Journal of Mushroom Science and Production
Vol. 9, No 2, p84-86 June 2011
Printed in S. Korea
Copyright ⓒ 2011 by The Korea Society of Mushroom Science

국내 자생버섯 추출물의 항염활성

노형준*, 최수임[1], 이강효, 장갑열, 조재한, 성기호, 김금숙, 이승은, 김승유
농촌진흥청 국립원예특작과학원, [1]와이디생명과학

Anti-inflammatory effects of mushroom extracts in Korea

Hyung-Jun Noh*, Su-Im Choi[1], Kang-Hyo Lee, Kab-Yeul Jang, Jae-Han Cho, Gi-Ho Sung, Geum-Soog Kim, Seung-Eun Lee and Seung-Yu Kim

National Institute of Horticultural & Herbal Science,
Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea
[1]YD life science, Seoul science technology university, Gongrung-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea

(Received June 3, 2011, Revised June 9, 2011, Accepted June 12, 2011)

ABSTRACTS: This study was carried out to investigate anti-inflammatory effects of collected mushroom in Korea. Anti-inflammatory effects analysis was followed by MTT test and nitric oxide inhibition activity. Thirty mushrooms were screened and twelve mushrooms were selected about MTT assay and three mushrooms were good at nitric oxide inhibition test. In our result, three mushrooms: *Amanita virgineoides*, *Tylopilus neofelleus*, *Armillaria tabescens* were good resource for anti-inflammatory effects and to be followed more research about relat.

KEYWORDS: mushroom, anti-inflammatory

서 론

버섯은 식품적 가치가 우수하고 독특한 향과 맛을 지니고 있어(Chang and Miles, 1989), 이미 고대로부터 식용뿐만 아니라 약용으로도 사용되어져 왔으며, 오늘날 버섯의 종수는 적어도 10,000여 종이 있는 것으로 알려져 있고 그 중 식용 가능한 버섯은 약 600여종에 달한다(Ammirati et al., 1985). 또한 식용버섯의 일반성분인 탄수화물, 아미노산, 정미성분, 무기질에 관한 연구가 수행되어 왔으며 Hashiguchi 등(1984)에 의하면, 표고는 일반채소류나 과실류와 같이 지방함량이 높지는 않으나 불포화지방산인 linoleic acid의 비율이 높다. 느타리버섯은 채소류나 일부 버섯류에 비하여 영양가와 향미가 높아(Crisan and Sands, 1978), 고혈압, 당뇨병에도 효과(Chang and Miles, 1989)가 있고, 특히 항암효과(Yoshioka et al., 1985) 등의 약리활성이 있다고 보고하였다. 또한 단백다당체와 베타글루칸(Yoshioka et al., 1985), 아미노산조성(Jandaik and Kapoor, 1976; Karlberer and Kunsch, 1974)등에 대한 기능성 물질 등에 대해서도 보고되었으며, 최근에는 버섯의 항염활성과 관련된 약리학적 활성에 관한 연구(Kim et al., 2004)도 보고되었다.

따라서 본 연구는 국내 야생버섯의 항염활성을 조사하여 토종균류자원의 생리활성 기초 자료로 활용하고자 한다.

Corresponding author 〈E-mail: jumpspace@korea.kr〉

재료 및 방법

시약 및 시험재료

실험에 사용된 Lipopolysaccharide(LPS), Tetrazolium salt3,[4,5-dime-thylthiazol-2yl]-2,5-dyphenyl tetrazolium bromide(MTT)와 Dimethyl Sulfoxide(DMSO), Griess reagent는 Sigma사로 부터 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 국내야생버섯은 7~8월에 채집 후 세절하여 사용하였다. 메탄올 추출 후 감압농축 후 10mg/ml의 농도로 시료를 DMSO에 녹여 희석하여 사용하였다.

세포배양

RAW 264.7 cells은 37℃, 5% CO_2 조건하에 10% FBS이 첨가된 DMEM 배지에서 배양되었다. Cells은 배양flask에 충분히 증식시킨 후 배양 3일 간격으로 배양세포를 phosphate buffered salline (PBS)용액으로 씻어준 후 trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37℃에서 5분간 보관하고 세포를 탈착하여 계대배양 하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 새로운 DMEM 배지에 옮겨 증식하여 사용하였다.

세포생존율 검사 (MTT assay)

버섯추출물이 세포생존율(cell viability)에 미치는 영향을 분석하기 위한 MTT assay를 264.7 cell line을 사용하여 실

Table 1. Cell viability(MTT assay) of mushroom extracts

Mushrooms	Cell viability(%)	
	AVE	STD
Amanita virosa	91.3	8.0
Amanita volvata	98.5	26.5
Amanita caponica	103.9	17.0
Amanita virgineoides	102.5	16.5
Amanita abrupta	137.8	34.4
Agaricus subrutilescens	117.6	10.5
Boletus subvelutips	147.2	6.4
Panaeolus schweizzuii	150.6	31.9
Russula emetica	101.9	25.6
Russula subnigricans	99.8	34.4
Tylopilus neofelleus	123.0	6.5
Armillariella tabescens	106.8	19.6
Lipopolysaccharide(LPS)	130.8	18.0
Control	100.0	17.8

시하였다. 96 well plate에 2×10^5 cells/well 농도로 조절한 cell을 100㎕씩 넣고 37℃, 5% CO_2 세포배양기에서 24시간 동안 배양한 후 배양액을 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS)용액으로 씻어준 후 같은 양의 배지와 PBS에 녹인 시료를 각 well에 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나기 4시간 전에 PBS에 녹인 5mg/ml MTT(Sigma, USA)를 20㎕씩 각 well에 처리한 후 알루미늄 호일로 빛을 차단시킨 후 나머지 시간 동안 같은 조건에서 배양하였다. 배양액으로 모두 제거한 후 DMSO를 100㎕처리하고 37℃에서 2시간 방치 후 microplate reader를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric oxide(NO) 저해활성 측정

RAW 264.7 cell line으로부터 생성되는 nitric oxide의 양은 세포 배양액 중에 존재하는 nitric oxide를 griess 시약을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. RAW 264.7 cell을 10% FBS가 함유된 DMEM 배지에 37℃ 배양기에서 5% CO_2 농도 하에 계대배양한 후 96 well plate에 2×10^5 cells/ml 농도로 조절한 cell을 100㎕씩 넣고 37℃, 5% CO_2 세포배양기에서 계대배양한 후 2시간 후에 각각의 시료(200ug/ml)와 LPS(1ug/ml) 농도로 첨가된 배지로 교체하였다. 24시간 후, 각각의 well에서 100㎕씩의 배지를 회수하여 griess reagent 100㎕ 씩과 혼합하여 15분간 반응시킨 후, 540nm에서 O.D값을 측정하였다.

결과 및 고찰

버섯추출물이 세포생존율에 미치는 영향

국내야생버섯 추출이 RAW 264.7 세포의 생존율에 미치는 영향을 MTT assay 방법으로 조사하였다. 30여종의 메탄올 추출물을 농축 후 DMSO에 희석하여 200㎍/㎖농도로 RAW 264.7 cell에서 세포생존율을 분석하였다. MTT assay에 의한 세포생존률(%)는 무처리구와 비교한 결과 12개 시료에서 정상적인 생존률을 나타내었다. 또한, *Boletus subvelutips*와 *Pahaeolus schweizzuii*는 각각 147.2%와 150.6%로 가장 높은 생존율을 나타내어 항염활성측정에 양호한 버섯시료라고 판단되었다.

버섯추출물의 NO 생성 저해도 결과

선별된 12종의 버섯추출물을 DMSO에 희석하여 200㎍/㎖ 농도로 항염활성 측정을 위한 RAW 264.7 cells의 Nitric oxide 저해도 실험결과, *Amanita virgineoides*, *Tylopilus neofelleus*, *Armillaria tabescens*에서 대조구와 비교하여 20%이상의 우수한 Nitric oxide 저해활성을 나타내었다. 또한 *Amanita abrupta*, *Agaricus subrutilescens*, *Boletus subvelutips*도 18% 이상의 nitric oxide 저해활성을 보였다. 산화적 스트레스에 대한 저해활성이 높은 것은 항염활성이 좋다고 해석되었다. 이는 국내 자생버섯 자원의 항염물질 발굴에 기대가 되며 항염활성과 기전에 대한 심도 있는 연구가 필요할 것이다.

Table 2. Nitric oxide inhibition activity of mushroom extracts

Mushrooms	Nitric oxide inhibition(%)	
	AVE	STD
Amanita virosa	−1.1	2.7
Amanita volvata	5.8	18.7
Amanita caponica	16.0	2.2
Amanita virgineoides	21.1	2.3
Amanita abrupta	18.9	5.4
Agaricus subrutilescens	18.2	4.8
Boletus subvelutips	18.2	4.7
Panaeolus schweizzuii	−15.3	5.4
Russula emetica	9.1	3.3
Russula subnigricans	10.9	1.3
Tylopilus neofelleus	22.2	2.3
Armillariella tabescens	22.9	7.3
Lipopolysaccharide(LPS)	0.0	0.0

적 요

국내자생 야생버섯의 항염증 활성검증을 위해 7월~8월에 채집된 버섯을 메탄올 추출하여 DMSO의 희석한 후 Nitric oxide 저해능을 분석하였다. 30여종의 버섯 추출물을 세포활력도를 측정하기 위해 MTT 분석결과 12개의 버섯추출물이 비교적 안정된 세포활력도를 보였으며, nitric oxide 저해능을 양성대조군(LPS)와 비교한 결과 *Amanita virgineoides*:흰가시광대버섯, *Tylopilus neofelleus*:제주쓴맛그물버섯, *Armillariella tabescens*:뽕나무버섯부치, *Amanita abrupta*:양파광대버섯, *Agaricus subrutilescens*:진갈색주름버섯, *Boletus subvelutips* 7종의 버섯은 18%이상의 우수한 nitric oxide저해능을 보였다.

참고문헌

한국약용버섯도감. 2003. 교학사.

Ammirati, J. P., J. A. Traquair and Horgen, P. A. 1985. Poisonous Mushrooms of Canada, *Fishenry and Whiteside*, Agriculture Canada, Toronto.

Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. Mushroom Science in "Edible mushrooms and their cultivation" CRC Press, Inc. pp. 3-25.

Crisan, E. V. and Sands, A. 1978. Nutritional value of edible mushroom. The biology and cultivation of edible mushroom. Academic press. pp. 147-168.

Hashiguchi, M., Itoh, S. and Tsuyuka, A. 1984. Nippon Shokukin Kogyo Gakkaishi. **31** : 463.

Jandaik, C, L. and Kapoor, J. N. 1976. Amino acid composition of mushroom *Pleurotus sajor-caju*(Fr) Singer. Mushroom J. **41** : 154-156.

Kalberer, R. and Kunsch, U. 1974. Amino acid composition of mushroom oyster mushroom(*P. ostrestus*). Lebebsn U. Tech. **7** : 242-244.

Kim SH, Song YS, Kim SK, Kim BC, Lim CJ, Park EH, 2004, Anti-inflammatory and related phrmacological activities of the n-BuOH subfraction of mushroom *Phellinus linteus*. J. of Ethnopharmacology **93** : 141-146.

Yoshioka, Y., Tabeta, R., Saito, H., Ueharo, N. and Fukuoka, F. 1985. Antitumor polysaccharides from *P. ostrestus*(Fr) Quel.; Isolation and structure of a ß-glucan. Carbohydrate Research **149** : 93-100.