33]. 본 연구결과에서 표고버섯 추출물을 다양한 농도로 투여 시 혈중 지질 인자들을 관찰한 결과 표고버섯 추출물 농도 의존적으로 혈중 지질인자인 콜레스테롤과 중성지방의 수치가 효과적으로 감소하였으며, HDL은 증가함을 관찰하였다.

HMG-CoA reductase는 간에서 콜레스테롤 대사를 조절하는 효소로서 콜레스테롤 생합성 경로를 조절하는 인자이다. HMG-CoA reductase의 저해로 인한 간에서 콜레스테롤 합성 억제는 세포 내 콜레스테롤 농도를 감소시키고, 조직의 LDL 수용체 합성을 증가시켜 순환하는 LDL 입자가 조직 내로 유입되도록 유도한다[34]. 따라서 HMG-CoA reductase의 억제는 고지혈증뿐 아니라 동맥경화를 예방하고 치료하는데도 유용하며[35], lovastatin과 pravastatin은 HMG-CoA reductase의 억제를 통해 콜레스테롤 합성을 억제하는 약으로 많이 사용되고 있다[36]. 그러나 용량 대비 효율적이지 못하고, 부작용이 많아 현재 고지혈증을 억제하기 위해, 약용 식물 연구가 진행 중이다[30]. 본 연구에서 표고버섯 추출물 급여 후 고지혈증을 유도한 쥐의 간 내 HMG-CoA reductase의 활성도가 대조군에 비하여, 표고 급여군에서 유의하게 증가하였으며, 이는 표고가 이러한 간세포 내 지질 대사경로에 관여하여 효소를 억제함으로서 콜레스테롤 합성 기전에 관여할 것으로 사료된다.

간에 있는 AST, ALT 및 ALP 효소는 간 뿐 아니라 심장 등에서도 합성되며, 간이 손상시 혈중으로 유리되어, 혈중 농도가 증가하게 된다[37]. 이상지질혈증 및 이러한 효소 증가는 주로 간의 염증이나 간경화 등의 질환이 있을 때 동반되며, 간부전이나, 종양이 있을 때도 나타날 수 있다[38,39]. 본 연구결과 AST와 ALT를 조사한 결과 대조군에 비해, 실험군들에서는 유의한 감소를 보였다. 이는 표고버섯 추출물 급여 시 poloxamer-407에 의한 간과 신장의 조직 손상을 보호하는 것으로 사료되어 진다.

이상의 연구 결과를 볼 때 표고 추출물 투여는 대조군에 비하여 콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수를 유의하게 감소시켰으며, HDL은 증가하였고, 특히 간 내 HMG-CoA reductase의 활성도를 유의하게 감소하였다. 이는 표고가 간의 지질관련 대사 과정 중 콜레스테롤 합성에 관여하는 효소 활성 억제에 효과적으로 작용하여 나타난 결과라 볼 수 있으며, 연구 결과들을 종합하여 볼 때 표고가 혈중 지질 감소와 동맥경화 억제 및 조직 보호에 유효하다고 사료된다. HMG-CoA reductase 억제제의 경우 여러 부작용이 있어 다양한 측면에서 임상적 치료 접근이 필요하며, 표고의 콜레스테롤 수치 감소 및 간 효소 억제 효과는 추후 고지혈증 질환을 갖는 환자들에게 임상적인 측면에서 활용될 수 있을 것이며, 앞으로 더욱 심도깊은 연구가 필요할 것으로 생각되어진다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부, 한국산업기술진흥원, 호남광역경제권 선도산업지원단의 광역경제권 선도산업 육성사업으로 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

1. Liu, Z.L., Liu, J.P., Zhang, A.L., Wu, Q., Ruan, Y., Lewith, G., Visconte, D. Chinese herbal medicines for hyper-

cholesterolemia. Cochrane Database Syst Rev. 6(7):CD008305, 2011.
2. Ford, E.S., Giles, W.H., Dietz, W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. JAMA. 287(3):356-359, 2002.
3. Alexander, C.M., Landsman, P.B., Teutsch, SM, NHANES III, NCEP. NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES m participants age 50 years and older. Diabetes. 52(5):1210-1214, 2003.
4. Lloyd-Jones, D., Adams, R., Camethon, M., De, S.G., Ferguson, T.B., Flegal, K., Ford, E., Furie, K., Go, A., Greenlund, K., Haase, N., Hailpern, S., Ho, M., Howard, V.Kissela, B., Kittner, S., Lackland, D., Lisabeth,L., Marelli, A., McDermott, M., Meigs J., Mozaffarian, D., Nichol, G., O'Donnell, C., Roger, V., Rosamond, W., Sacco, R. Sorlie, P., Stafford,R., Steinberger, J., Thom, T., Wasserthiel-Smoller, S., Wong, N. Wylie-Rosett, J., Hong, Y. Heart disease and stroke statistics 2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke statistics Subcommittee. Circulation, 119(3):21-181, 2009.
5. National cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, Evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel Ⅲ). Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel Ⅲ) final report. Circulation. 106(25): 3143-3421, 2002.
6. Zhao, Y., Ye, D., Wang, J., Calpe-Berdiel, L., Azzis, S.B., Van Berkel, T.J., Van Eck, M. Stage-specific remodeling of atherosclerotic lesions upon cholesterol lowering in LDL receptor knockout mice. Am J Pathol. 179(3):1522-1532, 2011.
7. Hong, K.H., Jang, K.H., Lee, J.C. Kim, S.H. Kim, M.K., Lee, I.Y. Kim, S.M. Lim, Y.H., Kang, S.A. Bacterial p-glucan exhibits potent hypoglycemic activity via decreased of serum lipids and adiposity, and increase of UCP mRNA expression. J Microbiol Biotechnol. 15(4):823-830, 2005.
8. Catapano, A.L., Catapano, L. Global cardiovascular risk: the role of plasma lipids. High Blood Press Cardiovasc Prev. 12(3):125-133, 2005.
9. Deepa, P.R., Varalakshmi, P. Atheroprotective effect of exogenous heparin-derivative treatment on the aortic disturbances and lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic diet fed rats. Clinica Chimica Acta. 355(1-2):119-130, 2005.
10. Havel, R.J. The formation of LDL: mechanisms and regulation. J Lipid Res. 25(13):1570-1576, 1984.
11. Vega, G.L., Grundy, S.M. Mechanisms of primary hypercholesterolemia in humans. Am Heart J. 113(2):493-502, 1987.
12. Rodwell, V.W., Nordstrom, J.L., Mitschelen, J.J. Regulation of HMG CoA reductase. Adv Lipid Res. 14: 1-74, 1976.
13. Goedeke, L., Fernandez Hernando, C. Regulation of cholesterol homeostasis. Cell Mol Life Sci. 69(6):915-930, 2012.
14. Hopkins, P.N. Familial hypercholesterolemia-improving treatment and meeting guidelines. Int J Cardiol, 89(1):13-23, 2003.
15. Garg, A., Simha, V. Update on dyslipidemia. J Clin Endocrinol Metab, 92: 1581-1589, 2007.
16. 전국한의과대학심계 내과학교실. 심계내과학. 서울, 서원당, pp 67-81, 212, 2002.
17. 鄭遇悅, 安圭錫. 韓方臨床病理學. 서울, 永林社, p 545, 1998.
18. 『동의보감』탕액편 · 침구편 · 색인. 동의문헌연구실 편역, 서울, 법인문화사, 2005.
19. Okuno, K., Uno, K. Efficacy of orally administered Lentinula edodes mycelia extract for advanced gastrointestinal cancer patients undergoing cancer chemotherapy: a pilot study. Asian Pac J Cancer Prev. 12(7):1671-1674, 2011.
20. Zheng, R., Jie, S., Hanchuan, D., Moucheng, W. Characterization and immunomodulating activities of polysaccharide from Lentinus edodes. Int Immunopharmacol. 5(5):811-820, 2005.
21. Jung, B.G., Lee, J.A., Lee, B.J. Immunoprophylactic effects of shiitake mushroom (Lentinula edodes) against Bordetella bronchisepticain mice. J Microbiol. 50(6):1003-1008, 2012.
22. Johnston, T.P., Palmer, W.K. Mechanism of poloxamer 407-induced hyper triglyceridemia in the rat. Biochem Pharmacol. 46(6):1037-1042, 1993.
23. Subramanian, S., Chait, A. Hypertriglyceridemia secondary to obesity and diabetes. Biochim Biophys Acta. 1821(5):819-825, 2012.
24. Deepa, P.R., Varalakshmi, P. Atheroprotective effect of exogenous heparin-derivative treatment on the aortic disturbances and lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic diet fed rats. Clin Chim Acta. 355(1-2):119-130, 2005.
25. Palmer, W.K., Emeson, E.E., Johnston,T.P. The poloxamer 407-induced hyperlipidemic atherogenic animal model. Med Sci Sports Exerc. 29(11):1416-1421, 1997.
26. Bisen, P.S., Baghel, R.K., Sanodiya,B.S., Thakur, G.S.,

Prasad, G.B. Lentinus edodes: a macrofungus with pharmacological activities. Curr Med Chem. 17(22): 2419-2430, 2010.

27. Park, S.Y., Bae, I.Y., Lee, S., Lee, H.G. Physicochemical and hypocholesterolemic characterization of oxidized oat beta glucan. J Agric Food Chem. 57(2):439-443, 2009.
28. Agah Heris, M., Alipour, A., Janbozorgi, M., Hajihosseini, R., Shaghaghi, F., Golchin, N., Nouhi, S. Lipid profile improvement after four group psychological interventions in combination to nutritional and physical activity instructing among overweight and obese individuals. Iran J Public Health. 42(1):86-95, 2013.
29. Teng, C.M., Kuo, S.C., Ko, F.N., Lee, J.C., Lee, L.G., Chen, S.C., Huang, T.F. Antiplatelet actions of panaxynol and ginsenosides isolated from ginseng. Biochim Biophys Acta. 990: 315-320, 1989.
30. Joo, I.W., Ryu, J.H., Oh, H.J. The influence of Sam-Chil-Geun (Panax notoginseng) on the serum lipid levels and inflammations of rats with hyperlipidemia induced by poloxamer 407. Yonsei Med J. 51(4):504-510, 2010.
31. Ross, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 362: 801-809, 1993.
32. Enman, J., Rova, U., Berglund, K.A. Quantification of the bioactive compound eritadenine in selected strains of shiitake mushroom (Lentinus edodes). J Agric Food Chem. 55(4):1177-1180, 2007.
33. Shimada, Y., Morita, T., Sugiyama, K. Eritadenine-induced alterations of plasma lipoprotein lipid concentrations and phosphatidyl choline molecular species profile in rats fed cholesterol-free and cholesterol enriched diets. Biosci Biotechnol Biochem. 67(5):996-1006, 2003.
34. Kostner, G.M. Pharmacology of HMG-CoA reductase inhibitors (statins). Wien Med Wochenschr. 149(5-6): 120-124, 1999.
35. Bocan, T.M., Mueller, S.B., Brown, E.Q., Lee, P., Bocan, M.J., Rea, T., Pape, M.E. HMG CoA reductase and ACAT inhibitors act synergistically to lower plasmacholesterol and limit atherosclerotic lesion development in the cholesterol-fed rabbit. Atherosclerosis. 139(1):21-30, 1998.
36. Porter, J.A., Carter, B.L., Johnson,T.P., Palmer, W.K. Effects of pravastatin on plasma lipid concentrations in poloxamer 407 induced hyperlipidemic rats. Pharmacotherapy. 15(1):92-98, 1995.
37. Qu, L., Xin, H., Zheng, G., Su, Y., Ling, C. Hepato protective activity of the total saponins from actinidia valvata dunn root against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. Evid Based Complement Altemat Med. 216061, 2012.
38. Ma, X., Li, Z. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). Chin J Dig Dis. 7(1):7-11, 2006.
39. Zou, Y., Li, J., Lu, C., Wang, J., Ge, J., Huang, Y., Zhang, L., Wang, Y. High-fat emulsion induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sci. 79(11):1100-1107, 2006.