

지방간 모델에서 가시오가피 발효물의 간 기능 개선 효과

조주현^{1*} · 박인재¹ · 최수영² · 백순옥¹ · 김충식¹

¹휴림 중앙연구소
²충북대학교 생물학과

The Hepatoprotective Effect of *Acanthopanax senticosus* Fermentation Products in Fatty Liver Model

Ju-Hyun Cho^{1*}, In-Jae Park¹, Soo-Young Choi², Soon-Ok Baik¹, and Choong-Sik Kim¹

¹Hurum Central Research Institute Co., Ltd., Chungbuk 363-883, Korea
²College of Biology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

ABSTRACT We demonstrated that *Acanthopanax senticosus* fermentation products (FM-5111 and FM-5131) administered to rats functionally protect against DL-ethionine-induced and ethanol-induced fatty liver models. In DL-ethionine-induced fatty liver models, the serum concentrations of aspartate aminotransferase (AST), as well as liver concentrations of triglyceride and total lipid against the control decreased in FM-5111 and FM-5131 treated rats. In ethanol-induced fatty liver models, FM-5111 and FM-5131 treated rats showed a decrease in the liver concentrations of triglyceride and total lipid in ethanol-induced fatty liver models. There were no significant differences in the serum concentrations of AST and alanine aminotransferase in FM-5111 and FM-5131 treated rats. Additionally, FM-5111-, or FM-5131-treated rats showed no significant differences in the body weight gain between the control. These results indicate that *Acanthopanax senticosus* fermentation products might have protective effects against DL-ethionine-induced and ethanol-induced fatty liver models.

Key words: *Acanthopanax senticosus* fermentation, DL-ethionine-induced fatty liver model, ethanol-induced fatty liver model, *Ganoderma lucidum*, *Phellinus linteus*

서 론

최근 식생활의 변화 등으로 인하여 간질환 환자가 늘고 있다. 이는 최근 우리나라 경제성장과 생활수준의 향상으로 인하여 칼로리 섭취가 증가하였으나 활동적인 운동의 기회가 감소하여 여분의 칼로리가 지방의 형태로 피하지방층이나 간에 축적되어 비만과 steatosis (simple fatty liver), NASH (nonalcoholic steatohepatitis; hepatitis, fibrosis), cirrhosis (irreversible) 등과 같은 비알코올성 지방간이 증가하였기 때문이다(1,2). 이와 더불어 알코올 섭취 증가로 인한 알코올성 지방간 또한 가장 흔히 발생하는 간질환의 예이다(3).

지방간이란 지방의 과도한 섭취, 간 내 축적 및 합성 증가(4), 간장 내 저장지방 증가 및 간장으로부터 말초조직으로 이동하는 지방의 감소, 배출 감소 등이 원인이 되어(2,5) 정상적인 지방대사가 이루어지지 못하여 지방이 전체 간 무게의 5% 이상을 차지하게 되는 경우를 말한다(2).

만성적인 에탄올 섭취는 신체의 주요 기관에 치명적인 영향을 미칠 수 있으며(6), 지방산 합성과 분비 및 대사에 중요한 역할을 담당하는 간세포에 장애를 초래하고 간 비대화, 간 괴사, 알코올성 간염, 지방간 및 간경변 등으로 진전된다(6,7). 만성적인 알코올 섭취에 의해서 뿐만 아니라 고용량을 1회 섭취하는 것만으로도 알코올성 지방간이 유도될 수 있다(8).

비알코올성 지방간질환(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 알코올 섭취가 거의 없는 사람에서 나타나며, 특별한 임상적 의의가 없는 단순한 지방간부터 간경화를 일으키는 더 심한 형태의 비알코올성 지방간염(NASH)에 이르는 다양한 범위의 간질환을 포함한다(9). 근래에 들어 전 세계적으로 비만, 당뇨, 고혈압, 고지혈증 등 대사성 증후군의 유병률이 증가하면서 비알코올성 지방간의 유병률도 증가됨에 따라 임상적으로 많은 관심을 끌고 있다(10-13).

가시오가피에 대한 생리활성 및 약리효능 연구는 Brekhman(14)과 Ovodov 등(15)에 의해 러시아산 가시오가피에서 분리한 eleutheroside류가 항피로작용과 항스트레스 작용을 갖고 있음이 과학적으로 입증된 이후로 생체기관의 기능증대, 중추신경 흥분작용, 근육운동 촉진작용, 대사 촉

Received 10 September 2013; Accepted 17 October 2013

*Corresponding author.

E-mail: dusvnd608@hurum.co.kr, Phone: +82-43-217-1077

진작용, 동맥혈압의 정상화, 항염작용, 항암작용, alloxane 유발, 항당뇨작용, 해독작용, 항류마티스 등 다양한 생리적 작용에 관하여 보고되고 있다(16,17).

영지버섯(*Ganoderma lucidum*)은 담자균류의 다공균과에 속하는 버섯으로 이노, 강장, 면역, 항암 등의 치료제로서 이용되고 있으며(18-20), 영지버섯에 대한 항암작용, 면역증강작용, 항알레르기작용, 항고혈압작용, 고지혈증 개선 및 혈당강하작용 등에 대해 보고되어 있다(21-24). 상황버섯(*Phellinus linteus*)은 소화기 계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암, 간암의 절제 수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 증강시키며, 자궁출혈 및 대하, 월경불순, 장출혈, 오장 및 위장 기능을 활성화시키는 작용과 해독작용이 있다고 알려졌다(20).

본 연구는 가시오가피를 천연배지로 영지버섯 균사체와 상황버섯 균사체를 각각 배양하여 발효물을 제조하였고, DL-ethionine과 ethanol로 지방간이 유발된 rats에 가시오가피 발효물 추출물을 농도별로 투여하여 간 기능 개선에 대한 효과를 분석하였다.

재료 및 방법

가시오가피 발효물 생산 및 추출

가시오가피-영지버섯 발효물은 가시오가피 줄기와 잎의 비율을 80 : 20으로 혼합하였고, 가시오가피-상황버섯 발효물은 가시오가피의 줄기와 잎의 비율이 50 : 50으로 혼합하여 천연배지 원료를 준비하였다. 영지버섯(*Ganoderma lucidum*; KCTC 6729)과 상황버섯(*Phellinus linteus*; KCTC 6719) 종균 제조는 potato dextrose agar(Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에 접종하고 28°C에서 7일간 배양한 후, cork borer(φ 8 mm)로 절취하여 멸균된 potato dextrose broth(Difco) 배지가 100 mL씩 분주되어 있는 삼각 플라스크에 5~6개의 절취된 균주디스크를 접종하고 6일간 진탕배양(SI-400R, JEIOTECH, Seoul, Korea)한 다음 분쇄기(Waring, Winchester, CT, USA)로 균질화한 후 potato dextrose broth 배지가 100 mL씩 분주되어 있는 삼각 플라스크에 9 mL를 접종한 후 5일간 배양하여 종균으로 사용하였다. 천연배지 원료를 수분이 63±3%가 되도록 정제수를 투입하고 autoclave(Jeio tech, Daejeon, Korea)에서 121 °C, 20분간 초벌 멸균한 후 배양용기에 담긴 가시오가피 배지 부피가 60%가 되도록 적당한 압력으로 눌러주고 배양용기 뚜껑으로 밀폐시킨 후 autoclave(Jeio tech)에서 121°C, 40분간 멸균을 실시한 다음 가시오가피 배지를 25°C까지 급랭시켜 천연배지로 사용하였다. 가시오가피-영지버섯 발효물을 위한 천연배지에 영지버섯 종균을 9%씩 접종하고 28°C에서 14일간 배양하였으며, 가시오가피-상황버섯 발효물을 위한 천연배지에 상황버섯 종균을 9%씩 접종하고 28°C에서 30일간 배양하였다.

가시오가피-영지버섯 발효물과 가시오가피-상황버섯 발

효물을 60°C에서 건조하여 열수추출한 후, 동결건조 하여 시료로 사용하였다. 또한 두 시료에 대해 지표성분인 eleutheroside B, eleutheroside E와 β-glucan의 함량을 분석하였다.

DL-Ethionine과 ethanol 지방간 모델 유발

5주령 Sprague-Dawley(SD) rats 수컷을 (주)대한바이오텍(Eumsung, Korea)에서 공급받았고, 입수동물은 1주일간 동물실에서 순화시킨 후 시험에 사용하였다. 사육상자 당 2수의 rats를 사육하였고, 사육환경은 자동환경조절장치로 다음과 같이 조절하였다(온도: 22±3°C, 상대습도: 50±10%, 조도: 200~300 Lux, 명암주기: 12시간 점등/ 12시간 소등, 조명시간: 8시~20시). 실험동물은 1개의 정상시험군(normal: 지방간 비유발), 1개의 음성대조군(control: ethionine or ethanol), 1개의 양성대조군(ethionine or ethanol, ursodeoxycholic acid(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 30 mg/kg 투여), 3개의 FM-5111 투여시험군(ethionine or ethanol, FM-5111-L 50 mg/kg, FM-5111-M 150 mg/kg, FM-5111-H 300 mg/kg), 3개의 FM-5131 투여시험군(ethionine or ethanol, FM-5131-L 50 mg/kg, FM-5131-M 150 mg/kg, FM-5131-H 300 mg/kg)으로 설정하였고 각 군당 8수의 rats를 공시하였다(Table 1).

DL-Ethionine 지방간 모델에서의 가시오가피 발효물 효능평가를 위해 시험물질인 FM-5111과 FM-5131을 DL-ethionine(Sigma-Aldrich) 투여일과 투여 하루 전후에 오전, 오후 두 번씩 총 6회에 걸쳐 위에서 언급한 농도로 경구 투여 하였으며, ethionine은 생리식염수에 2%(w/v)로 녹여 200 mg/kg으로 경구투여 하였다.

Ethanol(Duksan, Seoul, Korea) 지방간 모델에서의 가시오가피 발효물 효능평가를 위해 30% ethanol을 10 mL/kg으로 오전, 오후 같은 시각에 매일 2회에 걸쳐 28일 동안 경구투여 하였으며, 시험물질은 ethanol 투여 15일째부터 14일 동안 위에서 언급한 농도로 경구투여 하였다(Table 1).

모든 동물실험은 충북대학교 동물실험윤리위원회(승인 번호: CBNUA-428-12-02)의 승인 하에 이루어졌다.

지방간 모델의 체중 측정 및 혈액 생화학적 분석

Ethionine 지방간 모델의 체중은 매일 한번씩, ethanol 지방간 모델의 체중은 매주 1회 일정한 시간에 동물용 체중계를 이용하여 측정하였다.

시험이 종료된 후 시험동물을 ethyl ether(Duksan)로 마취하여 복부대동맥으로부터 채혈하였다. 혈액은 원심분리(3,000 rpm, 15분)한 후 혈청을 회수하여 혈청자동분석기(Hitachi7060, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 aspartate aminotransferase(AST)와 alanine aminotransferase(ALT)를 측정하였다.

Table 1. Experimental groups in the study

Group	Dose (mg/kg)	Ethionine-induced fatty liver model		Ethanol-induced fatty liver model	
		Induction/	Duration of study (day)	Induction/	Duration of study (day)
Normal		non-induction/3		non-induction/28	
Control		ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	
UDCA	30	ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	
FM-5111	50	ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	
	150	ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	
	300	ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	
FM-5131	50	ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	
	150	ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	
	300	ethionine (200 mg/kg)/3		30% ethanol (10 mL/kg)/28	

Normal: saline 10 mL/kg, Control: fatty liver model, UDCA: fatty liver model+ursodeoxycholic acid 30 mg/kg, FM-5111: fatty liver model+FM-5111 (50, 150, 300 mg/kg), FM-5131: fatty liver model+FM-5131 (50, 150, 300 mg/kg).

간 지질 분석

시험 종료 후 시험동물의 간을 적출하여 무게를 측정하고 다음 시험에 사용할 때까지 -70°C 에 보관하였다. 냉동된 간을 4°C 에서 O/N 해동하여 차가운 1.15% KCl(Sigma-Aldrich) 용액으로 10%(w/v)가 되도록 잘라 homogenizer (X520, Finemech, Portola Valley, CA, USA)로 균질화 하였다. 3,000 rpm, 15 min으로 원심분리 후 상층액을 얻어 간 지질 분석에 사용하였다.

총 지질 분석은 Frings와 Dunn(25)의 방법에 따라 상층액에 H_2SO_4 (Sigma-Aldrich)를 가해 끓는 물에 10분간 가온한 후 얼음물에 냉각시켜 phospho-vanillin 용액을 가하여 37°C 에서 15분간 반응시키고 상온에서 5분간 냉각하였다. 이 반응액을 spectrophotometer(UV 1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 540 nm로 흡광도를 측정하고, olive oil(Sigma-Aldrich)을 working standard solution으로 사용하여 지질의 양을 정량하였다.

중성지방 분석은 Uchiyama와 Mihara(26)의 방법에 따라 1.15% KCl 용액으로 10%(w/v)가 되도록 잘라 균질화한 후, 원심분리 하여 얻어진 상층액을 Cleantech TG-S(Asan-parm, Seoul, Korea)를 이용하여 분석하였다.

통계 분석

실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며 SPSS program(SPSS 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 유의성이 관찰되면 대조군과 유의차가 있는 시험군을 확인하기 위해 Dunnett's t-test의 다중검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

가시오가피 발효물의 지표성분 함량 분석

지방간 모델에서 간 기능 개선 효능평가에 사용된 시료인 FM-5111, FM5131의 eleutheroside B, E와 β -glucan의 함량을 분석한 결과 eleutheroside B의 경우 FM-5111은 0.050 mg/g, FM5131은 0.028 mg/g으로 분석되었으며,

Table 2. Eleutheroside B, E and β -glucan contents in extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented mushroom

Sample	Eleutheroside (mg/g)		β -Glucan (% w/w)
	B	E	
FM-5111	0.050±0.003	0.064±0.011	4.47±0.14
FM-5131	0.028±0.001	0.074±0.064	4.15±0.06

FM-5111: water extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Ganoderma lucidum*.

FM-5131: water extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Phellinus linteus*.

eleutheroside E의 경우 FM-5111은 0.064 mg/g, FM5131은 0.074 mg/g으로 분석되었다. 또한 β -glucan 함량의 경우 FM-5111은 4.47%로 측정되었으며, FM-5131은 4.15%로 분석되었다(Table 2).

지방간 모델의 체중 및 혈액 생화학적 분석

체중 측정결과 전체 시험기간에 걸쳐 ethionine 및 ethanol로 유발한 지방간 모델에서 음성대조군(control)과 비교하여 양성대조군 및 시험물질 투여군에서 통계적으로 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Table 3). 이러한 결과는 지방간 모델에서 시험물질 투여가 시험동물의 생육에 부정적인 영향을 주고 있지 않는 것으로 판단된다.

Ethionine으로 유발한 지방간 모델에서의 혈액으로부터 AST와 ALT 수치를 분석한 결과 AST와 ALT 모두 간에 존재하는 효소로 간 손상 시 혈액으로 유리되어 간 손상의 지표로서 사용된다. Ethionine으로 지방간이 유도된 control군은 normal군에 비하여 모두 수치가 증가하였다. 특히 AST는 FM-5111-H, FM-5131-M, FM-5131-H 군에서 control과 비교하여 유의적으로 감소하였다(Fig. 1A). ALT는 모든 시험군에서 감소하였으나 대조군과 비교하여 시험물질 투여군에서 유의적으로 감소하지 않았다(Fig. 1B).

Ethanol로 유발한 지방간 모델에서의 혈액으로부터 AST와 ALT 수치를 분석한 결과 ethanol로 지방간이 유도된 control군은 normal군에 비하여 모두 수치가 증가하였으며, 시험물질 투여군 중 FM-5111-M, FM-5111-H, FM-5131-H 군에서 control과 비교하여 AST의 수치가 유의적

Table 3. Body weight in ethionine-induced and ethanol-induced fatty liver model

Fatty liver model	Day	Group/ Dose (mg/kg)												
		Normal			Control			UDCA			FM-5111			FM-5131
		50	150	300	50	150	300	50	150	300	50	150	300	
Ethionine	1	242.72±7.10 ^{NS1)}	246.06±8.16	243.51±12.33	239.25±9.40	244.64±8.09	246.74±9.79	241.08±10.97	246.18±10.04	243.88±11.12	251.33±10.83	256.98±11.12	253.52±10.61	
	2	249.88±6.46 ^{NS}	256.75±8.82	252.89±12.22	249.02±11.62	256.24±8.69	257.32±8.84	251.33±10.83	256.98±11.12	253.52±10.61	256.98±10.68	260.65±10.93	256.33±11.90	
	3	258.38±7.51 ^{NS}	260.31±9.96	257.12±12.13	253.24±9.65	256.00±10.76	259.71±11.51	256.98±10.68	260.65±10.93	256.33±11.90	204.79±9.77	203.79±11.45	206.09±9.13	
Ethanol	7	215.10±10.19 ^{NS}	206.39±10.37	206.61±9.25	207.78±10.52	205.39±13.07	211.89±10.57	204.79±9.77	203.79±11.45	206.09±9.13	258.18±11.23	256.80±14.04	256.85±12.68	
	14	267.89±11.80 ^{NS}	255.24±15.05	254.36±10.03	258.65±13.73	254.54±16.75	261.44±9.34	258.18±11.23	256.80±14.04	256.85±12.68	302.89±14.83	309.79±13.02	302.96±21.23	
	21	315.16±14.59 ^{NS}	303.45±20.01	303.36±13.40	304.79±17.73	305.00±23.99	310.49±11.19	302.89±14.83	309.79±13.02	302.96±21.23	337.95±16.24	345.41±14.83	338.78±24.76	
	28	353.59±19.27 ^{NS}	334.78±23.50	339.14±15.81	336.49±23.28	333.76±32.60	341.10±13.49	337.95±16.24	345.41±14.83	338.78±24.76				

Normal: saline 10 mL/kg, Control: fatty liver model, UDCA: fatty liver model+ursodeoxycholic acid 30 mg/kg, FM-5111: fatty liver model+FM-5111 (50, 150, 300 mg/kg), FM-5131: fatty liver model+FM-5131 (50, 150, 300 mg/kg).
¹⁾Not significant.

으로 감소하였다(Fig. 2A). ALT는 대조군과 비교하여 시험물질 투여군, 양성대조군 모두에서 유의적으로 감소하지 않았다(Fig. 2B). 알코올성 간 손상(27), echovirus의 감염(28), 대사성 질환(27)에서는 AST 수치가 ALT 수치에 비해 상승이 더 두드러진다. 따라서 본 연구에서의 ALT 수치가 유의성이 없게 나타난 이유는 ethionine과 ethanol에 의해 유발된 지방간 모델에서의 간 손상이 ALT 수치가 증가하기 이전에 일어났기 때문으로 사료된다.

이러한 결과로 볼 때 FM-5111, FM-5131은 ethionine과 ethanol에 의해 유발된 지방간 모델에서 간 손상에 대한 예방 및 개선 효능을 갖는 것으로 사료된다.

지방간 모델의 간 내 총 지질 분석

Ethionine 지방간 모델에서 control군의 간 내 총 지질량은 간 g당 65.56 mg으로 normal군 31.01 mg에 비해 총 지질량이 2배 이상 증가되었으며, 시험물질 투여군의 간 내 총 지질량은 전체적으로 감소하는 경향을 보였다. 특히 FM-5111-L, FM-5111-M, FM-5131-M, FM-5131-H 군에서 총 지질량이 유의적으로 감소하였다(Fig. 3A). 이 결과에서 보면 시험물질 투여군의 간 내 총 지질량이 양성대조군인 UDCA 투여군보다 더 낮아진 것을 알 수 있다.

Ethanol 지방간 모델에서 control군은 normal군에 비해 간 내 총 지질량이 증가하였다. UDCA를 투여한 양성대조군의 간 내 총 지질량은 감소하였으며, 모든 시험물질 투여군에서 총 지질량은 유의적으로 현저히 감소하였고(Fig. 3B), 시험물질 투여군의 총 지질량은 양성대조군보다 더 감소하였다. 또한 시험물질 투여군에서 총 지질량이 감소한 것은 시험물질 투여군의 간 내 인지질이나 지방산의 양이 감소한 것으로 사료된다. 이러한 결과로 볼 때, ethionine 또는 ethanol 지방간 모델에서 FM-5111과 FM-5131은 간 내 지질의 축적을 예방하는 효능을 갖는 것으로 판단된다. 그리고 이러한 효능은 ethionine 지방간 모델보다 ethanol 지방간 모델에서 더욱 두드러지게 나타나고 있다.

지방간 모델의 간 내 중성지방 분석

Ethionine 지방간 모델에서 control군의 간 조직 내 중성지방 함유량은 간 g당 52.28 mg으로 normal군 17.89 mg에 비하여 약 3배가량 증가하였으며, FM-5111-M, FM-5111-H, FM-5131-M, FM-5131-H 군에서 중성지방 함유량이 유의적으로 감소하였다(Fig. 4A). 시험물질 투여군의 중성지방 함유량 감소 정도는 양성대조군인 UDCA 투여군과 비슷한 정도를 보이고 있다.

Ethanol 지방간 모델에서 control군은 normal군에 비해 간 내 중성지방 함유량이 증가하였다. UDCA를 투여한 양성대조군의 간 내 중성지방 함유량은 감소하였으며, FM-5111-L, FM-5111-M, FM-5111-H, FM-5131-M, FM-5131-H 군에서 중성지방 함유량은 유의적으로 감소하였고(Fig. 4B), 시험물질 투여군의 중성지방 감소 정도는 normal

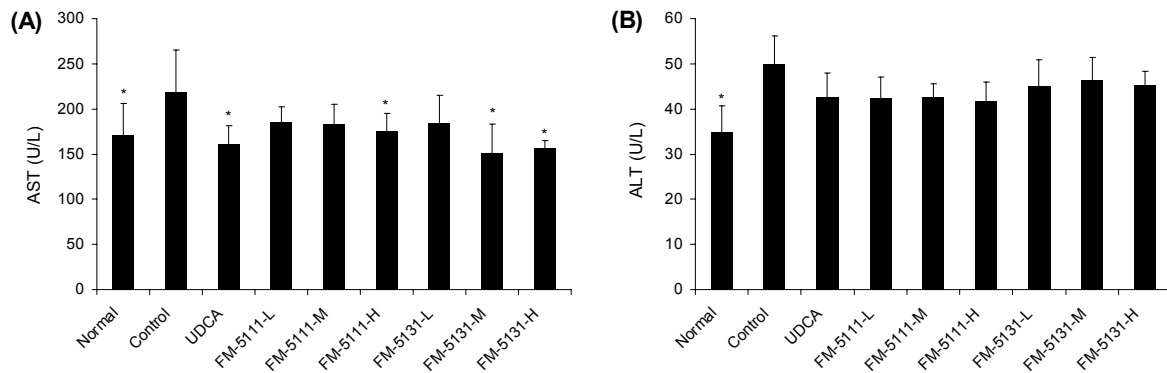


Fig. 1. Level of AST (A) and ALT (B) in ethionine-induced fatty liver model. AST (A) and ALT (B) in sera after 3 days of administration of experimental materials. Normal, saline 10 mL/kg; Control, ethionine 200 mg/kg; UDCA, ethionine 200 mg/kg+ursodeoxycholic acid 30 mg/kg; FM-5111-L, ethionine 200 mg/kg+FM-5111 50 mg/kg; FM-5111-M, ethionine 200 mg/kg+FM-5111 150 mg/kg; FM-5111-H, ethionine 200 mg/kg+FM-5111 300 mg/kg; FM-5131-L, ethionine 200 mg/kg+FM-5131 50 mg/kg; FM-5131-M, ethionine 200 mg/kg+FM-5131 150 mg/kg; FM-5131-H, ethionine 200 mg/kg+FM-5131 300 mg/kg. Data are presented as means±SD. * P <0.05; Compared to control.

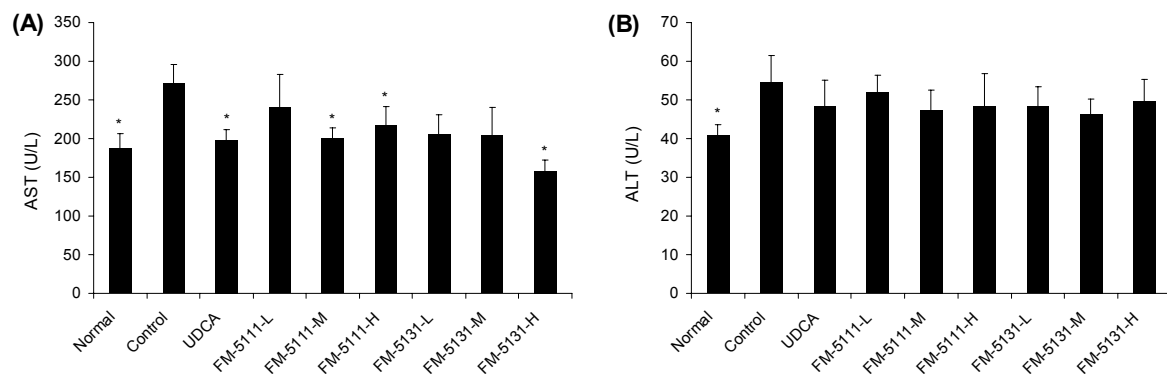


Fig. 2. Level of AST (A) and ALT (B) in ethanol-induced fatty liver model. AST (A) and ALT (B) in sera after 14 days of administration of experimental materials. Normal, saline 10 mL/kg; Control, 30% ethanol 10 mL/kg; UDCA, 30% ethanol 10 mL/kg+ursodeoxycholic acid 30 mg/kg; FM-5111-L, 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 50 mg/kg; FM-5111-M, 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 150 mg/kg; FM-5111-H, 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 300 mg/kg; FM-5131-L, 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 50 mg/kg; FM-5131-M, 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 150 mg/kg; FM-5131-H, 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 300 mg/kg. Data are presented as means±SD. * P <0.05; Compared to control.

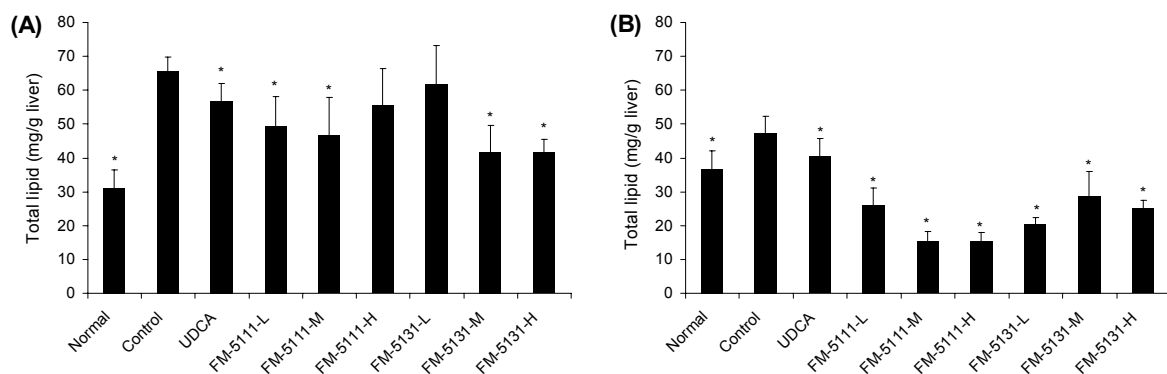


Fig. 3. Contents of total lipid in liver in ethionine-induced (A) and ethanol-induced (B) fatty liver model. (A) Total lipid in liver in ethionine-induced fatty acid model after 3 days of administration of experimental materials. (B) Total lipid in liver in ethanol-induced fatty acid model after 3 days of administration of experimental materials. Normal, saline 10 mL/kg; Control, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg; UDCA, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+ursodeoxycholic acid 30 mg/kg; FM-5111-L, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 50 mg/kg; FM-5111-M, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 150 mg/kg; FM-5111-H, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 300 mg/kg; FM-5131-L, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 50 mg/kg; FM-5131-M, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 150 mg/kg; FM-5131-H, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 300 mg/kg. Data are presented as means±SD. * P <0.05; Compared to control.

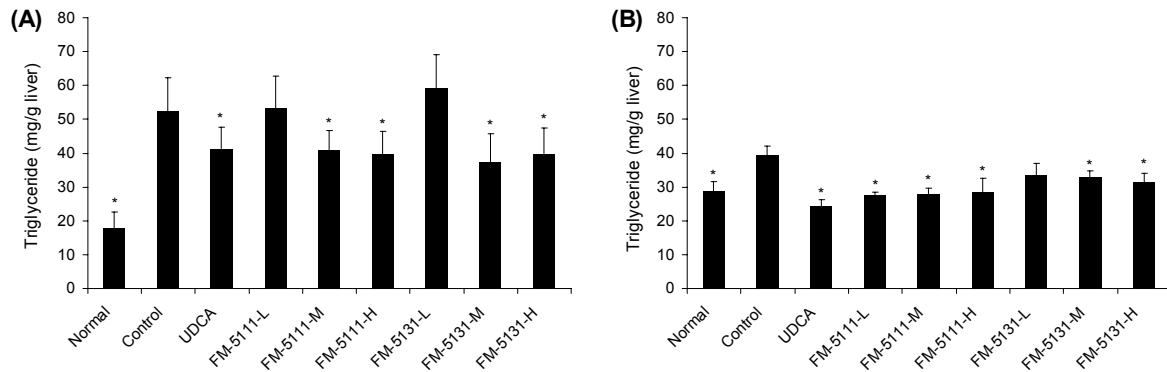


Fig. 4. Contents of triglyceride in liver in ethionine-induced (A) and ethanol-induced (B) fatty liver model. (A) Triglyceride in liver in ethionine-induced fatty acid model after 3 days of administration of experimental materials. (B) Triglyceride in liver in ethanol-induced fatty acid model after 3 days of administration of experimental materials. Normal, saline 10 mL/kg; Control, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg; UDCA, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+ursodeoxycholic acid 30 mg/kg; FM-5111-L, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 50 mg/kg; FM-5111-M, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 150 mg/kg; FM-5111-H, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5111 300 mg/kg; FM-5131-L, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 50 mg/kg; FM-5131-M, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 150 mg/kg; FM-5131-H, ethionine 200 mg/kg or 30% ethanol 10 mL/kg+FM-5131 300 mg/kg. Data are presented as means±SD. * $P < 0.05$; Compared to control.

군의 감소수준으로 감소하였다. 간에서 에탄올 대사 시 alcohol dehydrogenase(ADH), acetaldehyde dehydrogenase(ALDH) 효소들을 통해 알코올에서 유리된 수소는 NAD(P)⁺로 이송되어 NADH가 형성되며, 이때 간 세포 내에 NAD(P)⁺의 소모가 증가되어 NADH가 너무 많아지면서 NAD(P)⁺/NADH 비율의 불균형이 유도되어(29) 세포독성이 유발된다(30). 이로 인하여 NAD(P)⁺는 고갈되고, NADH가 과잉 생성되게 된다. 또한 과잉 생성된 수소가 에너지원으로 사용되어 지방산 산화(β -oxidation)를 감소시켜 중성지방(triglyceride)의 축적(31), citric acid cycle의 activity 감소를 초래한다. 따라서 FM-5111과 FM-5131은 아마도 불균형한 NAD(P)⁺/NAD(P)H⁺의 농도를 보완하여 중성지방의 축적을 억제하는 효과가 있을 것으로 추정된다.

이러한 결과들은 FM-5111과 FM-5131이 ethionine과 ethanol 지방간 모델에서 간 내 중성지방의 축적을 예방하는 데 효능을 갖는 것을 보여주고 있으며, 그 효능은 양성대조군인 UDCA와 유사함을 알 수 있었다. 또한 FM-5111과 FM-5131의 이러한 효능은 ethionine 지방간 모델과 ethanol 지방간 모델에서 유사한 경향을 보이고 있다. 따라서 FM-5111과 FM-5131은 비알코올성 지방간과 알코올성 지방간 형성을 억제하는 효능을 갖는 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 두 종류의 가시오가피 발효물 추출물(FM-5111, FM-5131)에 대한 지방간 예방 및 개선 효능을 검토하였다. 그 결과 FM-5111, FM-5131 모두 ethionine과 ethanol 지방간 모델에서 간 손상의 지표인 AST의 수치를 감소시키며, 간 내 총 지질량과 중성지방 함유량을 감소시키는 효능을 보이고 있다. 특히 간 내 총 지질량과 중성지방

함유량의 감소 정도로 보았을 때, ethanol 지방간 모델에서 더욱 두드러진 효능을 보이고 있다. 따라서 FM-5111과 FM-5131은 비알코올성 지방간 형성을 예방하고 알코올에 의해 형성된 지방간을 개선하는 효능을 가지고 있으며, 비알코올성 지방간과 알코올성 지방간 모델에서 간 손상 등을 억제하는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농림수산식품기술기획평가원 고부가가치식품 기술개발사업(과제번호: 110128)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

1. Salgado Júnior W, Santos JS, Sankarankutty AK, de Castro e Silva O. 2006. Nonalcoholic fatty liver disease and obesity. *Acta Cir Bras* 21 (suppl. 1): 72-78.
2. Younossi ZM. 1999. Nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Gastroenterol Rep* 1: 57-62.
3. Stewart S, Jones D, Day CP. 2001. Alcoholic liver disease: new insights into mechanisms and preventative strategies. *Trends Mol Med* 7: 408-413.
4. Purohit V, Russo D, Coates PM. 2004. Role of fatty liver, dietary fatty acid supplements, and obesity in the progression of alcoholic liver disease: introduction and summary of the symposium. *Alcohol* 34: 3-8.
5. Caldwell SH, Harris DM, Patrie JT, Hespdenheide EE. 2002. Is NASH underdiagnosed among African Americans? *Am J Gastroenterol* 97: 1496-1500.
6. Lieber CS. 2004. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol* 34: 9-19.
7. Lakshman MR. 2004. Some novel insights into the pathogenesis of alcoholic steatosis. *Alcohol* 34: 45-48.

8. Mallov S, Bloch JL. 1956. Role of hypophysis and adrenals in fatty infiltration of liver resulting from acute ethanol intoxication. *Am J Physiol* 184: 29-34.
9. Papatheodoridis GV, Chrysanthos N, Cholongitas E, Pavlou E, Apergis G, Tiniakos DG, Andrioti E, Theodossiades G, Archimandritis AJ. 2009. Thrombotic risk factors and liver histologic lesions in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 51: 931-938.
10. Ko JS, Yoon JM, Yang HR, Myung JK, Kim H, Kang GH, Cheon JE, Seo JK. 2009. Clinical and histological features of nonalcoholic fatty liver disease in children. *Dig Dis Sci* 54: 2225-2230.
11. Bijl N, Sokolović M, Vrins C, Langeveld M, Moerland PD, Ottenhoff R, van Roomen CP, Claessen N, Boot RG, Aten J, Groen AK, Aerts JM, van Eijk M. 2009. Modulation of glycosphingolipid metabolism significantly improves hepatic insulin sensitivity and reverses hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 50: 1431-1441.
12. Mehta K, Van Thiel DH, Shah N, Mobarhan S. 2002. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and the role of antioxidants. *Nutr Rev* 60: 289-293.
13. Duvnjak M, Lerotić I, Barsić N, Tomasić V, Virović Jukić L, Velagić V. 2007. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 13: 4539-4550.
14. Brekhman II. 1960. A new medicinal plant of the family Araliaceae the spiny *Eleutherococcus*. *Izv Sibir Otdel Akad Nauk USSR* 9: 113-120.
15. Ovodov YS, Ovodova RG, Solov'eva TF, Elyakov GB, Kochetkov NK. 1965. The glycosides of *Eleutherococcus senticosus* Max. I. Isolation and some properties of eleutheroside B and E. *Khim Prir Soedin* 1: 1-4.
16. Halstead BW, Hood LL. 1984. An introduction to adaptogenic medicine. In *Eleutherococcus senticosus: Siberian ginseng*. Oriental Healing Arts Institute, Bristol, CT, USA. p 1-94.
17. Hirata F, Fujita K, Ishikura Y, Hosoda K, Ishikawa H, Nakamura H. 1996. Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans. *Atherosclerosis* 122: 135-136.
18. Lee KH, Jeong H, Kim YI, Kim BK. 1991. Production of antihypertensive constituents from *Ganoderma lucidum* IY005 by fermentation using industrial wastes. *Korean J Mycol* 19: 79-84.
19. Oh SI, Lee MS. 2005. Antioxidative and antimutagenic effects of *Ganoderma lucidum* krast extracts. *Korean J Food & Nutr* 18: 54-62.
20. Bae HS, Kang SK, Shin IS, Woo SK, Kim YJ, Kim MA, Ra JC. 2009. The effects of extracts mixture drink from *Inonotus obliquus*, *Phellinus linteus* and *Ganoderma lucidum* on hematopoietic stem cells and lymphocyte subset of blood in human. *J Fd Hyg Safety* 24: 78-85.
21. Lee SY, Rhee HM. 1990. Cardiovascular effects of mycelium extract of *Ganoderma lucidum*: inhibition of sympathetic outflow as a mechanism of its hypotensive action. *Chem Pharm Bull* 38: 1359-1364.
22. Adachi Y, Ohno N, Ohsawa M, Oikawa S, Yadomae T. 1990. Macrophage activation in vitro by chemically cross-linked (1→3)-beta-D-glucans. *Chem Pharm Bull* 38: 988-992.
23. Usui T, Iwasaki Y, Hayashi K, Mizuno T, Tanaka M, Shinkai K, Arakawa M. 1981. Antitumor activity of water-soluble beta-D-glucan elaborated by *Ganoderma applanatum*. *Agric Biol Chem* 45: 323-326.
24. Sone Y, Okuda R, Wada N, Kishida E, Misaki A. 1985. Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*. *Agric Biol Chem* 49: 2641-2653.
25. Frings CS, Dunn RT. 1970. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanilin reaction. *Am J Clin Pathol* 53: 89-91.
26. Uchiyama M, Mihara M. 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
27. Suriawinata AA, Thung SN. 2006. Acute and chronic hepatitis. *Seminars in Diagnostic Pathology* 23: 132-148.
28. Wang J, Atchison RW, Walpusk J, Jaffe R. 2001. Echovirus hepatic failure in infancy: report of four cases with speculation on the pathogenesis. *Pediatr Dev Pathol* 4: 454-460.
29. Mira L, Maia L, Barreira L, Manso CF. 1995. Evidence for free radical generation due to NADH oxidation by aldehyde oxidase during ethanol metabolism. *Arch Biochem Biophys* 318: 53-58.
30. Adams LA, Angulo P. 2005. Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabet Med* 22: 1129-1133.
31. Canbay A, Bechmann L, Gerken G. 2007. Lipid metabolism in the liver. *Z Gastroenterol* 41: 35-41.