

상황버섯, 상황버섯균사체배양쌀 추출물의 비만 및 당뇨 억제 효과

김해섭^{1*} · 유제헌¹ · 조영철² · 이영재² · 박인배² · 박정욱² · 정명아³ · 김영숙³ · 김선오³

¹(주)해뜰날

²전라남도 해양수산과학원

³전라남도 천연자원연구원

Inhibitory Effects of *Phellinus linteus* and Rice with *Phellinus linteus* Mycelium on Obesity and Diabetes

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

¹Haetteulnal Co., Ltd, Jeonbuk 573-931, Korea

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

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

ABSTRACT The objective of this study was to examine the ability of extracts from *Phellinus linteus* (PL) and rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLM) to inhibit obesity and diabetes. The efficacy of PL and PLM were evaluated using Oil Red O staining, cholesteryl ester transfer protein (CETP) levels, protein tyrosine phosphate 1B (PTP1B) levels, organ weight, and serum lipid levels. Lipid accumulation significantly decreased by 76% and 59% upon treatment with 300 µg/mL of PL and PLM, respectively ($P<0.01$). The inhibition of CETP activity increased 99% upon treatment with 300 µg/mL of PL or PLM. Treatment with 3, 10, 30, 100, and 300 µg/mL of PL, changed PTP1B activity by 10, 11, 14, 12, and 18% respectively. Also, treatment with increasing concentrations of PLM led to a significant concentration-dependent inhibition of PTP1B activity ($P<0.01$). PL and PLM were orally administered for 28 days after a high fat diet (HFD). PL significantly ($P<0.05$) reduced triglyceride and cholesterol levels. In addition, PLM significantly ($P<0.05$) reduced triglyceride, cholesterol, and HDL-cholesterol levels. GOT and GPT were not significantly affected. These results indicate that PL and PLM extracts have potent and useful activities for the treatment of obesity and diabetes mellitus.

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

서 론

식생활의 서구화에 기인하는 생활환경의 변화로 인해 여러 가지 만성 질환이 전 세계적으로 증가 추세에 있다. 비만은 대사 장애로 인해 체내에 지방이 과잉 축적되어 나타나며 당뇨병, 고혈압, 고지혈 등에 직접적인 영향을 미치고 있다(1-3).

지질대사는 주로 간과 지방조직에서 일어나고 지방조직에서는 조직을 구성하는 지방세포에 의해 조절되며, 지방세포가 대사 장애로 인하여 과다하게 분화되거나 에너지가 과잉 공급되면 비만으로 발전하게 된다. 3T3-L1은 지방 전구세포로서 지방세포를 분자생물학적으로 연구하기 위하여 가장 많이 사용되는 모델이며, 현재에도 활발히 이용되고 있는 세포주이다(4,5).

Cholesteryl ester transfer protein(CETP)에 의해 LDL의 cholesteryl ester가 중성지방과 교환되면, 지방분해 효소에 의한 중성지방의 분해가 일어나고 LDL 입자의 크기가 감소된다. 이러한 변형된 LDL은 쉽게 산화되고 염증반응과 심혈관 질환의 위험요인으로 작용하게 된다(6). CETP의 작용에 의해 VLDL 내 중성지방과 HDL cholesteryl ester 사이에도 교환이 일어나고, 이러한 중성지방은 지방분해 효소에 의해 빠르게 분화되며 그 결과 작은 크기의 HDL은 쉽게 제거되어 HDL 콜레스테롤의 감소를 가져온다. CETP 활성이 증가되며 이는 HDL 감소를 가져온다.

2형 당뇨병은 인슐린 감수성의 저하로 일어나는 질병으로 이러한 인슐린의 신호전달은 인슐린 수용체와 인슐린 결합, 인산화의 경로를 거쳐 이루어지는데, 이때 인슐린 수용체와의 결합이 억제되거나 탈인산화가 유도되면 인슐린 작용이 억제되는 것으로 보고되고 있다. Protein tyrosine phosphatase 1B(PTP1B)는 insulin receptor 및 insulin receptor substrate-1의 탈인산화를 촉진하여 인슐린 신호

Received 19 February 2013; Accepted 20 June 2013

*Corresponding author.

E-mail: food09ja@hanmail.net, Phone: 82-61-862-0154

전달을 차단하는 것으로 알려져 있다(7). PTP1B 유전자를 knock-out 시킨 mouse에 대한 보고에 의하면 고지방 식이의 경우에는 혈당 농도가 보통 쥐의 반 정도로 낮고 인슐린에 대한 감수성이 높아졌으며 간과 근육에서 인슐린 수용체의 인산화는 보통 쥐의 2배 이상인 것으로 보고되었다(8,9).

버섯은 전 세계적으로 약용 및 식용으로 널리 이용되고 있으며 다양한 생리기능 조절 작용과 항암 활성이 알려져 있다. 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 소나무 비늘버섯과 진흙버섯속에 속하는 백색부후균으로 알려져 있으며 면역 활성의 증강을 통해 항암활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(10,11). 버섯유래의 고분자 다당류들의 항암 및 면역증강 효과 등의 약리활성을 나타내는 물질은 특이적 구조를 갖는 β -glucan성 다당류로 알려져 있다(12). 군사체에는 자실체보다 각종 영양소가 4배 정도 더 함유되어 있으며, 특히 군사체는 항암성분, 면역기능강화성분 등의 약용성분이 자실체보다 50~60배 정도 더 들어있기 때문에 버섯의 신비는 군사체 속에 숨어 있다. 버섯군사체를 이용한 기술이 발달하여 군사체를 이용한 상황버섯 기능 연구도 진행되고 있으며, 버섯군사체배양액의 활용에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 본 연구에서는 비만과 당뇨병의 발병 기전 및 원인에 관한 연구를 통하여 상황버섯과 상황버섯군사체배양액 80% ethanol 추출물인 PL과 PLM을 대상으로 지금까지 연구된 생리활성 이외에 항당뇨와 항비만 효과를 확인하기 위하여 추출물을 탐색하고, 이를 당뇨와 비만에 예방 혹은 치료 기능이 있는 기능성 식품 소재로 개발하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

상황버섯과 상황버섯군사체배양액은 (주해뜰날(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)로부터 구입하여 사용하였고, dexamethasone, 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMx), Oil Red O, orlistat, insulin은 Sigma-Aldrich Co.(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, 그의 사용된 시약은 1급 이상이었다.

시료의 추출 및 제조

본 실험에 사용한 상황버섯과 상황버섯군사체를 찻에 접종시켜 20일간 배양한 상황버섯군사체배양액을 80% ethanol을 첨가하여 실온에서 24시간 동안 침출하여 시료로 사용하였다. 추출물은 evaporate(Rotavapor R-220, Buchi,

Gschwader Strasse, Switzerland)를 이용하여 용매를 제거한 후 동결건조 하였다. 제조된 분말은 4°C에서 냉장 보관하여 실험 시 사용하였다. 세포실험에 사용한 시료는 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 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% confluent되면 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 μ M dexamethasone, 10 μ g/mL insulin이 첨가된 differentiation medium을 처리하여 분화를 유도하였다. 분화유도 2일 후는 10 μ g/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 μ M과 시료를 각각 농도별로(1, 3, 10, 30, 100, 300 μ g/mL) 처리해 주었고, 농도 0은 대조군으로 2일 간격으로 분화유도 배지만 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%에는 Oil Red O stock solution을 넣고 40%에는 증류수를 넣어 실험에 사용하였다.

분화시작일로부터 8일째 되던 날 배지를 제거하고 세포 배양액을 PBS로 씻어낸 후 10% formaldehyde를 500 μ L 넣어 5분간 고정시킨 후 제거하였다. 다시 10% formaldehyde를 500 μ L씩 각 well에 넣고 1시간 동안 고정시켰다. Formaldehyde를 제거하고 증류수로 씻어낸 후 각 well에 Oil Red O working solution을 500 μ L씩 넣고 실온에서 30분 동안 염색한 후 증류수로 3회 반복하여 씻어내었다. 염색이 된 세포는 현미경으로 관찰하였으며 100% isopropanol을 가하여 세포 내에 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 μ L의 샘플을 넣은 후, rabbit serum 3 μ L를 넣고 반응시켰다. 각 well에

donor molecule 10 μ L, acceptor molecule 10 μ L, 10 \times CETP assay buffer를 20 μ L씩 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 μ L, 10 \times PTP assay buffer 30 μ L와 10 \times fluoro-phospho-substrate 5 μ L씩 넣은 후 recombinant PTP1B를 첨가하여 상온에서 15분 동안 incubation 하였다. 각 well에 developing buffer 20 μ L와 developing buffer 5 μ L를 넣은 후 상온에서 15분 동안 incubation하였다. 25 μ L의 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 중앙실험동물(주)(서울)에서 구입하여 1주일간 적응시킨 뒤 실험에 사용하였다. 실험군은 정상군(normal), 고지방식이 대조군(high fat diet, HFD군), 고지방식이와 상황버섯 80% ethanol 추출물 200 mg/kg/day를 경구 투여한 PL군, 고지방식이와 상황버섯균사체배양액 80% ethanol 추출물 200 mg/kg/day를 경구 투여한 PLM군으로 각 군당 5마리씩 총 4군으로 나누어 실험에 사용하였다. 물과 식이는 자유롭게 섭취시키면서 사육하였다. 동물실험실의 사육조건은 온도 23 \pm 1°C, 습도 45 \pm 5%, 명암은 12시간 주기로 자동 조명 조절되었으며, 체중의 변화는 매일 기록하였다. 일반식이(10% kcal from fat, D12450B)와 고지방 식이(60% kcal from fat, D12492)는 Research Diets, Inc.(New Brunswick, NJ, USA)에서 구입하였고, 그 조성은 Table 1과 같다.

혈청의 효소활성 및 혈청 지질 분석

28일간 실험식이를 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 혈청 분석기(DRI-CHEM 4000i, FUGI-FILM, Tokyo, Japan)로 측정하였고, LDL-콜레스테롤은 Friedewald 등(10)의 방법에 따라 계산식, 총콜레스테롤-(중성지방+HDL-콜레스테롤)/ 5에 의하여 산출되었다.

통계처리

실험의 결과는 평균 \pm 표준편차로 표기하였고, 각 그룹간

Table 1. Composition of experimental diet (g)

Ingredients	Normal	HFD
Casein, 80 mesh	200	200
L-Cystine	3	3
Com 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

차이는 Student's t-test 분석법을 사용하여 통계학적인 유의성을 판정하였으며 P 값이 0.05 미만(P<0.05)인 경우를 통계학적으로 유의하다고 보았다.

결과 및 고찰

3T3-L1의 지방 축적 억제 효과

분화유도를 위해 첨가되는 insulin은 지방전구세포에서 지방세포로의 분화 시 glucose uptake와 중성지방의 합성을 증가시키고, dexamethasone은 지방 분화에 영향을 주는 transcription factor인 C/EBP α 의 필수적인 유도물질이다(13). IBMX는 3T3-L1 세포내의 cyclic nucleotide phosphodiesterase의 활성을 저해하여 결과적으로 지방분화세포에 직접적인 영향을 미치는 PPAR γ 와 transcription factor인 C/EBP α 를 활성화시키는 물질로서, 이들은 3T3-L1 preadipocyte 분화에 이용된다. 세포 내 지방 축적의 대부분이 중성지방이기 때문에 분화된 3T3-L1 adipocyte는 염색이 가능하다. PL과 PLM을 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. PL을 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 μ g/mL)로 처리하였을 때 96, 92, 89, 83, 32, 24% 정도의 지방축적을 보였으며, PL 10, 30, 100, 300 μ g/mL에서 P<0.01 수준에서 유의한 억제 효과가 나타났다(Fig. 2A). PLM을 농도별로 처리하였을 때 88, 88, 88, 85, 69, 41% 정도의 지방 축적을 보였으며, 농도 의존적으로 P<0.01 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다(Fig. 1B). 이 결과를 통해 상황버섯추출물 100, 300 μ g/mL와 상황버섯균사체배양액 추출물 300 μ g/mL이 양성 대조군 orlistat보다 3T3-L1 지방세포 내 중성지방의 축적에 대한 억제 효과가 큰 것으로 보아 비만 예방에 효과적인

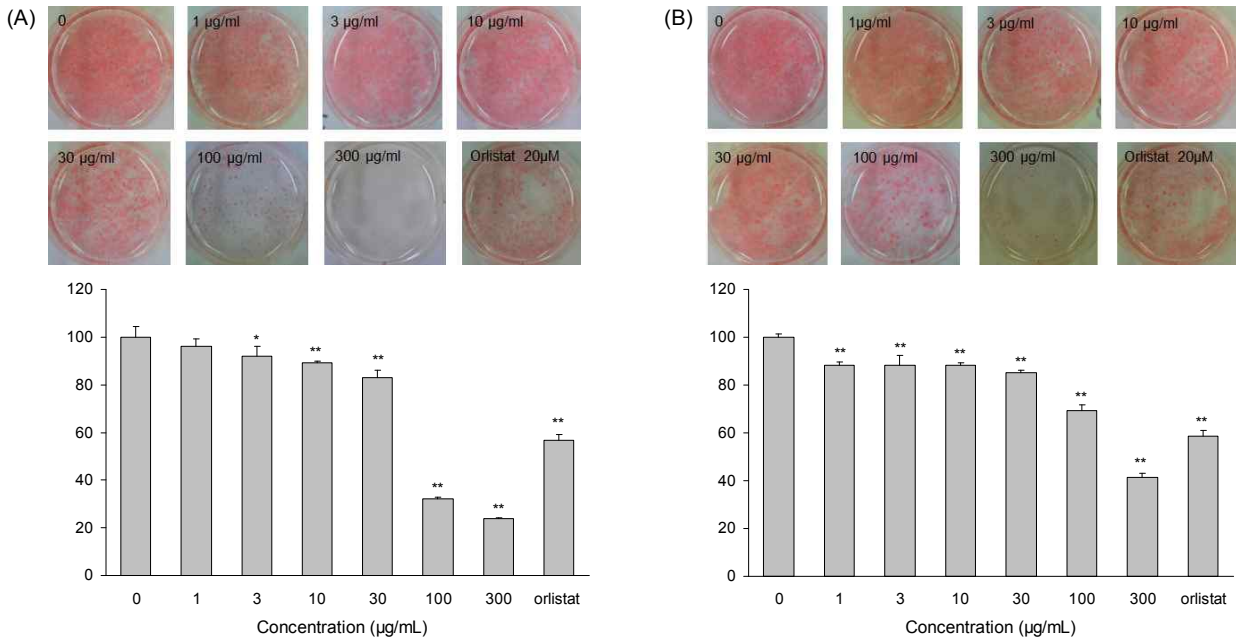


Fig. 1. Effect of *Phellinus linteus* (PL) (A) and rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLM) (B) on lipid accumulation of the differentiated 3T3-L1 cells. The intracellular lipid accumulation was evaluated by Oil Red O staining. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$.

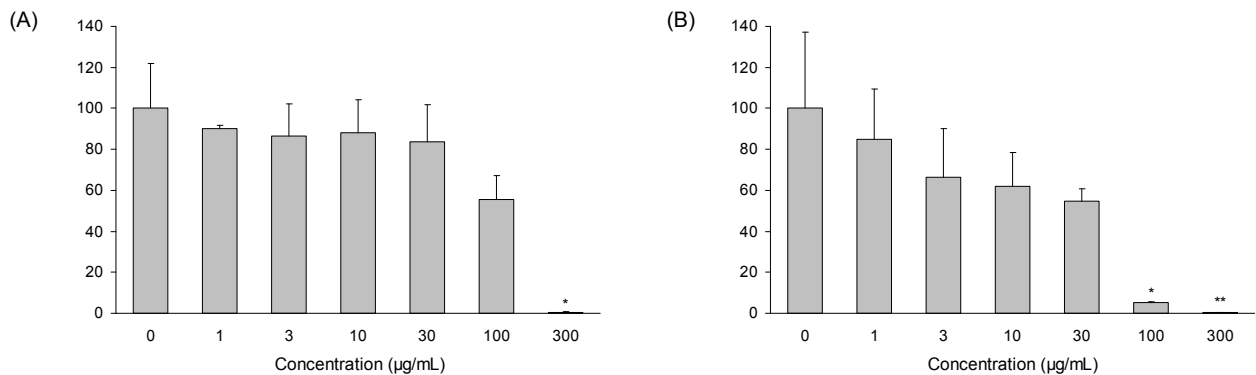


Fig. 2. Effect of *Phellinus linteus* (PL) (A) and rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLM) (B) on the CETP levels. The level of CETP was determined using CETP inhibitor assay kits. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$.

것으로 기대된다.

CETP 저해 활성

CETP(cholesterol ester transfer protein)는 혈중에서 지단백질의 콜레스테롤 에스터와 중성지방을 교환하는 역할을 하는 당단백질이다. 중성지방의 농도가 증가할수록 지방운송단백질인 CETP의 활성이 증가하는데 CETP 억제제는 지질대사를 조절하는 약물로 알려져 있다. 따라서 PL과 PLM을 처리하여 HDL의 혈중 농도를 확인하였다(Fig. 2). Fig. 2A에서 보는 바와 같이 PL을 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL)로 처리하였을 때 각각 10, 14, 12, 16, 45, 99% CETP 활성 저해효과를 나타내었다. 특히 PL을 300 µg/mL로 처리하였을 때 $P < 0.05$ 수준에서 유의한 저해효과를 나타내었다. 또한 PLM을 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL)로 처리하였을 때 각각 15, 34, 38, 45, 95, 99%로 농도

에 의존적으로 CEPT 활성 저해효과가 나타났고, PLM 100 µg/mL에서 $P < 0.05$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났으며, PLM 300 µg/mL에서는 $P < 0.01$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다(Fig. 2B).

PTP1B 저해 활성

PTP1B는 당뇨병에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있으며, 인슐린 시그널의 negative regulator로 제안되었다. PTP1B 활성의 증가는 분비된 인슐린 양을 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. PL

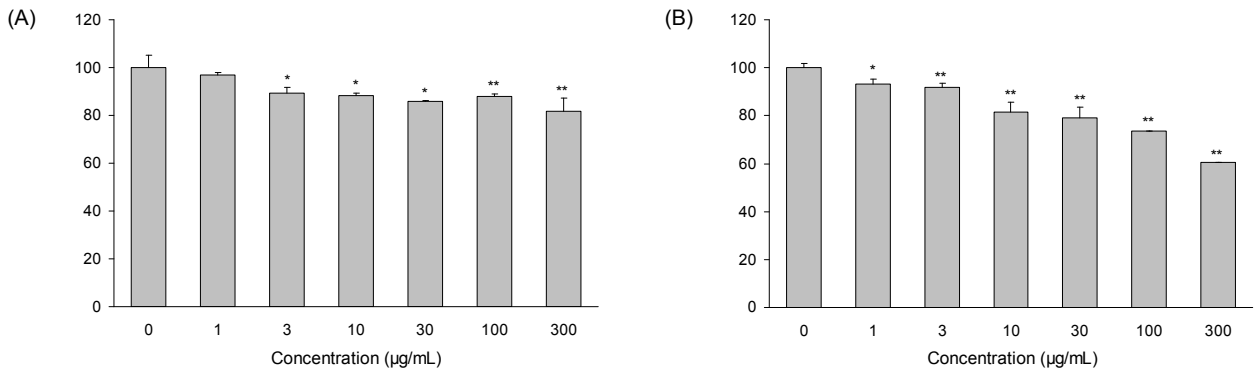


Fig. 3. Effect of *Phellinus linteus* (PL) (A) and rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLM) (B) on the PTP1B levels. The level of PTP1B was determined using PTP1B fluorometric assay kits. * $P<0.05$ and ** $P<0.01$.

은 대조군에 비하여 PL을 농도별(1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL)로 처리하였을 때 각각 3, 10, 11, 14, 12, 18%의 저해효과를 보였으며 대조군에 비해 PL 3, 10, 30 µg/mL 처리하였을 때 통계적으로 $P<0.05$ 수준에서 유의한 PTP1B의 활성 저해효과를 나타내었다(Fig. 3A). PLM 또한 1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL로 처리하였을 때 농도에 의존적으로 7, 8, 18, 21, 26, 40% 저해효과를 보였고, PLM을 1 µg/mL 처리하였을 때 통계적으로 $P<0.05$ 수준에서의 유의한 저해효과를 나타내었으며, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL로 처리하였을 때 $P<0.01$ 수준에서 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 PL, PLM은 체내 조직의 인슐린 신호전달과정에서 탈인산화 작용에 관여하는 PTP1B 효소를 저해함으로써 인슐린의 작용을 높이고 당흡수를 지연시켜, 당뇨병 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다.

고지방식이에 따른 체중 증가량과 혈청의 지질 농도

고지방식을 섭취하고 28일간의 체중변화량을 Table 2에 나타내었다. 체중변화는 실험 시작 시에 정상군(Normal)과 고지방식이대조군 간의 차이가 없었으나, 실험 종료시 정상군보다 고지방 대조군이 높은 체중증가율을 보여 고지방식으로 비만이 유도되었음을 확인하였다(Data not

shown). 고지방식이대조군(HFD)에 비해 PL과 PLM 투여군이 감소하는 경향은 보였으나 유의한 차이를 보이지 않았다. 이는 Kim 등(14)이 고지방식이와 상황버섯 메탄을 추출물 투여 시 체중증가가 대조군과 차이가 없음을 보고한 연구결과와 유사하다.

고지방식이에 PL과 PLM을 경구투여 하였을 때 흰쥐의 간의 기능지표 효소활성을 측정할 결과는 Table 3과 같다. 혈청의 GOT 활성은 간세포의 변성과 괴사를 반영하는 효소로서 간 조직 손상 시 혈중으로 다량 유출된다. GOT, GPT 활성은 HFD 군에 비해 PL과 PLM 처리군에서 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이를 보이지 않았다.

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.

혈청의 지질농도 변화는 Table 4와 같다. 혈청의 총콜레스테롤은 HFD군(92.0±10.8 mg/dL)에 비해 PL군(69.2±17.4 mg/dL), PLM군(68.8±19.3 mg/dL) 모두 유의적인 감소를 나타내었고($P<0.05$), 혈청의 중성지방(triglyceride) 농도는 HFD군 110.0±13.8 mg/dL에 비해 PL군은 82.0±16.2, PLM군은 84.6±10.8 mg/dL로 모두 유의적으로 감소

Table 2. Effect of *Phellinus linteus* (PL) and rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLM) 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
PL	158.8±13.5	360.9±16.3	202.1±10.8
PLM	158.6±3.1	361.5±30.2	202.9±28.5

Values represent the mean±SE (n=5).

Table 3. Effect of *Phellinus linteus* (PL) and rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLM) 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
PL	86.6±9.4	35.0±8.5
PLM	82.0±18.8	34.0±7.7

Values represent the mean±SE (n=5).

Table 4. Effects of *Phellinus linteus* (PL) and rice with *Phellinus linteus* mycelium (PLM) on the levels of biochemical markers in rats fed high-fat diet for 28 days

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
PL	69.2±17.4*	82.0±16.2*	63.2±18.0	40.2±16.1
PLM	68.8±19.3*	84.6±10.8*	65.4±3.4**	38.8±17.3

Values represent the mean±SE (n=5). * $P<0.05$ and ** $P<0.01$.

하였다. 또한 혈청의 HDL-cholesterol은 HFD군이 52.4±4.3 mg/dL로 나타났고 PL군이 63.2±18.0 mg/dL, PLM군이 65.4±3.4 mg/dL로 HFD처리군보다 증가함을 보였으며, PLM처리군에서 유의적으로 증가하였다($P<0.01$). LDL-cholesterol은 HFD군이 59.5±12.1 mg/dL로 나타났고, PL군이 40.2±16.1 mg/dL, PLM군이 38.8±17.3 mg/dL로 나타났으며 유의적인 차이는 없었다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 PL과 PLM의 투여가 혈중 지질 조성을 개선시키는 효과가 있음을 알 수 있었다. 상황버섯과 상황버섯균사체배양쌀군에서 총콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤을 낮추고 HDL-콜레스테롤을 상승시키는 결과를 초래하여 지질대사 개선에 효과적인 것으로 나타났다. 상황버섯군에 비해 상황버섯균사체배양쌀군이 혈청의 총 콜레스테롤을 낮추고 HDL-cholesterol을 높이는 경향은 상황버섯균사체쌀에 베타글루칸 함량의 상승효과라 사료된다.

요 약

본 연구에서는 상황버섯(PL)과 상황버섯균사체를 접종시켜 20일간 배양한 상황버섯균사체배양쌀 추출물(PLM)의 항당뇨와 항비만 효과를 규명하고자 하였다. 지방축적 억제 효과를 확인하기 위하여 분화유도 후 8일째에 Oil Red O 염색을 통해 세포 내 형성된 lipid droplet을 isopropanol에 용출하여 500 nm에서 흡광도를 측정할 결과 PL 3, 30, 100, 300 µg/mL에서 $P<0.01$ 수준에서 유의한 억제 효과가 나타났다. PLM은 농도 의존적으로 $P<0.01$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다. CETP 저해 활성을 측정한 결과 PL 300 µg/mL에서 $P<0.05$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다. PLM은 100 µg/mL에서 $P<0.05$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났으며, PLM 300 µg/mL에서는 $P<0.01$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다. 인슐린에 의한 세포내 신호전달에 있어서 인슐린의 효과를 저해하는 PTP1B의 활성을 측정한 결과, PL은 10, 30, 100 µg/mL에서 통계적으로 $P<0.05$ 수준에서의 유의한 저해효과가 나타났으며 PL 1,000 µg/mL에 있어서는 $P<0.01$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다. PLM은 대조군에 비하여 PLM 1 µg/mL에서 통계적으로 $P<0.05$ 수준에서의 유의한 저해효과가 나타났으며 PLM 3, 10, 30, 100, 300, 1,000 µg/mL에 있어서는 $P<0.01$ 수준에서 유의한 저해효과가 나타났다. 또한 고지방식이에 PL과 PLM을 28일간 경구투여 하였을 때 총콜레스테롤은 HFD군에 비해 PL, PLM군 모두 유의적인 감소를

나타내었고($P<0.05$), 혈청의 중성지방(triglyceride) 농도는 HFD군에 비해 PL군, PLM군은 모두 감소하는 경향을 나타내었으며 통계적으로 $P<0.05$ 수준에서 유의적인 감소를 나타내었다. 혈청의 HDL-cholesterol은 HFD처리군보다 시료처리군에서 증가를 보였으며, PLM처리군에서 유의적인 증가를 나타내었다($P<0.01$). LDL-cholesterol은 HFD군에 비해 PL군, PLM군에서 감소하였으며, 유의적인 차이는 없었다. 이상의 결과로 보아 상황버섯과 상황버섯균사체배양쌀은 지방세포의 분화를 억제시키며 PL과 PLM이 혈청 지질 조성을 개선시키는데 효과가 있음을 알 수 있다. 앞으로 항비만, 항당뇨 생리활성을 나타내는 식품소재로서의 개발에 가능성이 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Després JP, Lemieux I. 2006. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444: 881-887.
- 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.
- 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.
- Flier JS, Maratos-Flier E. 1998. Obesity and the hypothalamus: novel peptides for new pathways. *Cell* 92: 437-440.
- Otto TC, Lane MD. 2005. Adipose development: from stem cell to adipocyte. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 40: 229-242.
- Duntas LH. 2002. Thyroid disease and lipids. *Tyroid* 12: 287-293.
- Johnson TO, Ermolieff J, Jirousek MR. 2002. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors for diabetes. *Nat Rev Drug Discov* 1: 696-709.
- Cook WS, Unger RH. 2002. Protein tyrosine phosphatase 1B: a potential leptin resistance factor of obesity. *Dev Cell* 2: 385-387.
- Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, Normandin D, Cheng A, Himms-Hagen J, Chan CC, Ramachandran C, Gresser MJ, Tremblay ML, Kennedy BP. 1999. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science* 283: 1544-1548.
- 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.
- Ren G, Liu XY, Zhu HK, Yang SZ, Fu CX. 2006. Evaluation of cytotoxic activities of some medicinal polypore fungi from China. *Fitoterapia* 77: 408-410.

12. Lee JW, Bang KW. 2001. Biological activity of *Phellinus* spp. *Food Industry and Nutrition* 6(1): 25-33.
13. Rubin CS, Hirsch A, Fung C, Rosen OM. 1978. Development of hormone receptors and hormonal responsiveness *in vitro*. Insulin receptors and insulin sensitivity in the preadipocyte and adipocyte forms of 3T3-L1 cells. *J Biol Chem* 253: 7570-7578.
14. Kim JH, Son IS, Kim JS, Kim KH, Kwon CS. 2008. Lipase-inhibitory and anti-oxidative activity of the methanol extract and the powder of *Phellinus linteus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 154-161.