

In vitro 및 *In vivo*에서 표고버섯, 표고버섯균사체배양쌀 추출물의 항당뇨와 항비만 작용

김해섭^{1†} · 유제현¹ · 조영철² · 이영재² · 박인배² · 박정욱² · 정명아³ · 김영숙³ · 김선오³

¹(주)해뜰날

²전라남도 해양수산과학원

³전라남도 천연자원연구원

Inhibitory Effects of *Lentinus edodes* and Rice with *Lentinus edodes mycelium* on Diabetes and Obesity

Haeseop Kim^{1†}, Jeheon You¹, Yeongcheol Jo², Youngjae Lee², Inbae Park², Jeongwook Park²,
Myung-A Jung³, Young-Suk Kim³, and Sunoh Kim³

¹Haetteulnal Co., Ltd, Jeonnam 529-851, Korea

²Jeollanamdo Ocean & Fisheries Science Institute, Jeonnam 537-801, Korea

³Jellanamdo Institute of Natural Resources Research, Jeonnam 529-851, Korea

Abstract

This study investigated the ability of extracts from *Lentinus edodes* (LE) and rice with *Lentinus edodes mycelium* (LEM) to inhibit diabetes and obesity. Lipid accumulation significantly decreased by 78% and 74% upon treatment with 300 µg/mL of LE and LEM, respectively ($p < 0.01$). Cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibition activity increased by 94% and 99% upon treatment with 300 µg/mL of LE and LEM, respectively. In order to investigate the effect of LE and LEM on diabetes, the inhibition of protein tyrosine phosphate 1B (PTP1B) activity from the LE and LEM extracts at various concentrations (1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL) was assessed. PTP1B activity by treatment with 10, 30, and 100 µg/mL of LE, was inhibited at a rate of 7, 9, and 7% respectively. Also, PTP1B activity from treatment with increasing concentration of LEM led to a significant concentration-dependent inhibition of PTP1B activity ($p < 0.01$). LE and LEM were orally administered for 28 days after a high fat diet (HFD). LE and LEM significantly reduced triglyceride, cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol levels. GOT and GPT were not significantly effected. These results indicate that extracts of LE and rice with LEM have potent activities useful in the treatment of obesity and diabetes mellitus.

Key words: 3T3-L1 adipocyte, PTP1B, CETP, lipid accumulation, cholesterol

서 론

비만과 제2형 당뇨병은 전 세계적으로 인류의 건강을 위협하는 가장 큰 위험 요인으로 대두되고 있다(1). 세계보건기구(WHO)에 따르면 당뇨병으로만 사망자가 110만 명을 넘어서고 있는 것으로 보고되어 있으며, 전 세계적으로 증가 추세에 있다.

비만은 과도한 지방이 축적되어 다양한 원인에 의해 나타나고 여러 성인병의 직접적인 원인이 되고 있으며, 비정상적인 대사경로를 유발하여 동맥경화 및 인슐린 저항성의 증가 및 심혈관 질환에 직접적인 영향을 미치고 있다(2-4). 특히 내장 지방의 축적을 중심으로 한 비만은 염증 질환의 주된 원인으로 간주됨은 물론 혈중 LDL-cholesterol, 중성지방의 증가, HDL-cholesterol 농도의 감소, 인슐린 저항성을 증가

시켜 심혈관 질환을 유발한다(5). Cholesterol ester transfer protein(CETP)은 cholesterol metabolism에서 중요한 역할을 하는 protein으로 간에서 분비되어 혈액 내의 lipoprotein 사이에서 CE와 triglycerides의 교환을 매개하는 역할을 하며, HDL의 혈중 농도를 조절하는 기능을 한다(6). 3T3-L1 세포는 지방세포의 모델로 지방세포의 분화과정(adipogenesis)의 메커니즘을 알기 위해 사용되어 왔으며, 대사질환 연구에서 많이 사용되고 있다.

제2형 당뇨병의 원인인 인슐린 저항성은 인슐린 수용체로부터의 하부 전달계로 진행되는 신호전달에 장애가 발생되어 나타난다. 일반적으로 타깃 조직세포의 인슐린 수용체(insulin receptor, IR)는 인슐린과 결합되어 자동적으로 tyrosine에 인산화 되는 과정을 거쳐 인슐린 시그널 경로를 진행하게 된다. IRS에 의하여 phosphatidylinositol-3 kin-

[†]Corresponding author. E-mail: food09ja@hanmail.net
Phone: 82-61-862-0154, Fax: 82-61-864-0153

ase(PI3K)가 활성화 되고, PI3K에 의하여 Akt/PKB가 활성화 되면 인슐린의 표적세포에서 인슐린의 세포내 작용이 일어나게 된다(7). 이때 인산화 된 IR과 IRS들의 탈 인산화로 인슐린의 신호를 차단하여 작용을 조절하고 식욕조절 호르몬인 leptin의 활성화된 수용체의 탈 인산화를 조절하는 효소가 PTP1B로 insulin과 leptin의 탈 인산화를 유도하거나 활성화형 복합체의 형성이 어려워지면, 신호가 약해지거나 경로가 끊겨서 결국에는 글루코오스 대사에 이상을 초래하여 제2형 당뇨병이 발병하게 된다(8). 그러므로 기전적으로 인슐린 수용체의 탈 인산화를 차단하면 인슐린 감수성이 증가하여 인슐린 저항성 당뇨병인 제2형 당뇨병을 치료하고 아울러 과도한 식욕에 의한 지방의 축적으로 야기되는 비만형의 당뇨병을 치료할 수 있는 가장 가능성 있는 목표 기작으로 인식되고 있다(9). 또한 PTP1B 유전자를 knock-out 시킨 mouse의 실험결과에 의하면 고지방 식이의 경우에는 혈당 농도가 보통 쥐의 반 정도로 낮고 인슐린에 대한 감수성이 높아졌으며 간과 근육에서 인슐린 수용체의 인산화는 보통 쥐의 2배 이상이며 아울러 체중증가가 현저히 억제된 사실이 보고되었다(10).

이에 따라 국내, 국외에서 천연물로부터 새로운 생리활성 물질의 개발과 함께 이를 이용한 다양한 기능성식품의 개발이 활발히 이루어지고 있다. 표고버섯(*Lentinus edodes*)은 참나무, 밤나무, 서어나무 등의 활엽수에 기생하는 담자균류 주름버섯목 느트리과에 속하며, 한국, 일본, 중국 등 동남아시아 지역에서 주로 재배되고 특유의 향미성분과 약리효과를 가지고 있어 국내에서 식용 및 약용으로 널리 이용되어 왔다(11). 표고버섯의 생리활성기능으로는 항산화력, 항균 및 항암, 혈당강화, 체중 및 콜레스테롤 저하 등에 대한 다양한 보고가 있다(12). 버섯균사체를 이용한 기술이 발달하여 균사체를 이용한 표고버섯 기능 연구도 진행되고 있으며, 버섯균사체배양물의 활용에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 비만과 당뇨병의 발병 기전 및 원인에 관한 연구를 통하여 표고버섯과 표고버섯균사체배양물 80% ethanol 추출물인 LE와 LEM을 대상으로 지금까지 연구된 생리활성 이외에 항당뇨와 항비만 효과를 확인하기 위하여 추출물을 탐색하고, 이를 당뇨와 비만에 예방 혹은 치료 기능이 있는 기능성식품 소재로 개발하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

표고버섯과 표고버섯균사체배양물(쌀과 표고버섯 균사체를 혼합하여 액체배양 한 쌀)은 (주)해뜰날(Gunsan, Korea)로부터 공급받아 사용하였다. Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM), bovine calf serum(BCS), fetal bovine serum(FBS), trypsin-EDTA solution, penicillin/streptomycin은 GIBCO Life Science(Grand Island, NY, USA)로부

터 구입하여 사용하였고, dexamethasone, 3-isobutyl-1-methyl-xanthine(IBMx), Oil Red O, insulin, Orlistat는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. Kit는 Protein Tyrosine Phosphatase 1B(PTP1B) assay kit(Abnova, Walnut, CA, USA), CETP assay kit(Biovision, Milpitas, CA, USA) 제품을 사용하였으며, 그 외 사용된 시약은 1급 이상이였다.

시료의 추출 및 제조

본 실험에 사용한 표고버섯과 표고버섯균사체를 쌀에 접종시켜 20일간 배양한 표고버섯균사체배양물을 80% ethanol을 첨가하여 실온에서 24시간 동안 침출하여 시료로 사용하였다. 추출물은 evaporator(Büchi rotavapor R-220, Gschwaderstrasse, Switzerland)를 이용하여 용매를 제거한 후 동결건조 하였다. 제조된 분말은 4°C에서 냉장 보관하여 실험 시 사용하였다. 세포실험에 사용한 시료는 dimethyl sulfoxide(DMSO) 녹여 stock solution을 만든 후, 적정 농도로 희석하여 사용하였다.

세포배양

3T3-L1 전지방세포는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)에서 구입하였고, 전지방세포인 3T3-L1 cell의 세포 배양액으로는 DMEM에 10% BCS와 1% penicillin/streptomycin을 첨가하여 사용하였으며, 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양하였다. 세포가 80~90% confluence 되면 0.25% trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 분리하고 원심분리기에서 세포를 모은 후 suspension 용액을 만들어 24-well plate에 배양하였다. 세포가 post-confluent하게 되면 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액에 0.5 mM IBMx, 1 µM dexamethasone, 5 µg/mL insulin이 첨가된 differentiation medium을 처리하여 분화를 유도하였다. 분화후도 2일 후에는 5 µg/mL의 insulin이 함유된 10% FBS DMEM으로 이를 동안 배양하였다. 그 후 4, 6일째 10% FBS DMEM으로 배양액을 교체하여 지방세포 분화를 유도하였다. 샘플처리는 분화시작일과 2, 4, 6일째 되던 날에 양성대조군 Orlistat 20 µM과 시료를 각각 농도별로(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL) 처리해 주었고, 농도 0은 대조군으로 2일간격으로 분화유도배지만 처리하였다. 8일째 되던 날 Oil Red O 염색을 수행하였다.

Oil Red O 염색

Oil Red O stock solution은 0.35 g Oil Red O 시약을 100 mL의 isopropanol에 녹여 filter하였다. Oil Red O working solution은 60%는 Oil Red O stock solution을 넣고 40%는 증류수를 넣어 실험에 사용하였다.

분화시작일로부터 8일째 되던 날 배지를 제거하고 세포 배양액을 PBS로 씻어낸 후 10% formaldehyde를 500 µL 넣어 5분간 고정시킨 후 제거하였다. 다시 10% formaldehyde를 500 µL씩 각 well에 넣고 1시간 동안 고정시켰다.

Formaldehyde를 제거하고 증류수로 씻어낸 후 각 well에 Oil Red O working solution을 500 µL씩 넣고 실온에서 30분 동안 염색한 후 증류수로 3회 반복하여 씻어내었다. 염색이 된 세포는 현미경으로 관찰하였으며 100% isopropanol을 가하여 세포내에 축적된 lipid를 용출하여 96 well plate에 옮긴 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 lipid accumulation 정도를 평가하였다.

CETP 저해 활성

CETP 함량은 CETP inhibitor assay kit(Biovision)를 사용하여 측정하였다. 96-well plate에 160 µL의 샘플을 넣은 후, rabbit serum 3 µL를 넣고 반응시켰다. 각 well에 donor molecule 10 µL, acceptor molecule 10 µL, 10×CETP assay buffer를 20 µL씩 넣어 37°C에서 30분 동안 incubation하였다. 형광강도는 여기파장 465 nm, 측정파장 535 nm에서 측정하였다.

PTP1B 저해 활성

PTP1B 함량은 PTP1B fluorometric assay kit(Abnova)를 사용하여 측정하였다. 96-well plate 각 well에 distilled water 30 µL, 10×PTP assay buffer 30 µL와 10×fluoro-phospho-substrate 5 µL씩 넣은 후 recombinant PTP1B를 첨가하여 상온에서 15분 동안 incubation하였다. 각 well에 developing buffer 20 µL와 developing buffer 5 µL를 넣은 후 상온에서 15분 동안 incubation하였다. 25 µL의 stop-solution을 넣은 후 반응을 중단시켰다. 형광강도는 여기파장 502 nm, 측정파장 530 nm에서 측정하였다.

% Intensity =

$$\frac{\text{Fluorescence Intensity of Test Sample}}{\text{Fluorescence Intensity of Solvent Control}} \times 100$$

동물실험

실험동물은 male Sprague Dawley(SD) rat 5주령을 중앙 실험동물(주)(Seoul, Korea)에서 구입하여 1주일간 적응시킨 뒤 실험에 사용하였다. 실험군은 정상군(normal), 고지방식이대조군(high fat diet, HFD군), 고지방식이와 표고버섯 80% ethanol 추출물 200 mg/kg/day를 경구 투여한 LE군, 고지방식이와 표고버섯균사체배양액 80% ethanol 추출물 200 mg/kg/day를 경구 투여한 LEM군으로 각 군당 5마리씩 총 4군으로 나누어 실험에 사용하였다. 물과 식이는 자유롭게 섭취시키면서 사육하였다. 동물실험실의 사육조건은 온도 23±1 °C, 습도 45±5%, 명암은 12시간 주기로 자동 조명 조절되었으며, 체중의 변화는 매일 기록하였다. 일반식은 Research Diets사(10% kcal from fat, D12450B, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA), 고지방 식이는 Research Diets(60% kcal from fat, D12492)에서 구입하였고, 그 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of experimental diet (g)

| Ingredients | Normal | HFD |
|--------------------------|--------|------|
| Casein, 80 mesh | 200 | 200 |
| L-cystine | 3 | 3 |
| Corn strach | 315 | 0 |
| Maltodextrin 10 | 35 | 125 |
| Sucrose | 350 | 68.8 |
| Cellulose, BW200 | 50 | 50 |
| Soybene oil | 25 | 25 |
| Lard | 20 | 245 |
| Mineral mix, S10026 | 10 | 10 |
| Dicalcium phosphate | 13 | 13 |
| Calcium carbonate | 5.5 | 5.5 |
| Potassium citrate, 1 H2O | 16.5 | 16.5 |
| Vitamin mix, V10001 | 10 | 10 |
| Choline bitartrate | 2 | 2 |
| FD&C Blue dye #1 | 0.05 | 0.05 |

혈청의 효소활성 측정 및 혈청 지질 분석

28일간 실험식을 경구투여 한 후 종료일에 실험동물을 ethyl ether로 마취하여 심장에서 채혈하고, 채혈된 혈액은 실온에서 1시간 두었다가 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 혈청을 분석시료로 사용하였다.

혈청의 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도, GOT, GPT를 자동 혈액 분석기(DRI-CHEM 4000i, FUG-IFILM, Tokyo, Japan)로 측정하였고, LDL-콜레스테롤은 Friedewald 등(13)의 방법에 따라 계산식, 총콜레스테롤-(중성지방+HDL-콜레스테롤)/5에 의하여 산출되었다.

통계처리

실험의 결과는 평균±표준편차로 표기하였고, 각 그룹간 차이는 Student's t-test 분석법을 사용하여 통계학적인 유의성을 판정하였으며 p값이 0.05 미만(p<0.05)인 경우를 통계학적으로 유의하다고 보았다.

결과 및 고찰

3T3-L1의 지방 축적 억제 효과

지방세포는 지방조직을 이루는 중요한 구성원으로 지방 세포로의 분화에 대한 연구가 많이 진행되어 왔다. 지방 세포는 분화가 되면서 여러 가지 분자 생물학적 반응이 수반되며 분화되기 전에는 섬유아세포와 같은 형태의 지방 전구세포에서 분화 후에는 둥근 형태의 지방세포로 성숙된다. 3T3-L1 지방 전구세포는 성장 진행이 100%가 되면 이때부터 성장이 정지되고 지방세포로 분화가 서서히 진행되게 된다. 따라서 LE와 LEM을 처리한 세포 내 지방 축적에 대한 효과를 측정하기 위하여 3T3-L1 세포의 지방세포의 분화 후 Oil Red O solution으로 염색하여 확인하였다(Fig. 1). 그 결과, Fig. 1A에서 보는 바와 같이 샘플을 처리하지 않고 분화를 유도하였을 경우에는 세포질 내 lipid droplet이 형성되어 사진이 붉게 염색된 것을 확인하였다. 대조군인 oristat

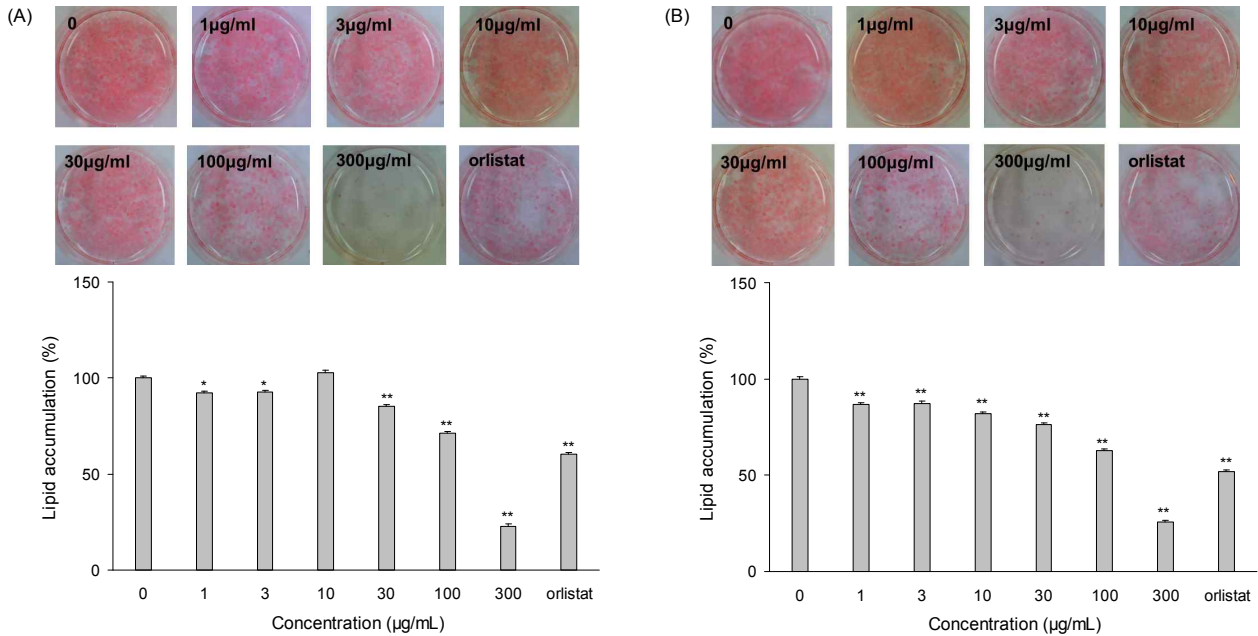


Fig. 1. Effect of LE (A) and LEM (B) on lipid accumulation of the differentiated 3T3-L1 cells. The intracellular lipid accumulation was evaluated by Oil Red O staining. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ vs. control.

20 µM 처리구에(60%) 비해 LE를 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL)로 처리하였을 때 각각 92, 92, 102, 85, 71, 22% 정도의 지방구(lipid droplet) 형성을 보였다. LE를 1, 3 µg/mL로 처리하였을 때 두 처리구 모두 8%로 $p < 0.05$ 수준에서 유의한 억제 효과를 나타냈으며, LE 30, 100, 300 µg/mL로 처리하였을 때 15, 29, 78%로 $p < 0.01$ 수준에서 유의한 억제 효과를 나타내었다. 특히 LE를 300 µg/mL로 처리하였을 때는 78%로 지방흡수억제제인 orlistat보다 더 나은 억제 효과를 나타내었다. 또한 LEM 처리군 역시 대조군인 orlistat 20 µM 처리구에(52%) 비해 LEM을 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL)로 처리하였을 때 각각 87, 87, 82, 76, 63, 26으로 $p < 0.01$ 수준에서 유의한 억제효과를 나타내었으며, LEM 역시 300 µg/mL로 처리하였을 때는 74%로 지방흡수억제제인 orlistat보다 더 나은 억제 효과를 나타내었다(Fig. 1B).

CETP 저해 활성

CETP는 혈중에서 지단백질의 콜레스테롤 에스터와 중성 지방을 교환하는 역할을 하는 당단백질이다. 중성지방의 농도가 증가할수록 지방운송단백질인 CETP의 활성이 증가하는데 CETP 억제제는 지질대사를 조절하는 약물로 알려져 있다. 따라서 LE와 LEM을 처리하여 HDL의 혈중 농도를 확인하였다(Fig. 2). Fig. 2A에서 보는 바와 같이 LE를 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL)로 처리하였을 때 각각 0%, 0%, 0%, 0%, 27%, 94% CETP 활성 저해효과를 나타내었다. 특히 LE를 300 µg/mL로 처리하였을 때 $p < 0.01$ 수준에서 유의한 저해효과를 나타내었다. 또한 LEM을 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL)로 처리하였을 때 각각 12, 19, 21, 37, 87, 99%로 농도에 의존적으로 CETP 활성 저해효과가

나타났고, LEM 30 µg/mL에서 $p < 0.05$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났으며, LEM 100, 300 µg/mL에서는 $p < 0.01$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다(Fig. 2B).

PTP1B 저해 활성

PTP1B는 당뇨병에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있으

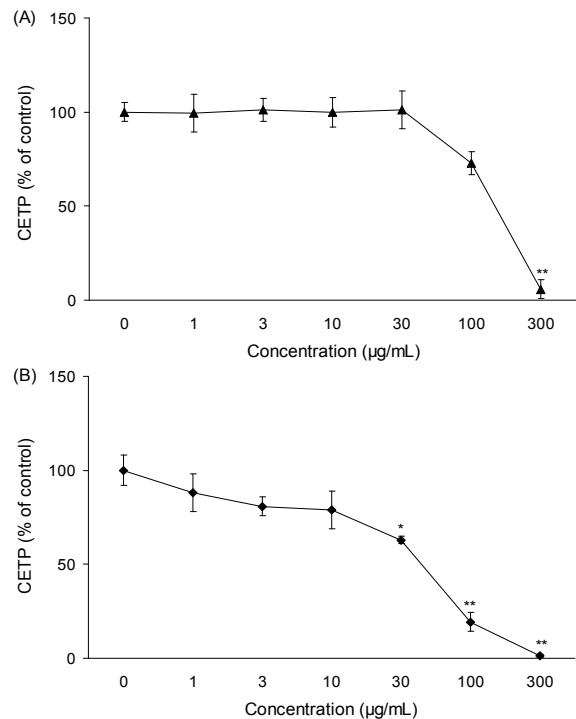


Fig. 2. Effect of LE (A) and LEM (B) on the CETP levels. The level of CETP was determined using CETP inhibitor assay kits. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ vs. control.

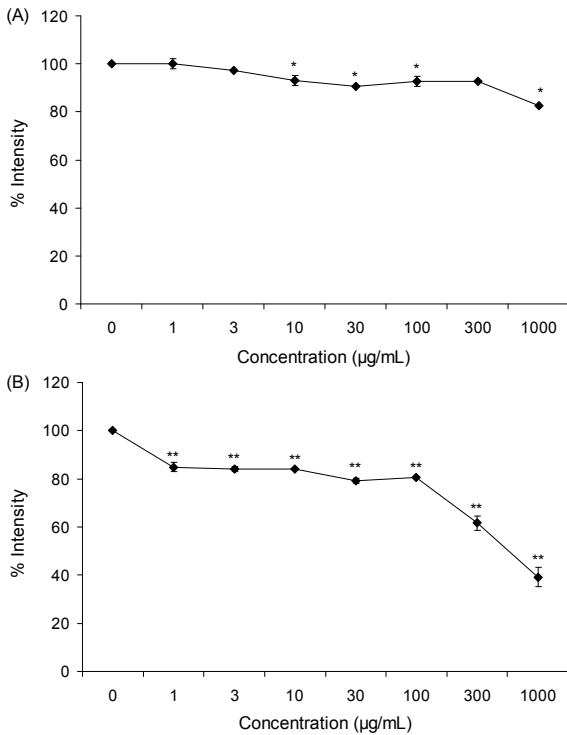


Fig. 3. Effect of LE (A) and LEM (B) on the PTP1B levels. The level of PTP1B was determined using PTP1B fluorometric assay kits. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ vs. control.

며, 인슐린 시그널의 negative regulator로 제안되었다. PTP1B 활성의 증가는 분비된 인슐린량을 감소시키게 되고 이로 인해 혈당이 증가하게 되어 당뇨병의 원인이 되는 것이다. 이에 PTP1B의 활성을 inhibition 할 수 있는 물질을 이용하여 PTP1B의 활성을 감소시킴으로써 분비된 인슐린 양을 증가시키게 되고, 혈당이 감소하여 당뇨병을 막을 수 있게 된다.

Fig. 3은 PTP1B 활성 저해효과를 측정된 결과이다. LE는 대조군에 비하여 LE 10, 30, 100 µg/mL로 처리하였을 때 각각 7, 9, 7%로 통계적으로 $p < 0.05$ 수준에서의 유의한 PTP1B의 활성 저해효과를 보였으며, 1,000 µg/mL로 처리하였을 때 17%로 $p < 0.01$ 수준에서 유의한 저해효과를 나타내었다(Fig. 3A). LEM 또한 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1,000 µg/mL로 처리하였을 때 농도에 의존적으로 15, 16, 16, 21, 19, 38, 61%로 통계적으로 $p < 0.01$ 수준에서의 유의한 저해효과를 나타내었다(Fig. 3B). PTP1B 저해물질을 이용한 성인형 비만 및 당뇨병 치료제의 개발에 식물의 새로운 골격을 갖는 저해물질이 발굴되면 이를 출발물질로 새로운 당뇨병 치료제의 개발이 기대되어 현재의 당뇨 치료제 개발에 획기적인 전기를 제공할 수 있다. 따라서 LE, LEM은 체내 조직의 인슐린 신호전달과정에서 탈 인산화 작용에 관여하는 PTP1B 효소를 저해함으로써 인슐린의 작용을 높이고 당흡수를 지연시켜 당뇨병 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상되었다.

Table 2. Effect of LE and LEM on body weight gain in rats fed high-fat diet for 28 days

| Groups | Body weight gains (g) | | |
|--------|-----------------------|------------|------------|
| | Initial | Final | Gains |
| HFD | 158.9±3.0 | 370.0±31.0 | 211.1±29.6 |
| LE | 158.6±14.7 | 384.2±17.3 | 225.6±19.0 |
| LEM | 158.7±5.4 | 364.1±21.9 | 205.4±24.1 |

Each value is the mean±SD (n=5).

고지방식이에 따른 체중증가량 측정

고지방식이를 섭취하고 28일간의 체중변화량을 Table 2에 나타내었다. 체중변화는 실험 시작 시에 정상군(normal)과 고지방식이대조군 간의 차이가 없었으나, 실험 종료 시 정상군보다 고지방식이대조군(HFD)이 높은 체중증가율을 보여 고지방식으로 비만이 유도되었음을 확인하였다(data not shown). 체중증가는 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났으며, LEM군에서는 HFD군에 비해 낮았으나 유의한 차이를 보이지 않았다.

혈청의 효소활성 측정 및 혈청 지질 분석

고지방식이에 LE, LEM을 경구투여 하였을 때 흰쥐의 간의 기능지표 효소활성을 측정된 결과를 Table 3에 나타내었다. 혈청의 GOT 활성은 LE, LEM 처리군 모두 HFD군에 비해 감소하는 경향을 보였으며, 특히 LEM 처리군에서 유의성 있게 감소하였다. 그러나 GPT 활성은 대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과로 비추어 볼 때 LE, LEM 처리군은 모두 간 기능 상태의 지표 효소로 알려진 GOT, GPT 활성을 낮춤을 확인할 수 있었다.

Lipoprotein의 구성성분에 따라 chylomicron, VLDL, LDL, HDL로 구분되며 구성성분인 콜레스테롤의 농도는 각각 다르게 존재한다. VLDL로부터 전환된 LDL은 간에서 다른 조직으로 콜레스테롤을 운반하는 역할을 하며 LDL-cholesterol 함량이 높으면 관상동맥의 벽에 콜레스테롤이 쌓일 위험이 높은 반면, HDL-cholesterol은 말초조직 및 혈관벽에 축적된 콜레스테롤을 재 분산함으로써 혈중 콜레스테롤의 양을 저하시키므로 동맥경화에 대한 방어효과를 한다.

Table 4는 혈청 총 cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol의 농도를 측정된 결과이다. 혈청의 총콜레스테롤은 HFD군(92.0±10.8 mg/dL)에 비해 LE군(70.8±10.4 mg/dL), LEM군(71.0±10.7 mg/dL) 모두 유의적인 감소를 나타내었고($p < 0.05$), 혈청의 중성지방(tri-

Table 3. Effect of LE and LEM on GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase) in rats fed high-fat diet for 28 days (U/L)

| Groups | GOT | GPT |
|--------|------------|----------|
| HFD | 100±13.4 | 35.2±4.0 |
| LE | 91.6±21.8 | 36.0±5.1 |
| LEM | 74.2±7.5** | 31.2±9.6 |

Each value is the mean±SD (n=5).

** $p < 0.01$ vs. control.

Table 4. Effects of LE and LEM on the levels of biochemical markers in rats fed high-fat diet for 28 days (mg/dL)

| Groups | Total-cholesterol | Triglyceride | HDL-cholesterol | LDL-cholesterol |
|--------|-------------------|--------------|-----------------|-----------------|
| HFD | 92.0±10.8 | 110.0±13.8 | 52.4±4.3 | 59.5±12.1 |
| LE | 70.8±10.4* | 97.0±14.6 | 53.6±8.6 | 40.7±11.5* |
| LEM | 71.0±10.7* | 89.0±13.5* | 60.0±7.7 | 41.2±10.1* |

Each value is the mean±SD (n=5).

*p<0.05 vs. control.

glyceride) 농도는 HFD군 110.0±13.8 mg/dL에 비해 LE군은 97.0±14.6, LEM군은 89.0±13.5 mg/dL로 모두 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 LEM군은 통계적으로 p<0.05 수준에서 유의적인 감소를 나타내었다. 또한 혈청의 HDL-cholesterol은 HFD군이 52.4±4.3 mg/dL로 나타났고 LE군이 53.6±8.6 mg/dL, LEM군이 60.0±7.7 mg/dL로 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, LDL-cholesterol은 HFD군이 59.5±12.1 mg/dL로 나타났고 LE군이 40.7±11.5 mg/dL, LEM군이 41.2±10.2 mg/dL로 나타나 LEM군에서 유의적인 감소를 나타내었다(p<0.01). 이는 표고버섯에 함유된 β -glucan이 콜레스테롤의 대사를 촉진하는 담즙의 생성을 억제하거나 담즙산체를 제거하는 것으로 해석할 수 있으며, 단백당류의 glucan이 간장에서 cholesterol 흡수를 억제한 결과라고 제시하였다(14). 이러한 결과는 이상의 결과로 미루어 볼 때 LE, LEM의 투여가 혈중 지질 조성을 개선시키는 효과가 있음을 알 수 있었다.

요 약

표고버섯, 표고버섯균사체배양물 추출물의 항당뇨와 항비만 효과를 규명하고자 본 연구에서는 표고버섯 80% ethanol 추출물(LE), 표고버섯균사체배양물 80% ethanol 추출물(LEM)에서 3T3-L1 preadipocyte cell line을 이용하여 세포의 분화에 미치는 영향을 확인할 수 있었다. 분화유도 후 8일 째에 Oil Red O 염색을 통해 세포내 형성된 지방구(lipid droplet)를 isopropanol에 용출하여 500 nm에서 흡광도를 측정 한 결과, LE 100 μ g/mL에서 p<0.05 수준에서 유의한 억제 효과가 나타났으며, LE 300 μ g/mL에서는 p<0.01 수준에서 유의한 억제 효과가 나타났다. LEM은 대조군에 비하여 LEM을 10 μ g/mL에서 p<0.05 수준에서 유의한 억제 효과가 나타났으며, LEM 30, 100, 300 μ g/mL에서는 p<0.01 수준에서 유의한 억제 효과가 나타났다. CETP 저해 활성을 측정 한 결과 LE 300 μ g/mL에서 p<0.01 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다. LEM을 농도별로 처리하였을 때 대조군에 비하여 농도 의존적으로 억제 효과가 있었으며, LEM 30 μ g/mL에서 p<0.05 수준에서 유의한 저해효과가 나타났고 LEM 100, 300 μ g/mL에서는 p<0.01 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다. PTP1B 저해 활성을 측정 한 결과, LE는 대조군에 비하여 LE 10, 30, 100, 1,000 μ g/mL에서 통계적

로 p<0.05 수준에서의 유의한 저해효과가 나타났으며, LEM은 대조군에 비하여 농도 의존적으로 통계적으로 p<0.01 수준에서의 유의한 저해효과가 나타났다. 또한 고지방식이에 LE, LEM을 28일간 경구투여 하였을 때 흰쥐의 혈청 총콜레스테롤은 HFD군에 비해 LE군, LEM군에서 모두 유의적인 감소를 나타내었고(p<0.05), 혈청의 중성지방(triglyceride) 농도는 HFD군에 비해 LE, LEM군 모두 감소하는 경향을 나타내었으며 특히 LEM군은 통계적으로 p<0.05 수준에서 유의적인 감소를 나타내었다. 혈청의 HDL-cholesterol은 HFD군과 시료처리군에서 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, LDL-cholesterol은 HFD군에 비해 LEM군에서 유의적인 감소를 나타내었다(p<0.01). 이상의 결과로 보아 표고버섯과 표고버섯균사체배양물은 지방세포의 분화를 억제시키며, 혈중 지질 조성을 개선시키는 효과가 있음을 알 수 있다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청의 중소기업이전기술개발사업의 지원으로 수행되었기에 감사드립니다.

문 헌

1. Taubes G. 1998. Weight increases worldwide. *Science* 280: 1368.
2. Després JP, Lemieux I. 2006. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444: 881-887.
3. Jornayvaz FR, Samuel VT, Shulman GI. 2010. The role of muscle insulin resistance in the pathogenesis of atherogenic dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease associated with the metabolic syndrome. *Annu Rev Nutr* 30: 273-290.
4. Kannel WB, Cupples LA, Ramaswami R, Stokes J 3rd, Kreger BE, Higgins M. 1991. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham study. *J Clin Epidemiol* 44: 183-190.
5. Sharma AM. 2002. Adipose tissue: a mediator of cardiovascular risk. *Int J Obes Relat Metab Disord* 4: S5-S7.
6. Inazu A, Brown ML, Hesler CB, Agellon LB, Koizumi J, Takata K, Maruhama Y, Mabuchi H, Tall AR. 1990. Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med* 323: 1234-1238.
7. Saltiel AR, Kahn CR. 2001. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414: 799-806.
8. Johnson TO, Ermolieff J, Jirousek MR. 2002. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors for diabetes. *Nat Rev Drug Discov* 1: 696-709.
9. Brüning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Müller-Wieland D, Kahn CR. 2000. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 289: 2122-2125.
10. Cook WS, Unger RH. 2002. Protein tyrosine phosphatase 1B: a potential leptin resistance factor of obesity. *Dev Cell* 2: 385-387.
11. National Rural Living Science Institute. 2001. *Food composition table*. 6th ed. Korea. p 156-157.
12. Ma SJ. 1968. Effect of the substances extracted from dried

- mushroom (*Lentinus edodes*) by several organic solvents on the stability of fat. *Korean J Food Sci Technol* 15: 150-154.
13. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of the low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
14. Yang BK, Park BJ, Ha SO, Kim KY, Kym KH, Park KY, Yun JW, Song CH. 2000. Hypolipidemic effect of extracts of soybean paste containing mycelia of mushroom in hyperlipidemic rats. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 28: 228-232.

(2012년 9월 20일 접수; 2013년 2월 4일 채택)