

IgE로 감작된 RBL-2H3 세포에서 버섯자원의 항알레르기 활성 탐색

이승은* · 노형준 · 최재훈 · 김금숙 · 이대영 · 김승유

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부

Study on the anti-allergy activity of mushrooms in IgE-sensitized RBL-2H3 cells

Seung-Eun Lee*, Hyung-Jun Noh, Jehun Choi, Geum-Sook Kim, Dae-Young Lee and Seung-Yu Kim

Department of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Eumsung 369-873, Korea

ABSTRACT: For evaluating the anti-allergy activity of mushrooms, forty two mushroom extracts were studied their inhibitory activities on the IgE-mediated degranulation in rat basophilic leukemia cell line (RBL-2H3 cell). Effects of mushroom extracts on the release of interleukin-4 (IL-4) and beta-hexosaminidase, and the cell viability of the IgE-sensitized were measured. From the analysis, five mushroom extracts such as the water extract from *Flammulina velutipes* (Curt.:Fr.) Sing showed the suppressive activities on IL-4 release as 20%. Eight extracts including the water extract of *Ganoserma lucidum* showed the suppressive activities on β -hexosaminidase release as 20%. Almost all of the extracts stimulated the proliferation of RBL-2H3 cell. The water extracts of *Flammulina velutipes* and *Phellinus linteus* were examined against the inhibitory activity in the production of IL-4 and β -hexosaminidase. Additionally, the extracts from *Ganoserma lucidum*, *Isaria japonica*, *Phellinus linteus* and *Pleurotus ostreatus* inhibited dose-dependently on β -hexosaminidase production. In conclusion, the result suggests that the mushrooms with the potent inhibitory efficacies on the degranulation of the mast cell would be candidate resources for the anti-allergy resources, and thus need to study for their utilization.

KEYWORDS: Allergy, Beta-hexosaminidase, Degranulation, IL-4, mast cell

서론

면역은 외래물질에 대해 나타내는 집합적이고 조화로운 생체의 반응을 말하며, 건강한 사람에게는 무해한 주변 환경의 일부 물질에 대해 일부 사람은 민감한 반응을 나

타내는 경우 알레르기 반응이라고 한다. 알레르기 반응은 면역글로블린 E (IgE)의 생성과 관련되며 감염성 병원체를 제거하기 위해 면역기전이 발생할 때 그 시작과 진행이 비정상적이며, 면역계에는 많은 피드백 경로가 있어 일단 병리학적인 면역반응이 시작되면 조절과 종료에 어렵고 만성적이고 진행성이 되는 경향이 있다. 또한, 알레르기 반응은 정상적인 항원에 대해 수 분 내에 시작되고 병리적 결과를 수반하는 즉시형 과민증과 좀 더 천천히 진행되어 염증성을 띠는 지연형 과민증이 있으며, 사람에서의 즉시형 과민반응질환에는 전신 아나필락시스, 기관지 천식, 알레르기 비염, 음식물 알레르기, 피부 알레르기 등이 있다 (Owen *et al.*, 2014; Abbas *et al.*, 2012).

한편, 통계청 자료에 의하면 충남지역에서 15세 이상 주민 600명을 대상으로 2012년부터 2013년까지 알레르기성 질환 유병률을 조사한 결과에서 아토피 피부염 (9.5%), 알레르기 비염 (7.0%), 천식 (1.5%) 및 기타 (1%) 등의 순으로 이들을 합하면 조사 대상의 19%가 알레르기 질환을 앓고 있다. 또한, 국민건강영양조사 결과를 살펴보면 만19세

J. Mushrooms 2014 December, 12(4):324-329
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2014.12.4.324>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author
 E-mail : herbin3@korea.kr
 Tel : +82-43-871-5586, Fax : +82-43-871-5589

Received November 10, 2014
 Revised December 9, 2014
 Accepted December 11, 2014

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Table 1. Mushroom extracts used for the study

Sample No.	Scientific name (버섯명)	Extracting solvent
M1	<i>Agaricus bisporus</i> (Lange) Imbach (양송이)	EtOH
M2	<i>Agaricus bisporus</i> (Lange) Imbach (양송이)	D.W
M3	<i>Flammulina velutipes</i> (Curt.:Fr.) Sing (팽이)	EtOH
M4	<i>Flammulina velutipes</i> (Curt.:Fr.) Sing (황금팽이)	EtOH
M5	<i>Flammulina velutipes</i> (Curt.:Fr.) Sing (팽이)	D.W
M6	<i>Flammulina velutipes</i> (Curt.:Fr.) Sing (황금팽이)	D.W
M7	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss.:Fr.) Karst. (녹각영지)	EtOH
M8	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss.:Fr.) Karst. (영지)	EtOH
M9	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss.:Fr.) Karst. (편각영지)	EtOH
M10	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss.:Fr.) Karst. (녹각영지)	D.W
M11	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss.:Fr.) Karst. (영지)	D.W
M12	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss.:Fr.) Karst. (편각영지)	D.W
M13	<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.:Fr.) S.F.Gray (알새)	EtOH
M14	<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.:Fr.) S.F.Gray (알새)	D.W
M15	<i>Hericium erinaceum</i> (Bull.:Fr.) Pers. (노루궁뎅이)	EtOH
M16	<i>Hericium erinaceum</i> (Bull.:Fr.) Pers. (노루궁뎅이)	D.W
M17	<i>Hypsizigus marmoreus</i> (Peck) Bigelow (느티만가닥)	EtOH
M18	<i>Hypsizigus marmoreus</i> (Peck) Bigelow (느티만가닥)	D.W
M19	<i>Inonotus obliquus</i> (차가)	EtOH
M20	<i>Inonotus obliquus</i> (차가)	D.W
M21	<i>Isaria japonica</i> Yasuda (눈꽃동충)	EtOH
M22	<i>Isaria japonica</i> Yasuda (눈꽃동충)	D.W
M23	<i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Sing. (표고)	EtOH
M24	<i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Sing. (표고, 참송이)	EtOH
M25	<i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Sing. (표고)	D.W
M26	<i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Sing. (표고, 참송이)	D.W
M27	<i>Phellinus linteus</i> (Berk.EtCurt.) Teng (상항)	EtOH
M28	<i>Phellinus linteus</i> (Berk.EtCurt.) Teng (상항)	D.W
M29	<i>Plenrotys eryngii</i> (새송이)	EtOH
M30	<i>Plenrotys eryngii</i> (새송이)	D.W
M31	<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paulet) Rolland var. <i>citrinopileatus</i> (Sing.) Ohira (노랑느타리)	EtOH
M32	<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paulet) Rolland var. <i>citrinopileatus</i> (Sing.) Ohira (노랑느타리)	D.W
M33	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.:Fr.) Kummer (느타리)	EtOH
M34	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.:Fr.) Kummer (느타리)	D.W
M35	<i>Pleurotus salmoneostramineus</i> L. Vass (분홍느타리)	EtOH
M36	<i>Pleurotus salmoneostramineus</i> L. Vass (분홍느타리)	D.W
M37	<i>Sparassis crispa</i> wulf.:Fr. (꽃송이)	EtOH

Table 1. Continued

Sample No.	Scientific name (버섯명)	Extracting solvent
M38	<i>Sparassis crispa</i> wulf.:Fr. (꽃송이)	D.W
M39	<i>Tricholoma giganteum</i> Massee (왕송이)	EtOH
M40	<i>Tricholoma giganteum</i> Massee (왕송이)	D.W
M41	<i>Umbilicaria esculenta</i> (석이)	EtOH
M42	<i>Umbilicaria esculenta</i> (석이)	D.W

이상 알레르기성 비염의 유병률이 2001년 2.7%에서 2012년 16.8%로 6배 이상 증가하였다. 이처럼 급증하는 알레르기 질환을 치료하기 위해 증상을 완화시키기 위해 항히스타민 및 스테로이드 등의 약물치료가 주로 사용되고 있으나 근본적인 치료가 어렵고 장기간 약물투여를 해야 하며 그에 따른 부작용 발생의 우려가 높아 이를 대체할 수 있는 천연자원 유래의 소재발굴이 필요하다.

버섯은 한반도에 5,000여종이 자생하는 것으로 추정되며 1,500여종이 보고되어 있고, 식용 가능한 버섯은 350여종, 독버섯은 90여종으로 알려져 있으며, 최근 들어 버섯의 기능성식품으로서 우수한 효능이 밝혀지고 있어 (Kim *et al.*, 2008) 버섯자원의 항알레르기 소재로의 활용 가능성을 검토하기 위한 탐색 연구가 필요하다.

이와 같은 취지에 따라 본 연구는 버섯추출물을 이용하여 *in vitro* 수준에서의 항알레르기 활성을 평가하고 유용한 후보 자원을 발굴하고자 수행하였다.

재료 및 방법

버섯추출물시료

양송이 등 버섯시료는 연천군 소재 농가 (청산버섯)에서 구입하여 에탄올 및 물로서 상온에서 추출 및 여과한 후 상온에서 감압농축기를 사용하여 용매를 제거하였다. 버섯시료의 목록 및 추출조건은 Table 1에 명시하였다.

세포주 및 배양

실험에 사용된 rat mast cell인 RBL-2H3 세포주는 미국 균주보존협회 (ATCC)에서 분양받았으며, 96 well culture plate에 4×10^4 cells/well을 분주한 후 15% fetal bovine serum (FBS), 1% glutamax 및 antibiotics가 보충된 MEM media와 함께 37°C, 5% CO₂ 공기조건에서 배양하였다.

세포독성실험

배양된 세포는 anti-DNP IgE로 처리한 후 100 ug/ml의 최종농도가 되도록 버섯 추출물 시료 및 음성대조군으로서 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 24시간 동안 처리하였다. 그 후 세포를 200 ug/ml의 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, USB, Cleveland,

Ohio, USA)로 처리한 후 37°C, 5% CO₂ 조건에서 3시간 동안 배양하였다. 남은 MTT 시약을 제거하고 100 ul의 DMSO를 가해 색소를 녹인 후 DMSO에 함유된 색소의 흡광도를 plate reader (Biotek, Synergy HT, Winooski, VT, USA)를 사용하여 550 nm에서 측정하였다.

β-Hexosaminidase 분비량 분석

배양된 RBL-2H3 세포의 배지를 Tyrode's buffer로 교체해주고 20 ng/ml monoclonal anti-DNP IgE (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 가해 37°C, 5% CO₂ 조건에서 18시간동안 배양하였다. 버섯추출물을 처리하고 1시간 후 62.5 ng/ml DNP-HSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 가하여 30분 동안 배양한 후 ice bath에서 탈과립을 중단시켰다. β-Hexosaminidase 분비량을 측정하기 위해 세포 상등액 25 ul를 96 well black plate에 분주하고 0.1% Triton X-100을 가해 10분간 세포를 분해하고 새로운 plate로 lysate 25 ul를 가한 후 1 mM의 p-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 가해 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. 마지막으로 0.1 M Glycine-carbonate buffer (pH 10.0)를 가해 반응을 중단시키고 반응액의 형광도를 405 nm에서 측정하였다. 이상의 검색실험에서 저해율이 높은 시료에 대해서는 2, 10, 50 ug/ml 농도에서 β-hexosaminidase 저해활성을 추가로 분석함으로써 처리농도에 대한 버섯추출물의 β-hexosaminidase 저해능을 검정하였다.

IL-4 생성량 분석

Interleukin-4 (IL-4)의 생성정도는 IL-4 rat ELISA kit (Abcam, UK)의 매뉴얼에 따라 아래와 같이 분석하였다. 탈과립반응으로 얻어진 대조 (blank), 각 표준물질 및 시료의 상등액 100 ul씩을 well에 가하고 50 ul의 1× biotinylated anti-IL-4를 가하였다. cover를 해서 실온에서 4시간동안 배양한 후 plate를 세척하였으며 100 ul의 1× streptavidin-HRP solution을 가한 후 상온에서 30분 동안 배양하고 다시 세척하였다. 각 well에 chromogen TMB substrate solution을 100 ul 가한 후 실온, 암소에서 20 분간 배양하였다. 각 wells에 100 ul의 stop reagent를 가한 후 즉시 450 nm의 분광광도계를 사용하여 흡광도를 측정하였고, 표준곡선에 대비하여 결과를 산출하였다.

통계분석

실험결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며 통계적 유의성은 Student's t-test에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

버섯추출물의 cell proliferation에 대한 영향

버섯의 *in vitro* 항알레르기 활성을 검색하기에 앞서 버섯

Table 2. Effect of mushroom extracts on the proliferation, β-hexosaminidase release, and IL-4 production in RBL-2H3 cell

Sample No.	Cell viability (% of control) ^w	Inhibition (%) ^x	
		β-hexosaminidase release	IL-4 release
DMSO ^z	100±0.0		
M1	102.7±9.0	7.9±14.8	-
M2	125.6±6.0 ^{***y}	10.2±2.6	8.7±3.2 ^{**}
M3	107.3±6.0	6.9±4.4	3.4±0.0
M4	115.0±3.8	12.2±4.6	-
M5	106.8±8.6	20.7±5.1	30.7±2.4
M6	103.2±9.7	12.2±5.6	16.0±0.8
M7	111.2±4.0	7.7±2.8	2.1±0.0 [*]
M8	81.1±3.6	16.6±5.2	4.7±1.8
M9	116.2±5.5 ^{**}	17.4±7.0	0.2±0.8
M10	95.8±7.3	17.0±3.0	12.6±2.4
M11	106.4±10.4	29.9±1.9	-
M12	124.6±11.7 [*]	28.4±6.4	12.0±3.5
M13	110.8±3.5 [*]	19.1±9.2	-
M14	132.3±12.9 ^{**}	19.9±8.0	14.5±1.8
M15	91.0±4.3	17.4±10.8	21.1±6.4
M16	118.4±7.2 [*]	15.1±6.8	5.2±2.6
M17	98.9±10.9	2.2±5.1	11.7±0.9
M18	106.6±4.0	12.6±3.3	19.4±0.8
M19	116.2±4.1 ^{**}	13.9±8.8	10.9±1.6
M20	125.5±4.1 ^{***}	18.8±8.7	17.6±2.6
M21	98.9±3.8 ^{***}	8.4±12.8	2.1±3.6 [*]
M22	122.7±3.6 ^{***}	23.6±6.8	11.5±4.0
M23	91.6±6.4	10.4±8.5	-
M24	96.7±8.0	12.8±17.0	-
M25	113.2±12.4	10.7±0.6	8.1±0.8 ^{**}
M26	128.4±7.7 ^{***}	23.0±9.6	14.3±3.2
M27	104.8±10.8	18.7±12.5	-
M28	110.8±8.1	27.5±4.2 [*]	22.8±2.4
M29	106.4±4.8	9.6±9.4	0.2±4.0 [*]
M30	124.8±12.3 [*]	15.7±6.9	12.0±3.5
M31	119.7±7.2 ^{**}	11.4±8.6	10.9±1.6
M32	120.4±4.4 ^{***}	15.1±6.4	17.0±5.3
M33	104.0±10.0	4.3±10.2	-
M34	105.8±5.6	23.6±1.3	18.9±1.6
M35	111.2±5.1	3.0±1.2	4.0±0.9
M36	98.7±10.7	16.3±9.0	21.1±1.6
M37	116.7±5.8	4.3±10.5	-
M38	104.4±9.1	19.4±11.5	24.5±1.6

Table 2. Continued

Sample No.	Cell viability (% of control) ^w	Inhibition (%) ^x	
		β -hexosaminidase release	IL-4 release
M39	104.8±0.4	17.5±14.8	5.8±0.0 ^z
M40	126.0±11.4 ^{**}	18.2±4.5	5.8±0.8 ^z
M41	114.2±6.5 ^{**}	13.8±18.2	-
M42	114.0±9.0	20.2 ± 1.0	16.0±0.8 [*]

^zDimethyl sulfoxide (DMSO) was used as negative control.
^ySymbol indicates significance of the data; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.1$; ***, $p < 0.001$.
^{wx}Final concentration of sample for the evaluation of cellular cytotoxicity was 100 ug/ml; those for β -hexosaminidase and IL-4 assay were 10 ug/ml, respectively.

추출물 42개를 100 ug/ml의 농도로, anti-DNP IgE가 처리된 랫드비만세포 (RBL-2H3 cell)에 처리하여 세포에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과 Table 2에 나타난 바와 같이 34개의 버섯추출물이 대조실험에 비하여 100%이상의 높은 세포증식율을 나타내었다. 특히, 잎새버섯 물추출물은 132.3±12.9%로 가장 높은 세포증식율을 보였으며 이외에도 표고버섯 (참송이, 물추출물), 왕송이버섯 (물추출물), 양송이버섯 (물추출물), 차가버섯 (물추출물), 새송이버섯 (물추출물), 편각영지버섯 (물추출물), 눈꽃동충하초 (물추출물) 및 노랑느타리버섯 (물추출물)은 120% 이상의 높은 세포증식율을 나타내었다.

한편, 느티만가다버섯 (에탄올추출물), 눈꽃동충하초버섯 (에탄올추출물), 분홍느타리버섯 (물추출물), 표고버섯 (참송이, 에탄올추출물), 녹각영지 (물추출물), 표고버섯 (에탄올추출물), 노루궁뎅이버섯 (에탄올추출물), 영지버섯 (에탄올추출물) 등 8개의 추출물은 81.1±3.6~98.9~10.9%의 다소 낮은 세포증식율을 보였다. 이러한 결과를 보면 실험에 사용된 버섯 중에서 낮은 세포증식율을 나타낸 것은 물추출물보다는 에탄올추출물인 경우가 좀 더 많은 것을 알 수 있었으므로 건강기능식품 등 버섯을 산업화 소재로 활용 시 이러한 추출용매의 특성을 고려할 필요가 있다고 사료되었다.

버섯추출물의 β -hexosaminidase 분비에 대한 영향

알레르기는 고친화성의 IgE receptor의 교차결합에 의해 즉각적인 mast cell의 탈과립 (degranulation)으로 진행되는 항원에 특이적인 immunoglobulinE (IgE)가 결합하여 매개되어 획득되는 면역계의 과민반응이다 (Chan et al., 2013). 한편, mast cell은 알레르기 반응의 발달동안 중요한 역할을 하는 데 Fc epsilon RI receptor를 거쳐서 항원과 IgE에 의해 활성화되면 mast cell이 히스타민 그리고 즉각적인 과민반응을 시작 또는 진행시키는 여러 매개물질들을 방출하게 되며, 면역반응을 조절하는

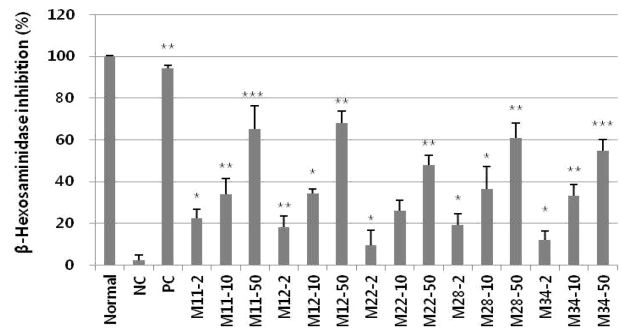


Fig. 1. Inhibition effect of the water extracts from *Ganoderma lucidum* (M11 & M12), *Isaria japonica* (M22), *Phellinus linteus* (M28) and *Pleurotus ostreatus* (M34) on beta-hexosaminidase release in the degranulation derived-RBL 2H3 cell. Normal, antigen not treated; NC, antigen treated and mushroom extract not treated negative control; PC, antigen treated and positive drug (R406) treated positive control.

cytokine을 분비하게 되므로 mast cell의 활성을 저해하는 물질은 알레르기성 질환을 위한 치료소재로 사용될 수 있다. Beta-hexosaminidase는 mast cell이 Fc epsilon RI receptor에 의존하는 경로 혹은 의존하지 않는 경로에 의해 자극되어질 때 mast cell degranulation의 marker이며, 후보소재의 항알레르기 효과를 측정하는 데 항원-항체반응에서의 degranulation 동안 분비되는 beta-hexosaminidase levels 측정이 이루어지고 있다 (Santos et al., 2013; Tanaka et al., 2012). 한편, 식품알레르기반응도 대개 IgE에 매개되어 있는 즉시형 과민반응 혹은 type I반응으로 알려져 있다 (Kumar et al., 2012).

탈과립을 유도한 랫드비만세포에서 버섯추출물의 in vitro 항알레르기 활성을 탐색하였으며 그 실험결과는 다음과 같다. 실험시료로 사용된 42개의 버섯 추출물 중에서 10 ug/ml의 농도에서 20% 이상의 비교적 우수한 β -hexosaminidase 저해활성을 나타낸 시료는 영지 (물추출물), 편각영지 (물추출물), 상황 (물추출물), 눈꽃동충 (물추출물), 느타리 (물추출물), 표고 (참송이, 물추출물), 팽이 (물추출물), 석이 (물추출물) 등 8개의 시료로서 각각 29.9±1.9%, 28.4±6.4%, 27.5±4.2%, 23.6±6.8%, 23.6±1.3%, 23.0±9.6%, 20.7±5.1% 및 20.2±1.0%의 값을 나타내었다.

그리고, 이들 버섯추출물 중 높은 저해율을 보인 상위 5개의 버섯추출물에 대해서는 2, 10, 50 ug/ml 농도에서 β -hexosaminidase 저해활성을 추가로 분석한 결과, 실험된 5개의 버섯추출물들은 모두 농도-의존적이고도 유의하게 β -hexosaminidase 방출을 저해함을 확인할 수 있었다 (Fig. 1). Fig 1.에 나타난 버섯 추출물들의 활성을 IC₅₀ 값으로 계산하였을 때, 편각영지버섯 (물추출물)이 18.67 ug/ml로 가장 우수하였으며, 영지버섯 (물추출물)이 20.16

ug/ml, 상황버섯 (물추출물)이 23.17 ug/ml 그리고 느타리 버섯 (물추출물)이 34.04 ug/ml의 순으로 우수하였다.

버섯추출물의 IL-4 사이토카인의 생성에 대한 영향

알레르기 반응 발생에 관여하는 cytokine에는 IL-4, IL-5, IL-6 및 tumor necrosis factor (TNF) 등의 cytokines이 있으며, 알레르기 반응을 제한하는 cytokine으로는 gamma-interferon (gamma-IFN) 등의 다른 cytokine들이 있다 (Jaffe & Metcalfe, 1993). Cytokine중 IL-4는 Th2 림프구와 mast cell에서 분비되는 multi-functional cytokine의 하나로서 알레르기 반응과 관련하여 B cell에 의한 IgE의 유도를 통해 알레르기 반응을 시작하고 IgE 반응을 유지하는 데 결정적인 역할을 한다. 즉, 알레르기반응의 주요한 매개자인 IgE의 생성에서 IL-4가 주요한 조절기능을 가진다 (Lee, 1998; Kimber & Dearman, 1992; Kohler & Rieber, 1993). 한편, 아토피 환자에서는 mast cell과 basophils의 탈과립 (degranulation)이 촉진되는 데, 이는 아토피 환자에서는 IgE의 생성을 저해하는 gamma-IFN보다는 IgE의 생성을 일으키는 IL-4가 현저하게 생산되는 것과 일반인보다는 아토피 환자의 mastocytes, basophils의 막에 IgE receptor가 나타나는 데서 원인을 찾을 수 있다 (Burgo *et al.*, 1993).

본 연구에서는 버섯추출물이 가지는 항알레르기 활성의 평가를 위해 mast cell에서의 IL-4 생성에 대해 버섯추출물이 미치는 영향을 살펴보기 위해 42개의 버섯추출물을 탈과립을 유도한 랫드비만세포에 처리하고 IL-4의 생성에 미치는 영향을 검색하였다. 그 결과, 10 ug/ml의 처리농도에서 32개의 시료가 IL-4 방출을 저해하는 것으로 확인되었고, 나머지 10개 시료들은 효과가 확인되지 않았다. 또한, 32개의 IL-4 방출에 대한 저해효과가 있는 것으로 확인된 버섯추출물 중에서 20%이상의 비교적 높은 저해효과를 나타낸 시료에는 팽이버섯 (물추출물), 꽃송이버섯 (물추출물), 상황버섯 (물추출물), 노루궁뎅이버섯 (에탄올추출물), 분홍느타리버섯 (물추출물) 등으로서 각각 30.7 ± 2.4%, 24.5 ± 1.6%, 22.8 ± 2.4%, 21.1 ± 6.4% 및 21.1 ± 1.6%의 저해효과를 확인할 수 있었다.

이처럼 버섯추출물이 탈과립을 유도한 RBL-2H3 세포에서 β-hexosaminidase 방출, IL-4 생성 및 세포증식에 대해 미치는 영향을 살펴본 결과 대부분의 버섯추출물이 RBL-2H3 세포의 증식을 높여주는 것을 알 수 있었다. 또한, beta-hexosaminidase 방출에 높은 저해활성을 보인 버섯 추출물들과 IL-4 생성에 대하여 저해활성이 우수한 버섯추출물과는 대체적으로 상이한 것을 알 수 있다. 이들 단일 실험항목에서 우수한 효과를 나타낸 버섯시료들에 대한 추가연구를 통해 항알레르기 효과를 보유한 보다 유용한 자원의 발굴이 필요할 것으로 사료된다.

또한, 실험된 항목들에 걸쳐 고르게 우수한 결과를 나타낸 시료에 팽이버섯의 물추출물과 상황버섯의 물추출물이

있었는데, 이들 두 버섯시료는 beta-hexosaminidase 방출 저해능 (20.7 ± 5.1% 및 27.5 ± 4.2%)과 IL-4 생성 저해능 (30.7 ± 2.4% 및 22.8 ± 2.4%)이 모두 비교적 높은 저해활성을 보이면서 세포증식을 (106.8 ± 8.6% 및 110.8 ± 8.1%)도 높아 항알레르기 소재로의 활용 가능성이 높은 버섯자원으로 사료되었다. 그런데, 상황버섯은 동물실험에서 혈중 IgE 감소효과가 보고되었고, 한방화장품 (연고)의 구성성분으로 제조되어 진행된 임상연구에서 아토피 피부염의 증상 및 가려움증의 개선효과를 나타내는 등의 보고 (Yun *et al.*, 2010; Jung *et al.*, 2010)가 있었으며, 이 외에도 버섯을 대상으로 한 알레르기 연구에 차가버섯이 아토피 피부염 동물모델인 NC/Nga mouse에서 효과가 있음이 보고되어 있다 (Jeon *et al.*, 2009).

이러한 연구결과와 논문검색결과를 종합할 때, β-hexosaminidase 방출 또는 IL-4 생성에 대해 우수한 활성을 나타낸 팽이버섯 등 우수한 저해효과를 나타낸 버섯들에 대한 추가연구가 필요할 것으로 사료되었다.

적 요

본 연구에서는 버섯추출물 (42개)의 *in vitro* 항알레르기 효능탐색을 위해 랫드비만세포 (RBL-2H3 cell)에서 면역글로불린 (IgE)가 매개한 탈과립에 대한 저해 효과를 실험하였다. 이를 위해 anti-DNP IgE 및 DNP-HSA에 의해 알레르기반응이 유발된 랫드비만세포에서 버섯 추출물의 IL-4와 β-hexosaminidase 분비량에 대한 저해활성과 세포생존에 대한 영향이 분석되었다. 실험결과, IL-4 분비에 대해서는 팽이버섯 물추출물 등 5개의 버섯 추출물이 20% 이상의 우수한 저해효과를 나타내었으며, β-hexosaminidase 분비에 대해서는 영지버섯의 물추출물 등 8개의 버섯 추출물이 20% 이상의 비교적 우수한 저해활성을 나타내었다. 세포증식에 대해서는 잎새버섯의 물추출물 등 대부분의 버섯 추출물이 우수한 세포증식효과를 나타내었다. 팽이버섯의 물추출물과 상황버섯의 물추출물은 β-hexosaminidase 및 IL-4 분비에 대해 모두 비교적 우수한 저해효과를 나타내었다. 추가로 2, 10, 50 ug/ml에서 실험된 영지버섯, 편각영지버섯, 눈꽃동충하초, 상황버섯 그리고 느타리버섯의 물추출물들은 β-hexosaminidase의 분비량을 농도-의존적으로 감소시켰다. 이상의 결과를 살펴볼 때, 이들 *in vitro* 항알레르기 효과를 나타낸 버섯 추출물들은 추가실험을 통해 항알레르기 소재로의 활용성 검토가 필요하다고 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 농촌진흥청 시험연구사업 (PJ009629022014 & PJ009629012014)의 추출물시료 제공과 연구비 지원으로 수행된 결과이며 이에 깊은 감사를 드립니다.

References

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2012. Cellular and molecular immunology (7th ed.). Elsevier Press, USA. pp. 407-443.
- Burgo GR, Duse M, Nespoli. 1993. Reacting the atopic way. *Rivista Italiana Di Pediatria-Italian. J Pediatr.* 19:223-233.
- Chan TK, Ng DSW, Cheng C, Guan SP, Koh HM, Wong WSF. 2013. Anti-allergic actions of rottlerin from *Mallotus philippinensis* in experimental mast cell-mediated anaphylactic models. *Phytomedicine.* 20:853-860.
- Jaffe JS; Metcalfe DD. 1993. Cytokines and their role in the pathogenesis of severe food hypersensitivity reactions. *Annal Allerg.* 71:362-364.
- Jeon YH, An CS, Jin HL, Hur SJ, Bak JP, Lim BO. 2009. Immunoregulatory of *Inonotus obliquus* and *Inonotus obliquus* grow in germinated brown rice on atopic dermatitis model NC/Nga mice. 2009 Plant Science Conference. Excerpt Collection. pp.175-175.
- Jung HJ, Min HB, Do EJ, Jang MS, Kim MR, Kim YH, Do KB, Lee CE, Jee SY. 2010. A clinical research about herbal cosmetics containing *Phellinus linteus* extracts in atopic dermatitis patients. *J Kor Orient Med Ophthalmol & Otolaryngol & Dermatol.* 23:154-164.
- Kimber I, Dearman RJ. 1992. The mechanisms and evaluation of chemically-induced allergy. *Toxicol Lett.* 64-5:79-81.
- Kim YS, Seok SJ, Weon HY, Lee GH, Kim YG, Park JS. 2008. The Mushrooms of Korea, Edible and poisonous mushrooms. National Institute of Agaricultural Science and Technology, Rural Development Administration, Korea. Kimyongsa Press. 2008. pp1-467.
- Kohler I, Rieber EP. 1993. Allergy-associated I-epsilon and FC-epsilon receptor-II(CD23B) genes activated via binding of an interleukin-4-induced transcription factor to a novel responsive element. *Eur J Immunol.* 23:3066-3071.
- Kumar S, Verma AK, Das M, Dwivedi PD. 2012. Molecular mechanisms of IgE mediated food allergy. *Int Immunopharmacol.* 13:432-439.
- Lee CE. 1998. Cytokines signals regulating the allergy associated immune cell receptors, IL-4 receptor and type II IgE receptor. The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology. Excerpt Collection. 1998:129-131.
- Owen JA, J Punt, SA Stranford. 2014. Kuby Immunology. The Korean Society for Microbiology (translation). Panmun Education. Seoul. pp459.
- Santos MS, Andrioli WJ, Lama MPFMD, Bastos JK, Nanayakkata NPD, Naal RMZG. 2013. In vitro anti-allergic activity of the fungal metabolite pyridovericin. *Int Immunopharmacol.* 15:532-538.
- Tanaka M; K Yamagishi, S Takuya, T Hirouchi, T Okamoto. 2012. Impact of Peptides from casein and peptide-related amino acids on degranulation in rat basophilic leukemia cell line RBL-2H3. *Nipp Shokuh Kagak Kogak Kaishi.* 59:556-561.
- Yun WS, Jung HA, Roh SS. 2010. Effect of *Phellinus igniarius* Quel extract on the anti-inflammatory, anti allergy, anti-oxidant, anti-wrinkle. *J Kor Orient Med Ophthalmol & Otolaryngol & Dermatol.* 23:75-93.