

## Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study of Dried *Termitomyces albuminosus* Powder in Rats

Min Ji An<sup>1</sup>, Hye Seon Heo<sup>1</sup>, Ji Sun Lee<sup>1</sup>, Hye Young Son<sup>1</sup>, Hae Ok Lim<sup>1</sup>, Gang Baek Park<sup>1</sup>, Joon Heun Lee<sup>2</sup>, Jae Gyu Jee<sup>2</sup> and Yeongchul Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>GLP center & Department of Toxicity assessment, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 38430, Korea

<sup>2</sup>TM Partners Ltd. 101-2901 Lotte Castle president, 109, Mapo-daero, Mapo-gu, Seoul 04146, Korea

Received May 4, 2016 / Revised June 22, 2016 / Accepted June 28, 2016

*Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim is a well-known wild edible mushroom in the southern region of China. Novel cerebrosides, termed termitomycesphins, isolated from EtOH extract of *T. albuminosus* have shown significant neurotogenic activity. Neurotrophic factors have been targeted as potential therapeutic drugs for the treatment of neurodegenerative disorders. However, before expanding their applications to include food or therapeutic agents in Korea, a safety evaluation of *T. albuminosus* is needed. Herein, in a repeated-dose 90-day oral toxicity study, rats were exposed to a basal diet of powder ground from dried *T. albuminosus* at dose levels of 5%, 2.5%, 1.25%, and 0%. The following endpoints were evaluated: clinical observation, body weight, gross and microscopic pathology, clinical chemistry, and hematology. Significant dose-dependent increases in the weight of the left kidney were observed, possibly due to the test substance. Based on toxicity-decision criteria for minor compound-related changes (no observed adverse effect level [NOAEL] and no observed effect level [NOEL]), NOAEL was observed in male rats at a dose of 5% of dried *T. albuminosus* powder, and NOEL was observed in female rats at the same dose. The results point to the safety and potential use of *T. albuminosus* as a nontoxic neurotrophic factor.

**Key words** : 90 days oral toxicity, neurotrophic factors, NOAEL, safety, *Termitomyces albuminosus*

### 서론

다양한 영양물질이 포함된 버섯은 식품뿐만 아니라 생리활성 및 약리적 효능을 지닌 물질을 함유하고 있다. 또 일부 성분들은 건강기능성식품 및 약료로도 개발되는 등 지난 20 여년 동안 큰 주목을 받아 왔다. 그러나 인공재배 및 경제성 등의 문제로 2,000 여종 중 불과 20-30 여종만이 인공재배로 개발되거나 이 중 불과 수 종만이 시장에서 상품으로 판매되고 있을 뿐이다[12]. 이러한 버섯 상품화의 한계를 극복하기 위해 다양한 버섯들의 인공재배를 비롯하여 국경을 넘어소개되거나 연구가 진행되고 있다. 계종버섯으로 불리는 *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Herm은 공생진균(Symbiotic fungi)으로 중국의 남부 지방에서 자생되어온 식용버섯이다[13]. 계종버섯은 1987년부터 Chen 등의 연구를 시작으로 오늘날에는 인공재배가 이루어지고 있다[1]. 최근에는 계종버섯에서 termitomycesphin이라는 당지질인 cerebroside가 확인되었다[9, 10].

특히 termitomycesphin이 신경세포인 PC12 cell (rat pheochromocytoma cell line)의 활성 및 분화를 유도하는 것으로 확인되어 알츠하이머 질환 등의 신경세포 손상으로 인한 질환의 예방 및 치료제로서의 응용 가능성이 제시되고 있다[3, 9]. 한방에서 뇌졸중, 뇌전증을 비롯하여 편두통 등의 뇌질환 치료에 백부자(*Aconitum koreanum*)와 독각련(*Typhonium giganteum* Engl) 등이 오랫동안 처방되어 왔는데 이들의 주요 성분인 cerebroside이다[2]. 이들 한약재의 효능은 중추신경계에 대한 cerebroside의 작용으로 설명되고 있는데 이는 계종버섯이 이들 한약재의 독성을 극복할 수 있는 대체 식물성천연물 또는 한약재로서의 가능성을 의미한다.

계종버섯은 중국에서 식용으로 사용이 가능하지만 우리나라에서는 식품원료 또는 기능성식품등으로 등록되지 않아 식품으로서의 안전성이 우선적으로 수행되어야 한다. 이를 위해 랫드(Sprague-Dawley)에 90일간 반복경구투여독성시험을 통해 독성 및 안전성 산출을 위한 정량적 지표인 NOEL (no observed effect level, 최대무영향용량), NOAEL (no observed adverse effect level, 최대무독성용량), LOAEL (lowest observed adverse effect level, 최소독성용량) 등을 추정하는 것이 연구의 목적이다. 독성시험으로부터 정량적 지표의 정확한 설정을 위해 반복투여독성시험을 위한 독성평가기준이 응용되었다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-53-850-3635, Fax : +82-53-359-7489

\*E-mail : ycpark@cu.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.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 시험 군 구성

실험동물의 이용은 대구가톨릭대학교 동물실험윤리위원회의 승인(제IACUC-2015-014호) 하에 이루어졌다. 실험동물은 미국 Taconic사에서 생산 및 제공하고 있는 특정병원체 부재(specific pathogen-free, SPF) Sprague-Dawley 계통의 랫드를 사용하였고 반복투여독성시험을 위해서 암·수 5주령 48, 52마리를 대한바이오링크로부터 입수하였다. 입수 및 검수 후 7~8일간의 검역과 순화 과정을 거쳐 건강한 동물 암·수 각각 40마리를 선발하여 암·수 4군에 군 당 10마리를 시험에 사용하였다. 사육환경은 시험의 전 기간 동안 온도 23±3℃, 상대습도 30%~70%, 환기횟수 10~20회/시간, 조명 12시간(08:00 점등 ~ 20:00 소등), 조도 150~300 Lux, 소음 60 dB이하, 암모니아농도 20 ppm 이하로 설정되었다.

### 투여용량

순화 후 각 군의 평균체중이 균등하도록 무작위로 암수 4군, 군당 10마리로 군을 구성하였다. 용량설정은 독성시험의 가이드라인[5, 11]에 따라 식이(Harlan 2018SC)에 계종버섯 분말 5% 혼합한 것을 고용량으로 설정하고 2.5%, 1.25%, 0%를 중용량, 저용량 및 대조군으로 설정하여 90일 동안 자유급어를 하였다.

### 실험동물의 일반증상

순화기간에는 1일 1회, 투여 후에는 1일 2회 일반증상의 종류, 발현 및 증상의 정도, 사망 및 빈사 동물을 관찰하였다.

### 체중변화

모든 동물의 체중을 투여 개시일에 측정하였고 이후에는 주 1회, 부검 전일 및 부검일에 측정하였다. 부검일의 체중은 하루 밤 절식을 시킨 후의 체중을 측정하였다. 사료 섭취량 측정주기는 체중 측정과 시기적으로 일치하게 이루어졌다.

### 안검사

동물 도입 시 모든 동물에 대하여 육안으로 눈의 외관을 관찰하였다. 투여 마지막 주에는 모든 동물을 육안으로 눈의 외관을 관찰한 후, 각 군당 5마리에 대해서는 안구에 산동제(Isopto Atropine, Alcon, Belgium)를 점적하여 안저사진기(Genesis, Gowa Co. Ltd., Japan)로 전안부, 중간투광체 및 안저를 관찰하였다.

### 요검사

투여 마지막 주에 각 군당 5마리에 대하여 요검사를 실시하였다. 동물을 대사 케이지에 수용하여 3~4시간 동안 채뇨한 신선뇨 중 약 1 ml를 취하여 요자동분석기(CliniTekAdvantus

TM, SIEMENS, USA) 및 요침사검사로 분석하였다. 또한 24시간 동안 계속 채집한 요로 요총량을 측정하였다. 요분석 항목은 요당(GLU), 빌리루빈(BIL), 케톤체(KET), 백혈구(LEU), 잠혈(OB), 단백질(PRO), 유로빌리노겐(URO), 아질산염(NIT) 요비중(SG) 및 pH 등을 검사하였다. 요침사 검사는 적혈구, 백혈구, 상피세포 및 원주를 관찰하였다.

### 혈액학적 검사

부검 시까지 생존한 모든 동물에 대하여 혈액학적 검사를 실시하였다. 혈액학적 검사는 랫드를 12시간 절식시킨 후 채혈한 혈액을 항응고제인 EDTA-2K가 들어있는 CBC bottle (Vacutainer 3 ml, BD, USA)에 주입한 후 자동혈액분석기(ADVIA 2120, SIEMENS, USA)를 통해 이루어졌다. 분석항목은 WBC (white blood cell), RBC (red blood cell)의 수, HGB (hemoglobin), HCT (hematocrit), MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin), MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration), PLT (platelet), RDW (red cell distribution width), HDW (hemoglobin distribution width), RET (reticulocyte), 백혈구 백분비 NEU (neutrophils), LYM (lymphocyte), MONO (monocyte), EOS (eosinophil), BASO (basophil), LUC (large unstained cells)를 측정하였다.

### 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사를 위해 혈액 일부를 clot activator (vacutainer tube BD, USA)에 주입하고 10~15분간 상온에 방치하여 응고시켰다. 이후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리(MF80, Hanil, Korea)하여 얻은 혈청으로 혈액생화학분석기(KONELAB 20XT, Thermo, USA)를 통해 이루어졌다. 측정항목은 AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), ALP (alkaline phosphatase), BUN (blood urea nitrogen), CRE (creatinine), GLU (glucose), CHO (total cholesterol), PRO (total protein), CPK (creatinine phosphokinase), ALB (albumin), BIL (total bilirubin), TG (triglyceride), A/G (albumin/globulin ratio), IP (inorganic phosphorus), Ca<sup>2+</sup> (calcium ion) 등을 관찰하였다. 또한 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 등의 함량은 전해질 분석기(744 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> Analyzer, SIEMENS, USA)로 측정하였다.

### 혈액응고시간 검사

부검 시 채혈한 혈액 중 일부를 3.2% sodium citrate 0.2 ml이 들어있는 vacutainer tube (Vacutainer 1.8 ml, BD, UK)에 주입한 후, 3,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 얻은 혈장으로 PT (prothrombin time), APTT (activated partial thromboplastin time)를 측정하였다. 혈액응고시간검사기(ACL 7000 Instrumentation Laboratory, WERFEN, USA.)를 사용하

여 Nephelometric Analysis 방법으로 초(sec) 단위로 측정하였다.

### 부검

부검 전날 절식한 랫드를 부검 당일에 isofluran으로 흡입마취하여 복대동맥에서 혈액학적 검사 및 혈액생화학적 검사를 위한 채혈을 실시하였다. 이 후 복대동맥 및 복대정맥을 절단하여 방혈 치사한 후 모든 장기를 관찰하였다.

### 장기중량 측정

부검 시 장기를 적출한 후 전자저울(CP64, Sartorius, Germany)을 이용하여 중량을 측정하였다. 양측성 장기는 양측 장기 모두를 측정하였다. 측정 장기는 난소(ovary), 부신(adrenal gland), 뇌하수체(pituitary), 가슴샘(thymus), 전립샘(prostate), 고환(testis), 부고환(epididymis), 비장(spleen), 신장(kidney), 심장(heart), 폐(lung), 뇌(brain) 및 간(liver)을 측정하였다.

### 병리조직학적 검사

부검을 실시한 모든 동물에 대하여 장기를 적출하여 10% 중성완충포름알린용액에 고정하였으며 또한 안구는 davidson 용액에, 고환과 부고환은 bouin 용액에 고정하였다. 고정장기는 고환, 부고환, 정낭, 전립샘, 난소, 자궁, 질, 방광, 비장, 위, 췌장, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 장간막 림프절, 부신, 신장, 간, 대퇴골, 턱밑림프절, 침샘, 흉골, 가슴샘, 심장, 폐, 대동맥, 흉척수, 혀, 기관, 식도, 갑상샘, 안구, 하더샘, 뇌, 뇌하수체, 피부(젖샘) 등을 하였다. 고정한 장기 조직은 삭정, 탈수 및 파라핀 포매 등의 일반적인 조직처리과정을 거쳐 조직절편을 제작하였다. 이후 박절하여 H & E (hematoxylin & eosin)염색을 실시하였다.

### 통계학적 방법

대조군과 투여군 간의 평균비교에는 모수적인 다중비교(parametric multiple comparison procedures) 혹은 비모수적인 다중비교(nonparametric multiple comparison procedures)를 사용하였으며, 통계학적 분석은 상용으로 널리 사용되고 있는 통계 패키지인 SPSS 19.0K을 이용하였다. 체중, 사료섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량에 대하여 one-way ANOVA test로 평균치에 대한 유의성 검정하였다. 유의성이 있으면 Levene test로 등분산성을 검정하여 등분산일 경우에는 Duncan multiple range test, 이분산일 경우에는 Dunnett's T-test를 이용하였다. 요검사 결과와 같이 불연속적인 자료의 분석 척도변환을 통해 중증도(severity)로 나타내어 통계분석이 이루어졌다.

### 독성판정기준

독성판정기준은 Park 등에 의해 개발된 것으로 다소 변형하여 응용되었다[7, 8]. 시험을 통해 확인된 정성적 및 정량적 변화는 강도와 양상에 따른 weight-based classification (독성 강도에 따른 분류)의 3단계 구분인 시험물질-유래 중요한 변화(important compound-related changes), 시험물질-유래 경미한 변화(minor compound-related changes) 및 비시험물질-유래 변화(non-compound-related changes)로 분류된다. 시험물질-유래 중요한 변화는 모든 투여용량에서 용량-의존성을 가진 통계적 및 생물학적 유의성 있는 조직병리학적 변화, 용량-의존성은 없지만 조직병리학적 변화를 동반한 임상병리학적 변화, 용량-의존성이 없지만 대조군에서 발생하지 않고 통계적 유의성을 가진 조직병리학적 변화 및 용량-의존성 심각한 체중 감소 등을 포함한다. 시험물질-유래 경미한 변화는 일부 용량에서 경미한 용량의존성 또는 용량-의존성이 없는 특정 투여용량에서의 임상병리학적 및 조직병리학적 변화, 가역성(reversibility)이 예상되거나 대조군 발생의 조직병리학적 변화, 시험물질의 약리작용으로 고려되는 통계적, 생물학적 유의성을 지닌 용량의존성 또는 용량비의존성 변화, 20% 이내의 체중 감소 및 고지혈을 동반하지 않은 체중 증가 및 20% 이상의 장기중량변화 등이다. 비시험물질-유래 변화는 historical data를 벗어나는 대조군의 결과와의 비교를 통해 얻은 통계적 유의성을 가진 변화, 실험과정에서 실수로 발생하는 변화와 자연발생적 변화(spurious changes)를 포함한다. Weight-based classification의 3단계는 시험의 목적인 NOEL, NOAEL 및 LOAEL의 독성지표를 얻기 위해 Lewis 등의 연구[4]를 참조하여 Table 1과 같이 독성판정기준 설정을 위해 이용되었다. 시험물질-유래 중요한 변화는 'adverse effect', 시험물질-유래 경미한 변화는 'non-adverse effect', 비시험물질-유래 변화는 'no effect'로 분류되었다. NOEL은 비시험물질-유래 변화인 최대 무영향용량을 의미한다. NOAEL은 시험물질에 의해 심각한 독성(adverse effect)을 유발하지 않는 최대독성영향이지만 non-adverse effect를 나타내는 최대무독성용량을 의미한다. LOAEL은 adverse effect를 유발하는 최소독성용량을 의미한다[4].

## 결 과

독성시험으로부터 확인된 모든 변화는 독성의 정도와 양상에 따라 시험물질-유래 중요한 변화, 시험물질-유래 경미한 변화 및 비시험물질-유래 변화 등의 3가지 구분되어 서술되었다.

### 실험동물의 일반증상

실험기간 중 대조군을 포함한 모든 시험군에서 사방동물은 없었지만 투여 기간 중 일반증상 관찰 결과 암컷 고용량군 1례에서 오른쪽 안면부에 경미한 창상(wound)이 나타났고,

Table 1. Definitions of LOAEL, NOAEL and NOEL by three steps of weight-based classification in toxicity test

Weight-based classification	Definitions of criteria	Criteria of toxicity	Evaluation endpoint (In Korea)
Important compound-related changes	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Statistically and biologically significant* histopathological changes that are dose-dependent at all doses</li> <li>- Though not dose-dependent, clinical pathological changes that are accompanied by histopathological changes</li> <li>- Though not dose-dependent, histopathological changes that are statistically significant and that do not occur in the control group</li> <li>- Severe dose-dependent weight loss</li> </ul>	Adverse effect	LOAEL
Minor compound-related changes	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinic pathological and histopathological changes that are dose-dependent in certain doses or are not dose-dependent at a certain administered dose</li> <li>- Reversibility is anticipated or there is a histopathological change in the control group</li> <li>- Dose-dependent or non-dose-dependent change that is statistically and biologically significant and is thought to be due to the pharmacological effects of the test substance</li> <li>- Less than 20% weight loss, weight gain without hyperlipidemia, and a greater than 20% change of organ weight</li> </ul>	Non-adverse effect	NOAEL
Noncompound-related changes	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Statistically significant change that is obtained through comparison with the control group results that are beyond historical data**</li> <li>- Changes due to mistakes in the test process or spurious changes</li> </ul>	No effect	NOEL

\*Biological significance: Statistical significance of the difference between outcomes in a test and historical data.  
 \*\*Historical data: Mean ± SD of controls from other Repeated Dose 90 days Oral Toxicity Study.

암컷 중용량군 1례에서는 탈모(loss of fur)가 나타났으나 다른 군에서 관찰되지 않아 비시험물질-유래 변화로 판단하였다. 군분리시 외안검사와 투여 마지막 주에 수행된 안저검사 결과에서 이상소견은 관찰되지 않았다. 또한 요검사에서 대조군과 비교하여 모든 시험군에서 이상소견은 없었다.

**체중 변화**

암, 수컷 시험물질 투여군과 대조군의 체중변화 비교에서

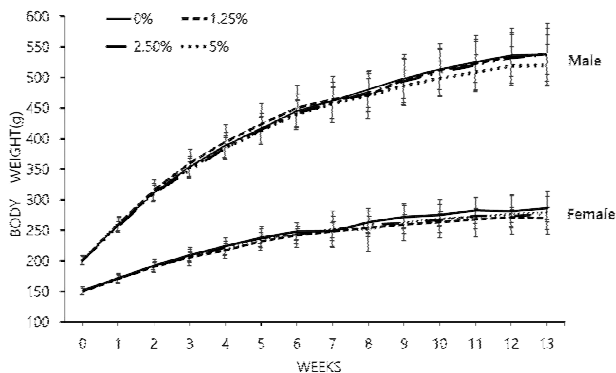


Fig. 1. Body weight Changes in SD rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days. The data Shown represent mean ± SD (n = 10).

유의성이 확인되지 않았다(Fig. 1).

**혈액학적 검사**

혈액학적 검사를 한 결과(Table 2) 암컷 HGB수치가 대조군과 비교하여 중용량군에서 통계적으로 유의하게 감소하였지만 용량의존성이 없었을 뿐만 아니라 정상범위(historical data)내의 변화로 확인되어 비시험물질-유래 변화로 판단되었다 ( $p < 0.05$ ). 백혈구 수치 또한 대조군과 비교하였을 때 통계적으로 유의성이 확인되지 않았다.

**혈액생화학학적 검사**

혈액생화학학적 검사를 한 결과(Table 4) 수컷의  $CA^{2+}$ , PRO수치가 대조군과 비교하여 저용량군 및 중용량군에서 통계적으로 유의하게 감소되었고, TG수치가 대조군과 비교하여 고용량군에서 통계적으로 유의하게 감소되었다. 하지만 3가지 항목 모두 용량의존성이 없고 정상범위 내의 변화로 비시험물질-유래 변화로 판단하였다( $p < 0.05$ ). 또한 암컷 PRO, ALB 수치가 대조군과 비교하여 저용량군에서 통계적으로 유의하게 증가되었지만 용량의존성이 없고 정상범위(historical data) 내의 변화로 비시험물질-유래 변화로 판단하였다( $p < 0.05$ ).

**혈액응고시간 검사**

암수 모두에서 대조군과 비교하여 이상소견이 관찰되지 않

Table 2. Hematological values in SD rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

Test	Units	Groups							
		Male				Female			
		0%	1.25%	2.5%	5%	0%	1.25%	2.5%	5%
RBC	10 <sup>6</sup> /μl	9.27±0.608	9.20±0.170	9.00±0.243	9.22±0.577	8.52±0.300	8.78±0.505	8.56±0.595	8.38±0.483
HGB	g/dl	13.8±0.67	14.2±0.69	13.7±0.63	13.8±0.86	14.6±0.46	14.3±0.48	14.0±0.44*	14.4±0.35
HCT	%	44.5±1.20	45.0±1.44	43.4±1.80	44.1±2.11	44.0±0.99	43.6±1.72	42.7±1.47	43.3±1.33
MCV	fL	48.1±2.31	48.9±1.97	48.2±1.85	47.9±2.68	51.7±1.67	49.8±1.84	50.0±2.41	51.7±1.72
MCH	pg	14.9±1.18	15.4±0.87	15.2±0.67	15.0±1.28	17.2±0.75	16.3±0.77	16.4±1.17	17.2±0.72
MCHC	g/dl	31.0±1.50	31.5±0.88	31.6±0.72	31.4±1.09	33.2±0.47	32.8±0.52	32.7±0.84	33.2±0.43
RDW	%	13.5±0.81	13.0±0.82	13.3±0.93	13.4±0.78	11.4±0.93	12.3±1.30	12.0±1.28	11.9±1.30
HDW	g/dl	3.41±0.441	3.21±0.412	3.45±0.469	3.62±0.398	2.72±0.268	3.12±0.445	2.96±0.418	2.89±0.438
PLT	10 <sup>3</sup> /μl	1021±119.0	964±106.5	1002±151.8	1071±74.1	1005±160.1	1008±119.2	1037±82.3	937±119.3
MPV	fL	7.4±0.27	7.3±0.28	7.4±0.37	7.4±0.38	7.2±0.22	7.4±0.30	7.2±0.35	7.1±0.22
RET	%	1.86±0.187	1.69±0.271	1.78±0.338	1.96±0.429	1.67±0.204	1.68±0.211	1.66±0.342	1.72±0.324

\*Represents a significant difference at  $p<0.05$  level compared with the vehicle control.

\*\*RBC; Red blood cell, HGB; Hemoglobin, HCT; Hematocrit, MCV; Mean corpuscular volume, MCH; Mean corpuscular hemoglobin, MCHC; Mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT; Platelet, RDW; Red cell distribution, HDW; Hemoglobin distribution width, RET; Reticulocyte.

Table 3. Change of white blood cell number in SD rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

Test	Unit	Groups							
		Male				Female			
		0%	1.25%	2.5%	5%	0%	1.25%	2.5%	5%
WBC	10 <sup>3</sup> /μl	3.38±0.823	3.42±0.892	3.24±1.565	3.48±1.143	1.87±0.616	1.86±0.516	1.71±0.420	1.64±0.442
NEU	%	21.9±6.64	28.7±7.54	26.0±7.85	26.2±4.23	20.5±7.95	25.2±9.24	26.8±8.19	23.0±7.42
	10 <sup>3</sup> /μl	0.73±0.260	0.94±0.208	0.76±0.238	0.89±0.249	0.40±0.270	0.49±0.279	0.46±0.183	0.38±0.184
LYM	%	71.6±7.28	64.7±8.48	67.0±8.08	67.7±4.39	73.1±8.82	67.5±9.72	66.7±7.51	70.5±7.70
	10 <sup>3</sup> /μl	2.43±0.699	2.25±0.789	2.25±1.283	2.37±0.875	1.35±0.434	1.24±0.324	1.14±0.286	1.16±0.303
MONO	%	2.8±0.87	2.9±0.83	3.0±1.00	2.6±0.64	2.0±0.62	2.6±1.36	2.0±0.61	2.0±0.84
EOS	%	2.7±0.98	2.4±0.86	2.7±0.88	2.4±0.49	3.4±0.95	3.9±2.36	3.6±1.80	3.8±1.20
BASO	%	0.1±0.07	0.1±0.05	0.1±0.06	0.1±0.07	0.3±0.28	0.1±0.13	0.1±0.09	0.1±0.11
LUC	%	1.0±0.28	1.2±0.57	1.2±0.57	1.1±0.35	0.8±0.23	0.6±0.43	0.8±0.27	0.6±0.34

\*WBC; White blood cell, NEU; Neutrophils, LYM; Lymphocytes, MONO; Monocytes, EOS; Eosinphils, BASO; Bosophils. LUC; Large unstained cells.

았다(Table 5).

**장기중량**

장기중량 결과는 절대중량(absolute organ weights)과 부검 전 체중 대비 상대중량(relative organ weights)을 바탕으로 판정되었다(Table 6, Table 7). 수컷 좌측신장의 상대중량이 대조군과 비교하여 고용량군에서 통계적으로 유의하게 증가하여 시험물질-유래 경미한 변화로 판단하였다( $p<0.05$ ). 수컷의 뇌하수체의 상대중량이 대조군과 비교하여 고용량군에서 통계적으로 유의하게 증가하였지만 비시험물질-유래 변화로 판단하였다( $p<0.05$ ). 암컷 간의 상대중량이 대조군과 비교하여 저용량군에서 통계적으로 유의하게 증가하였고, 암컷 뇌의

상대중량이 대조군과 비교하여 중용량군에서 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p<0.05$ ). 그러나 용량에 대한 의존성이 없어 비시험물질-유래 변화로 판단하였다.

**부검소견**

Isofluran으로 흡입마취하여 부검한 결과(Table 8), 폐 발적(redness)이 수컷 저용량군 2레, 암컷 대조군 2레와 고용량군 2레에서 관찰되었으나 개체 특이적 변화로 비시험물질-유래 변화로 판단하였다. 비장 비대(hypertrophy)가 수컷 고용량군의 1레, 가슴샘 발적(redness)이 수컷 저용량군의 1레에서 관찰 되었으나 다른 군에서는 관찰되지 않아 비시험물질-유래 변화로 판단하였다. 자궁내 맑은 액체 저류(retention of clear

Table 4. Blood chemistry values in SD rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

TEST	UNITS	GROUPS							
		Male				Female			
		0%	1.25%	2.5%	5%	0%	1.25%	2.5%	5
ALB	g/dl	3.2±0.10	3.1±0.06	3.1±0.05	3.2±0.07	3.3±0.10	3.4±0.10*	3.4±0.15	3.3±0.09
ALP	U/l	184±31.0	191±31.7	209±38.1	182±23.0	139±26.0	116±17.8	126±30.5	138±46.0
ALT	U/l	33±5.4	31±7.9	35±15.1	33±7.7	22±3.2	26±8.5	27±14.1	27±12.0
AST	U/l	90±15.6	81±14.5	86±15.9	91±16.2	80±10.7	89±22.2	84±18.3	89±28.6
BIL	mg/dL	0.1±0.02	0.1±0.02	0.1±0.02	0.1±0.02	0.1±0.01	0.1±0.02	0.1±0.01	0.1±0.03
BUN	mg/dL	17.0±1.13	17.1±1.68	15.8±2.32	15.8±1.16	16.9±2.49	17.0±2.14	16.8±2.29	16.7±2.09
CHO	mg/dL	92±16.7	82±7.0	81±11.8	79±12.9	77±15.8	89±13.3	77±10.6	73±14.7
CPK	U/l	140±68.6	135±59.2	137±85.7	125±61.5	87±36.1	105±65.3	100±48.4	73±29.4
CRE	mg/dL	0.6±0.04	0.7±0.05	0.6±0.05	0.6±0.03	0.7±0.04	0.7±0.04	0.7±0.04	0.7±0.06
GLU	mg/dL	166±20.4	163±17.6	153±15.8	162±28.7	121±16.9	122±16.8	125±12.4	116±17.4
IP	mg/dL	6.26±0.548	5.82±0.701	5.82±0.710	5.84±0.610	4.90±0.543	4.91±0.792	4.50±0.486	5.12±0.667
PRO	g/dl	5.9±0.28	5.7±0.15	5.7±0.19	5.8±0.21	5.6±0.24	6.1±0.27*	5.8±0.40	5.7±0.20
TG	mg/dL	60±23.7	51±15.3	54±26.2	38±11.4*	30±3.0	29±4.1	31±4.2	27±5.5
A/G	ratio	1.2±0.07	1.2±0.06	1.2±0.10	1.3±0.14	1.4±0.10	1.3±0.08	1.4±0.10	1.4±0.10
Ca <sup>2+</sup>	mg/dL	10.2±0.31	9.8±0.27*	9.8±0.34	9.9±0.40	9.8±0.23	9.9±0.27	10.0±0.33	10.0±0.29
Na <sup>+</sup>	mg/dL	138.9±1.32	139.5±1.31	139.7±0.99	139.5±1.19	138.5±1.54	139.3±1.13	138.9±0.75	139.1±1.24
K <sup>+</sup>	mmol/L	4.37±0.182	4.21±0.268	4.02±0.142	4.24±0.305	4.01±0.110	4.06±0.176	4.02±0.126	3.99±0.148
Cl <sup>-</sup>	mmol/L	106.9±1.52	107.8±0.75	106.8±1.04	107.3±0.54	108.7±1.53	108.0±1.29	109.1±0.69	110.0±1.04

\*Represents a significant difference at p<0.05 level compared with the vehicle control.

\*\*ALB; Albumin, ALP; Alkaline phosphatase, ALT; Alanine aminotransferase, AST; Aspartate aminotransferase, BIL; Total bilirubin, BUN; Blood urea nitrogen, CHO; Total cholesterol, CPK; Creatine phosphokinase, CRE; Creatinine, GLU; Glucose, IP; Inorganic phosphorus, PRO; Total protein, TG; Triglyceride, A/G ratio; Albumin/Globulin ratio, Na<sup>+</sup>; Sodium ion, K<sup>+</sup>; Potassium ion, Cl<sup>-</sup>; Chloride ion.

Table 5. Plasma coagulation values of SD rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

TEST	GROUPS							
	Male				Female			
	0%	1.25%	2.5%	5%	0%	1.25%	2.5%	5%
PT (sec)	8.84±0.312	9.44±0.913	9.42±0.525	9.29±0.415	9.41±0.550	8.99±0.477	9.40±0.554	9.39±0.341
APTT (sec)	17.1±2.18	16.5±2.03	16.8±1.65	16.1±1.64	17.1±2.97	17.2±2.24	17.6±2.36	17.1±2.35

fluid)가 암컷 대조군 1레, 저용량군의 1레 및 중용량군 1레에서 관찰되었지만 개체 특이적 변화로 비시험물질-유래 변화로 판단하였다.

**조직병리학적 검사**

조직병리학적 검사에서 나타나는 결과(Table 9)는 중증도(severity)에 따라 “minimal (아주 경증)”, “slight (경증)”, “moderate (중증)”, “severe (상당한 중증)” 등의 4단계로 구분하여 나타났다. 수컷 전립선의 염증세포 침윤(Inflammation cells infiltration)이 고용량군에서 “minimal”로 6레가 관찰되었지만 대조군에서도 “minimal”로 6레가 관찰되었다. 수컷 신장에서 세뇨관 세포 재생(Tubular cell regeneration)이 고용량군에서 “minimal”로 1레가 관찰되었지만 대조군에서도 “minimal”로 2레가 관찰되었다. Tubular casts는 수컷 신장에서 대조군과 고용량군에서 “minimal”로 1레씩, 암컷 신장

(Kidney) 에서도 대조군에서만 “minimal”로 1레가 관찰되었다. 또, 암컷의 신장은 미네랄침착(Renal mineralization)도 고용량군에서 “minimal”로 1레가 나타났지만 대조군에서도 “minimal”로 1레가 관찰되었다. 수컷 비장에서 울혈(Congestion)이 고용량군에서만 “slight”로 1레, 수컷 심장에서 염증세포 침윤(Inflammation cells infiltration)이 고용량군에서 “minimal”로 1레가 나타났지만 대조군에서도 “minimal”로 1레가 나타났다. 조직병리학적 검사를 통해 모든 조직의 병변이 시험물질-유래변화가 아닌 비시험물질-유래변화로 판단하였다.

**결과의 요약과 판정기준**

수컷에서 시험물질-유래 경미한 변화가 식이함량의 5%에서 확인되어 시험의 독성판정 기준에 따라 NOAEL은 식이함량의 5%로 추정되며, 90일간 일일 평균 식이섭취량으로 환산

Table 6. Absolute and relative weight of organ in SD male rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

Organs	Unit	Groups			
		0%	1.25%	2.5%	5%
Adrenal(L)	Weight(g) <sup>†</sup>	0.0236±0.00429	0.0272±0.00433	0.0242±0.00310	0.0256±0.00552
	Ratio(%) <sup>‡</sup>	0.0046±0.00077	0.0053±0.00058	0.0047±0.00043	0.0052±0.00098
Adrenal(R)	Weight(g)	0.0248±0.00532	0.0273±0.00525	0.0248±0.00399	0.0245±0.00520
	Ratio(%)	0.0048±0.00098	0.0053±0.00059	0.0048±0.00059	0.0049±0.00094
Pituitary	Weight(g)	0.0132±0.00152	0.0138±0.00122	0.0135±0.00155	0.0144±0.00175
	Ratio(%)	0.0026±0.00028	0.0027±0.00017	0.0026±0.00032	0.0029±0.00029
Testis(L)	Weight(g)	1.8448±0.18395	1.8356±0.17486	1.9743±0.17959	1.8716±0.17950
	Ratio(%)	0.3583±0.03819	0.3606±0.04953	0.3868±0.04584	0.3784±0.02803
Testis(R)	Weight(g)	1.8415±0.23326	1.9723±0.17798	1.9889±0.19761	1.8780±0.20927
	Ratio(%)	0.3576±0.04612	0.3849±0.02695	0.3895±0.04689	0.3796±0.03508
Epididymis(L)	Weight(g)	0.6669±0.05568	0.6524±0.07998	0.6591±0.07348	0.6810±0.07071
	Ratio(%)	0.1294±0.01037	0.1282±0.01943	0.1291±0.01743	0.1379±0.01372
Epididymis(R)	Weight(g)	0.6776±0.07295	0.7717±0.22444	0.6548±0.07063	0.6824±0.08324
	Ratio(%)	0.1314±0.01249	0.1492±0.03384	0.1283±0.01632	0.1381±0.01614
Thymus	Weight(g)	0.4211±0.08014	0.4210±0.12271	0.4202±0.05429	0.3844±0.06305
	Ratio(%)	0.0815±0.01414	0.0814±0.02018	0.0821±0.00984	0.0780±0.01438
Prostate	Weight(g)	0.8224±0.14169	0.8023±0.14150	0.8087±0.09934	0.7294±0.12307
	Ratio(%)	0.1587±0.02140	0.1560±0.02350	0.1578±0.01597	0.1474±0.02380
Spleen	Weight(g)	0.9512±0.16496	0.9747±0.13266	1.0022±0.16907	1.0760±0.40287
	Ratio(%)	0.1859±0.04049	0.1898±0.02125	0.1968±0.03734	0.2182±0.08105
Kidney(L)	Weight(g)	1.4065±0.11671	1.4816±0.12811	1.4726±0.13372	1.5036±0.16280
	Ratio(%)	0.2728±0.01951	0.2897±0.02727	0.2882±0.03013	0.3036±0.02237 <sup>*</sup>
Kidney(R)	Weight(g)	1.4528±0.13064	1.4962±0.12415	1.5049±0.11860	1.5027±0.13951
	Ratio(%)	0.2818±0.02325	0.2924±0.02486	0.2943±0.02449	0.3037±0.02027
Heart	Weight(g)	1.4284±0.08059	1.4807±0.16677	1.3753±0.11428	1.4076±0.12218
	Ratio(%)	0.2775±0.02057	0.2885±0.02285	0.2685±0.01549	0.2845±0.01646
Lung	Weight(g)	1.7804±0.12884	1.8423±0.13860	1.7846±0.11901	1.7452±0.14375
	Ratio(%)	0.3462±0.03259	0.3595±0.02004	0.3489±0.02198	0.3528±0.01951
Brain	Weight(g)	2.2334±0.12233	2.2370±0.08240	2.2580±0.08802	2.3002±0.06765
	Ratio(%)	0.4338±0.02900	0.4391±0.04830	0.4427±0.03816	0.4666±0.03189
Liver	Weight(g)	13.6709±0.69714	13.5350±1.32802	13.1841±1.58002	12.8687±0.90192
	Ratio(%)	2.6532±0.12597	2.6353±0.12087	2.5706±0.23620	2.6028±0.11903

The data shown represent means ± SD (n = 10).

\*Represents a significant difference at  $p < 0.05$  level compared with the vehicle control.

<sup>†</sup>weight (g); unit of absolute weight of organ, <sup>‡</sup>Ratio (%); Relative ratio of organ weight against body weight.

하면 2,800 mg/kg/day로 추정된다. 암컷에서 비시험물질-유래 변화가 식이함량의 1.25, 2.5, 5%에서 확인되어 시험의 독성 판정 기준에 따라 NOEL은 식이함량의 5%로 추정되며, 90일간 일일 평균 식이섭취량으로 환산하면 3,177 mg/kg/day로 추정된다. 따라서 본 시험의 판정기준에 따라 랫드에 있어서 *Termitomyces albuminosus* powder의 수컷은 NOAEL, 암컷은 NOEL이 식이함량의 5%로 추정된다. 그러나 식약처 고시[6]에 따라 판정할 경우 암수 모두 NOAEL이 식이함량의 5%로 추정하였다(Table 10).

## 고 찰

뇌질환에 유효성이 있는 것으로 확인된 cerebroside의 일종인 termitomycesphin를 함유하고 있는 계종버섯에 대한 안전성확인을 위해 반복투여독성시험을 Sprague-Dawley 랫드를 통해 이루어졌다. 독성시험의 가이드라인에 따라[5, 11] 투여최고용량인 5%를 포함하여 2.5%, 1.25%, 0%의 계종버섯분말을 식이에 함유하여 군을 설정하였다.

독성판정기준에 따라 *Termitomyces albuminosus*의 NOAEL

Table 7. Absolute and relative weight of organ in SD female rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

Organs	Unit	Groups			
		0%	1.25%	2.5%	5%
Adrenal(L)	Weight(g) <sup>†</sup>	0.0338±0.00408	0.0325±0.00348	0.0341±0.00485	0.0342±0.00692
	Ratio(%) <sup>‡</sup>	0.0127±0.00201	0.0129±0.00186	0.0133±0.00201	0.0134±0.00295
Adrenal(R)	Weight(g)	0.0326±0.00354	0.0319±0.00363	0.0328±0.00471	0.0336±0.00471
	Ratio(%)	0.0122±0.00177	0.0126±0.00193	0.0128±0.00189	0.0131±0.00233
Pituitary	Weight(g)	0.0167±0.00280	0.0173±0.00176	0.0171±0.00236	0.0165±0.00319
	Ratio(%)	0.0062±0.00103	0.0068±0.00071	0.0067±0.00095	0.0065±0.00156
Ovary(L)	Weight(g)	0.0628±0.01935	0.0609±0.00650	0.0637±0.01368	0.0623±0.01190
	Ratio(%)	0.0234±0.00713	0.0240±0.00240	0.0249±0.00563	0.0246±0.00624
Ovary(R)	Weight(g)	0.0674±0.01838	0.0652±0.01136	0.0618±0.01396	0.0681±0.01275
	Ratio(%)	0.0251±0.00671	0.0258±0.00492	0.0241±0.00552	0.0267±0.00632
Thymus	Weight(g)	0.2506±0.05116	0.2527±0.06040	0.2272±0.04691	0.2465±0.05133
	Ratio(%)	0.0927±0.01435	0.0994±0.02245	0.0886±0.01894	0.0955±0.02023
spleen	Weight(g)	0.5574±0.06071	0.6188±0.07800	0.6074±0.07836	0.5452±0.06930
	Ratio(%)	0.2072±0.02069	0.2435±0.02990	0.2364±0.03062	0.2123±0.03437
kidney(L)	Weight(g)	0.8068±0.08467	0.8138±0.05439	0.8376±0.06310	0.8233±0.05276
	Ratio(%)	0.3004±0.03288	0.3208±0.02757	0.3263±0.02773	0.3206±0.04121
kidney(R)	Weight(g)	0.8268±0.05905	0.8098±0.06564	0.8463±0.04197	0.8191±0.05449
	Ratio(%)	0.3078±0.02308	0.3192±0.03001	0.3294±0.01406	0.3190±0.04304
Heart	Weight(g)	0.8361±0.04958	0.8405±0.07133	0.8806±0.04763	0.8416±0.07474
	Ratio(%)	0.3118±0.02727	0.3310±0.02793	0.3429±0.01982	0.3263±0.03606
Lung	Weight(g)	1.2449±0.08695	1.2579±0.06965	1.2375±0.06076	1.2652±0.08153
	Ratio(%)	0.4636±0.03692	0.4959±0.03746	0.4825±0.03598	0.4913±0.05118
Brain	Weight(g)	2.0211±0.09053	2.0582±0.10060	2.0967±0.08224	2.0197±0.09403
	Ratio(%)	0.7535±0.05959	0.8130±0.07992	0.8173±0.05383	0.7868±0.09914
Liver	Weight(g)	6.1765±0.44028	6.4482±0.34176	6.3863±0.68774	6.3551±0.48973
	Ratio(%)	2.2967±0.12387	2.5381±0.11229	2.4884±0.29335	2.4659±0.26784

The data shown represent means ± SD (n = 10).

\*Represents a significant difference at p<0.05 level compared with the vehicle control.

† weight (g); unit of absolute weight of organ, ‡ Ratio (%); Relative ratio of organ weight against body weight.

Table 8. Autopsy findings of rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

Organs	Observed signs	Groups							
		Male				Female			
		0%	1.25%	2.5%	5%	0%	1.25%	2.5%	5%
Lung	Redness	0/10	2/10	0/10	0/10	2/10	0/10	0/10	2/10
Thymus	Redness	0/10	1/10	0/10	0/10				
Spleen	hypertrophy	0/10	0/10	0/10	1/10				
Uterus	Retention of clear fluid					1/10	1/10	1/10	0/10

은 수컷에서 식이함량의 5%로 판단되었다. 수컷의 NOEL 판단근거는 장기중량에서 좌측신장의 중량 증가이다. 좌측신장은 대조군과 비교하여 고용량군(5%)에서 12%증가하였고 용량의존성도 있었다. 이러한 용량의존성에 기인하여 시험물질에 의한 중요한 변화 및 LOAEL로 판정할 수 있다. 신장의 중량증가는 조직병리 및 신장과 관련 임상지표에서 어떠한 유의한 변화가 관찰되지 않은 것으로 보아 독성보다도 추출물

대사체 증가에 따른 신장의 기능 향상을 위한 적응의 결과로 추정된다. 그러나 12% 증가와 용량의존성은 시험물질이 추가적으로 증가하거나 장기간 투여할 경우에 독성으로 나타날 수 있기 때문에 연구의 NOEL을 결정하는 시험물질-유래 경미한 변화로 추정하였다.

신장의 중량 변화 외에도 여러 장기에서 중량변화가 확인되었다. 수컷의 뇌하수체 장기무게가 대조군과 비교하여 고용량



Table 9. Histopathological findings of SD rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

Organs	Observed signs	Groups			
		Male		Female	
		0%	5%	0%	5%
Prostate	Inflammatory cells infiltration	6/10	6/10	-	-
Kidney	Tubular cell regeneration	2/10	1/10	-	-
	Tubular casts	1/10	1/10	1/10	-
	Renal mineralization	-	-	1/10	1/10
Spleen	Congestion	-	1/10	-	-
Heart	Inflammatory cells infiltration	1/10	1/10	-	-

'-'= no finding.

Table 10. Result of Toxicity test by weight-based classification in SD rats administrated orally with dried *Termitomyces albuminosus* powder for 90 days

Weight-based classification	Item	Groups			
		Male		Female	
		Findings	Dose (%)	Findings	Dose (%)
Important compound-related changes		-	-	-	-
Minor compound-related changes	Weight of organ	Left of kidney	5	-	-
	Clinical sign	-	-	Wound, Loss of fur	5
	Hematological	-	-	HGB	2.5
Non-compound-related changes	Blood chemistry	CA, PRO TG	1.25, 2.5 5	PRO, ALB	1.25
	Weight of organ	Pituitary	5	Liver, Pituitary	1.25, 2.5
	Autopsy findings	Lung, Spleen, Thymus	1.25, 5	Redness of lung	0, 5
				Uterus	0, 1.25, 2.5
	Histological examination	Prostate, kidney, Heart Spleen	0, 5 5	Kidney	0, 5

'-'= no finding.

군에서 증가하였다. 용량의존성이 미미하며 증가폭이 정상범 위 내의 변화로 확인되어 독성판단 기준에 따라 비시험물질-유래 변화로 판단하였다.

부검소견 결과, 수컷 고용량군 1례에서 비장이 비대해진 것이 관찰되었다. 이는 조직병리 소견결과에서도 비장의 울혈로 관찰되어 이상 소견으로 판단되었다. 그러나 같은 군의 다른 개체를 비롯하여 다른 용량군의 어떤 개체에서도 관찰되지 않아 개체 특이적 소견으로 비시험물질-유래 변화로 판단하였다.

조직병리 결과, 수컷 고용량군에서 전립선에 염증세포침윤이 미약하게 나타났지만 대조군에서도 동일한 현상이 확인되어 비시험물질-유래 변화로 판단하였다. 이외에도 고용량군과 대조군의 신장에서 동일한 병변으로 확인된 것이 세뇨관 세포의 재생, 세뇨관 미네랄 침, 케스트 등이 확인되었다. 또한 수컷 고용량군 심장에서 염증세포침윤이 미약하게 나타났지만, 다른 군에서는 시험물질에 의한 특이한 병변이 나타나지 않아

비시험물질-유래 변화로 판단되었다.

이와 같이 고용량군에서 신장, 전립선, 심장 등에서의 확인된 병변은 대조군에서도 비슷한 빈도로 관찰되어 개체 특이적 현상이거나 나이가 많아짐에 따라 나타나는 자연 발생적 병변임으로 비시험물질-유래 변화로 추정되었다.

이와 같은 결과를 통해 수컷에서 시험물질-유래 경미한 변화가 사료된 식이함량의 5%에서 확인되어 시험의 독성판정 기준에 따라 NOAEL은 식이함량의 5%로 추정되었다. 식이함량 5%는 일일 평균 식이섭취량으로 환산하면 2,800 mg/kg/day 로 추정된다. 암컷에서 비시험물질-유래 변화가 식이함량의 1.25, 2.5, 5%에서 확인되어 시험의 독성판정기준에 따라 NOEL은 식이함량의 5%로 추정되었으며 일일 평균 식이섭취량으로 환산하면 3,177 mg/kg/day로 추정된다.

따라서 Rat에 대한 *Termitomyces albuminosus*를 90일간 반복 투여독성시험을 판정기준에 따라 수컷은 NOAEL, 암컷은 NOEL은 각각 식이함량의 5%로 추정된다. 그러나 우리나라

의약품독성시험기준[6]에 따르면 NOAEL과 NOEL이 동일함으로 암수 모두 NOAEL이 식이함량의 5%로 산출된다. 반복투여독성시험에 투여할 수 있는 최대 한계용량인 5%에서 어떠한 독성적 변화가 확인 되지 않아 *Termitomyces albuminosus*의 과용에 의한 독성은 극히 미미할 것으로 추정된다. 따라서 반복투여독성시험에서 일반적으로 사용되는 단일화학물질의 1,000 mg/kg/day와 추출물의 2,000 mg/kg/day 등의 시험 한계용량(limit dose)을 훨씬 넘는 암수의 NOAEL이 2,800 mg/kg/day와 3,177 mg/kg/day으로 확인되어 안전성 측면에서 식품 또는 기능성식품으로의 개발에 문제가 없을 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 환경부에서 지원하는 2016년 화학물질 유·위해성 정보관리 전문인력 양성사업 및 농업회사법인 ㈜티엠파트너스의 지원으로 이루어졌으며 이에 대해 감사드립니다.

### References

- Chen, Y. 2015. Artificial cultivation method of terminate series *Termitomyces albuminosus*, by extracting parent species, culturing strains, culturing stock seeds, culturing cultivars, cultivating mushrooms and fruiting. Patent No: CN 103004454-A.
- China Pharmacopoeia Committee. 2010. Pharmacopoeia of People's Republic of China, P.98-99, Beijing, Chinese Edition, China Medical Science Press.
- Qi, Y., Ojika, M. and Sakagami, Y. 2001. Neuritogenic Cerebrosides from an Edible Chinese Mushroom. Part 2: Structures of Two Additional Termitomycesphins and Activity Enhancement of an Inactive Cerebroside by Hydroxylation. *Bio. Med. Chemistry* **9**, 2171-2177.
- Lewis, R. W., Billington, R., Debryune, E., Gamer, A., Lang, B. and Carpanini, F. 2002. Recognition of adverse and non-adverse effects in toxicity studies. *Tox. Pathol.* **30**, 66-74.
- Ministry of Food and Drug Safety, Toxicological test guideline (KFDA Notification No. 2012-86, 2012.8.24).
- Korean Ministry of Food and Drug Safety, Standard for toxicity test of drug etc. (KFDA Notification No. 2014-136, 2014.07.30).
- Park, Y. C. and Cho, M. H. 2011. A new way in deciding NOAEL based on the findings from GLP-toxicity test. *Tox. Res.* **27**, 133-135.
- Park, Y. C., Lee, J. S., Kim, D. Y., Son, H. Y., Lee, J. W., Cheoi, Y. S., Kim, K. K., Yu, C. Y., Ill, M. C., Im, M. H., Lee, K. J., Choi, R. N., Shim, H. S. and Lim, J. D. 2013. A 90 day repeated dose oral toxicity study of extract from *Astragalus membranaceus* aboveground part in rats. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **21**, 474-485.
- Qi, J., Ojika, M. and Sakagami, Y. 2000. Termitomycesphin A-D, novel neuritogenic cerebrosides from the edible Chinese mushroom *Termitomyces albuminosus*. *Tetrahedron.* **56**, 5835-5841.
- Qu, Y., Sun, K., Gao, L., Sakagami, Y., Kawagishi, H., Ojika, M. and Qi, J. 2012. Termitomycesphins G and H, additional cerebrosides from the edible Chinese mushroom *Termitomyces albuminosus*. *Bio. Bio. Biochem.* **76**, 791-793.
- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). 2008. pp. 5, Guidance for Industry SIC(R2) Dose Selection for Carcinogenicity Studies.
- Elena valverde, M., Hernández Pérez, P. and Paredes López, O. 2015. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *Int. J. Microbiol.* **2015**, 1-14.
- Ya, X. and Li, M. J. 2013. Studies on the biological characteristics of *Termitomyces albuminosus* hypha. *Adv. Mat. Res.* **709**, 810-813.

### 초록 : *Termitomyces albuminosus* powder의 랫드를 이용한 90일 경구투여독성시험

안민지<sup>1</sup> · 허혜선<sup>1</sup> · 이지선<sup>1</sup> · 손혜영<sup>1</sup> · 임해옥<sup>1</sup> · 박강백<sup>1</sup> · 이준현<sup>2</sup> · 지재규<sup>2</sup> · 박영철<sup>1\*</sup>  
 (<sup>1</sup>대구가톨릭대학교 GLP 센터 & 화학물질독성평가학과, <sup>2</sup>㈜티엠파트너스)

계종버섯(*Termitomyces albuminosus*)의 안정성을 입증하기 위하여 사료에 계종버섯의 분말을 5%, 2.5%, 1.25%, 0%를 혼합하여 90일 동안 랫드에 자유 급이 시켜 실험동물의 일반증상, 체중변화, 혈액학적 검사, 부검소견, 임상 병리, 조직병리학적 검사의 결과를 토대로 독성을 평가하였다. 독성판정기준은 독성의 정도와 양상에 따라 weight-based classification (독성 강도에 따른 분류)로 분류 하였는데 비시험물질-유래 변화인 NOEL, 시험물질-유래 경미한 변화는 NOAEL, 시험물질-유래 중요한 변화는 LOAEL을 기준으로 나누었다. 시험결과, 수컷 좌, 우 측 신장 중량이 용량의존적으로 증가하여 고용량군에서는 12%, 8% 증가 하였다. 하지만 임상, 조직병리학적 결과 독성으로 판단되는 소견이 관찰되지 않아 시험물질-유래 경미한 변화로 판단으로 분류하였다. 따라서 판정기준에 따라 수컷은 NOAEL 암컷은 NOEL이 식이함량 5%로 추정되지만 식약처고시에 따라 암수 모두 NOAEL이 식이함량의 5%로 추정할 수 있다. 따라서 계종버섯은 식품 또는 기능성식품으로의 개발에 문제가 없을 것으로 사료된다.