

뇌조직의 리포푸신, 아세틸콜린 및 그 관련효소 활성에 미치는 실크 피브로인의 영향

최진호 · 김대익 · 박수현 · 김동우 · 이광길* · 여주홍* · 김정민 · 이용우*
부경대학교 식품생명공학부 생화학교실, *농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부

Effects of Silk Fibroin Powder on Lipofuscin, Acetylcholine and Its Related Enzyme Activities in Brain of SD Rats

Jin-Ho Choi, Dae-Ik Kim, Soo-Hyun Park, Dong-Woo Kim, Kwang-Gill Lee*,
Joo-Hong Yeo*, Jung-Min Kim and Yong Woo Lee*

Lab. Biochemistry, Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University

*Dept. of Sericulture & Entomology, National Agricultural Science & Technology Institute, RDA, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT

This study was designed to investigate the effects of silk fibroin (Mw 500) powder (SFP) on lipofuscin, acetylcholine (ACh) and its related enzyme activities in brain 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. In case of liver membranes, lipofuscin (LF) levels resulted in a considerable decreases (11.5% and 13.8%, respectively) in SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. But in case of brain as the most sensitive organ, LF levels were remarkably inhibited about 18.3% and 21.7% in SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. Acetylcholine (ACh) levels were considerable decrease (3.0% and 9.2%, respectively) in brain membranes of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. choline acetyltransferase (ChAT) activities as a synthesis enzyme of ACh, and acetylcholinesterase (AChE) activities as a hydrolysis enzyme resulted in a slight increases (2.4% and 3.0%, 4.6% and 6.3%, respectively), but significance difference between ChAT and AChE activities by SFP administration could be not obtained. Monoamine oxidase-B (MAO-B) activities were significantly inhibited (9.5% and 12.6%, respectively) in brain of SFP-2.5 and SFP-5.0 groups compared with control group. These results suggest that inhibiting effects of LF accumulation and MAO-B activity of silk fibroin(SFP) may play a pivotal role in protecting learning and memory impairments by attenuating a various age-related changes for improvement of brain function.

Key words : Silk fibroin, Acetylcholine (ACh), Acetylcholinesterase(AChE), Choline acetyltransferase (ChAT), Monoamine oxidase-B (MAO-B), Lipofuscin (LF)

서 론

실크로드가 등장했을 정도로 유명했던 명주(silk)가 지금은 기능성 식품으로서 실크의 가수분해산물인 실크 피브로인의 생리활성에 대한 연구가 급진전되고 있다. 중국 후한의 허신(許慎)이 편찬한 《설문해자(說文解字)》에 “상(桑)은 쩌다(若)는 뜻으로서 신목(神木)이라는 별명을 갖고 있다”는 사실에서 뽕나무(桑) 관련산물로서 뽕잎을 비롯하여 누에가루 및 실크 피브로인이 성인병을 예방하고 노

화를 방지할 수 있다는 사실을 묵시적으로 암시하고 있다. 최근들어 Kim 등(1998) 및 Kang 등(1995)도 트리글리세리드(TG)의 지질대사연구, Yen 등(1996)은 뽕잎의 항산화성분 연구, Park 등(1998)은 tumor cell을 이용한 항종양연구, Chung 등(1996; 1997)의 누에분말의 혈당강하 효과, Ryu 등(1997) 및 Lee등(1998)의 누에분말의 제조조건 및 투여기간에 따른 혈당강하효과, Cho 등(1998)은 누에분말의 당뇨병 연구, Shiomi 등(1998)의 누에분말의 간염 및 간경화증 치료효과, Cho 등(1998)의 누에분말의 인슐린 비의존형(Type II) 당뇨병자에 대한 임상연구, 저자 등(Choi *et al.*, 1999d; 2000a)의 누에분말 추출물과 한독약품(주)의 당뇨병 치료제 다오닐(Daonil : glibenclamide)

본 연구는 농촌진흥청이 주관하는 농업특정연구개발사업 '99 수행과제 정부출연연구비 지원으로 수행되었습니다.

의 비교연구를 통한 항당뇨염료로서 Dia-D의 개발 등이 특허출원되어 있다.

그렇지만, 실크 피브로인에 대한 연구는 거의 없다. 실크 단백질의 가수분해산물인 올리고펩티드(oligopeptide)로서 실크 피브로인(silk fibroin)의 기능성 및 소화연구(平林, 1989a-b), 실크 가수분해 단백질의 분자량의 분포 및 소화와 관한 연구(陳 등, 1991), 실크 피브로인의 아미노산중에서 글리신(glycine)의 혈청 콜레스테롤의 억제효과(杉山, 1989), 알라닌(alanine)의 알콜대사(文, 1987) 및 티로신(tyrosine)의 치매예방효과(岸本, 1973), 최근에는 실크 피브로인의 기능성 연구로서 기포성의 식품가공에의 이용(平尾 등, 1998) 및 견직물 잔사의 식품소재로서의 응용(陸 등, 1994)에 관한 연구결과도 보고되어 있다. 따라서 실크 피브로인의 생리활성연구로서 전보(Choi *et al.*, 1999a-c)에 이어 뇌조직의 리포푸신, 아세틸콜린 및 그 관련효소에 미치는 실크 피브로인의 영향을 분석하여 유의적인 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

1. 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 실크 피브로인(silk fibroin : Mw 500)를 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 리포푸신, 아세틸콜린 및 그 관련효소의 활성에 미치는 영향을 평가하였다. 동물사육실은 항온항습($22 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 2\%$ RH) 하에서 12시간 사이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절된다.

2. 조제사료의 조성

본 실험에 사용한 사료조성은 전보(Choi *et al.*, 1999c)와 같이 탄수화물 57.3%(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 SWP를 첨가하는 대신 탄수화물을 각각 2.5% 및 5.0%씩 제외하고 조제하였다.

3. 뇌세포 핵분의 분획

뇌세포의 분획은 저자 등(Choi *et al.*, 1995)의 방법에 따라 균질 완충용액(1.15% KCl/10mM phosphate buffer/5mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 mitochondria, microsome 및 cytosol 핵분을 분획하여 사용하였다. 이들 핵분의 단백질의 함량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 정량하였다.

4. 리포푸신 함량의 측정

노화색소로서 리포푸신(lipofuscin)의 측정은 Fletcher 등(1973)의 방법에 따라 조직의 표면에 과도한 수분과 오물을 제거한 후 뇌조직 0.2 g에 chloroform-methanol(2:1, v/v) 혼합용액 4.0 ml에 첨가 후 1분간 균질화시킨 후 원심 분리하여 chloroform층 2.0 ml를 분취하여 형광광도계를 사용, 345 nm(excitation)와 435 nm(emission)에서 표준용액(quinine sulfate ug/ml of 0.1 N H₂SO₄)을 대조군으로 형광도를 측정하여 리포푸신의 함량(ug/mg protein)을 정량하였다.

5. 아세틸콜린의 함량 측정

아세틸콜린(acetylcholine : ACh)의 측정은 Galgani 등(1992)의 방법에 의하여 alkaline hydroxylamine을 가진 o-acyl 유도물의 반응을 기초로 측정하였다. 모든 hydroxamic acid는 산용액에서 ferric ion과 결합하여 자주색을 나타낸다. 시료를 50 ul를 취하여 1% hydroxylamine 50 ul를 첨가, 혼합하여 HCl을 이용하여 pH를 1.2 ± 0.2 조절하였다. FeCl₃ (10% in 0.1 N HCl)을 500 ul를 첨가 혼합 후, 분광광도계를 이용하여 파장 530 nm에서 acetylcholine (ng/mg protein)의 활성을 측정하였다.

6. 아세틸콜린(ACh) 관련효소의 활성 측정

1) 콜린아세틸트랜스퍼라아제(ChAT)의 활성

Ellman(1959)의 방법에 의한 DTB에 의한 기질로서 acetyl-CoA를 이용하여 반응을 생성하여 이 기질시약의 흡수가 감소하는 것을 이용한 방법으로 뇌세포의 핵분의 콜린아세틸트랜스퍼라아제(choline acetyltransferase: ChAT)의 측정은 0.2 mM acetyl-CoA, 10 mM choline chloride, 0.2 M KCl, 10 mM potassium phosphate with 1 mM EDTA를 각각 0.2 ml씩 첨가·혼합하여 총 0.8 ml의 부피로 만든 다음 choline acetyltransferase을 1 ul, cytosol 100 ul, 1 M Tris buffer 190 ul, DTB(5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoate)를 5 ul, 20% TCA(trichloroacetic acid) 250 ul의 양으로 각각 첨가·혼합하여 분광광도계를 이용해 파장 412 nm에서 2분 간격으로 ChAT의 활성을 측정하였다.

2) 아세틸콜린에스테라아제(AChE)의 활성 측정

뇌세포에서 아세틸콜린에스테라아제(acetylcholinesterase

: AChE) 활성 측정은 Galgani 등(1992)와 Hallak 등(1987)의 방법을 조합하여 측정하였다. 각 microplate well에 0.1 M Tris buffer, pH 8.0(Trizma HCl + Trizma base)을 300 ul, 0.01 M dithionitrobenzoic acid (DTNB) 20 ul, enzyme suspension(상층액) 10 ul을 연속적으로 첨가한다. 그리고 흡광도 측정직전에 기질시약인 0.1 M acetylthiocholine chloride 10 ul을 첨가한다. Microplate reader (ELISA reader)를 이용하여 405 nm에서 흡광도 변화를 5분동안 관찰하여 AChE의 활성(unit/min/mg protein)을 측정하였다.

7. 모노아민옥시다아제(MAO)의 활성 측정

모노아민옥시다아제(monoamineoxidase: MAO)-B의 활성 측정은 Kalaria 등(1987)의 방법에 따라 H₂O₂의 생성능을 기초로 측정하였다. 각 시험관에 100 mM Na-Pi buffer (pH 7.4)용액 460 ul, 30 mM sodium azide용액 70 ul, brain homogenates (mitochondria) 100 ul를 넣은 후 기질시약인 10 mM benzylamine을 70 ul을 넣으면서 37°C 항온수조에서 30분간 가온시킨다.

그리고 항온수조에서 시험관을 꺼내면서 1.8 mM 2,2'-azino-bis (3-ethyl benzthiazoline-6-sulfonic acid) 500 ul을 넣는다. 5초 후 저온상태로 보관되어 있는 5 units horseradish peroxidase 50 ul을 넣는 동시에 5초간 잘 혼합시킨다. 10초가 지난 후 0.75 M hydrochloric acid containing 5% NaDodSO₄ (sodium dodecyl sulfate) 250 ul을 각 시험관에 넣으면서 다시 5초간 잘 혼합시킨다. 기질시약인 10 mM benzylamine을 넣지 않은 blank를 대조로 하여 분광광도계를 이용하여 414 nm에서 흡광도를 측정하여 MAO-B 활성을 측정하였다.

8. 분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test(Steel 등, 1960)로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 리포푸신의 생성 억제효과

흔히 노화색소로 부르고 있는 리포푸신(lipofuscin : LF)은 연령의 증가에 따라 얼굴 등 피부를 비롯한 여러 가지 장기에 침착하는 노화색소 알려져 있기 때문에 LF의 생성량은 바로 노화의 지표로 사용되고 있다. 간장 및 뇌조직중의 LF의 침착에 미치는 실크 피브로인(SFP) 투여의 영향을 평가하여 보면 Table 1과 같다.

우선 간장조직에서 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 리포푸신(lipofuscin : LF)의 생성량은 0.77±0.05 및 0.75±

Table 1. Effects of SFP on lipofuscin (LF) levels in liver and brain membranes of SD rats for 6 weeks

Organs	Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Liver	0.87±0.05 ^a	0.77±0.05* (88.5%) ^b	0.75±0.03** (86.2%)
Brain	1.20±0.07	0.98±0.07** (81.7%)	0.94±0.06*** (78.3%)

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; ^aMean±SD(ug/mg protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.01 compared with control group.

0.03 ug/mg protein으로서 대조그룹(0.87±0.05 ug/mg protein : 100%) 대비 88.5% 및 86.2%로서, 각각 11.5% 및 13.8%의 매우 효과적인 LF의 축적 감소효과가 인정되었다. 그러나 매우 민감한 뇌조직에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 LF의 생성량은 0.98±0.07 및 0.94±0.06 ug/mg protein으로서 대조그룹(1.20±0.07 ug/mg protein : 100%) 대비 81.7% 및 78.3%로서, 각각 18.3% 및 21.7%의 매우 효과적인 LF의 축적 억제효과가 인정되었다. 그만큼 민감한 뇌조직에서 LF의 침착을 효과적이 전보(Choi et al., 2000b-c)의 뽕잎 추출물(MLE) 및 누에분말(SWP)의 투여효과보다 크다는 사실은 실크 피브로인의 생리활성효과를 입증한다고 말할 수 있다.

2. 아세틸콜린(ACh)의 함량 변화

아세틸콜린(acetylcholine : ACh)은 뇌조직중에 존재하는 가장 중요한 신경전달물질로 알려져 있다. 아세틸콜린의 생성에 미치는 실크 피브로인 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 영향을 비교하여 보면 Table 2에서 보는 바와 같다.

SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹에서 ACh의 함성은 37.19±2.96 및 39.44±3.44 ng/mg protein으로서 대조그룹(36.12±3.10 ng/mg protein : 100%) 대비 103.0% 및 109.2%로서, 각각 3.0% 및 9.2%나 ACh의 함성을 촉진하고 있었다. 따라서 전보(Choi et al., 2000b-c)에서 뽕잎 추출물(MLE) 및 누에분말(SWP)의 투여효과와는 현저히 달리 실크 피브로인의 투여에 의하여 ACh의 함성이 촉진된다는 사실은 SFP의 생리활성이 매우 효과적임을 알 수 있었다.

Table 2. Effect of SFP on acetylcholine (ACh) levels in brain of SD rats for 6 weeks

Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
Brain homogenate		
36.12±3.10 ^a	37.19±2.96 (103.0%) ^b	39.44±3.44 (109.2%)

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; ^aMean±SD(ng/mg protein) with 7 rats per group; ^bPercent of control values.

Table 3. Effects of SFP on choline acetyltransferase (ChAT) and acetylcholinesterase (AChE) activities in brain of SD rats for 6 weeks

Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
ChAT activity(unit/mg protein)		
5.74±0.42 ^a	5.88±0.60(102.4%) ^b	5.91±0.42(103.0%)
AChE activity(unit/mg protein/min)		
251.0±16.9	262.6±15.0(104.6%)	266.9±13.5(106.3%)

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; ^aMean±SD with 7 rats per group; ^bPercent of control values.

3. ACh 관련효소 활성의 영향

그렇다면 ACh의 합성 및 분해에 관계하는 효소로서 콜린아세틸트랜스퍼라아제(choline acetyltransferase : ChAT) 및 아세틸콜린에스테라아제(acetylcholinesterase : AChE)의 활성은 실크 피브로인 SFP-2.5 및 SFP-5.0의 투여에 의하여 어떤 영향을 받을 것인지 흥미로운 사실이 아닐 수 없다. ACh 관련 두 가지 효소로서 ChAT 및 AChE의 효소활성에 미치는 SFP 투여의 영향을 비교하여 보면 Table 3과 같다.

ACh의 합성에 관계하는 ChAT의 활성을 비교하여 보면 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹에 의한 ChAT 활성은 5.88±0.60 및 5.91±0.42 unit/mg protein으로서 대조그룹(5.74±0.42 unit/mg protein : 100%) 대비 102.4% 및 103.0%로서, 각각 2.4% 및 3.0%의 약간의 효소활성의 증가효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다.

또한 뇌조직의 시냅스(synapse)간의 신경전달에 깊이 관계하고 있는 AChE 효소의 활성에 미치는 SFP의 투여효과를 비교하여 보면 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 AChE효소의 활성은 262.6±15.0 및 266.9±13.5 unit/mg protein/min으로서 대조그룹(251.0±16.9 unit/mg protein/min : 100%) 대비 104.6% 및 106.3%로서 SFP의 투여에 의하여 상당한 AChE 효소의 활성 증가효과가 인정되어 기억 학습 등 지능발달에 어느 정도 관계할 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 신경전달물질로서 아세틸콜린(ACh)의 생성, ACh를 합성하는 콜린아세틸트랜스퍼라아제(ChAT) 효소, 및 분해효소로서 신경전달에 관계하는 아세틸콜린에스테라아제(AChE)의 활성이 전보(Choi *et al.*, 200b-c)의 뽕잎 추출물(MLE)이나 누에분말(SWP)의 투여와는 비교가 안될 정도로 ACh 및 그 관련효소로서 ChAT와 AChE의 활성이 증가된다는 사실은 매우 흥미로운 사실로서, 실크 피브로인이 어떤 형태로든 신경전달의 발현 및 보존에 관여할 가능성이 충분히 있다고 판단된다.

Table 4. Effect of SFP on monoamine oxidase-B (MAO-B) activity in brain of SD rats for 6 weeks

MAO-B activity		
Control (7)	SFP-2.5 (7)	SFP-5.0 (7)
4.30±0.21 ^a	3.89±0.27*(90.5%) ^b	3.76±0.22***(87.4%)

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; ^aMean±SD(nmol/mg protein/min) with 7 rats per group; ^bPercent of control values; *p<0.05; ***p<0.001 compared with control group.

4. MAO-B 효소활성의 변화

도파민(DA)이나 세로토닌(5-HT), 노르아드레날린(NA) 등 카테콜아민계 신경전달물질의 파괴효소로 알려진 모노아민옥시다아제-B(monoamine oxidase-B : MAO-B) 효소의 활성에 미치는 실크 피브로인(SFP)의 투여효과를 비교하여 보면 Table 4와 같다.

SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 MAO-B 효소의 활성은 3.89±0.27 및 3.76±0.22 nmol/mg protein/min으로서 대조그룹(4.30±0.21 nmol/mg protein/min : 100%) 대비 각각 90.5% 및 87.4%로서, 각각 9.5% 및 12.6%나 상당히 효과적인 MAO-B 활성의 억제효과가 인정되었다. 따라서 MAO-B는 카테콜아민계 신경전달물질을 파괴하기 때문에 MAO-B의 활성 억제효과는 매우 중요한 의미를 갖는다고 하겠다. 아울러 이러한 사실은 전보(Choi *et al.*, 200b-c)의 뽕잎 추출물(MLE) 및 누에분말(SWP) 투여보다 MAO-B의 활성을 더욱 효과적으로 억제할 수 있다는 사실은 매우 흥미로운 사실이 아닐 수 없다. 그만큼 신경전달물질의 파괴를 방지할 수 있기 때문이다.

요 약

실크 피브로인 분말(SFP)을 SD계 랫트에 하루 2.5 및 5.0 g/kg BW로써 6주간 투여하여 뇌조직의 리포푸신의 침착, 아세틸콜린(acetylcholine : ACh) 및 관련효소의 활성에 미치는 영향을 분석·평가하였다. 우선 해독작용과 관계가 깊은 간장조직의 경우, SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹은 대조그룹 대비 각각 11.5% 및 13.8%의 리포푸신(LF)의 축적 억제효과로서, 두 투여그룹이 다같이 매우 효과적이고 유의적인 LF의 축적 억제효과가 인정되었다. 그러지만, 매우 민감한 뇌조직에서는 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹은 대조그룹 대비 각각 18.3% 및 21.7%의 매우 효과적인 LF의 축적 억제효과가 인정되었다.

뇌의 가장 중요한 신경전달물질로서 ACh의 생성에 미치는 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹의 영향은 대조그룹 대비 각각 3.0% 및 9.2%의 상당히 효과적으로 ACh의 생성

증가효과가 인정되었다. 또한 ACh의 합성에 관계하는 콜린아세틸트랜스퍼라아제(ChAT) 효소의 활성뿐만 아니라 시냅스(synapse)사이의 신경전달의 발현에 관계하는 ACh의 분해효소인 아세틸콜린에스테라아제(AChE)의 활성은 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹에서 각각 2.4% 및 3.0%, 4.6% 및 6.3%의 활성 증가효과가 나타났지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 그러나 카테콜아민계 신경전달물질의 파괴에 관계하는 MAO-B 효소의 활성은 SFP-2.5 및 SFP-5.0 투여그룹에서 각각 9.5% 및 12.6%의 MAO-B 효소의 활성을 매우 효과적으로 억제하여 카테콜아민계 신경전달물질을 잘 보존할 수 있을 것으로 기대된다. 이상의 결과는 SFP-5.0 투여그룹의 ACh의 생성을 제외하고는 ACh 및 관련효소로서 ChAT 및 AChE의 활성에는 유의적인 효과는 없었지만, 신경세포를 파괴하는 LF의 축적을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 카테콜아민계 신경전달물질을 파괴하는 MAO-B의 활성을 효과적으로 억제하기 때문에 누에관련산물중에서 실크 피브로인의 투여가 뇌기능을 매우 효과적으로 보호할 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- Cho, M. R. and Choue R. W., Chung, S. H. and Ryu, J. W. (1998). Effects of silkworm powder on blood glucose and lipid levels in NIDDM(type-II) patients. *Korean J. Nutr.* 31(7) : 1139-1150.
- Cho, M. R. and Choue R. W. (1998). A study of folk remedies in type-II diabetic patients. *Korean J. Nutr.* 31(7) : 1151-1157.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1995). Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med.* 18(2) : 133-139.
- Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. H., Kim, D. W., Lee, J. S., Ryu, K. S. and Lee, W. C.(1999a). Effects of mulberry (*Morus alba* L.) leaf extract on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.*, 41(3) : 135-140.
- Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. H., Kim, D. W., Lee, J. S., Lee, H. S. and Ryu, K. S.(1999b). Effects of silkworm (*Bombyx mori* L.) on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.*, 41(3) : 141-146.
- Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. H., Kim, D. W., Lee, J. S. and Lee, Y. W.(1999c). 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.
- Choi, J. H. and President of RDA (1999d). Functional anti-diabetic drink. Korean Patent Application No. 99-61216(Dec. 23, 1999).
- Choi, J. H. and President of RDA (2000a). Functional anti-diabetic drink. Japanese Patent Application No. 2000-98434(Mar. 31, 2000).
- Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. H., Kim, D. W., Lee, J. S. and Lee, Y. W. (2000b). Effects of mulberry (*Morus alba* L.) leaf extract on acetylcholine and its related enzymes in brain of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.*, 42 (submit).
- Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. H., Kim, D. W., Lee, J. S. and Lee, W. Y. (2000c). Effects of silkworm (*Bombyx mori* L.) leaf extract on acetylcholine and its related enzymes in brain of SD rats. *Korean J. Seric. Sci.*, 42 (submit).
- Chung, S. H., Yu, J. H., Kim, E. J. and Ryu, K. S. (1996). Blood glucose lowering effect of silkworm. *Bull. K.H. Pharma. Sci.*, 24 : 95-100.
- Chung, S. H., Kim, M. S. and Ryu, K. S. (1997). Effect of silkworm extract on intestinal α -glycosidase activity in mice administered with a high carbohydrate-containing diet. *Korean J. Seric. Sci.*, 39(1) : 86-92.
- Ellman, G. L., Courtney, K. O., Andres, V. and Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7 : 88-95.
- Fletcher BL, Dillard CJ and Tappel SAL (1973) Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Anal. Biochem.*, 52 : 1-9.
- Galgani F, Bocqun G and Cadiou Y (1992) Evidence of variation of cholinesterase activity in fishes along a pollution gradient in the north sea. *Mar. Ecol, Prog. Ser.*, 19 : 1-6.
- Hallak, M. and Giacobini, E. A. (1987). Comparison of the effects of two inhibitors on brain cholinesterase. *Neuropharmacol* 26(6) : 521-530.
- Kalaria RN, Mitchell MJ and Harik SI(1987) Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetra-hydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc Natl Acad Sci* 84 : 3521-3525
- Kang, J. O. and Kim, K. S. (1995). The effect of dry edible leaves feeding on serum lipids of hypercholesterolemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 24(4) : 502-509.
- Kim, S. Y., Lee, W. C., Kim, H. B., Kim, A. J. and Kim, S. K. (1998). Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27(6) : 1217-1222.
- Lee, H. S., Chung, K. S., Kim, S. Y., Ryu, K. S. and Lee, W. C. (1998). Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan-induced hyperglycemic mice. *Korean J. Seric. Sci.*, 40(1) : 38-42.
- Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, L. A. and Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275.
- Odaka, H., Miki, N., Ikeda, H. and Matsuo, T. (1992). Effect of disaccharidase inhibitor, AO-128, on postprandial hyperglycemia in rats. *J. Japan Soc. Nutr. Food Sci.* 45(1) : 27-31.
- Park, I. K., Lee, J. O., Lee, H. S., Seol, K. Y. and Ahn, Y. J.(1988). Cytotoxic activity of *Bombyx mori* and *Morus alba* derived materials against human tumor cell lines. *Agric. Chem. Biotech.*, 41(2) : 187-190.
- Ryu, K. S., Lee, H. S., Chung, S. H. and Kang, P. D. (1997). An activity of lowering blood-glucose levels according to preparative conditions of silkworm powder. *Korean J. Seric. Sci.*, 39(1) : 79-85.
- Shiomi, S., D. Habu, Takeda, T., Nishiguchi, S., Kuroki, T., Tanaka, T., Tsuchida, K. and Yamagami, S. (1998). Signi-

- ficance of peptidoglycan in patients with chronic liver diseases. *J. New Remedies & Clinics*, **47**(1) : 32-37.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1960). Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York.
- Yen, G. C., Wu, S. C. and Duh, P. D. (1996). Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J. Biol. Chem.* **261** : 12879-82.
- 文 豊 (1987). 마우스의 급성알코올성간장애에對するアラニンとオルニチン投與による保護作用の機序. 慈惠醫大誌 **102** : 1231-1241.
- 杉山公男 (1989). 알코올代謝による含硫아미노酸의重要性 日本榮養食糧學會誌, **42** : 353-363.
- 岸本 康 (1973). 生命をつくる物質 講談社(東京) 發刊, 220~226.
- 陸 旋 秋山大三郎 平林 潔 (1994). 絹粉末の作製とその物性. 日本蠶絲學會誌, **63** : 21-27.
- 平林 潔 (1989a). 絹の機能化. 高分子學會誌 **38** : 1062-1065.
- 平林 潔 (1989b). 絹の可溶化と その應用. 바이오인ダストリー, **16** : 27-32.
- 平尾和子 木村由里子 五十嵐喜治 (1988). 絹絲から調製したフィブロイン溶液の氣泡特性と スポンジケキへの利用. 日本食品科學工學會誌. **45**(11) : 692-699.
- 平林 潔 陳 開利 勢 穀 (1991). 絹フィブロインの食品素材としての利用. *New Food Industry* **33**(11) : 1-4.
- 陳 開利・井浦克弘・相澤龍司・平林 潔(1991). 加水分解した絹蛋白質の消火. 日蠶雜 **60**(5) : 402-403.