Korean Journal of Life Science
Vol. 10. No. 4. 340~346, 2000

뇌조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 실크 피브로인의 영향

최진호* · 김대익 · 박수현 · 김정민 · 조원기[1] · 이광길[2] · 여주홍[2] · 이용우[2]

부경대학교 식품생명공학부 생화학교실, [1]조아제약(주)
[2]농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부

Effects of Silk Fibroin on Oxygen radicals and Their Scavenger Enzymes in Brain of SD Rats

Jin-Ho Choi*, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Jung-Min Kim, Weon-Ki Cho[1], Kwang Gill Lee[2], Joo Hong Yeo[2] and Yong Woo Lee[2]

Lab. of Biochemistry, Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, [1]Choa Pharmacy Co. Ltd., [2]Dept. of Sericulture & Entomology, National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea

Abstract

This study was designed to investigate the effects of silk fibroin (Mw 500) powder (SFP) on oxygen radicals and their scavenger enzymes in brain membranes of rats. Sprague-Dawley (SD) male rats (160±10 g) were fed basic diet (control group), and experimental diets (SFP-2.5 and SFP-5.0 groups) added 2.5 and 5.0 g/kg BW/day for 6 weeks. Hydroxyl radical (·OH) levels resulted in a decreases (6.6% and 9.7%, 2.8% and 11.9%, respectively) in brain mitochondria and microsomes of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group, but were significantly decreased in these membranes of SFP-5.0 group only. Superoxide radical (O_2^-) levels were a slightly decreased (2.0% and 9.1%, respectively) in brain cytosol of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. Lipid peroxide (LPO) levels were significantly decreased (12.9% and 21.9%, 13.2% and 22.5%, respectively) in brain mitochondria and microsomes of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. Oxidized protein (OP) levels were significantly decreased (16.7% and 15.7%, respectively) in brain microsomes of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group, but significant difference between in brain mitochondria of these two groups could not be obtained. Mn-SOD activities were remarkably increased (11.2% and 24.2%, respectively) in mitochondria of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups. Cu,Zn-SOD activities were effectively increased (7.7% and 19.6%, respectively) in brain cytosol of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups, but significant difference between control and SFP-2.5 groups could be not obtained. GSHPx activities were considerably increased (5.3% and 11.7%, respectively) in brain cytosol of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. These results suggest that anti-aging effect of silk fibroin may play an effective learning and memory role in a attenuating a oxidative stress and increasing a scavenger enzyme activity in brain membranes.

Key words – Silk fibroin, Superoxide dismutase (SOD), Oxygen radical, Glutathione peroxidase, Oxidized protein, Hydroxyl radical, Superoxide radical (O_2^-)

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 051-620-6332, Fax : 051-628-6343
E-mail : jhcho1@pknu ac.kr

서 론

최근 값싼 양질의 화학섬유가 등장하면서 값비싼 명주가 사양화되고 이에 따라 양잠산업이 몰락의 위기를 맞고 있다. 그래서 실크의 가수분해산물인 실크 피브로인의 생리활성에 대한 연구가 한창 진행중에 있다. 중국 후한의 허신(許愼)이 편찬한《설문해자(說文解字)》에 "상(桑)은 젊다(若)는 뜻으로서 신목(神木)이라는 별명을 갖고 있다"는 사실에서 뽕나무(桑) 관련산물로서 뽕잎을 비롯하여 누에가루 및 실크 피브로인이 성인병을 예방하고 노화를 방지할 수 있다는 사실을 묵시적으로 암시하고 있다[6]. 최근들어 뽕잎 추출물의 트리글리세리드(TG)의 지질대사연구, 항산화연구, tumor cell을 이용한 항종양연구, 누에분말의 혈당강하효과, 누에분말의 제조조건 및 투여기간에 따른 혈당강하효과, 누에분말의 당뇨병 연구, 누에분말의 간염 및 간경화증 치료효과, 누에분말의 인슐린 비의존형(Type II) 당뇨환자에 대한 임상연구 등이 보고되어 있다[6-7]. 최근들어 누에분말 추출물과 한독약품(주)의 당뇨병 치료제 다오닐(Daonil : glibenclamide)의 비교연구를 통한 항당뇨 음료로서 Dia-D의 개발 등이 특허출원되어 있다[11-12].

그렇지만, 실크 피브로인에 대한 연구는 거의 되어 있지 않다. 실크 단백질의 가수분해산물인 올리고펩티드(oligopeptide)로서 실크 피브로인(silk fibroin)의 기능성 및 소화연구[17], 실크 가수분해 단백질의 분자량의 분포 및 소화에 관한 연구[2], 실크 피브로인의 아미노산중에서 글리신(glycine)의 혈청 콜레스테롤의 억제효과[29], 실크 피브로인의 기능성 연구로서 기포성의 식품가공에의 이용[16] 및 견직물 잔사의 식품소재로서의 응용[22]에 관한 연구결과도 보고되어 있다. 따라서 본 연구는 실크 피브로인의 생리활성연구의 일환으로서 전보[8-10]에 이어 뇌조직의 활성산소 및 그 제거효소에 미치는 실크 피브로인의 영향을 분석하여 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

동물실험 및 사료조성

한국화학연에서 구입한 Sprague-Dawley계 랫트(male, 160±10 g)를 구입하여 본 대학 동물사육실에서 2주동안 예비사육한 다음, 7마리씩 3군으로 나누어 실험용 기본사료(control group)로써 사육하면서 농촌진흥청 잠사연구부에서 할애받은 실크 피브로인(*silk fibroin* : Mw 500)을 각각 2.5 및 5.0 g/kg BW가 되도록 사료에 첨가한 실험그룹(SFP-2.5 및 SFP-5.0 groups)으로 하여 6주간 사육실험을 행하여 뇌조직중의 활성산소의 생성 및 제거효소의 활성에 미치는 실크 피브로인(SFP)의 영향을 평가하였다. 동물사육실은 항온항습(22±2℃, 65±2% RH)하에서 12시간 싸이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절된다.

조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 전보[8]와 같이 탄수화물 57.8% (α-corn starch: 44.5% + sucrose 13.3%), 단백질 16.0% (sodium-free casein), 지질 18.0% (lard 18.0%), 비타민과 무기질(AIN-76 mixture) 각각 1.0%, 3.5%, 그리고 섬유질 3.0%, DL-methionine 0.3%, choline chloride 0.2%를 첨가하였으며, 여기에 cholesterol 0.5% 및 sodium chloride 0.2%를 첨가하여 고콜레스테롤혈증을 유도하였다. 실험그룹의 사료조성은 실크 피브로인(SFP)를 하루에 각각 2.5 및 5.0 g/kg BW가 섭취되도록 2.5% 및 5.0%의 SFP를 첨가하는 대신 탄수화물을 각각 2.5% 및 5.0%씩 제외하고 조제하였다.

뇌세포 획분의 분획

뇌세포의 분획은 저자 등[5]의 방법에 따라 균질 완충용액(1.15% KCl/ 10 mM phosphate buffer/5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 mitochondria, microsomes 및 cytosol 획분을 분획하여 사용하였다. 이들 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등[21]의 방법에 따라 정량하였다.

활성산소의 생성량 측정

뇌조직획분의 히드록시 라디칼(·OH)의 함량은 deoxyribose의 파괴정도에 따라 hydroxyl radical 생성 정도를 측정하는 방법으로서, 뇌조직획분의 산소대사산물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며, 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobarbituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등[14]의 방법에 따라 측정하였다. 뇌조직획분중의 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical : $O_2^{\cdot-}$)의 생성량은 McCord 등[23]과 Chan 등[1]의 방법에 따라 superoxide dismutase를 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 0.1 mM EDTA를 함유한 인

산완충용액(pH 7.8) 420 μℓ에 cyanide의 농도가 50 μM이 되도록 20 mM cyanide 용액을 가한 후 37℃에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 cytosol 300 μℓ와 0.1 mM cytochrome C 50 μℓ를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500 $M^{-1}cm^{-1}$로 계산하였다.

산화적 스트레스의 분석

뇌조직중의 과산화지질의 함량은 저자 등[3]이 사용한 방법에 따라 분광광도계를 사용하여 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA)의 함량을 측정하여 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 함량으로 정량하였다. 뇌획분으로서 mitochondria와 microsome의 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량은 Levine 등[20]의 방법에 따라 carbonyl group(>C=O)의 생성량을 측정하였다. 0.1 ml의 시료에 30% TCA (trichloroacetic acid)를 0.5 ml 혼합, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 뒤 잔사에 10 mM DNPH (dinitrophenyl hydrazine) 0.5 ml 첨가, 15분마다 혼합하며 1시간 동안 실온에 방치 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate (v/v 1:1) 3.0ml를 첨가하여 실온에서 10분 방치한다. 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 잔사를 얻은 뒤, 6 M guanidine(20 mM potassium phosphate buffer, pH 2.3) 1.0 ml 첨가·혼합하여 37℃의 항온 수조에서 15분간 가온한 후, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl group의 양은 360 nm와 370 nm사이에 있는 흡광도의 파장에서 분자흡광계수(E =22,000)를 이용하여 계산하였다.

활성산소종 제거효소의 활성 측정

Oyanagui 등[25]의 방법을 일부 수정하여 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase : SOD)의 활성은 간장의 mitochondria 및 cytosol획분을 인산완충용액(pH 8.2)으로 30배로 희석한 용액 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약 (52.125 mg of hydroxylamine + 102.1 mg of hypoxanthine/250 ml D.W) 0.2 ml, B시약 (20 ul of xanthine oxidase + 0.9939 mg ethylene diaminetetraacetic acid/26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가·혼합하여 37℃ 항온수조에서 40분간 가온한 후 C시약 (300 mg of sulfanilic acid + N-1-naphthylethyene diamine acid/500 ml of 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가·혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 Mn-SOD 및 Cu/Zn-SOD 활성(unit/mg protein)을 측정하였다. 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase : GSHPx)의 활성은 Laurence 등[18]의 방법에 따라 340 nm에서 NADPH의 감소를 측정하기 위한 방법으로 뇌조직의 cytosol획분에서 측정하였다.

분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test[28]로 실시하였다.

결과 및 고찰

활성산소의 생성 억제효과

강력한 독성산소로 알려진 활성산소(oxygen radicals)는 농약 등 환경호르몬, 합성의약품의 남용, 흡연, UV나 X-선 조사 등이나 체내에서 대사중의 효소반응이나 염증반응에 의해서도 생성되는 것으로 밝혀지고 있다[4]. 이들 활성산소는 조직세포를 공격하여 성인병(chronic degenerative disease)을 유발하고 노화(aging)를 촉진하며 치매(senile dementia) 등의 신경정신질환을 유발할 뿐만 아니라 암(cancer)까지도 유발한다는 사실이 밝혀져 있다[27]. 뇌조직의 활성산소 중에서 가장 강력한 히드록시 라디칼(·OH) 및 수퍼옥시드 라디칼(O_2^-)의 생성에 미치는 실크 피브로인(SFP)의 영향을 비교하여 보면 Table 1과 같다. Table 1에서 뇌조직중의 mitochondria획분에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 ·OH 생성이 11.22±1.05 및 10.85±1.11nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(12.01±0.84 nmol/mg protein /min : 100%) 대비 93.4% 및 90.3%로서, 각각 6.6% 및 9.7%의 ·OH 라디칼의 생성 억제효과가 나타났다.

또한 microsome획분에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 ·OH 생성이 8.83±0.81 및 8.00±0.63 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(9.08±0.94 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 97.2% 및 88.1%로서, 각각 2.8% 및 11.9%의 ·OH라디칼의 생성 억제효과가 나타났지만, 두 획분에서 SFP-5.0투여그룹에서 ·OH라디칼의 생성 억제효과에 대한

Table 1. Effects of SFP on hydroxyl and superoxide radicals in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Hydroxyl radical(nmol/mg protein/min)			
Mitochondria	12.01±0.84[a]	11.22±1.05 (93.4%)[b]	10.85±1.11* (90.3%)
Microsome	9.08±0.94	8.83±0.81 (97.2%)	8.00±0.63* (88.1%)
Superoxide radical(nmol/mg protein)			
Cytosol	38.69±2.62	37.90±2.90 (98.0%)	35.17±3.19* (90.9%)

SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0g/kg BW/day added to basic control diet; [a]Mean±SD with 7 rats per group; [b]Percent of control values; *p<0.05; compared with control group.

유의성이 인정되었다. 한편 뇌조직의 cytosol획분의 superoxide radical(O_2^-)의 생성 억제효과는 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹에서 O_2^-라디칼의 생성 억제효과는 37.90±2.90 및 35.17±3.19 nmol/mg protein으로서 대조그룹(38.69±2.62 nmol/mg protein : 100%) 대비 98.0% 및 90.9%로서, 각각 2.0% 및 9.1%의 감소로서 O_2^-라디칼의 생성 억제효과가 나타났지만, SFP-5.0투여그룹에서만 유의성이 인정되었다.

산화적 스트레스의 평가

활성산소의 공격목표는 조직세포중의 지질 성분의 공격에 의한 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 생성, 단백질 성분의 공격에 의한 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성 및 핵산의 공격에 돌연변이의 생성 등을 들 수 있다. 따라서 이들 산화적 스트레스의 평가는 LPO는 말론디알데히드(malondialdehyde : MDA), 산화단백질은 카르보닐그룹(>C=O group)의 측정 및 핵산의 산화는 8-OHdG의 생성량을 측정하여 평가할 수 있다[4, 13].

과산화지질의 생성 억제효과

세포막의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 LPO는 강력한 세포독성 때문에 성인병(chronic degenerative disease)과 노화(aging)의 지표물질로 알려져 있다[4, 29-31]. 실크 피브로인(SFP)의 투여에 의한 뇌조직중의 LPO의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 2와 같다. 뇌조직 획분중의 LPO의 생성에 미치는 실크 피브로인(SFP) 투여에 따른 영향을 비교하여 보면 하루에 SFP-2.5 및 SFP-5.0g/kg BW로써 6주동안 투여한 결과, 뇌조직의 mitochondria획분에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 10.37±0.44 및 9.30±0.92 nmol/mg protein로서 대조그룹(11.91±1.38 nmol/mg protein : 100%) 대비 87.1% 및 78.1%로서, 각각 12.9% 및 21.9%의 매우 효과적인 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 microsome획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 10.63±0.76 및 9.49±0.69 nmol/mg protein로서 대조그룹(12.24±1.01 nmol/mg protein : 100%) 대비 86.8% 및 77.5%로서, 각각 13.2% 및 22.5%의 LPO의 생성 억제효과가 인정되었다. 사실 뇌조직은 산화적 스트레스에 대하여 매우 민감한 조직이란 사실을 감안한다면 실크 피브로인(SFP)의 투여는 뇌조직의 독성물질로서 LPO의 생성을 누에분말(SWP) 이상의 효과로서 억제한다는 사실은 뇌조직의 항상성 유지를 위해서도 매우 중요한 의미를 갖고 있다고 평가할 수 있다.

산화단백질의 생성 억제효과

한편 뇌조직 세포의 단백질 성분이 활성산소의 공격을

Table 2. Effects of SFP on lipid peroxide(LPO) levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Mitochondria	11.91±1.38[a]	10.37±0.44** (87.1%)[b]	9.30±0.92*** (78.1%)
Microsome	12.24±1.01	10.63±0.76** (86.8%)	9.49±0.69*** (77.5%)

SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0g/kg BW/day added to basic control diet; [a]Mean±SD (nmol/mg protein) with 7 rats per group; [b]Percent of control values; **p<0.01; ***p<0.001 compared with control group.

받아 생성되는 카르보닐 그룹의 생성에 미치는 실크 피브로인의 투여효과를 평가하기 위하여 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량을 평가하여 본 결과는 Table 3과 같다. 뇌조직의 mitochondria획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0 그룹의 OP의 생성은 11.31±0.97 및 11.12±1.13 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(13.42±1.28 ng/mg protein : 100%) 대비 84.3% 및 81.9%로서, 각각 15.7% 및 18.1%의 OP의 생성 억제효과가 인정되었을 뿐만 아니라 microsome획분에서도 SFP-2.5 및 SFP-5.0그룹의 OP의 생성량은 11.88±1.25 및 12.02±0.98 ng/mg protein으로서 대조그룹의 OP의 생성량(14.26±1.13 ng/mg protein : 100%) 대비 83.3% 및 84.3%로서, 각각 16.7% 및 15.7%의 매우 효과적인 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. 뽕잎 추출물(MLE)과 누에분말과는 달리 실크 피브로인은 뇌조직의 두 획분에서 매우 효과적인 OP의 생성 억제효과가 입증되었다는 사실은 매우 흥미로운 사실이다.

제거효소의 활성 평가

뇌획분중에서 활성산소의 제거효소로서 가장 중요한 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD) 및 글루타치온 퍼옥시다아제(GSHPx)의 활성에 미치는 실크 피브로인(SFP) 투여의 영향을 분석하여 보면 Table 4와 같다. 뇌조직의 mitochondria획분중에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0 mg/kg BW투여에 의한 Mn-SOD의 활성은 20.85±1.76 및 23.28±2.54 unit/mg protein으로서 대조그룹(18.75±1.47 unit/mg protein : 100%) 대비 111.2% 및 124.2%로서, 각각 11.2% 및 24.2%의 매우 효과적인 Mn-SOD활성의 증가효과가 인정되었다. 또한 뇌조직의 cytosol획분중에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 Cu/Zn-SOD의 활성은 25.04±1.97 및 27.80±2.24 unit/mg protein으로서 대조그룹(23.25±2.45 unit/mg protein : 100%) 대비 107.7% 및 119.6%로서, 각각 7.7% 및 19.6%의 비교적 효과적인 Cu/Zn-SOD 활성의 증가효과가 인정되었다. 한편 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 GSHPx의 활성은 20.34±1.78 및 21.56±1.55 IU/g protein으로서 대조그룹의 GSHPx 활성(19.31±2.05 IU/g protein : 100%) 대비 각각 105.3% 및 111.7%로서, 각각 5.3% 및 11.7%의 실크 피브로인의 투여에 의하여 비교적 효과적인 GSHPx활성의 증가효과가 인정되었다.

요 약

실크 피브로인(SFP)을 SD계 랫트에 하루 2.5 및 5.0 g/kg BW로써 6주간 투여하여 뇌조직의 활성산소 및 그 제거효소의 활성에 미치는 영향을 분석·평가하였다. 뇌조직의

Table 3. Effects of SFP on oxidized protein (OP) levels in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Mitochondria	13.42±1.28[a]	11.31±0.97 (84.3%)[b]	11.12±1.13 (81.9%)
Microsome	14.26±1.13	11.88±1.25** (83.3%)	12.02±0.98** (84.3%)

SFP-2.5 and SFP-5.0 . Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0 g/kg BW/day added to basic control diet; [a]Mean±SD(ng/mg protein) with 7 rats per group; [b]Percent of control values; **p<0.01 compared with control group.

Table 4. Effects of SFP on SOD and GSHPx activities in brain membranes of SD rats for 6 weeks

Membranes	Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Superoxide dismutase(unit/mg protein)			
Mn-SOD	18.75±1.47[a]	20.85±1.76* (111.2%)[b]	23.28±2.54*** (124.2%)
Cu/Zn-SOD	23.25±2.45	25.04±1.97 (107.7%)	27.80±2.24*** (119.6%)
Glutathione peroxidase(IU/g protein)			
GSHPx	19.31±2.05	20.34±1.78 (105.3%)	21.56±1.55* (111.7%)

SFP-2.5 and SFP-5.0 : Silk fibroin powder of 2.5 and 5.0 g/kg BW/day added to basic control diet; [a]Mean±SD with 7 rats per group; [b]Percent of control values; *p<0.05; ***p<0.001 compared with control group.

mitochondria 및 cytosol획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 대조그룹 대비 각각 6.6% 및 9.7%, 2.8% 및 11.9%의 hydroxyl radical(·OH)의 생성 억제효과가 나타났지만, SFP-5.0투여그룹에서만 유의적인 ·OH라디칼의 생성 억제효과가 인정되었다. 또한 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 cytosol획분에서 superoxide radical(O_2^-)의 생성은 대조그룹 대비 각각 2.0% 및 9.1%의 O_2^-라디칼 생성 억제효과로서 유의성은 SFP-5.0투여그룹에서만 인정되었다.

뇌조직의 mitochondria 및 microsome획분에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 대조그룹 대비 각각 12.9% 및 21.9%, 13.2% 및 22.5%로서 매우 효과적인 과산화지질(LPO)의 생성 억제효과가 인정되었다. SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹은 mitochondria획분에서 대조그룹 대비 85.7% 및 81.9%의 산화단백질(OP)의 유의적인 생성 억제효과가 인정되었을 뿐만 아니라 microsome획분에서도 SFP-2.5 및 SFP-5.0그룹은 대조그룹 대비 각각 16.7% 및 15.7%의 효과적인 OP의 생성 억제효과가 인정되었다. 뇌조직의 mitochondria획분 중에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 Mn-SOD의 활성은 대조그룹 대비 각각 11.2% 및 24.2%의 매우 효과적인 Mn-SOD활성의 증가효과가 인정되었다. 뇌조직의 cytosol획분 중에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹의 Cu/Zn-SOD의 활성은 대조그룹 대비 각각 7.7% 및 19.6%의 Cu/Zn-SOD 활성의 증가효과였지만, SFP-5.0투여그룹에서만 유의성이 인정되었다. 또한 cytosol 획분의 GSHPx활성도 SFP-2.5 및 SFP-5.0투여그룹에서 대조그룹 대비 각각 5.3% 및 11.7%의 비교적 효과적인 GSHPx활성의 증가효과가 나타났지만, SFP-5.0투여그룹에서만 유의성이 인정되었다. 따라서 뇌조직의 ·OH 및 O_2^- 등 활성산소의 생성을 효과적으로 억제하여 LPO 및 OP의 생성 등 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 Mn-SOD, Cu/Zn-SOD 및 GSHPx 등 제거효소의 활성을 효과적으로 증가시켜 뇌조직의 기능저하를 매우 효과적으로 방지할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1 Chan, P. C. and Bielski, B. H. J. 1974. Enzyme catalyzed free radical reactions with nicotinamide adenine nucle otide. *J. Biol. Chem.* **249(4)**, 1317-1319.

2. Chin, K., K. Iura, R. Aizawa and K. Hirabayashi. 1991. The digestion of silk fibroin by rat. *J. Sericultural Science of Japan* **60(5)**, 402-403.
3. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *Age* **13**, 61-64.
4. Choi, J. H. 1991. Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.* **23(1)**, 61-70.
5. Choi, J. H. and B. P. Yu. 1995. Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med.* **18(2)**, 133-139.
6. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, K. S. Ryu and W. C. Lee. 1999. Effects of mulbery leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 135-140.
7. Choi, J. H., D. I. Kim, S. H. Park, D. W. Kim, J. S. Lee, H. S. Lee and K. S. Ryu. 1999. Effects of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 141-146.
8. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W., Park, S. H., D. W. Kim, J. S. Lee and Y. W. Lee. 1999. Effects of silk fibroin powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **41(3)**, 216-221
9. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W., Park, S. H., J. M. Kim, J. S. Lee and K. G. Lee, J. H. Yeo and Y. W. Lee. 2000. Effects of silk fibroin on oxidative stress and membrane fluidity in brain of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **42** (submitted).
10. Choi, J. H., D. I. Kim, D. W., Park, S. H., J. M. Kim, J. S. Lee and K. G. Lee, J. H. Yeo and Y. W. Lee. 2000. Effects of silk fibroin on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.* **42** (submitted).
11. Choi, J H. and President of RDA. 1999. Functional anti-diabetic drink. *Korean Patent Application* No. 99-61216(Dec. 23, 1999).
12. Choi, J. H. and President of RDA. 2000. Functional anti-diabetic drink. *Japanese Patent Application* No. 2000-98434(Mar. 31, 2000).
13. Floid, R. A. and J. D. Carney. 1992. Free radical damage to protein and DNA : Mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann. Neuro.* **32**, S22-27.
14. Halliwell, B. and G. M. C. Gutteridge. 1981. Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the persence of iron salts. *FEBS. Lett.* **128**,

347-350.

15. Hirabayashi, K. 1989. Application of water soluble silk. *Bio Industry* **6(10)** 27-32.
16. Hirao, K., Y. Kimura and K. Igarashi. 1988. Foaming properties of fibroin solution prepared from silk yarn and utilization of Foam for making sponge cake. *J. Jap. Soc. Food Sci. and Technol.* **45(11)**, 692-699.
17. Hirobayashi, K., K. Chin and T. Sebata. 1991. Utilization of silk fibroin as food ingredient. *New Food Industry* **33(11)**, 1-4.
18. Laurence, R. A. and R. F. Burk. 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Lipid* **19**, 444-452.
19. Lebel C. P., I. N. Odunze Jr and S. C. Bondy. 1989. Perturbations in cerebral oxygen radical formation and membrane order following vitamin E deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **163(2)**, 860-866.
20. Levine, R. L., D. Garland, C. N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A. G. Lenz, B. Ahn, S. Shaltiel and E. R. Stadtman. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 1986, 464-478.
21. Lowry, O. H., N. J. Roseborough, L. A. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
22. Lu, X., D. Akiyama and K. Hirabayashi. 1994. Production of silk powder and properties. *J. of Sericultural Science of Japan* **63**, 21-27.
23. McCord, J.M. and I. Fridovch. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **244(22)**, 6049-6055.
24. Odaka, H., N. Miki, H. Ikeda and T. Matsuo. 1992. Effect of disaccharidase inhibitor, AO-128, on postprandial hyperglycemia in rats. *J. Japan Soc. Food & Nutr.* **45(1)**, 27-31.
25. Oyanagui, Y. 1984. Revaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **42**, 290-296.
26. Shiomi, S., D. Habu, T. Takeda, S. Nishiguchi, T. Kuroki, T. Tanaka, K. Tsuchida and S. Yamagami. 1998. Significance of peptidoglycan in patients with chronic liver diseases. *J. New Remedies & Clinics* **47(1)**, 32-37.
27. Singh, V. A. 1992. A current perspective on nutrition and exercise. *J. Nutr.* **122(3S)**, 760-765
28. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
29. Sugiyama, K. 1989. Importance of sulfur-containing amino acids in cholesterol meta-bolism. *J. Japan Soc. Food & Nutr.* **42**, 353-363.
30. Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids* **45**, 337-351.
31. Yu, B. P. 1996. Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.* **21**, 651-668.
32. Yu, B. P. and R. Yang. 1996. Critical evaluation of free radical theory of aging: A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. New York Acad. Sci.* **786**, 1-11.