

뽕잎 당단백질의 혈중지질 저하 효과 및 항산화 효과

심재웅¹ · 임계택^{2*}

¹전남대학교 생물공학연구소 분자생화학 교실 및 동물유해인자 제어를 위한 전문인력 양성 사업팀

²전남대학교 생물공학연구소 분자생화학 교실

Glycoprotein Isolated from *Morus indica* Linne Enhances Detoxicant Enzyme Activities and Lowers Plasma Cholesterol in ICR Mice

Jae-Uoong Shim¹ and Kye-Taek Lim^{2*}

¹Molecular Biochemistry Laboratory, Biotechnology Research Institute and Center for the Control of Animal Hazards Using Biotechnology, Chonnam National University

²Molecular Biochemistry Laboratory, Biotechnology Research Institute

Abstract The objective of this study was to evaluate the effects of glycoprotein isolated from *Morus indica* L. (MIL) on plasma cholesterol levels and on the activities of hepatic detoxicant enzymes in ICR mice. MIL glycoprotein evidenced good scavenging activities against lipid peroxy radicals. When the mice were treated with Triton WR-1339, the levels of total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol in plasma increased significantly by 53.9 and 47.5 mg/dL, respectively, as compared to the controls. However, when pretreated with MIL glycoprotein (100 µg/mL), ICR mice showed marked reductions to 55.4 and 47.0 mg/dL, as compared to Triton WR-1339 treatment alone. Interestingly, high density lipoprotein cholesterol levels were unchanged. These results indicate that the MIL glycoprotein is capable of scavenging lipidperoxy radicals, lowering plasma lipid levels, and increasing the activities of detoxicant enzymes in the mouse liver.

Key words: glycoprotein, *Morus indica* L., cholesterol, detoxicant enzymes, antioxidant

서 론

산소는 호흡을 하는 생물인 인체 내에서 꼭 필요한 원소이지만, 외부적인 자극이나 에너지 대사 과정 중에 불완전하게 환원될 때 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 산화력이 매우 강하기 때문에 인체 내에서 제거되지 못하면 산화적 스트레스를 유발하게 되며 이러한 산화적 스트레스는 생체내의 지질과산화물을 유도하고 단백질, 세포막 및 DNA 등을 손상시켜 여러 성인병의 원인으로 알려져 있고 또한 이렇게 세포의 손상이 축적되면서 발생하는 노화 및 다양한 퇴행성 질병의 원인으로 받아들여지고 있다(1,2). 특히, 지질대사과정 중 ROS의 생성은 체내 고중성지방혈증이나 고지혈증을 유발하여 동맥경화, 고혈압, 비만, 당뇨와 같은 이차적인 질병을 일으키게 된다(3).

항산화 방어기전의 핵심기관인 간은 혈액에서 lipoprotein의 이동과 콜레스테롤의 합성에 중요한 역할을 한다. Lipoprotein의 운반에서 LDL과 HDL이 특히 중요하게 떠오른다. VLDL의 변형이며 콜레스테롤과 콜레스테롤 에스터를 많이 포함한 LDL은 HDL

이 콜레스테롤을 많이 함유하지 않아 동맥경화를 억제하여 좋은 콜레스테롤로 알려진 반면, 과도한 콜레스테롤 상태에서 동맥경화의 위험성을 높이기 때문에 나쁜 콜레스테롤로 알려져 있다(4).

콜레스테롤은 동물세포막을 구성하는 필수성분으로 스테로이드 호르몬, 비타민 D₃, 담즙산 등의 전구체로 이용되는 중요한 역할을 한다(5). 그러나 과도한 섭취로 인해 혈액과 조직의 지질 조성에 이상이 생겨 혈관에 축적이 되면 동맥경화, 고지혈증 등 심장순환기계 질환을 일으킨다(6).

Morus Indica Linne(MIL, 뽕)는 열대지방에서 온대지방까지 널리 분포하고 있는 식물로 오래 전부터 식용 혹은 약용으로 널리 이용되었으며, 세계최초의 의약서인 신농초본경과 허준의 동의보감에 그 약효가 기록되어 있다(7). 예로부터 뽕나무는 잎뿐만 아니라 어린 가지나 뿌리, 열매 등 여러 부분을 약용으로 사용하고 있었으며 뽕잎(Foil Moro), 오디(Fructus Mori)에 대하여 과학적으로도 보고되었다(8,9). 뽕잎 추출물은 총 콜레스테롤(TC)과 low-density lipoprotein(LDL)을 낮추고 high-density lipoprotein(HDL)을 높여주어 결과적으로 나쁜 콜레스테롤의 합성을 억제하는 효과가 보고되었으며, 또한 생리활성물질로 flavonoid 성분의 rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin과 alkaloid 성분으로서 α-glucosidase 저해활성을 갖는 1-deoxynojirimycin도 함유하고 있는 것으로 보고되었다(7,10,11).

소당류나 다당류가 공유결합을 이루고 있는 당단백질은 자연계에서 많이 발견되는 단백질로 세포의 표면이나 세포 외부에 널리 분포하여 신호 전달과 외부물질 인식 등의 역할을 수행하고 있다. 특히 느릅나무나 까마중, 무화과, 옷나무와 같은 식물로부터

*Corresponding author: Kye-Taek Lim, Molecular Biochemistry Laboratory, Biotechnology Research Institute, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
Tel: 82-62-530-2115
Fax: 82-62-530-0485
E-mail: ktlim@chonnam.ac.kr
Received September 2, 2008; revised September 24, 2008; accepted September 24, 2008

티 추출한 당단백질에 대하여 오랜 시간 연구된 바에 따르면 항산화 능력과 항염증, 암세포의 사멸 등 여러 독성에 대하여 억제 능력을 가진 것으로 밝혀졌다(12,13). 특히 무화과나 까마중 당단백질은 콜레스테롤 억제에 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(4,12).

따라서 본 연구에서는 *in vivo*에서 뽕잎 당단백질의 효과를 알아보기 위하여 생쥐에 MIL glycoprotein을 섭취시킨 후 Triton WR-1339을 투여시킨 후 혈중 콜레스테롤의 수치 변화와 superoxide dismutase, catalase, GPx를 측정하여 항산화 효과를 비교 검토하였다.

재료 및 방법

시약

본 실험에서 사용된 시약 중 콜레스테롤, Triton WR-1339, dextran sulfate, ethylene diamide tetraacetic acid(EDTA), magnesium chloride, β -NADPH L-glutathione reduced, nitro blue tetrazolium(NBT) 등은 미국 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, 그 외 사용된 시약은 순도가 높은 등급을 구입하여 사용하였다.

뽕잎 당단백질 분리 및 정제

Morus indica Linne(MIL, 뽕)은 전라남도 장성 재래시장에서 구입하여 그 잎을 잘게 부순 후, 99% 에탄올에 3개월간 침지하여 진공 농축하였다. 농축이 끝난 액상 뽕잎 추출물을 동결 건조하여 수확물을 얻었다. 얻어진 수확물을 증류수로 다시 용해시켜 80% ammonium sulfate로 단백질을 침전시킨 후, tris buffer(pH 7.2)에 하루 동안 투석하고, 그 다음날 동결 건조시켜 crude extract를 얻었다 동결 건조시킨 sample은 15% SDS가 함유된 polyacrylamide gel에서 전기영동을 하고, 확인된 단백질 band를 electroluter로 용출한 후, 동결 건조시켜, 순수한 뽕잎 당단백질을 얻으며, 이를 -20°C 에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

실험동물 및 시료채취

실험동물은 5주령의 ICR계 수컷 생쥐로 $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ 로 조절된 사육실에서 상품화된 마우스용 사료와 물을 자유롭게 먹게(*ad libitum*) 하고 사육환경에 적응시킨 후 체중 35-40 g의 생쥐만을 선별하여 사용하였다. 생쥐를 5그룹으로 분리하고 각 그룹의 쥐에게는 PBS에 용해한 뽕잎 당단백질을 20 mg/kg(그룹 3,5)과 10 mg/kg(그룹 4)에 1주일 동안 1일 1회 일정시간에 카테터를 이용하여 섭취시켰으며, 대조군의 경우는 PBS(그룹 1,2)만 투여하였다. 생쥐에게 고지혈증을 유발하기 위하여 Triton WR-1339(그룹 2,4,5)를 PBS에 용해하여 생쥐 체중 kg당 400 mg 수준으로 1회 복강 주사하였으며, MIL glycoprotein의 최종 섭취는 Triton WR-1339 투여 1시간 전으로 하였다. Triton WR-1339 투여 18시간 뒤에 실험동물을 ether로 마취시킨 후 심장 천공법에 의해 혈액을 채취하고 개복하여 간을 적출하였다. 채취한 1 mL의 혈액의 지질산화를 지연시키기 위해 PBS에 용해한 50 mM EDTA 100 μL 혈액에 첨가하고 10분간 정치시킨 후 10,000 \times g(11,554 rpm)로 원심분리하여 상층액을 수집하여 -70°C 에서 저장하여 혈장 지질 분석실험에 사용하였다. 한편 개복하여 적출한 1.5 g의 간 조직을 0.25 M sucrose와 1.5% potassium chloride를 함유한 10 mM EDTA(pH 7.4) 완충용액에 넣고 균질기로 분쇄한 후 4°C 에서 9,000 \times g(10,961 rpm)에서 15분 동안 원심분리하였다. 원심분리된 용액 중 상층액 1 mL를 취하여 catalase의 활성 측정에 사용하였고, 그 상층액을

다시 15,000 \times g(14,151 rpm)로 60분 동안 원심분리한 후 상층액을 각각 1 mL씩 취하여 superoxide dismutase와 glutathione peroxidase의 활성 측정에 사용하였다.

혈중 콜레스테롤 함량 측정

총 HDL-콜레스테롤은 EDTA가 들어있는 1 mL의 혈장에 100 μL 의 반응액 A[dextran sulfate(MW 50,000 \pm 5000: 20 g/L), 1 M $\text{MgCl}_2 \cdot (6\text{H}_2\text{O})$ 을 각각 1:1로 혼합]를 첨가하여 잘 혼합한 뒤, 10분 동안 정치하고 2분간 10,000 \times g(11,554 rpm)로 원심분리하여 상층액에서 회수하였다. 한편, HDL subclass(apoprotein A-1과 A-2)는 반응액 A가 처리된 0.5 mL의 총 HDL-콜레스테롤 상층액에, 50 μL 의 반응액 B[dextran sulfate(MW 50,000 \pm 5000: 40 g/L), 2 M $\text{MgCl}_2 \cdot (6\text{H}_2\text{O})$ 을 각각 1:3로 혼합]를 잘 혼합한 후, 15분간 정치하고 2분간 10,000 \times g(11,554 rpm)로 원심분리 후 상층액을 회수하여 분리하였다. 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤에 대한 각각의 양을 측정하기 위하여, 1 mL의 반응액 C [FeCl_3 solution과 18 M H_2SO_4 를 각각 1:100(v/v)으로 혼합]에 각각 100 μL 의 총 HDL-콜레스테롤과 HDL subclass를 넣고, 4°C 에서 1시간 동안 정치한 후 560 nm의 파장에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였으며, 환산식에 따라 그 측정치를 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 값으로 환산하였다(14-16).

해독 효소 활성 측정

SOD 활성 측정: SOD의 활성도는 Beauchamp와 Fridovich(17)의 방법을 이용하였다. 20 μL 의 시료에 반응액[0.1 mM NBT, 50 mM sodium carbonate(pH 10.2), 0.1 mM EDTA]을 잘 혼합하고, 200 μM riboflavin을 처리하여 최종부피가 1 mL가 되게 한다. 이후 2개의 40W의 형광등 20 cm 떨어진 위치에서 15분간 반응시킨 후 560 nm 파장에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

CAT 활성 측정: CAT의 활성도는 Thomson 등(18)의 방법을 이용하였다. 먼저 200 μL 의 50 mM phosphate buffer(pH 7.4)에 20 μL 의 시료를 혼합하고 30°C 에서 5분간 정치시킨다. 이곳에 200 μL 의 100 mM sodium perborate(pH 7.4)를 잘 혼합한 후 2분 동안 220 nm의 파장에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

GPx 활성 측정: GPx의 활성도는 Mohandas 등(19)의 방법을 이용하였다. 먼저 20 μL 의 시료에 반응액(0.05 M phosphate buffer (pH 7.0), 1 mM EDTA, 1 mM sodium azide, 1 unit glutathione, 0.25 M H_2O_2)을 잘 혼합하고 37°C 에서 10분간 정치시킨다. 0.2 M의 NADPH 처리한 후 340 nm 파장에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

체중 및 간 무게 측정

체중 및 간의 무게 변화를 알아보기 위해 실험 식이 개시일로부터 충분한 양의 사료와 물을 급여하여 사육하였다. 실험 당일 전날에 생쥐의 체중을 측정하였고, 실험당일 생쥐의 체중을 측정하였고, 개복하여 간을 적출한 뒤 생리식염수를 이용하여 혈액과 수분을 제거한 다음 간 무게를 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며, 실험결과는 SPSS program(ver 12.0)의 one-way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여 분산 분석한 후 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

혈장에서 콜레스테롤 수준

생쥐에서 MIL glycoprotein이 혈장 콜레스테롤의 수준에 영향을 미치는지 알아보기 위하여, MIL glycoprotein을 1주일 동안 섭취시키고, 혈장에서의 콜레스테롤 수준을 측정하였다. Table 1은 MIL glycoprotein 처리로 인한 혈장 내의 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤의 함량들을 보여주고 있다. PBS만 투여한 대조군에서 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤의 함량은 86.2, 137.2, 23.0, 95.3 mg/dL이었다. 이에 비하여 MIL glycoprotein 20 mg/kg를 섭취시킨 쥐의 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 69.4, 107.8, 41.8, 87.3 mg/kg을 함유하고 있는 것으로 나타나 대조군에 비하여 HDL을 제외한 콜레스테롤의 수치를 낮춘 것을 알 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 MIL glycoprotein이 생쥐의 혈장 콜레스테롤의 수준을 억제할 수 있을 것이라는 가능성을 확인할 수 있었다.

위의 가능성을 토대로 하여 MIL glycoprotein이 고지혈증을 나타내는 생쥐에서도 그와 같은 효능을 갖는지 확인하기 위해, 간에서 콜레스테롤 합성을 유도하여 혈장 콜레스테롤 및 트리글리

Table 1. Effect of MIL glycoprotein on plasma lipid levels in mice

	Control	FCL glycoprotein (mg/kg/head)
		20
Cholesterol (mg/dL)		
TG	86.2±2.3	69.4±1.7*
TC	137.2±12.1	107.8±9.6*
HDL	23.0±2.1	41.8±9.8*
LDL	95.3±3.4	87.3±4.1*
Relative weight (%)		
Body (day 1)	100±0.2	103±0.2
Liver (day 15)	4.6±0.4	5.4±0.5

Results are expressed as mean±SD (n=5); (*) and (**) represent a significant difference compared with the control, $p < 0.05$ and < 0.01 , respectively. TG, triglyceride; TC, total cholesterol; HDL, high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein.

Table 2. Hypolipidemic effect of SNL glycoprotein in Triton WR-1339-induced mice

Triton WR-1339	Triton WR-1339+FCL glycoprotein (mg/kg/head)		
	10	20	
Cholesterol (mg/dL)			
TG	216.4±16.7	152.4±7.1*	109.4±9.4**
TC	247.4±8.9	208.7±5.2*	173.7±9.9**
HDL	91.4±6.5	107.3±3.4*	121.4±6.4**
LDL	109.9±6.9	87.4±5.7*	69.0±6.1**
Relative weight (%)			
Body	93.3±0.1	107.9±0.1	98.8±0.1
Liver	4.4±0.4	4.7±0.7	4.6±0.5

Results are expressed as mean±SD (n=5); (*) and (**) represent a significant difference between MIL glycoprotein treated with Triton WR-1339 and Triton WR-1339 alone, $p < 0.05$ and < 0.01 , respectively. TG, triglyceride; TC, total cholesterol; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein.

세라이드를 증가시키는 물질로서 비이온계 계면활성제 중의 하나로 잘 알려진, Triton WR-1339(400 mg/kg)를 투여하여 고지혈증을 유발한 다음 혈장 콜레스테롤 수준의 변화를 알아보았다 (20,21). Table 2에서 보듯이 Triton WR-1339를 투여한 그룹의 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 각각 216.4, 247.4, 91.4, 109.9 mg/dL이었다. 그러나 10 mg/kg의 MIL glycoprotein을 섭취시킨 그룹의 트리글리세라이드, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 152.4, 208.7, 107.3, 87.4 mg/dL이 나왔으며 20 mg/kg의 처리에서는 109.4, 173.7, 121.4, 69.0 mg/dL의 수치를 나타내었다. 결과적으로 MIL glycoprotein을 섭취시킨 두 그룹에서는 Triton WR-1339만 투여한 그룹에 비하여 유의적인 억제효과를 나타내었다($p < 0.05$). 그리고 20 mg/kg의 농도로 MIL glycoprotein을 섭취시킨 후 Triton WR-1339를 투여한 그룹의 경우 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤이 유의적 억제효과를 보였지만 두 그룹 다 HDL-콜레스테롤의 경우는 크게 유의성을 보일만한 영향을 주지 못하였다.

간 항산화계 해독효소 활성의 변화

혈중 콜레스테롤을 낮추는 효과가 있는 MIL glycoprotein이 간의 항산화계 해독효소 활성의 증가와 연관이 있는지 알아보기 위해 간 조직을 적출하여 SOD, CAT, GPx의 활성도를 측정하였다. 항산화 효소의 하나인 superoxide dismutase(SOD)는 세포에 해로운 환원산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된 H_2O_2 는 peroxidase나 catalase에 의해 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다. 생체의 방어시스템을 파괴하는 자유 라디칼의 생성과 이에 따른 과산화지질의 생성을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라 생체 내에서 자유 라디칼에 대한 제거 작용을 하는 효소로 catalase, SOD 그리고 GPx가 알려져 있다(22,23). 먼저 SOD는 생체 이물질로 인하여 생성된 superoxide radical을 H_2O_2 로 바꾸어 주며, 여기서 생성된 H_2O_2 는 다시 GPx와 catalase의 작용에 의해 H_2O 로 바뀌어서 배설됨으로써 활성산소에 의한 산화적 손상으로부터 생체를 보호하는 효소이다(24).

Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3은 무처리군, Triton WR-1339만 처리한 군, MIL glycoprotein만 섭취한 군과 10 mg/kg 및 20 mg/kg의 MIL glycoprotein을 각각 섭취하고 Triton WR-1339를 투여하여 고지혈증을 유발시킨 군에서의 SOD, CAT, GPx 활성을 보여주고 있다. 각 효소의 활성에 있어서 Triton WR-1339만 처리한 군에서 SOD, CAT, GPx가 17.6, 25.6, 2%만큼 줄어들었다. MIL glycoprotein을 섭취시킨 쥐들 중에 Triton WR-1339를 투여시킨 군 사이에서는 MIL glycoprotein의 섭취량이 10 mg/kg 농도와 20 mg/kg 농도로 늘어남에 따라 SOD는 14.5, 13.2%가 증가한 것으로 보아 Triton WR-1339만 투여한 군들과는 유의성의 차이를 보였으나 MIL glycoprotein의 농도의 증가에 따른 활성의 증가는 보이지 않았다. CAT의 경우에는, Triton WR-1339만 투여시킨 군과 MIL glycoprotein도 섭취한 군에 있어서 섭취량이 10 mg/kg 농도와 20 mg/kg 농도로 늘어남에 따라 CAT는 17.8, 16.1%가 증가하였으나 MIL glycoprotein의 농도의 증가에 따른 활성의 증가는 보이지 않았다. GPx의 경우에는, MIL glycoprotein을 섭취시킨 군과 Triton WR-1339만 투여시킨 군 사이에서는 MIL glycoprotein의 섭취량이 10 mg/kg 농도와 20 mg/kg 농도로 늘어남에 따라 Triton WR-1339만 처리한 군에 비해 활성이 다소 증가하는 경향을 보여주었지만 그 유의성의 차이는 나타나지 않았다. 이에 대하여, MIL 당단백질이 SOD, CAT의 활성에 영향을 미치는 반

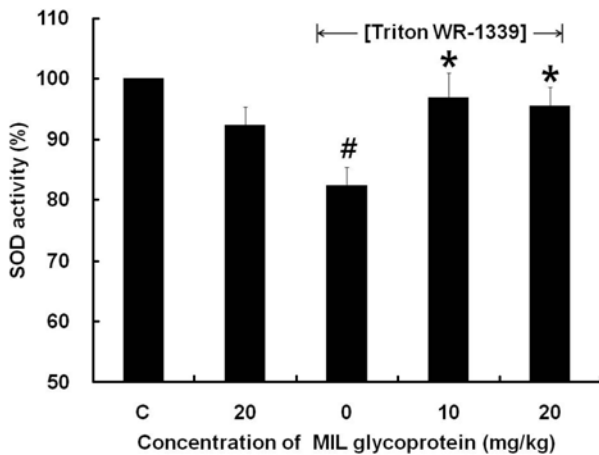


Fig. 1. Effects of MIL glycoprotein on SOD activity. The activities of SOD by with or without treatment of 10 mg/kg or 20 mg/kg of MIL glycoprotein were shown in Triton WR-1339-induced ICR mice liver. Specific activities of antioxidant enzymes in the livers of mice were measured at 560 nm using superoxide dismutase (SOD) assays as described in Materials and Methods. C: control, 0: 400 mg/kg of Triton WR-1339 only treated mice, 10: 10 mg/kg of MIL glycoprotein with 400 mg/kg of Triton WR-1339 treated mice, 20: 20 mg/kg of MIL glycoprotein with or without 400 mg/kg of Triton WR-1339 treated mice. Results were expressed as a percentage in each supernatant. (#) represents significant differences compared with the control, $p < 0.01$; (*) represent a significant difference between MIL glycoprotein treated with Triton WR-1339 and Triton WR-1339 alone, $p < 0.05$.

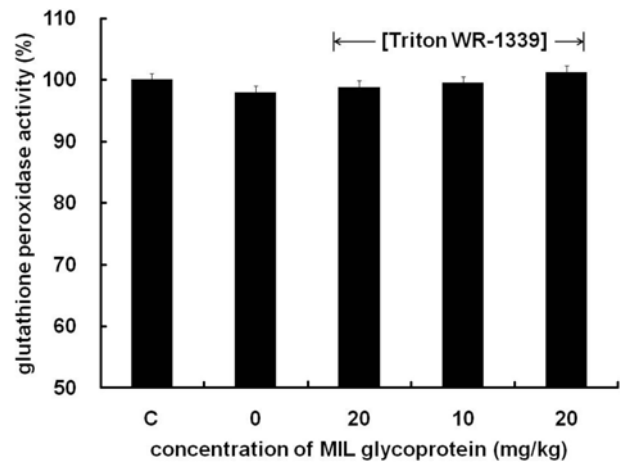


Fig. 3. Effects of MIL glycoprotein on glutathione peroxidase. The activities of glutathione peroxidase by with or without treatment of 10 mg/kg or 20 mg/kg of MIL glycoprotein were shown in Triton WR-1339-induced ICR mice liver. Specific activities of antioxidant enzymes in the livers of mice were measured at 340 nm using glutathione peroxidase (GPx) assays as described in Materials and Methods. C: control, 0: 400 mg/kg of Triton WR-1339 only treated mice, 10: 10 mg/kg of MIL glycoprotein with 400 mg/kg of Triton WR-1339 treated mice, 20: 20 mg/kg of MIL glycoprotein with or without 400 mg/kg of Triton WR-1339 treated mice. Results were expressed as a percentage in each supernatant. (#) represents significant differences compared with the control, $p < 0.01$; (*) represent a significant difference between MIL glycoprotein treated with Triton WR-1339 and Triton WR-1339 alone, $p < 0.05$.

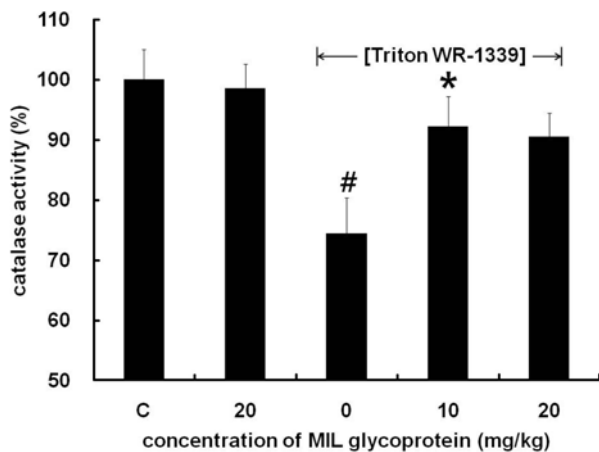


Fig. 2. Effects of MIL glycoprotein on catalase activity. The activities of catalase by with or without treatment of 10 mg/kg or 20 mg/kg of MIL glycoprotein were shown in Triton WR-1339-induced ICR mice liver. Specific activities of antioxidant enzymes in the livers of mice were measured at 220 nm using catalase assays as described in Materials and Methods. C: control, 0: 400 mg/kg of Triton WR-1339 only treated mice, 10: 10 mg/kg of MIL glycoprotein with 400 mg/kg of Triton WR-1339 treated mice, 20: 20 mg/kg of MIL glycoprotein with or without 400 mg/kg of Triton WR-1339 treated mice. Results were expressed as a percentage in each supernatant. (#) represents significant differences compared with the control, $p < 0.01$; (*) represent a significant difference between MIL glycoprotein treated with Triton WR-1339 and Triton WR-1339 alone, $p < 0.05$.

면, GPx에는 큰 영향을 주지 못하였음을 알 수 있었다. 이에 따라 MIL 당단백질이 SOD의 활성을 증가시켜주어 superoxide 라

디칼을 H_2O_2 로 바꾸는 데에 영향을 주며 또한, CAT의 활성에 영향을 주어 H_2O_2 를 H_2O 로 변화시켜주는 데에 영향을 주는 것으로 추측할 수 있다.

체중과 간 무게의 변화

생쥐의 생체 내에서 MIL glycoprotein의 섭취에 따른 상관성을 알아보기 위해 간 무게와 체중변화를 측정하였다. MIL glycoprotein을 섭취시킨 그룹들은 PBS만 섭취시킨 그룹들과 별 차이가 나타나지 않았다. 하지만 Triton WR-1339을 투여한 그룹들은 대체로 몸무게의 감소폭이 PBS만 섭취시킨 그룹보다 적게 나타났고, Triton WR-1339을 투여한 그룹들 사이에서도 MIL glycoprotein의 섭취량이 많을수록 몸무게의 감소량이 더 많아졌다.

요 약

본 연구는 콜레스테롤 억제효과가 밝혀진 빙잎에서 당단백질을 추출하여 과산화지질 라디칼 억제능력 및 생쥐의 혈장 콜레스테롤 수준과 간 해독효소 활성의 개선효과를 평가하였다. *In vivo*에서 생쥐에게 빙잎 당단백질을 20 mg/kg의 농도로 섭취시킨 후 콜레스테롤의 수치를 알아보고, 한편, Triton WR-1339를 투여한 생쥐 그룹에서 혈액 및 간 조직을 적출하여 혈장 콜레스테롤의 수준 변화 및 해독효소의 활성을 측정된 결과, 20 mg/kg의 농도로 빙잎 당단백질을 섭취시킨 생쥐그룹에서 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤의 수준이 급격히 감소하였고, HDL의 경우 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Triton WR-1339를 투여한 고지혈증을 유도한 생쥐 그룹에서도 빙잎 당단백질의 농도에 따른 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤의 유의적인 저하를 확인할 수 있었다. 간의 해독효소 중 항산화 기능을 가지고 있는 SOD,

CAT 그리고 GPx의 활성은 뽕잎 당단백질의 섭취에 의해 모두 증가하였으나 특히 SOD, CAT의 활성이 크게 나타났고, 그에 비하여 GPx는 그 유의적 차를 느끼기 어려운 정도의 변화 뿐이었다. 일반적으로, 천연물로부터 추출한 당단백질은 항산화 능력을 가지고 있고, 또한 이런 항산화제는 동맥 혈관조직이나 백혈구를 손상시키는 체내에서 발생된 ROS를 제거하고 체내 혈장지단백질 수준에 있어서 반비례적인 상관관계가 있으며, 결과적으로 혈장 콜레스테롤 수준을 억제할 수 있다고 추론할 수 있다(4,25,26). 따라서 이러한 결과에 미루어볼 때, 뽕잎 당단백질 역시 간 내 해독효소의 활성을 증가시킴으로써 체내의 ROS 수준을 감소시키고, 콜레스테롤의 수준을 낮추었으므로 뽕잎 당단백질의 역할이 다른 천연물 유래의 당단백질과 마찬가지로 지단백질과 반비례적인 상관관계가 있는 항산화제 역할을 수행할 수 있다고 사료된다. 앞으로 HMG-CoA reductase에 의한 콜레스테롤 생성과 그제 관련된 유전자 발현 및 그 기전을 분자생화학적인 수준에서 보충적인 연구가 더 수행되어야 할 것이다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 전남대학교 학술연구구조성비의 지원을 받아 연구되었음.

문헌

- Hong SG, Seo WS, Jung HK, Kang SM. Protecting effects by rooibos tea against immobilization stress-induced cellular damage in rat. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1222-1228 (1998)
- Choi WH, Oh YS, Kim SR, Ahn JY, HA TY. Antioxidative and protective effects of *Ulmus davidiana* var. *japonica* extracts on glutamate-induced cytotoxicity in PC 12 cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 479-483 (2005)
- Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Method Enzymol.* 186: 1-85 (1990)
- Lee SJ, Ko JH, Lim K, Lim KT. 150 kDa glycoprotein isolated from *Solanum nigrum* Linne enhances activities of detoxicant enzymes and lowers plasmic cholesterol in mice. *Pharmacol. Res.* 51: 399-408 (2005)
- Ha TY, Cho IJ, Seong KS, Lee SH. Effect of *Cassia tora* ethanol extract on the lipid levels of serum and liver in rats fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 171-1176 (2001)
- Keys A. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 41(suppl 1): 1-19 (1970)
- Lee WC, Kim AJ, Kim SY. The study on the functional materials and effects of *Mulberry* leaf. *Food Sci. Ind.* 36: 2-14 (2003)
- Kim MW, Ahn MS, Lim YH. Antioxidative activities of *Mulberry* leaves extracts on edible soybean oil. *Korean J. Food Culture* 18: 1-8 (2003)
- Hong JH, Ahn JM, Choi SW, Rhee SJ. The effects of *Mulberry* fruit on the antioxidative defense systems and oxidative stress in the erythrocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr. Sci.* 7: 127-132 (2004)
- Yoshikumi Y. Inhibition of intestinal α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its *N*-alkyl derivatives. *Ag. Biol. Chem.* 52: 121-126 (1994)
- Asano N, Oseki K, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. N-containing sugar from the *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydr. Res.* 259: 243-255 (1994)
- Lim KT, Lee SJ, Ko JH, Oh PS. Hypolipidemic effects of glycoprotein isolated from *Ficus carica* Linnoeus in mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 624-630 (2005)
- Ko JH, Lee SJ, Lim KT. 36 kDa Glycoprotein isolated from *Rhus verniciflua* Stokes fruit has a protective activity to glucose/glucose oxidase-induced apoptosis in NIH/3T3 cells. *Toxicol. in Vitro* 19: 353-363 (2005)
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18: 499-502 (1972)
- Tercyak AM. Determination of cholesterol and cholesterol esters. *J. Nutr. Biochem.* 2: 281-292 (1991)
- Burke RW, Diamondstone BI, Velapoldi RA, Menis O. Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak color reactions for cholesterol. *Clin. Chem.* 20: 781-794 (1974)
- Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44: 276-287 (1971)
- Thomson JF, Nance SL, Tollaksen SL. Spectrophotometric assay of catalase with perborate as substrate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 157: 33-35 (1978)
- Mohandas J, Marshall JJ, Duggin GG, Horvath JS, Tiller DJ. Differential distribution of glutathione and glutathione-related enzymes in rabbit kidney. Possible implications in analgesic nephropathy. *Biochem. Pharmacol.* 33: 1801-1807 (1984)
- Godfarb S. Rapid increase in hepatic HMG-CoA reductase activity and *in vivo* cholesterol synthesis after Triton WR-1339 injection. *J. Lipid Res.* 19: 489-494 (1978)
- Hirsch RL, Kellner A. The pathogenesis of hyperlipemia induced by means of surface-active agents. II. Failure of exchange of cholesterol between the plasma and the liver in rabbits given Triton WR-1339. *J. Exp. Med.* 104: 15-24 (1966)
- Block G, Langseth L. Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technol.* 48(7): 80-91 (1994)
- Fukuzawa K, Takaishi Y. Antioxidants. *J. Act. Oxy. Free Rad.* 1:55-70 (1990)
- Forman HJ, Fridovich I. Superoxide dismutase: A comparison of rate constants. *Arch. Biochem. Biophys.* 158: 396-401 (1973)
- Lee SJ, Lim KT. Antioxidative effects of glycoprotein isolated from *Solanum nigrum* linne on oxygen radicals and its cytotoxic effects on the MCF-7 cell. *J. Food Sci.* 68: 466-470 (2003)
- Anderson JW, Diwadkar VA, Bridges SR. Selective effects of different antioxidants on oxidation of lipoproteins from rats. *Exp. Biol. Med.* 218: 376-381 (1998)