

## Antihyperlipidemic Activities of a Chemically Engineered Sulfated Mushroom $\beta$ -glucan on High Fat Dietary-induced Hyperlipidemia in Sprague-Dawley Rats

Yong Hyun Kim, Kook-Il Han, Miae Jeon, Seon Gu Hwang, Eui-Gil Jung, Hyun-Jung Kwon and Man-Deuk Han\*

Department of Life Science and Biotechnology, College of Natural Science, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam 336-745, Korea

Received August 8, 2014 / Revised September 15, 2014 / Accepted September 16, 2014

The aim of this study was to investigate the effect of water-soluble sulfated  $\beta$ -glucan (SBG) obtained from *Ganoderma lucidum* mycelia on the antihyperlipidemic and serum lipid levels in high-fat diet-induced obese rats. Five-week-old male Sprague-Dawley rats were fed a high-fat diet for two weeks to induce obesity. They were then divided into five groups—normal control diet group (NC), high-fat control diet group (HC), high-fat diet and 200 mg/kg of SBG group (HC-HSBG), high-fat diet and 20 mg/kg of SBG group (HC-LSBG), and high-fat diet and 20 mg/kg of lovastatin group (HC-Lov)—and fed one of five diets for two more weeks. Although food intake and final body weight after four weeks of SBG consumption were similar in the five experimental groups, food efficiency ratio was higher in the high-fat diet groups (2, 3, 4, and 5) than in the NC group. In evaluating the hematological parameters of the rats, the neutrophil and monocyte ratios were higher in the HC-HSBG, HC-LSBG, and HC-Lov groups than in the HC group. Serum lipid profiles were analyzed after a 12 hr fast at the end of the study. Total cholesterol, triglyceride, and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels were significantly lower in the HC-HSBG and HC-LSBG groups than in the HC group. These results suggest that chemically engineered sulfated mushroom  $\beta$ -glucan (SBG) might contribute to lower cholesterol and lipid levels in blood.

**Key words :** *Ganoderma lucidum*, hypercholesterolemia, low-density lipoprotein cholesterol, sulfated- $\beta$ -glucan, total cholesterol

### 서 론

심장혈관 질환(cardiovascular disease, CVD)은 미국을 포함한 대부분 선진국에서 가장 흔한 사망 원인이다[5]. 2007년 세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 전 세계 사람의 사망원인 30%가 CVD에 의한 것이며, 특히 혈중 콜레스테롤의 증가로 인해 발병 확률이 높다고 보고하였다[43]. 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)은 저밀도 지단백질 콜레스테롤(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)과 중성지질(triglyceride)이 원인물질이며, 이들이 체내에 축적되어 고지혈증(hyperlipidemia), 동맥경화증(atherosclerosis), 심장질환 등 각종 순환기계 질환이 유발된다[23]. 이러한 고콜레스테롤혈증의 예방 및 치료를 위해 가장 일반적으로 사용되는 약물로 atorvastatin, lovastatin과 같은 스타틴(3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor) 계열 약물이

다[19]. 스타틴계 약물은 고콜레스테롤혈증 환자뿐만 아니라 상대적으로 콜레스테롤이 높지 않은 환자에게서도 CVD의 일차 및 이차적 예방 효과를 나타낸다. 또한, 스타틴계 약물의 예방 효과는 LDL-C농도를 감소시킬 뿐만 아니라, 염증 반응, 산화, 응고과정 등을 조절하는 다면적 효과(pleiotropic effect)를 나타내기도 한다[11, 12, 29, 38]. 이러한 치료약물과 함께, 최근 고콜레스테롤혈증에 대한 예방 및 치료방법으로 식이요법이 중시되고 있다. 미국 국립보건통계청의 보고에 의하면 미국 성인 17.7%가 LDL-C를 저하시키기 위하여 천연 보조식품을 이용하고 있다고 한다[3]. 특히 식물 섬유소를 많이 섭취한 사람은 LDL-C와 혈당이 낮아지고, 콜레스테롤의 흡수가 줄고 담즙산의 배설이 촉진되어 혈청 콜레스테롤이 저하되는 효과를 보인다[15, 42]. 섬유소 가운데 수용성 섬유소는 소장의 점도를 증가시켜 담즙과 결합하는 특성 때문에 불용성 섬유소보다 LDL-C를 더욱 저하시킨다고 보고되었다[1, 4, 24].

버섯은 높은 단백질과 필수 아미노산, 비타민, 미네랄과 수분함량이 높은 식품으로서 전 세계적으로 많이 소비되고 있다[27]. 유럽 국제생활과학협회(International Life Sciences Institute in Europe)에 따르면 버섯은 여러 질병을 예방하고 치료하는데 고려되는 기능성 식품으로서 인식되고 있다[8, 28]. 특히 버섯에는 불용성 섬유소가 2.28-8.89 g/100 g, 수용성 섬유소가 0.32-2.20 g/100 g으로 식물 섬유소 함량이 높으며,

#### \*Corresponding author

Tel : +82-41-530-4702, Fax : +82-41-530-1256

E-mail : mdhan@sch.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

기능성 물질인  $\beta$ -glucan은 4-13% 함유 되어있다[25, 26]. 버섯의  $\beta$ -glucan은 주로 항암, 면역 활성화 등과 같은 면역보조 치료제 등으로 연구가 활발하였으나[30, 40], 최근에는 항동맥경화(antiatherogenic), 혈당저하(hypoglycemic)와 같은 CVD 관련 질병의 예방과 치료를 위한 연구들이 많이 보고되고 있다[31, 44]. 표고버섯(*Lentinus edodes*)은 혈중 인지질과 콜레스테롤 수치를 저하시킨다고 보고되었으며[9, 35, 39], 목이(*Auricularia auricular*), 사철느타리(*Pleurotus florida*), 느타리(*Pleurotus ostreatus*), 흰목이(*Tremella fuciformis*)버섯 등에서도 LDL-C, 콜레스테롤, 중성지방의 수치 감소와 혈압강하 효과 등이 연구되었다[2, 7, 8, 17, 21].

Fukushima 등과 Neyrinck 등은 양송이버섯(*Agaricus bisporus*)의 불용성 다당류가 LDL-C, 혈중 콜레스테롤 수치와 지방 흡수 및 간의 중성지방 수치를 낮추고[13, 32], Hu 등은 노랑느타리버섯에서 추출된 비수용성 다당류가 수용성 다당류보다 총콜레스테롤, 중성지방, LDL-C 수치 감소효과에 더 뛰어나다고 보고하였다[18]. 그러나 자연계에 존재하는 대부분의  $\beta$ -glucan은 불용성이기 때문에 *in vitro* 또는 *in vivo* 연구나 상업적으로 이용하기엔 많은 어려움이 있다. 따라서 최근에는 상업적 또는 과학적 가치를 증가시키기 위하여  $\beta$ -glucan을 화학적으로 변형하여 사용하기도 하는데, 대부분은 solubility를 개선시키는 방법이다. Chang 등은 oat에서 추출된 불용성  $\beta$ -glucan을 sulfation하여 담즙산의 결합력을 *in vitro*상에서 비교한 결과, sulfated- $\beta$ -glucan이 불용성  $\beta$ -glucan보다 담즙산의 결합력을 현저하게 낮추어 콜레스테롤 저하 효과가 더 우수하였다고 보고하였다[6].

기존연구에서 영지버섯에서 추출된 불용성  $\beta$ -glucan은 fiber 형태로 solubility가 5% 미만이기 때문에 *in vitro* 또는 *in vivo* 연구에 사용하기에는 어려움이 있다[16]. 따라서, 본 연구에서는 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 균사체 배양액에서 에탄올 침전법으로 추출된 불용성  $\beta$ -glucan의 수용성을 증가시키기 위하여 황화(sulfation)시키고, 이를 고지방 식이로 유도된 흰쥐에서 혈청 내 지질 저하 및 혈액 세포에 미치는 효과를 확인하였다.

**재료 및 방법**

**균주 및 시약**

본 실험에 사용된 버섯은 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)으로

한국야생버섯은행(Culture collection of DNA bank of mushrooms, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 균주는 potato dextrose agar (PDA) 배지에서 배양하여 보관하여 사용하였으며, 본 배양은 2% glucose, 0.2% yeast extract, 0.05% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (pH 4.5, 27°C, 120 rpm, 6 days)로 조성된 액체배지에서 배양 후 사용하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 일급시약을 사용하였다.

**$\beta$ -glucan 추출과 수용화를 위한 sulfation**

6일간 배양한 영지버섯 균사체 배양액을 원심분리(6,000 g × 20 min.)하여 균사체를 분리하고 배양액에 3배량의(v/v) 에탄올을 넣어 4°C에서 24시간 동안 침전하였다. 침전물은 원심분리(6,000 g × 10 min.)하여 투석관(dialysis tube, MW cut-off: 10,000, sigma, USA)에서 3일간 투석하였다. 투석된 침전물은 동결 건조하여 불용성  $\beta$ -glucan (IBG, insoluble  $\beta$ -glucan from *G. lucidum*)을 분리 정제하였다. 불용성  $\beta$ -glucan의 수용화는 Williams 등[41]의 방법을 변형하여 제조하였다. 즉, urea를 녹인 DMSO에 IBG를 녹이고 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가하였다. 혼합액을 100°C에서 4시간 동안 반응시켜 초순수 이온수 4 l를 첨가한 후 여과지(Whatman No. 1)로 불순물을 제거하였다. Sulfated-IBG 용액은 한외여과기(ultrafiltration system, Sartorius. Co. SM17521, cut-off: 10,000 MW)를 이용하여 증류수로 1,000배 희석농축 후 동결건조하여 수용성  $\beta$ -glucan인 SBG (soluble  $\beta$ -glucan)를 얻었다.

**실험동물의 식이 및 사육**

5주령의 웅성 Sparague-Dawley계 흰쥐와 기본식이 및 고지방 사료(Dyets No. 101556)는 중앙실험동물(Central Lab. animal Inc. Korea)에서 구입하여 사용하였다. 동물실험은 순천향대학교 동물실험윤리위원회의 승인(SCH12\_04\_01) 하에 표준작업 지침서에 따라 수행하였으며, 실험동물은 동물사육실에서 1주일간 기본식으로 적응시킨 후 평균 체중 120~130 g인 것을 각각 5마리씩 군으로 분리하여 실험하였다(Table 1). 식이사료는 대조군을 제외한 실험군 모두 고지방사료를 그룹당(n=5) 매일 150 g씩 2주간 공급하여 비만 유도를 하였으며 물은 자유 섭식으로 하였다. 실험기간 중 사육실 온도는 25±1°C, 습도는 55±5%, 조명시간은 12시간(09:00~ 21:00)으로 자동 설정하여 사육하였다. 시험기간에 체중은 매일 오전 중에 측정하고 사료섭취량은 전량을 매일 측정 하였다. 2주간 비만

Table 1. Composition of the experimental diets

Groups	No. of rats	Formula of dietary constituents for oral administration
NC	5	Normal diet group
HC	5	High fat diet group
HC-LSBG	5	High fat diet + 20 mg/kg body weight of water soluble $\beta$ -glucan from <i>G. lucidum</i> diet group
HC-HSBG	5	High fat diet + 200 mg/kg body weight of water soluble $\beta$ -glucan from <i>G. lucidum</i> diet group
HC-Lov	5	High fat diet + 20 mg/kg body weight of Lovastatin (Sigma, USA) diet group

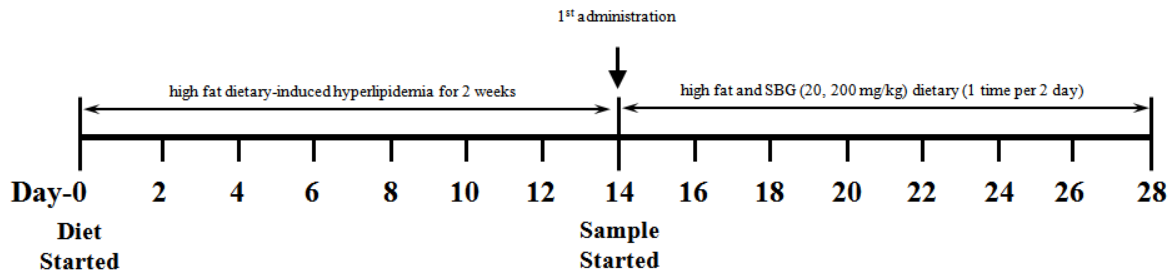


Fig. 1. Protocols for high fat dietary-induced hyperlipidemia and sulfated  $\beta$ -glucan (SBG) administration effect in Sprague-Dawley rats. The animals were made high fat dietary-induced hyperlipidemia for 14 days, and then administered orally SBG suspended in saline at the dose of 20 or 200 mg/kg b.w once in two days for 14 consecutive days.

유도 후 시험물질 SBG 등을 흰쥐 체중 당 20 mg/kg (저농도, HC-LSBG) 및 200 mg/kg (고농도, HC- HSBG) 농도로 생리식염수에 용해한 후, 총 1 ml를 2일 간격으로 2주간 경구 투여하였다(Fig. 1). 대조군은 동량의 생리식염수를 경구투여 하였으며, 양성대조군에는 lovastatin (Sigma, USA)을 20 mg/kg 농도로 경구투여 하였다. 혈액채취는 2주간 비만 유도 후 sulfation시킨 수용성  $\beta$ -glucan인 SBG를 고지방식이와 함께 2주간 투여하고 실험 종료일인 14일 차에 12시간 절식 후, 1~1.5 ml를 미정맥 채혈하여 EDTA가 처리된 관에 보관하여 혈구 분석 및 혈액 성분 분석에 사용하였다.

**식이 효율(food efficiency ratio, FER)**

실험동물은 2주간의 비만 유도 후 2주간 저농도 및 고농도의 SBG 그리고 lovastatin을 2일에 한 번씩 경구 투여하였으며, 실험 기간의 체중 증가량으로 같은 기간에 섭취한 사료섭취량을 나누어 식이 효율(food efficiency ratio, FER)을 다음과 같은 식으로 산출하였다.

$$FER = \text{Body weight gain (g)} / \text{food intake (g)}$$

**혈액성상 분석**

혈액성상분석은 고지방 사료로 유도된 흰쥐에 저농도 및 고농도의 SBG를 투여 후 14일째에 미정맥 채혈 하여 EDTA tube (BD Vacutainer, BECKTON-DICKSON, USA)에 보관 후 사용하였다. 혈액성상은 WBC ( $\times 10^3$  cells/ul), WBC differential (%), RBC ( $\times 10^6$  cells/ul) 등 flow cytometry method를 이용하여 혈액 자동분석기(ADVIA120, SISMENS, Germany)로 분석하였다.

**혈중 총 콜레스테롤, 중성지방, LDL-C, HDL-C 함량 분석**

혈중 총콜레스테롤, 중성지방, LDL-C, HDL-C 함량 분석은 14일차에 혈액을 채혈하여 3,000 rpm으로 10 분간 원심분리 후 혈청을 취하여 이용하였다. 총콜레스테롤은 Cholesterol oxidase-HMMPS 방법에 의하여 제조된 시약(Wako, Japan), 중성지방은 GPO-HMMPS Glycerol blanking 방법에 의하여 제조된 시약(Wako, Japan), LDL-C와 HDL-C는 Selective

elimination method (direct method)에 의해 만들어진 시약(Wako, Japan)을 이용하여 혈액 생화학 분석기(HITACHI 7080, Japan)로 측정하였다.

**통계처리**

실험결과는 실험군 당 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고 각 실험군 간 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후  $p < 0.05$ 수준에서 Tukey (T)-test를 이용하여 쌍체검정을 실시하였다. 모든 통계분석은 SPSS program (ver. 11.1.10)을 이용하여 처리하였다.

**결과 및 고찰**

**식이 섭취, 체중 및 식이 효율**

2주간 고지방식이로 비만을 유발한 실험동물을 NC, HC, HC-HSBG, HC-LSBG, HC-Lov 5군으로 나누어 체중증가량, 사료섭취량 및 식이 효율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 전 시험기간 동안 대조군인 고지방식이군(HC)은 초기 체중(127.7 g)보다 104.8% 증가하였으며, 고지방식이와 함께 20 mg/kg (HC-LSBG), 또는 200 mg/kg (HC-HSBG)으로 투여된 SBG 군과 lovastatin (HC-Lov) 투여군은 초기 체중보다 98.1, 99.6 및 88.1%씩 각각 증가하였다. 또한, 일일 체중증가량(body weight gain)은 고지방식이군(HC, 4.78 g/day) 비하여 SBG 및 lovastatin을 투여한 그룹에서는 각각 4.53, 4.50, 4.22 g/day로 감소하였으나 유의적 차이는 나타나지 않았다. Pan 등은 8주간 고지방 식이 및 영지버섯 에탄올 추출물을 생쥐에 급여 하였을 경우 그룹 간 체중증가량의 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다고 하였으나[34], Oh 등은 10주간 고지방 식이 및 신령버섯을 5% 급여한 군에서 체중증가량이 유의하게 낮아 졌다고 보고하였다[33]. 본 연구에서도 고지방 식이 및 SBG를 투여한 군에서 체중증가량이 대조군에 비하여 낮아 졌으나 유의하게 나타나지 않음은 투여기간의 차이에 의한 결과라 사료된다. 장기간 고지방식이를 할 경우, 사람뿐만 아니라 쥐에서도 비만이 발생한다[14]. 이는 과도한 지단백질 형성과 함께 운반, 분해 및 대사 과정이 정상

Table 2. Values of body weight and food intake from Sprague-Dawley rats with 20 or 200mg/kg b.w of sulfated-β-glucan (SBG) once in two days for 14 consecutive days

Testing items	NC <sup>1)</sup>	HC	HC-SGH	HC-SGL	HC-Lov
Initial body weight (g)	132.1±6.07 <sup>2)</sup>	127.7±4.63	131.2±3.64	128.3±7.80	134.1±5.72
Final body weight (g)	248.6±8.78	261.5±8.71	258.0±6.24	254.2±6.86	252.2±12.2
Body weight gain (g/day)	4.16±0.37	4.78±0.67	4.53±0.48	4.50±0.91	4.22±0.88
Food intake (g/day)	21.02±0.26	18.23±0.29	18.24±0.32	18.47±0.28	18.75±0.29
FER <sup>3)</sup>	0.20±0.020	0.26±0.035	0.25±0.021	0.24±0.031	0.23±0.023

<sup>1)</sup>Abbreviations of experimental diet groups are defined in Table 1.

<sup>2)</sup>FER: Food Efficiency Ratio = Body weight gain (g/day) / food intake (g/day).

<sup>3)</sup>Values represent mean ± SD. (n=5)

적으로 일어나지 못해 고지혈증을 동반하며 비만의 원인이 된다[33, 45]. 본 연구 결과 고지방을 식이 된 쥐의 사료섭취량은 sulfated β-glucan 투여군의 경우, 일반 식이군(NC, Group 1) 보다 약간 낮은 섭취량을 보였다(Table 2). 이는 고지방식으로 인해 맛과 열량 밀도(calorie density)에 영향을 주어 사료섭취량이 감소한 것으로 여겨진다[22]. 사료섭취량과 체중증가량을 이용하여 각 군의 식이 효율(FER)로 산출하였을 때, sulfated β-glucan 투여군은 일반 사료식이군 보다는 높은 식이효율을 나타내었다(Table 2). 그러나 고지방 식이군 간의 식이효율은 통계적 유의성이 없었다(p>0.05).

**혈액성상 분석**

2주간 고지방식으로 비만을 유발한 실험동물에 sulfated β-glucan 등을 2주간 격일로 투여한 쥐의 적혈구(RBC), 적혈구(hemoglobin, HGB), 헤마토크리트(hematocrit, HCT), 혈소판(platelet, PLT) 등과 같은 혈액성상 분석결과 Table 3과 같다. 일반식이군, 고지방 식이군, SBG와 lovastatin 투여군 모두 혈액성상에는 유의적 차이를 나타내지 않았다(p>0.05). 혈구분석에서도 실험군 간 유의적 차이를 보이지 않았으나, 일반식이 군에 비하여 고지방 식이군(HC)에서 백혈구 수치는 79.19

%로 낮았으나, 고용량(HC-HSBG) 및 저용량(HC-LSBG) SBG 투여군과 lovastatin (HC-Lov) 투여군은 백혈구 수치가 일반식이군 대비 97.25%, 89.7%, 93.50%로 각각 보였으며, 이 같은 결과는 group 1 (일반 식이군, NC)과 유사하였다. WBC 증염증 반응에 관여하는 호중구(neutrophil) 수치는 고지방 식이군(HC, 15.8%)보다 HC-HSBG군에서 22.3%, HC-LSBG군에서 20.0%로 증가되었으며, 단핵구(monocyte)의 경우, 고용량 및 저용량 SBG 투여군은 양성 대조군인 lovastatin (HC-Lov.) 투여군과 유사한 수치를 보였다. 일반적으로 혈중 LDL-C가 증가하면 혈관내피 아래로 LDL-C가 유입되고 산화 증가된다. 그 결과 T 림프구와 반응하여 혈관 내 plaque를 형성하며 염증반응과 함께 동맥경화를 일으킨다[12, 38]. 또한, LDL-C는 혈관 세포 내 단핵구와 같은 염증 세포의 흡착을 증가시킨다. 이 같은 고지혈증의 일차적 치료와 이차적 예방을 위하여 스타틴계 약물을 사용된다[12, 38]. 스타틴계 약물은 LDL-C, 중성지방의 감소 효과와 더불어 염증 조절 세포들에 작용하여 염증 반응을 조절하며 염증 부위의 단핵구와 같은 염증 세포의 흡착을 감소시킨다[11, 12, 29]. 따라서 고지방식으로 비만을 유도한 흰쥐에서 혈액 내 호중구나 단핵구의 수치가 줄어든 것에 비하여 SBG를 투여한 그룹의 혈액에서 높은 것은

Table 3. Evaluation of hematological parameters in Sprague-Dawley rats (n=5) fed with high fat diets and soluble sulfated-β-glucan (SBG)

Groups <sup>1)</sup>		RBC (×10 <sup>6</sup> /μl)	HGB (g/μl)	HCT (%)	RBC index			PLT (×10 <sup>3</sup> /μl)	WBC (×10 <sup>3</sup> /μl)	WBC differential counting (%)					
					MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/μl)			NEU	LYM	MONO	EOS	BASO	LUC
NC	Mean	7.13	14.1	43.7	61.3	19.8	32.4	1096	6.92	18.4	78.3	1.7	0.8	0.2	0.7
	SD	±0.35	±0.4	±0.9	±2.5	±0.5	±0.5	±540	±1.49	±5.3	±5.6	±0.7	±0.3	±0.0	±0.2
HC	Mean	7.02	13.1	40.9	58.3	18.8	32.2	1194	5.48	15.8	80.8	1.6	0.6	0.2	1.0
	SD	±0.48	±0.5	±1.8	±1.7	±0.7	±0.3	±223	±1.33	±5.5	±6.4	±1.0	±0.3	±0.1	±0.3
HC-SGH	Mean	6.82	13.0	39.6	58.0	19.1	32.9	1101	6.73	22.3	74.1	2.3	0.5	0.1	0.7
	SD	±0.40	±0.5	±1.7	±1.7	±0.4	±0.6	±333	±1.04	±8.6	±8.5	±0.6	±0.5	±0.1	±0.4
HC-SGL	Mean	7.09	13.2	40.3	56.9	18.6	32.7	1165	6.21	20.0	76.2	2.2	0.4	0.3	0.9
	SD	±0.30	±0.4	±1.4	±2.0	±0.5	±0.5	±139	±0.87	±3.3	±4.4	±1.3	±0.2	±0.1	±0.2
HC-Lov	Mean	6.98	13.3	40.5	58.0	19.0	32.9	914	6.47	16.8	79.7	2.0	0.4	0.1	1.0
	SD	±0.16	±0.2	±0.9	±0.9	±0.3	±0.5	±309	±1.00	±4.6	±4.7	±0.6	±0.1	±0.1	±0.1

<sup>1)</sup>Abbreviations of experimental diet groups are defined in Table 1.

lovastatin과 비슷한 효과로 염증세포의 흡착을 감소시켜 혈액 내 염증 세포들의 수치가 높게 나타난 것으로 여겨진다.

**혈중 총콜레스테롤, 중성지방 함량**

흰쥐에 고지방식이로 2주간 비만을 유도한 후, 2주간 sul-

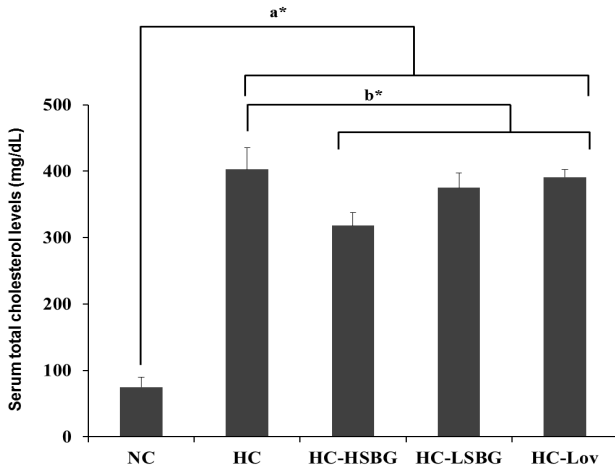


Fig. 2. Effect of oral administration of sulfated soluble  $\beta$ -glucan (SBG) derived from mushroom *G. lucidum* on serum total cholesterol levels in rats. Values are mean  $\pm$  SD. NC, normal control diet group; HC, high fat control diet group; HC-HSBG, high fat diet and 200 mg/kg of SBG diet group; HC-LSBG, high fat diet and 20 mg/kg of SBG diet group; HC-Lov, high fat diet and 20 mg/kg of lovastatin diet group. a) Significantly different from the NC. b) Significantly different from the HC. \*  $p < 0.05$

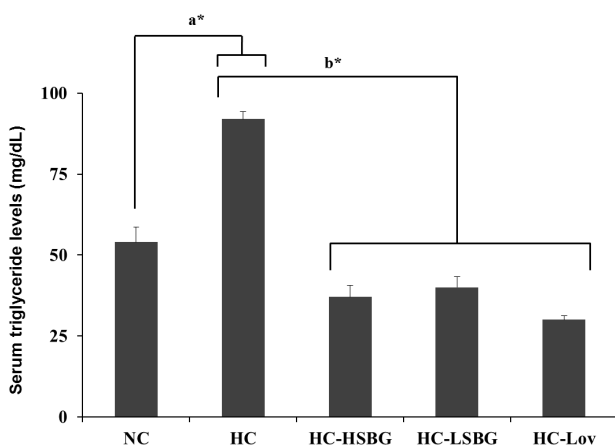


Fig. 3. Effect of oral administration of sulfated soluble  $\beta$ -glucan (SBG) derived from mushroom *G. lucidum* on serum triglyceride levels in rats. Values are mean  $\pm$  SD. NC, normal control diet group; HC, high fat control diet group; HC-HSBG, high fat diet and 200 mg/kg of SBG diet group; HC-LSBG, high fat diet and 20 mg/kg of SBG diet group; HC-Lov, high fat diet and 20 mg/kg of lovastatin diet group. a) Significantly different from the NC. b) Significantly different from the HC. \*  $p < 0.05$

fated- $\beta$ -glucan (SBG)을 투여한 결과, 총 콜레스테롤 및 중성 지방의 함량은 Fig. 2, 3과 같다. 고지방식이로 급여한 HC, HC-HSBG, HC-LSBG, HC-Lov군은 일반 사료식이군 보다 총 콜레스테롤 수치가 유의하게 증가하였다(Fig. 2). 총 콜레스테롤은 혈청 중의 에스테르형과 유리된 콜레스테롤이며, 체내 지질대사의 이상 지표로서 비만 외에 고지혈증, 당뇨병, 내분비질환, 신장 질환 등의 경우 증가된다. 본 실험 결과, 총콜레스테롤 수치는 고지방 대조군(HC)에서 403 $\pm$ 15.02 mg/dl이었으나, SBG를 200 mg/kg (HC-HSBG) 또는 20 mg/kg (HC-LSBG) 투여한 군에서 각각 318 $\pm$ 19.56, 375 $\pm$ 22.64 mg/dl로 농도에 비례하여 통계적으로 유의성 있게 감소하였다. 고콜레스테롤 치료제로써 많이 쓰이는 lovastatin (20 mg/kg)은 고지방 대조군(HC)에 비해 3%의 총콜레스테롤 저하 효과를 보였으나, SBG를 고농도(200 mg/kg)로 투여한 군(HC-SBG)에서는 약 21.1%의 총콜레스테롤 저하 효과를 나타내었다. Lovastatin은 고콜레스테롤혈증 개선에 사용되는 스타틴계 약물로서 혈중 총콜레스테롤 수치를 약 10~20% 감소시키는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 lovastatin에 대한 혈중 총콜레스테롤 감소효과는 미비하였는데 이는 다른 연구결과와 비교하여 볼 때 lovastatin의 투여용량, 투여기간의 차이 등에 의한 결과로 사료되며, Chung 등은 고지방식이로 인하여 atorvastatin의 흡수를 저하시킨다는 연구결과와 유사하게 lovastatin의 효능이 저하된 것으로 여겨진다[10]. Seto 등은 유전적으로 당뇨가 유발된 생쥐에 *G. lucidum* 열수 추출물을 투여하였을 때 총 콜레스테롤, LDL-C, triglyceride의 수치가 유의적으로 감소한 연구결과를 보고하였고[37], Pan 등 또한 *G. lucidum*에서 분리된 proteoglycan이 항 당뇨와 항 고지혈증에 효과가 있다고 보고하였다[34]. 이는 추출 방법은 다르나 *G. lucidum* 유래한 다당류가 항당뇨 및 항고지혈증에 효과가 있다는 본 연구결과와 유사한 결과이다.

혈중 중성지방 농도의 경우, 고지방 식이군(group 2, HC)이 일반식이(group 1, NC)가 섭취된 군보다 혈중 중성지방이 유의성 있게 증가하였으며, SBG를 2주간 200 mg/kg (HC-SGH) 또는 20 mg/kg (HC-SGL)투여군 역시, 고지방식이군보다 중성지방의 농도가 유의적으로 감소하였다(Fig. 3). 즉, 고지방 식이군(HC)의 평균 혈중 중성지방 농도는 92 $\pm$ 2.26 mg/dl이었으나 SBG를 200 mg/kg 또는 20 mg/kg 투여군은 각각 37 $\pm$ 3.64 및 40 $\pm$ 3.26 mg/dl으로 고지방식이군 보다 40.2%, 43.5% 수준으로 감소하였다. 또한, 양성대조군인 lovastatin 투여군 (HC-Lov, 20 mg/kg)의 혈중 중성지방 농도는 30 $\pm$ 1.26 mg/dl인 것과 비교하여 SBG를 200 mg/k 또는 20 mg/kg 투여군과 유사한 혈중 농도를 보였다.

**혈중 LDL-C, HDL-C 함량**

혈관 내에 콜레스테롤 축적은 동맥경화증 및 심장질환과 밀접한 연관성이 있어[3, 39], 혈중 LDL-C, HDL-C 함량에 sul-

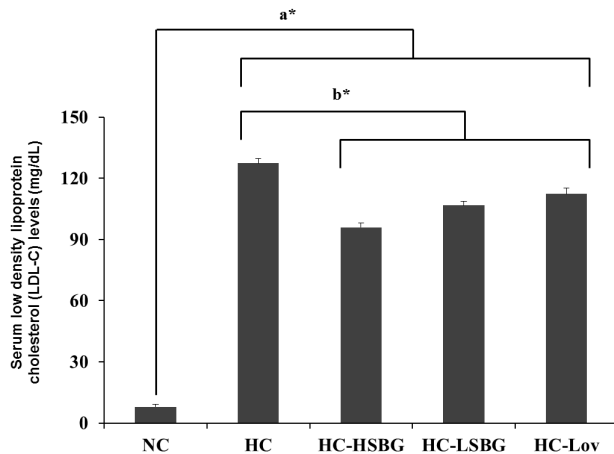


Fig. 4. Effect of oral administration of sulfated soluble  $\beta$ -glucan (SBG) derived from mushroom *G. lucidum* on serum low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels in rats. Values are mean  $\pm$  SD. NC, normal control diet group; HC, high fat control diet group; HC-HSBG, high fat diet and 200 mg/kg of SBG diet group; HC-LSBG, high fat diet and 20 mg/kg of SBG diet group, and HC-Lov, high fat diet and 20 mg/kg of lovastatin diet group. a) Significantly different from the NC. b) Significantly different from the HC. \*  $p < 0.05$

fated- $\beta$ -glucan (SBG)의 미치는 효과를 알아보았다. 그 결과 Fig. 4와 같이 고지방식이 투여군(group 2, HC)이 일반식이 투여군(group 1, NC)보다 LDL-C 함량은 통계적으로 유의성 있게 증가하였다(Fig. 4). 또한, SBG가 20 mg/kg 또는 200 mg/kg 농도로 투여된 군에서 고지방식이군(HC, 127.4 $\pm$ 2.3 mg/dL) 보다 혈중 LDL-C 수치가 83.8% 또는 75.3% 수준으로 각각 유의성 있게 감소하였다. 특히 SBG를 200 mg/kg 농도의 투여군의 혈중 LDL-C 수치가 75.3%로 양성 대조군(HC-Lov) 88.1% 보다 12.8%의 감소효과가 있었다. LDL-C는 인체 내 콜레스테롤을 운반 역할을 하나, 혈중 수치가 높아지면 동맥벽에 plaque 형태로 쌓여 동맥협착이나 경화를 일으킨다. 반면 HDL-C는 혈관 벽에 부착되어 유해한 콜레스테롤의 흡착 및 제거역할을 한다[23, 37]. 본 연구에서 고지방식이 및 수용성 sulfated- $\beta$ -glucan을 투여 결과, 혈중 HDL-C 수치는 모든 투여군에서 차이가 없었으며 일반식이군보다 낮은 HDL-C 수치를 나타내었다(Fig. 5). *G. lucidum*에서 추출, 분리된 다당류의 항당뇨, 항고지혈증, 콜레스테롤 저하 효과에 대한 몇몇 연구 결과를 보면 HDL-C를 증가시키지는 않으나 LDL-C, triglyceride 등을 감소시켜 혈중 콜레스테롤을 감소시켜 CVD 관련 질환의 예방 및 고지혈증을 개선하는 것으로 보고된 바 있다 [34]. 그러나 이러한  $\beta$ -glucan은 불용성 특징 때문에 임상적 이용에 한계가 있다. 그러나 본 연구에서 불용성  $\beta$ -glucan의 임상적 활용을 증가시키기 위해 황으로 부분 치환시킨 수용성 sulfated  $\beta$ -glucan을 고지방 식이를 투여한 흰쥐에서 총콜레스테롤, LDL-C, triglyceride의 감소 효과가 우수하였다. 이

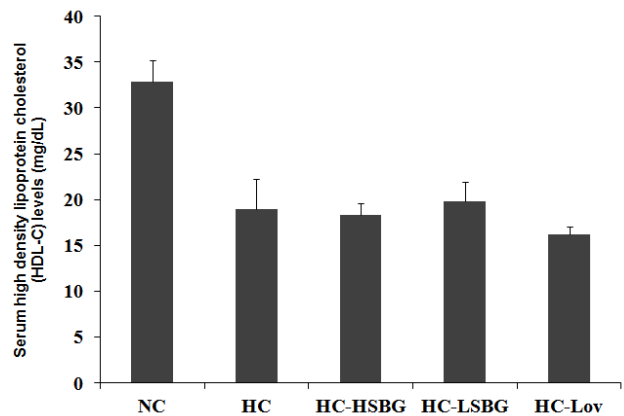


Fig. 5. Effect of oral administration of sulfated soluble  $\beta$ -glucan (SBG) derived from mushroom *G. lucidum* on serum high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels in rats. Values are mean  $\pm$  SD. NC, normal control diet group; HC, high fat control diet group; HC-HSBG, high fat diet and 200 mg/kg of SBG diet group; HC-LSBG, high fat diet and 20 mg/kg of SBG diet group; HC-Lov, high fat diet and 20 mg/kg of lovastatin diet group.

같은 결과로 보아 sulfated  $\beta$ -glucan은 고지혈증 및 고콜레스테롤증 개선에 이용될 수 있는 식이성 다당류로 이용될 수 있음을 제시한다.

### 감사의 글

본 연구는 순천향대학교 학술연구비의 일부 지원으로 수행하였음.

### References

1. American Diabetes Association. 2000. Nutrition recommendations and principles for people with diabetes mellitus. *Diabetes Care* **23**, 43-46.
2. Bajaj, M., Vadhera, S., Brar, A. P. and Soni, G. L. 1997. Role of oyster mushroom (*Pleurotus florida*) as hypocholesterolemic/antiatherogenic agent. *Indian J Exp Biol* **35**, 1070-1075.
3. Barnes, P. M., Bloom, B. and Nahin, R. L. 2008. Complementary and alternative medicine use among adults and children: United States. *Natl Health Stat Report* **10**, 1-23.
4. Bazzano, L. A., He, J., Ogden, L. G., Loria, C. M. and Whelton, P. K. 2003. Dietary fiber intake and reduced risk of coronary heart disease in US men and women: the national health and nutrition examination survey I epidemiologic follow-up study. *Arch Intern Med* **163**, 1897-1904.
5. Cannon, C. P. 2007. Cardiovascular disease and modifiable cardiometabolic risk factors. *Clin Cornerstone* **8**, 11-28.
6. Chang, Y. J., Lee, S., Yoo, M. A. and Lee, H. G. 2006. Structural and biological characterization of sulfated-derivatized oat  $\beta$ -glucan. *J Agric Food Chem* **54**, 3815-3818.



7. Cheung, P. C. K. 1996. The hypocholesterolemic effect of two edible mushrooms: *Auricularia auricula* (tree-ear) and *Tremella fuciformis* (white jelly-leaf) in hypercholesterolemic rats. *Nutr Res* **16**, 1721-1725.
8. Cheung, P. C. K. 2010. The nutritional and health benefits of mushrooms. *Nutr Bull* **35**, 292-299.
9. Chibata, I., Okumura, K., Takeyama, S. and Kotera, K. 1969. Lentinacin: a new hypocholesterolemic substance in *Lentinus edodes*. *Experientia* **25**, 1237-1238.
10. Chung, M., Calcagni, A., Glue, P. and Bramson, C. 2006. Bioavailability of amlodipine besylate/atorvastatin calcium combination tablet. *J Clin Pharmacol* **46**, 1030-1037.
11. Davignon, J. 2004. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation* **109**, 39-43.
12. Forrester, J. S. and Libby, P. 2007. The inflammation hypothesis and its potential relevance to statin therapy. *Am J Cardiol* **99**, 732-738.
13. Fukushima, M., Nakano, M., Morii, Y., Ohashi, T., Fujiwara, Y. and Sonoyama, K. 2000. Hepatic LDL receptor mRNA in rats is increased by dietary mushroom (*Agaricus bisporus*) fiber and sugar beet fiber. *J Nutr* **130**, 2151-2156.
14. Gaíva, M. H., Couto, R. C., Oyama, L. M., Couto, G. E., Silveira, V. L., Riberio, E. B., and Nascimento, C. M. 2001. Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats. *Br J Nutr* **86**, 371-377.
15. Gordon, D. T. 1992. The importance of total dietary fiber in human nutrition and health. *Korean J Nutr* **25**, 75-83.
16. Han, M. D., Han, Y. S., Hyun, S. H. and Shin, H. W. 2008. Solubilization of water-insoluble  $\beta$ -glucan isolated from *Ganoderma Lucidum*. *J Environ Biol* **29**, 237-242.
17. Hossain, S., Hashimoto, M., Choudhury, E. K., Alam, N., Hussain, S., Hasan, M. Choudhury, S. K. and Mahmud, I. 2003. Dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **30**, 470-475.
18. Hu, S. H., Liang, Z. C., Chia, Y. C., Lien, J. L., Chen, K. S., Lee, M. Y. and Wang, J. C. 2006. Antihyperlipidemic and antioxidant effects of extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *J Agric Food Chem* **54**, 2103-2110.
19. Jones, P., Kafonek, S., Laurora, I. and Hunninghake, D. 1998. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol* **81**, 582-587.
20. Kajaba, I., Simmoncic, R., Frečerova, K. and Belay, G. 2008. Clinical studies on the hypolipidemic and antioxidant effects of selected natural substances. *Bratisl Lek Listy* **109**, 267-272.
21. Khatun, K., Mahtab, H., Khanam, P. A., Sayeed, M. A. and Khan, K. A. 2007. Oyster mushroom reduced blood glucose and cholesterol in diabetic subjects. *Mymensingh Med J* **16**, 94-99.
22. Lee, S. H., Kim, N. W. and Shin, S. R. 2003. Studies on the nutritional components of mushroom (*Sarcodon aspratus*). *Korean J Food Preserv* **10**, 65-69.
23. Lichtenstein, A. H., Appel, L. J., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S., Franch, H. A., Franklin, B., Kris-Etherton, P., Harris, W. S., Howard, B., Karanja, N., Lefevre, M., Rudel, L., Sacks, F., Van Horn, L., Winston, M. and Wylie-Rosett, J. 2006. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the american heart association nutrition committee. *Circulation* **114**, 82-96.
24. Liu, S., Stampfer, M. J., Hu, F. B., Giovannucci, E., Rimm, E., Manson, J. E., Hennekens, C. H. and Willett, W. C. 1999. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the nurses health study. *Am J Clin Nutr* **70**, 412-419.
25. Manzi, P. and Pizzoferrato, L. Beta-glucans in edible mushrooms. *Food Chem* **68**, 315-318.
26. Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A. and Pizzoferrato, L. 2004. Commercial mushrooms: nutritional quality and effects of cooking. *Food Chem* **84**, 201-206.
27. Mattilda, P., Konko, K., Euroala, M., Pihlava, J. M., Astola, J., Vahteristo, L. and Piironen, V. 2001. Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J Agric Food Chem* **49**, 2343-2348.
28. Mattilda, P., Suonpää, K. and Piironen, V. 2000. Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition* **16**, 694-696.
29. McFarlane, S. I., Muniyappa, R., Francisco, R. and Sowers, J. R. 2002. Clinical review 145: Pleiotropic effects of statins: lipid reduction and beyond. *J Clin Endocrinol Metab* **87**, 1451-1458.
30. Moradali, M. F., Mostafavi, H., Ghods, S. and Hedjaroude, G. A. 2007. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int Immunopharmacol* **7**, 701-724.
31. Mori, K., Kobayashi, C., Tomita, T., Inatomi, S. and Ikeda, M. 2008. Antiatherosclerotic effect of the edible mushrooms *Pleurotus eryngii* (Eringi), *Grifola frondosa* (Maitake), and *Hypsizygus marmoreus* (Bunashimeji) in apolipoprotein E-deficient mice. *Nutr Res* **28**, 335-342.
32. Neyrinck, A. M., Bindels, L. B., De Backer, F., Pachikian, D., Cani, P. D. and Delzenne, N. M. 2009. Dietary supplementation with chitosan derived from mushrooms changes adipocytokine profile in diet-induced obese mice, a phenomenon linked to its lipid-lowering action. *Int Immunopharmacol* **9**, 767-773.
33. Oh, S. W., Lee, C. U. and Koh, J. B. 2004. Effect of *Agaricus blazei* murill on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **33**, 821-826.
34. Pan, D., Zhang, D., Wu, J., Chen, C., Xu, Z., Yang, H. and Zhou, P. 2013. Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of a novel proteoglycan from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies on db/db mice and the possible mechanism. *PLoS One* **8**, e68332.
35. Rokujo, T., Kikuchi, H., Tensho, A., Tsukitani, Y., Takenawa, T., Yoshida, K. and Kamiya, T. 1970. Lentysine: a new hypocholesterolemic agent from a mushroom. *Life Sci* **9**, 379-385.
36. Rosamond, W., Flegal, K., Furie, K., Go, A., Greenlund, K., Haase, N., Hailpern, S. M., Ho, M., Howard, V., Kissela, B., Kittner, S., Lloyd-Jones, D., McDermott, M., Meigs, J., Moy, C., Nichol, G., O'Donnell, C., Roger, V., Sorlie, P.,

- Steinberger, J., Thom, T., Wilson, M. and Hong, Y. 2008. Heart disease and stroke statistics. *Circulation* **117**, 25-146.
37. Seto, S. W., Lam, T. Y., Tam, H. L., Au, A. L., Chan, S. W., Wu, J. H., Yu, P. H., Leung, G. P., Ngai, S. M., Yeung, J. H., Leung, P. S., Lee, S. M. and Kwan, Y. W. 2009. Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in obese/diabetic (+db/+db) mice. *Phytomedicine* **16**, 426-436.
38. Thavendiranathan, P., Bagai, A., Brookhart, M. A. and Choudhry, N. K. 2006. Primary prevention of cardiovascular diseases with statin therapy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* **166**, 2307-2313.
39. Tokita, F., Shibukawa, N., Yasumoto, T. and Kaneda, T. 1972. Isolation and chemical structure of the plasma-cholesterol reducing substances from shiitake mushroom. *Mushroom Sci* **8**, 783-788.
40. Wasser, S. P. and Weis, A. L. 1999. Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives. *Int J Med Mushrooms* **1**, 31-62.
41. Williams, D. L., Pretus, H. A., McNamee, R. B., Jones, E. L., Ensley, H. E. and Browder, I. W. 1992. Development of a water-soluble, sulfated (1-3)- $\alpha$ -D-glucan biological response modifier derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydr Res* **235**, 247-257.
42. Wolever, T. M., Hamad, S., Gittelsohn, J., Gao, J., Hanley, A. J., Harris, S. B. and Zinman, B. 1997. Low dietary fiber and high protein intakes associated with newly diagnosed diabetes in a remote aboriginal community. *Am J Clin Nutr* **66**, 1470-1478.
43. World Health Organization. Prevention of cardiovascular disease: Pocket guidelines for assessment and management of cardiovascular risk. Geneva, Switzerland: WHO; 2007.
44. Yamada, T., Oinuma, T., Niihashi, M., Mitsumata, M., Fujioka, T., Hasegawa, K., Nagaoka, H. and Itakura, H. 2002. Effects of *Lentinus edodes* mycelia on dietary-induced atherosclerotic involvement in rabbit aorta. *J Atheroscler Thromb* **9**, 149-156.
45. Yun, Y. S. and Park, H. S. 2002. Effect of body mass index change on cardiovascular risk factors in Korean men. *J Korean Acad Fam Med* **23**, 794-803.

## 초록 : 고지방식으로 고지혈증이 유도된 흰쥐에서 황화된 수용성 $\beta$ -glucan의 항고지혈증 효과

김용현 · 한국일 · 전미애 · 황선구 · 정의길 · 권현정 · 한만덕\*  
(순천향대학교 생명시스템학과)

본 연구는 영지버섯 균사체로부터 얻은 수용성 베타글루칸(SBG)이 고지방식으로 유도한 흰쥐의 항고지혈 효과 및 혈중 지질수준에 미치는 영향을 조사하였다. 5주령의 수컷 흰쥐에 고지방식이를 2주간 급여하여 비만을 유도하고, 그 후 2주 동안 다음과 같은 5가지 group의 식이를 급여하였다: 1) 일반사료 식이군(NC), 2) 고지방사료 식이군(HC), 3) 고지방사료 및 고농도(200 mg/kg) SBG 식이군(HC-HSBG) 4) 고지방사료 및 저농도(20 mg/kg) SBG 식이군(HC-LSBG), 5) 고지방사료 및 로바스타틴(lovastatin) 식이군(HC-Lov). 실험 결과, 식이 효율(Food efficiency ratio)은 고지방식이를 급여한 군들에서 일반사료 식이군에 비하여 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. 혈액학적 결과에서 고농도 및 저농도의 SBG와 로바스타틴 투여군은 고지방식이만 급여한 군(HC)보다 호중구와 중성구 수치가 유의성 있게 증가하였다. 또한 혈청 내 총콜레스테롤, 중성지질 및 LDL-C는 고농도 및 저농도 SBG 투여군 모두에서 유의성 있게 감소되었다. 이 같은 결과는 화학적으로 황화된 수용성 베타글루칸(SBG)이 흰쥐에서 혈중 콜레스테롤 수치를 낮추어 항고지혈증 효과를 나타내는 것을 의미한다.